



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tebessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Etres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Option : écophysiologie végétale

Thème :

**Isolement et caractérisation des bactéries endophytes et
associées a la Rhizosphere *Stipa tenacissima***

Présenté par :

Melle Dahechehamida

Melle Malek latifa

Devant le jury

Présidente	Dr. SOUABI Hana	MCA	Université de Tébessa
Examinatrice	Mlle GHEDABNI Akarima	MAA	Université de Tébessa
Promoteur	Dr. DEKAK Ahmed	MCA	Université de Tébessa

Date de soutenance :

09 Juin 2022

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Le Tout-Puissant a dit: (Si vous rendez grâces, je vous augmenterai.)
Dieu soit loué, qui nous a donné le don de la raison et de la connaissance
Aidez-nous et facilitez-nous la progression

Nous vous invitons à exprimer notre gratitude et notre reconnaissance
a notre enseignant Ahmed dekak , qui nous a prodigué ses conseils et ses
orientations nous remercions également les membres du jury, Mme.

SOUAHI Hana, MlleGhdabniakarima

Nous adressons également nos remerciements à tous les professeurs et à
l'administration universitaire dont nous avons reçu tous les principes
scientifiques.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragements.

A mes frères Nassir, Hakim, Fares, Amin, pour leur soutien et leur encouragements, à ma sœur Rimale, à tous mes collègues et à tous mes enseignants.

hamida

Dédicace

En tout premier lieu, nous remercions de tout cœur notre dieu le tout puissant
Qui nous a aidés à achever ce modeste travail.

Nous remercions notre encadreur Mr Ahmed Dakak pour avoir bien voulu

Diriger avec bienveillance ce travail.

Nous tenons tout à remercier notre jury du mémoire pour avoir

Accepté d'apprécier et de juger ce travail.

Melle Ghdabnia karima .A qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de
Notre jury de mémoire.

Mme Souahi Hana . Qui a accepté avec grande gentillesse et générosité

D'être examinateur de ce mémoire.

En fin, nous remercions toutes personnes de bonnes volontés qui nous ont aidé de Prés ou de loin
pour aboutir à notre objectif.

Latifa

العنوان:

عزل ودراسة بكتيريا الداخلية و الملاصقة لجذور الحلفاء *stipatenacissima*

ملخص:

ترتكز هذه الدراسة على استخدام البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPR)، و الملاصقة لجذور الحلفاء ودراستها تم استخدام 22 عزلة بكتيرية من 03 عينات في المنطقة الملاصقة لجذور النبات *StipaTenacissima* الذي ينمو تحت ظروف جفاف شديدة في منطقة (مسولة بلدية لعوينات ولاية تبسة) من أجل انتقاء وتحديد بكتيريا PGPR وتقييم كفاءتها في انتاج الهرمون النباتي IAA وإذابة الفوسفات P والبوتاسيوم K والكالسيوم Ca والحديد Fe هذا ما يساعد على فهم آليات عملها واختيار سلالات فعالة. سمحت لنا هذه الدراسة بتسجيل تنوع بيولوجي في الكائنات الحية الدقيقة المعزولة، والذي أكد نتائج الاختبارات المختلفة خاصة انتاج IAA، 11 سلالة قادرة على إذابة Fe، 06 سلالات قادرة على إذابة Ca، 07 سلالات قادرة على إذابة P، وأخيرا تم حصر 02 سلالات قيمة من البكتيريا ذات فعالية كبيرة والتي من المرجح أن تستخدم في برامج تحسين الانتاج الزراعي، وخفض تراكيز المعادن الثقيلة.

الكلمات المفتاحية:

Stipa tenacissima، هرمونات نباتية، Rhizosphère، إذابة المعادن، endophyte

Titre: Isolement et caractérisation des bactéries endophytes et associées à la Rhizosphère de l'alfa *Stipa tenacissima*

Résumé

L'utilisation des bactéries promotrices de la croissance des plantes peut orienter les pratiques agricoles vers une perspective durable et plus respectueuse de l'environnement.

22 isolats issus de trois échantillons de la rhizosphère et racines de la plante *stipa tenacissima* qui pousse dans des conditions d'aridité accrue au niveau de la région (Masloul - el ouinet - Tebessa) ont été utilisés pour isoler et identifier des bactéries à traits PGPR, en évaluant leur efficacité à produire l'IAA et à solubiliser le Phosphate et le Potassium, calcium ce qui permettra de comprendre leurs mécanismes d'action et de sélectionner des souches d'intérêt.

Ce travail nous a permis de constater une diversité de microorganismes traduite par les résultats des différents tests étudiés, notamment, la production d'IAA qui est un trait commun à ces PGPR, 11 souches capables de solubiliser le Fe, 06 souches capables de solubiliser le Ca, 07 souches capables de solubiliser le P et enfin 02 souches d'intérêt qui ont présenté un important potentiel PGPR et qui sont susceptibles d'être utilisées dans des programmes d'amélioration de la productivité agricole et dans la bio remédiation des sols pollués par les métaux lourds .

Mots clés :

Stipa tenacissima, phytohormones, PGPR, Rhizosphère, Endophytes.

Title : Isolation and characterisation of endophytic bacteria associated with rhizospheric soil of alfalfa *Stipatenacissima*

Abstract

The use of plant growth promoting bacteria can orientate agricultural practices towards a sustainable and more environmentally friendly perspective.

22 isolates collected from three samples of roots and rhizospheric soil of *stipatenacissima*, plant growing under harsh conditions in Masloulia area, were used to isolate and identify these PGPR trait bacteria, evaluating their efficiency in producing IAA phytohormone and solubilizing minerals which will help to understand their mechanisms of action and in order to select strains of interest.

This work allowed us to note a diversity of microorganisms, translated by the results of various tests studied, in particular, the production of IAA which is a common feature of these PGPR, 11 strains capable of solubilizing Fe, 06 strains able to solubilize Ca, and 07 strains able of solubilizing P, finally 02 strains of interest that showed significant PGPR, which are likely to be involved in programs of agricultural productivity improvement and bioremediation of heavy metal soil polluted .

Key words:

Stipatenacissima, PGPR , Phytohormone , Solubilization of minerals.

Liste d'abréviations

°C : degré Celsius

SP : Solubilisation du P (Phosphate)

SK : Solubilisation du k(potassium)

SCa: Solubilisation du calcium

Fe : Fer

G :gramme

IAA :Indol Acid Acetic

KSB : BacterieSolubilatrice du k (potassium)

ml: millilitre

mm: millimètre

NBRIP : National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium

nm: nanomètre

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

pH: Potentiel d'Hydrogène

ppm: partie par million

Table de matières

TITRE	PAGE
INTRODUCTION	
Chapitre 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Definition PGPR	01
1.1. Physiologie PGPR	03
1.2. Efect direct des pgpr sur le plante	03
1.2.1. Fixation d'azote	04
1.2.2.-Solubilisation du phosphate	05
1.2.3. Solubilisation du potassium	06
2. Menanimes d'action de bsk dans la solubilisation de k	07
3. Effet de ksb sur la croissance et le rendement des plantes	08
3.1. Production siderophores	09
3.2. Production des phytohormones	10
3.3. Acide acetyle indole AIA	11
3.4. Production des cytokines	12
3.5. Stimulation des acide gibberelliques	14
4. Effet de biocontrole sur la plante	14
4.1. Production des antibiotiques (ATB)	14
5. Induction d'un systeme du resistance	15
6. Intret agronomique des PGPR	16
7. L'amelioration de la qualite du sol	16
8. Tolerance aux stress	16
9. Definition des endophytes	17

9.1.Applications pour l’agriculture	18
9.2. Classification des endophytes	18
9.2.1.Les endophytes de classe 1	19
9.2.2. Classe 2	20
9.2.3.Classe 3	20
9.2.4. Classe 4	20
10. La relation enter les endophytes et les rhizospheres	21
CHAPITRE 02 : MATERIEL ET METHODE	
1. Presentation du materiel vegetal (<i>STIPATENACISSIMA</i>)	23
2.Presentation de la zone du prelevement(tebessa)	24
3.Prelevement des echantillons du sol et des racines	25
4.Analyse des parametre physico-chimiques du sol	25
5.Isolement des bacteries	26
5.1. Preparation des milieux et mise en culture	26
5.1.1.Les series de dilution	26
5.1.2. Stockage et preservation	26
6.Preparation de ssouches	26
6.1.Test de solubilisation du phosphate	27
6.2. Test de solubilisation de fer sur milieu phosphate modifie	27
6.3. Test de solubilisation de potassium	27
6.4.Test de solubilisation de calcium	28
6.5.Test de production d’IAA	28
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	

1. Analyse chimique de sol	31
2. Isolements de souches pures	31
3. Test solubilisation du phosphate	31
4. Test de solubilisation du fer	33
5. Test solubilisation du potassium (k)	34
6. Test solubilisation du calcium (ca)	34
7. Test de production IAA	36
Conclusion	41
Références bibliographiques	43
Annexes	

Liste des figures

TITRE (SOURCE)	PAGE
Fig 01 : Structure des PGRP	01
Fig 02 : Les actions des PGPR	02
Fig 03 . Interrelations de diverses formes de sol K	07
Fig 04 : Fonctions biologiques des sidérophores	10
Fig 05 : Les différents Rôle des PGPR	17
Fig06 : Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés	18
Fig 07 : Structure Morphologique des stipa	24
Fig08 : Carte géographique de la zone d'échantillonnage	24
Fig09 : Prélèvementsdes échantillons du sol de la rhizosphère et les racines	25
Fig10 :pH méttre	25
Fig11 : Les milieux de culture et Les séries de dilutions	26
Fig12 :Solubilisation du phosphate par les isolats testés	32
Fig13 : Histogramme des indices de solubilisation des phosphate par les isolat testés	32
Fig14 : Histogramme du test de solubilisation de Fer	33
Fig15 : solubilisation du calcium sur milieu Pikovskaya	34
Fig 16 :Histiogrmetest de solibilisation de fer sur milieu phosphate modifie	35
Fig 17 : Test de production d'IAA	36
Fig 18 : Histogramme test de solubilisation production IAA	36
Fig 19 : Dendrogramme montrant les différentes classes des isolats testés à un seuil de similarité égale à 30 %	37
Fig 20 : Heatmaps basé sur un double regroupement des paramètres étudiés et le comportement phénotypique des isolats.	39
Fig 21 : Figure representant un VENNDIAGRAMME illustrant les traits PGPR des isolats	40

Liste des tableaux

TITRE	PAGE
Tableau 01 : Subdivisions des endophytes de classe 1	19
Tableau 02 : Composition du milieu Aleksandrow	27
Tableau 03 : Composition du milieu après modification	28
Tableau 04 : composition du milieu et du réactif du test de production d'IAA	29
Tableau 05 : résultats de l'analyse chimique des sols étudiés	31
Tableau 06 : Analyse de la variance	33
Tableau 07 :Analyse de la variance	34
Tableau 08 : Analyse de la variance	35
Tableau 09 : Analyse de la variance	37

INTRODUCTION

Une plante poussant dans des conditions de terrain n'est pas un individu ; c'est une communauté complexe (**Lundberg et al., 2012**) avec des relations de partenariat relativement constantes. Un bien structuré et une communauté régulée de micro-organismes est toujours associée

avec la plante (Turner et al., 2013 ; Chaparro et al., 2014 ; Lebeis, 2014 ; Bulgarelli et al., 2015 ; Smith et al., 2015b). Cette communauté est le phytomicrobiome (Smith et al., 2017) ; la phytomicrobiome plus la plante est l'holobionte (Berg et al., 2016 ; Théis et al., 2016 ; Smith et al., 2017). Microbiome des relations existent avec tous les organismes multicellulaires, et probablement tous eucaryotes. En fait, ceux-ci sont probablement antérieurs à la colonisation de la terre par les plantes (Berg et al., 2014). Cette communauté microbienne est associée aux plantes terrestres depuis leur plus jeune évolution, pour aider les premières plantes terrestres confrontées à des défis tels comme l'accès aux nutriments, les conditions nouvelles et souvent stressantes et pathogènes (Smith et al., 2015a).

Il existe des éléments (y compris des bactéries et des champignons) de la phytomicrobiome associé à toutes les grandes structures végétales (fleurs, fruits, tiges, feuilles et racines) (Berg et al., 2016). Cependant, les conditions varient considérablement entre ces structures, conduisant à des populations microbiennes spécialisées habitant chaque un. La communauté microbienne associée aux racines (la rhizomicrobiome), est le plus peuplé et le plus élaboré de tous celles associées aux plantes supérieures. Les mieux compris et exemple caractérisé est le rhizobium fixateur d'azote associé avec des légumineuses (Gray et Smith, 2005). De nombreux membres de la le phytomicrobiome ne peut pas être cultivé et ce n'est que depuis l'avènement de la métagénomique (Hirsch et Mauchline, 2012) et méthodes connexes que nous sommes en mesure d'évaluer comment l'adhésion est modifié par les conditions, le génotype de la plante (Delaplace et al., 2015 ; Poli et al., 2016 ; Wintermans et al., 2016) et le développement des plantes. La plante exerce un contrôle considérable sur la composition du rhizomicrobiome (Zhang et al., 2017). Les racines produisent des exsudats de diverses compositions (Chaparro et al., 2012 ; Trabelsi et Mhamdi, 2013), qui peut être plus approprié comme source de carbon réduit, à certains microbes qu'à d'autres. La plante aussi produit des composés signal qui recrutent des espèces spécifiques et régulent leurs activités génétiques et biochimiques (Nelson et Sadowsky, 2015; Massalha et al., 2017 ; Smith et al., 2017). De plus, la communauté microbienne du sol entreprend diverses aspects de l'autorégulation (Leach et al., 2017). Les microbes peut produire des composés de détection de quorum pour communiquer quand conditions justifient un changement physiologique collectif (Chauhan et al., 2015). Les plantes ont évolué pour répondre au quorum microbien détecter des composés et produire des analogues, fournissant des plantes avec un autre niveau de régulation sur le rhizomicrobiome (OrtizCastro et al., 2009).

Enfin, il apparaît maintenant que il existe un certain degré de hiérarchie au sein du phytomicrobiome et qu'il existe des membres clés, appelés «espèces centrales» (Agler et al., 2016) ou « espèces noyaux » (Toju et al., 2018), dont les activités sont régulées par les plantes, et les

espèces centrales régulent à leur tour activités au sein du phytomicrobiome. La plupart des espèces de noyau ont fait probablement partie du phytomicrobiome depuis très longtemps , permettant le développement de leur position centrale (**van derHeijden et Hartmann, 2016**).

Dans le sol, il existe un gradient d'intimité entre les racines des plantes et les microbes s'étendant loin de la racine de la plante : le degré de l'influence des plantes sur la communauté microbienne augmente plus près la surface racinaire .Cette zone est désormais généralement désignée à la rhizosphère, cependant, le terme a été inventé à l'origine par **Hiltner (1904)** pour décrire les micro-organismes du sol autour et à l'intérieur des racines. Maintenant, les microbes vivant à la surface des racines sont dit habiter le rhizoplan, et ceux qui vivent à l'intérieur de la racine sont dits endophytes (**Gray et Smith, 2005 ; Zhang et al., 2017**).

Mitochondries et plastes (dont les chloroplastes) représentent certains des aspects les plus anciens et les plus intimes de la phytomicrobiome. Ils ont évolué à partir de microbes associés aux plantes dans les structures subcellulaires permanentes que nous voyons aujourd'hui. Notre compréhension actuelle du phytomicrobiome a mis en évidence deux aspects principaux. Tout d'abord, nous savons de façon choquante peu à ce sujet (**Quiza et al., 2015**). Deuxièmement, les relations nous avons étudié entre les membres du rhizomicrobiome et les plantes ont montré qu'il existe un énorme potentiel à exploiter cette communauté d'organismes pour augmenter la production de larécolte mondiale (**Barea, 2015 ; Nehra et Choudhary, 2015 ; Smith et al., 2015b**). Cette synthèse est une mise à jour concernant le rôle des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) dans l'agriculture, de leur collecte à la commercialisation en tant que produit commercial à faible coût intrant agricole. Bien que nous reconnaissons également la valeur du PGPR en tant qu'un outil de bioremédiassions.

Notre travail consiste à isoler des bactéries regroupant des traits PGPR, a partir des racines et rhizosphere du végétale *Stipa tenacissima*, poussant dans une région caractérisée par des conditions d'environnement extrême et d'un important taux de pollution par les métaux lourds.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. DEFINITION PGPR

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. D'après **Kloepper (1993)**, les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, se multiplier et être compétitif vis-à-vis des autres micro-organismes, tout en stimulant la croissance des plantes. Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extracellulaire (**Gray et Smith, 2005**). Au niveau intracellulaire, les bactéries sont dites endophytiques et colonisent l'apoplaste. Ces bactéries font parties de la famille des Rhizobiums. Généralement symbiotiques, ce sont notamment les PGPR spécialisées dans les structures nodales des Fabaceae. Au niveau extracellulaire, elles sont localisées en surface ou à proximité des racines, elles sont donc rhizosphériques (**Vessey, 2003**).



Fig 01 : Structure des PGRP(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 bio agresseurs par compétition (**Glick, 2012 ; Souza, 2015**)

Les PGPR sont des bactérie qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effet on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (**Dey et al., 2004 ; Herman et al., 2008 ; Microrsky, 2008**). Ces bactéries sont utilisées en agriculture pour la biofertilisation des sols (**Glick, 1995**) en fixant l'azote

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

atmosphérique qui pourra être par la suite utilisé par les plantes, améliorant leur croissance lorsque l'azote du sol est limitant. La fixation biologique de l'azote, joue un rôle majeur dans le cycle de l'azote. Les bactéries fixatrices d'azote possèdent un complexe enzymatique, appelé nitrogénase, qui assure la réduction de l'azote moléculaire en ammoniacque (Glick, 1995). Ces bactéries présentent une très grande diversité dans leur mode de vie et leur association avec les végétaux. Elles peuvent induire la croissance des plantes par la promotion directe ou indirecte (Verma et al., 2010). Les bactéries PGPR peuvent avoir un impact positif sur les plantes de manière directe ou indirecte .

L'effet phytobénéfiques direct des bactéries PGPR peut correspondre à (i) une augmentation de la qualité de nutriments disponibles (fixation libre de l'azote, solubilisation du phosphate, etc.) (Dobbelaere et al., 2003), (ii) une augmentation de la microstructuration du sol rhizosphérique qui retient alors mieux l'eau ,(iii) une modification de l'équilibre hormonal de la plante (production de phytohormones, désamination du précurseur de l'éthylène, etc.) (Glick et al., 1998 ; Dobbelaere et al., 2003), et (iv) l'induction d'une réponse systémique chez la plante, de type ISR (InducedSystemicResistance) ou plus rarement SAR (SystemicAcquiredResistance).

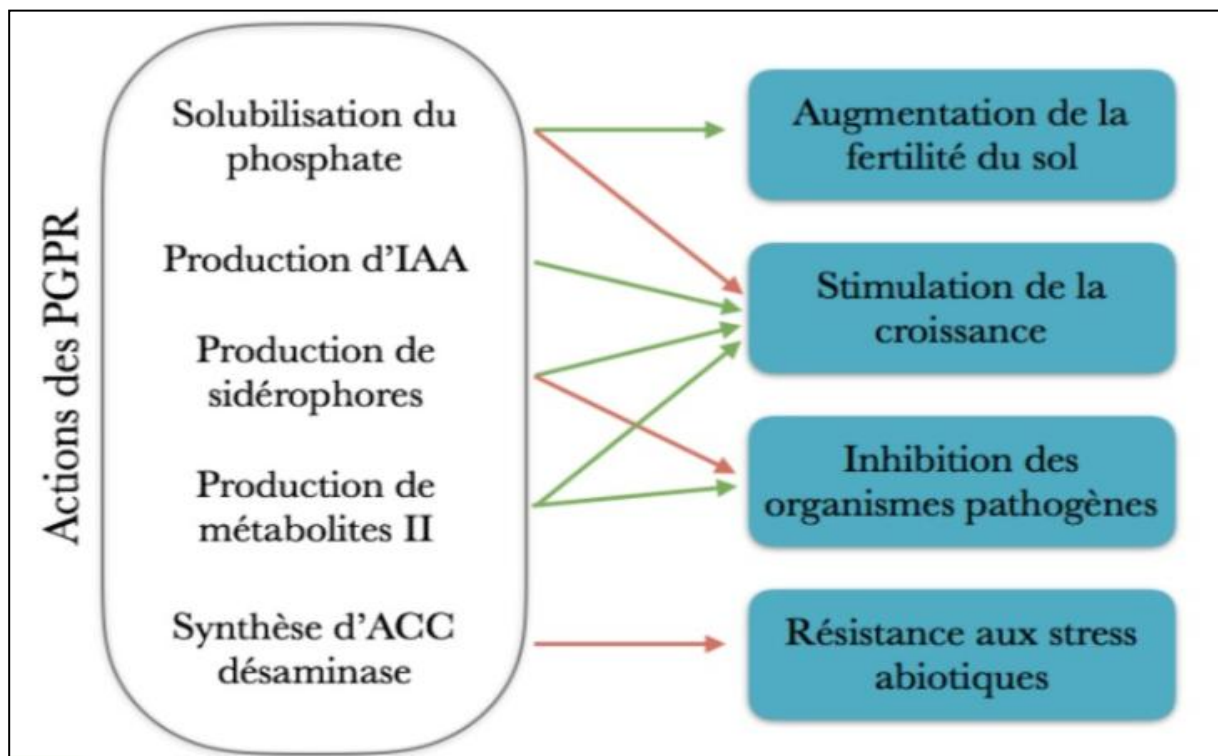


Fig 02 : Les actions des PGPR(Dobbelaere et al., 2003)

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. PHYSIOLOGIE PGPR

Diverses souches de PGPR ont été utilisées avec succès pour les inoculations des cultures. Celles-ci comprennent les membres bactériens du genre *Azospirillum* (Cassan et al., 2008), *Bacillus* (Jacobsen et al., 2004), *Pseudomonas* (Loper et al., 2007), *Rhizobium* (Long, 2001). Ces bactéries sont connues pour s'associer avec les racines de blé, les graminées tropicales, le maïs, et d'autres céréales (Okon et Hadar, 1987; Lindberg et Granhall, 1984). Les *Azospirillum* spp. ont été identifiés principalement comme bactéries de la rhizosphère, et leur mécanisme de coloniser la rhizosphère a été étudié par divers chercheurs (Steenhoudt et Vanderleyden, 2000). L'association entre les plantes et les bactéries bénéfiques montrent une réponse protectrice sous conditions restrictives de l'environnement. Le blé soumis au stress salin a montré une croissance plus forte lorsqu'il est inoculé avec *Azospirillum*, par rapport aux plantes non-inoculées. Cet effet favorable peut être appliqué directement ou indirectement, sur la physiologie des plantes. La production des métabolites microbiens comme les polysaccharides modifie la structure du sol et présente un effet positif sur les plantes cultivées en stress hydrique. L'inoculation peut favoriser l'allongement de la racine (Dobbelaere et al., 1999), le développement des racines latérales et adventives (Creus et al., 2005; Molina-Favero et al., 2008), les poils absorbants (Hadas et Okon, 1987) et la ramification des poils racinaires (Jain et Patriquin, 1985). Ces réponses de développement de la morphologie racinaire sont déclenchées par des phytohormones synthétisées par les rhizobactéries.

Les différents traits physiologiques (formation de spores, sécrétion de métabolites secondaires (antibiotiques, enzymes extracellulaires, etc.), leur membrane cellulaire, etc.) des *Bacillus* leur permettent de survivre dans différents environnements, ce qui en fait un genre intéressant à utiliser comme PGPR. Il est possible de cultiver plusieurs *Bacillus* à partir de différents sols, car les bactéries formant des endospores en condition aérobie sont ubiquitaires dans l'écosystème des agricoles (Dobbelaere et al., 1999),

1.2. EFFET DIRECT DES PGPR SUR LA PLANTE

Cette partie fait la synthèse des connaissances de l'effet PGPR d'*Azospirillum* sur la croissance des plantes. Cette synthèse concerne principalement les effets directs de phytostimulation d'*Azospirillum*.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.2.1.FIXATION D'AZOTE

Plusieurs genres bactériens ont été décrits comme étant capables de fixer l'azote atmosphérique, dans le sol et également lors de la symbiose associative avec la plante. En conditions de micro-anaérobiose, ces bactéries convertissent l'azote atmosphérique en ammoniac grâce à l'action de la nitrogénase. La nitrogénase est une enzyme complexe formée de deux sous-unités : la dinitrogénase qui est une protéine à fer et à molybdène (NifHDK) et la dinitrogénase réductase qui est une protéine à fer (NifH) et qui transfère les électrons d'un donneur à la nitrogénase (**Burris et Roberts, 1993**). Chez *Azospirillum*, ces gènes peuvent être soit chromosomiques, soit plasmidiques (**Blaha et al., 2005**). La plupart des études concourent à démontrer que les niveaux d'azote fixé transférés vers la plante sont très faibles (**Rao et al., 1998**). Ce mécanisme semble moins efficace en comparaison avec la symbiose fixatrice d'azote ayant lieu dans les nodosités (**Mylona et al., 1995**). Ceci peut être imputé aux conditions d'anoxie partielle qui ne sont pas suffisantes pour un fonctionnement optimal de la nitrogénase, dont l'activité est inhibée en présence d'oxygène. Des fusions entre nifH et des gènes rapporteurs démontrent toutefois que ce gène est bien exprimé lors de l'association d'*Azospirillum* avec le blé (**Vande Broek et al., 1993**). **26 Wood et al., (2001)** suggèrent que l'incapacité de la plante à libérer suffisamment de carbone dans la rhizosphère serait une contrainte importante dans le développement de symbioses associatives efficaces sur le plan de la fixation de l'azote. Cette hypothèse provient de l'observation qu'une addition de malate dans l'association in vitro entre *Azospirillum brasilense* et le blé provoque une augmentation de 48 fois la quantité d'azote fixé transférée au végétal. Des plantes sécrètent plus d'exsudats offrent donc une perspectives d'utilisation des symbioses associatives fixatrices d'azote dans des systèmes agricoles qui seraient plus autonomes vis-à-vis de la nutrition azotée

Le cycle de l'azote peut être simplifié de la manière suivante: l'azote atmosphérique est fixé par des bactéries fixatrices d'azote. Une fois l'azote dans sa forme fixée, l'ammoniac (NH_3) se transforme en NH_4^+ grâce à des ions H^+ retrouvés dans le sol. L'ammonium (NH_4^+) peut être assimilé directement par les plantes ou transformé en nitrate par des bactéries nitrifiantes. Le nitrate (NO_3^-) peut être par la suite assimilé par les plantes ou retransformé en N_2 et retourné dans l'atmosphère par des bactéries dénitrifiantes

Le cycle de l'azote permet donc aux plantes d'acquérir l'azote sous ses deux formes assimilables (NH_4^+ ou NO_3^-) par la fixation de l'azote atmosphérique. Les micro-organismes qui fixent l'azote le font à l'aide d'un complexe protéique conservé lors de l'évolution : l'enzyme nitrogénase

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

(Mylona et al.,1995). La nitrogénase catalyse la réaction suivante : $N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16 ATP \sim 2 NH_3 + 16 ADP + 16 Pi$ Cette réaction est irréversible et demande beaucoup d'énergie. La nitrogénase peut être classée dans quatre familles selon la nature de son centre actif(Leaungvutiviroj,2010).

La famille la plus commune et la mieux étudiée est la nitrogénase, dont son centre actif est composé de [7Fe-9S-1Mo-Xhomocitrate] : la nitrogénase Mo-dépendante (Igarashi, R Y. et Seefeldt, L C (2003). La forme conventionnelle est donc la forme contenant le molybdène (Mo) en son centre actif. Deux autres alternatives sont aussi retrouvées soit le Mo est remplacé par du vanadium (vnfH) , soit le Mo est substitué par du fer (anfH) (Zehr, J. P.2003). La nitrogénase que possède *Streptomyces thermoautotrophicus* constitue la quatrième famille, car cette nitrogénase est composée d'une CO-déhydrogénase et d'une oxydoréductase manganèse-dépendante (Ribbe M.,1997). Malgré le fait que les nitrogénases contenant du vanadium ou du fer dans leur centre actif soient génétiquement différentes de la nitrogénase avec le molybdène, des études biochimiques et génétiques ont indiqué que les trois enzymes possèdent des sous-unités et des cofacteurs similaires (Rubio, L.2008).

1.2.2.-SOLUBILISATION DU PHOSPHATE

La croissance végétale peut être favorisée indirectement par une meilleure fertilité du sol en éléments nutritifs de base (N, P, K) et en oligoéléments. Le phosphore (P) est, avec l'azote et le potassium, un des principaux facteurs limitants de la croissance végétale. Bien que le P 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 ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) sans apport exogène d'engrais minéral. Il existe pour cela des bactéries capables de solubiliser le phosphore inorganique, dites phosphate-solubilizingbacteria (PSB) (Zaidi et al., 2012). 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. Par exemple, la PQQ, pour PyrroloQuinoline Quinone, intervient dans la production d'acide gluconique (Van Schie et al., 1987). 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 (Gerke, 2015). Leur hydrolyse permet la libération de P inorganique sous forme de groupement phosphate.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Des bactéries du genre *Pseudomonas*, *Bacillus*, par exemple, ont été identifiées comme contenant des phytases (Konietzny et Greiner, 2004).

Le fer (Fe) fait partie des oligoéléments essentiels des végétaux. Il est présent de manière abondante dans les sols sous sa forme ferrique (Fe^{3+}). Or, à l'instar du P, cette forme est peu soluble et difficile à acquérir par les plantes (Morrissey et Guerinot, 2010). Son absorption nécessite alors un transporteur. Certaines bactéries sont capables de libérer des sidérophores, des molécules de faible poids moléculaire ayant une forte affinité pour le fer (Neilands, 1995). Ces sidérophores peuvent former des complexes sidérophore- Fe^{3+} pour extraire, chélater et transporter le fer à proximité des racines. Ce complexe est reconnu au niveau racinaire par des récepteurs protéiques spécifiques, où il peut être absorbé (Morrissey et Guerinot, 2010). Les plantes produisent elles-mêmes des phytosidérophores, les PGPR permettent donc de renforcer ce mécanisme. Enfin, les bactéries dites diazotrophes sont capables de convertir le diazote atmosphérique (N_2) en ammoniac (NH_3). Bien que les plus courantes soient les bactéries en symbiose avec les légumineuses, *LES RHIZOBIUMS*, il existe également des bactéries diazotrophiques non symbiotiques du genre *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* ou *Klebsiella* (Dobbelaere et al., 2003).

Les souches bactériennes appartenant au genre *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Rhizobium* sont parmi les meilleurs pour la solubilisation.

1.2.3. SOLUBILISATION DU POTASSIUM

Nourrir une population mondiale croissante, qui devrait atteindre 9 milliards d'ici 2050, adopter des méthodes de production plus efficaces et durables, répondre aux préoccupations croissantes concernant la gestion des ressources naturelles et s'adapter au changement climatique et aux conditions de sécheresse dans plusieurs régions en développement (notamment en Europe, l'Asie centrale et la Corne de l'Afrique) font partie des défis importants auxquels l'agriculture sera confrontée au XXI^e siècle (Haub et al., 2012).

Afin de nourrir la population mondiale croissante, l'agriculture doit être intensive et durable à l'avenir. Cependant, il est bien connu que la production alimentaire par l'agriculture ne peut être généralement soutenue que si les éléments nutritifs retirés du sol à la suite d'une production agricole accrue sont remplacés. De nombreux sols agricoles manquent d'une quantité suffisante d'un ou de plusieurs éléments nutritifs essentiels pour les plantes, de sorte que la croissance des

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

plantes n'est pas optimale. Pour éviter ce problème et obtenir des rendements plus élevés, les agriculteurs sont de plus en plus dépendants des sources chimiques d'engrais (Glick, 2012). Bien que les engrais chimiques aient aidé les plantes à pousser, ils n'ont pas amélioré les propriétés du sol. Il est bien connu que l'utilisation constante d'engrais chimiques, principalement des engrais phosphorés, azotés et potassiques, a des effets néfastes sur l'environnement (Adesemoye et Kloepper, 2009)

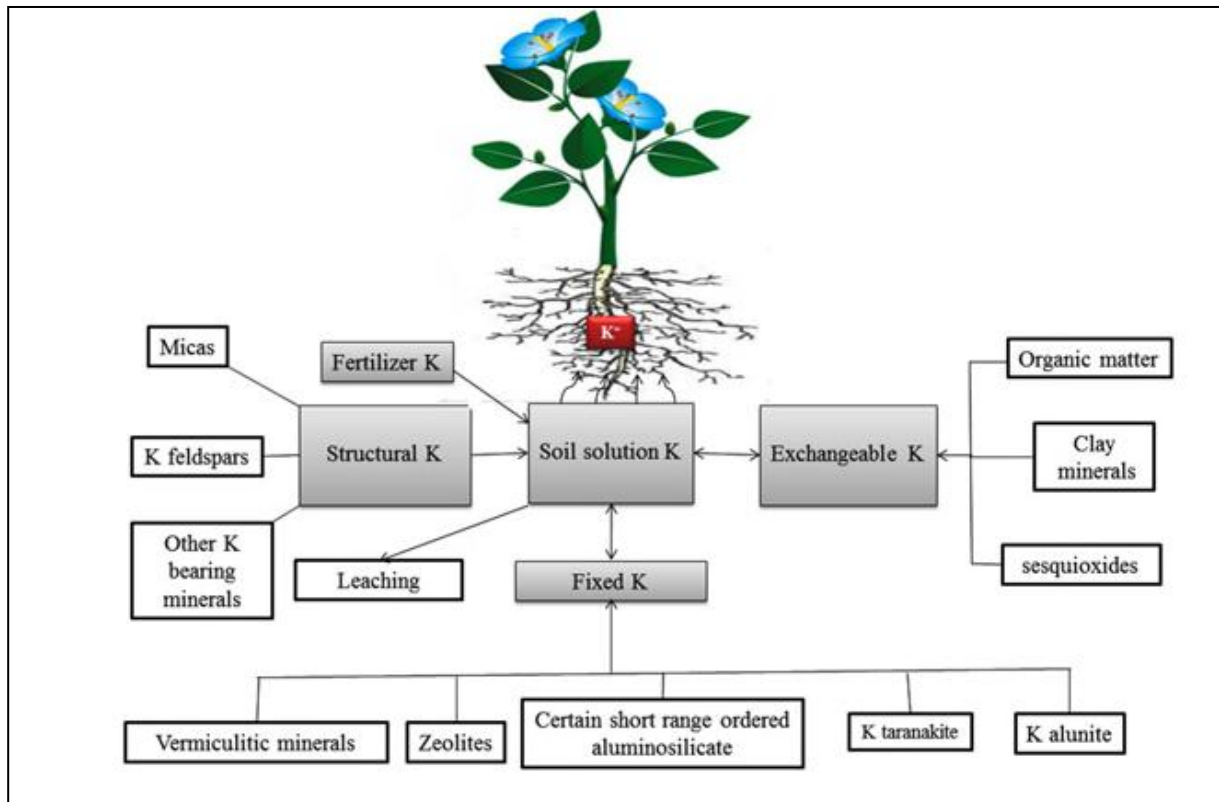


Fig3. Interrelations de diverses formes de sol K (Sparks et Huang, 1985).

La solubilisation du K est effectuée par un large éventail de bactéries saprophytes, de souches fongiques et d'actinomycètes (Ahmadetal., 2016 ; Bakhshandeh et al., 2017 ; Gundala et al., 2013 ; Meena et al., 2014). Il existe des preuves solides que les bactéries du sol sont capables de transformer le K du sol en formes disponibles pour planter efficacement (Meena et al., 2015a ; Meena et al., 2014 ; Meena et al., 2016).

2.Mecanismes d'action de BSK dans la solubilisation de K

Actuellement, il existe peu d'informations disponibles sur les mécanismes par lesquels KSB peut solubiliser les minéraux contenant du potassium et libérer du potassium pour améliorer la croissance et le rendement des plantes. On pense généralement que les micro-organismes

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

contribuent à la libération de K^+ des minéraux porteurs de K par plusieurs mécanismes. Le H^+ libéré peut directement dissoudre le minéral K à la suite de libérations lentes de K échangeable, K échangeable facilement disponible. Comme cela se produit dans le cas de la solubilisation du P, le mécanisme principal de solubilisation du minéral K est la production d'acides organiques et inorganiques et la production de protons (mécanisme d'acidolyse) (Maurya et al., 2014 ; Meena et al., 2014 ; Meena et al., 2015b ; Parmar et Sindhu, 2013 ; Sheng et al., 2003 ; Sheng et al., 2008 ; Uroz et al., 2009), qui sont capables de convertir le K insoluble (mica, muscovite et feldspath biotite) en formes solubles de K, facilement assimilables par la plante (Hu et al., 2006 ; Meena et al., 2014 ; Mo et Lian, 2011).

Les types de divers acides organiques tels que l'acide oxalique, les acides tartriques, l'acide gluconique, l'acide 2-cétogluconique, l'acide citrique, l'acide malique, l'acide succinique, l'acide lactique, l'acide propionique, l'acide glycolique, l'acide malonique, l'acide fumarique, etc. ont été rapportés dans KSB, qui sont efficaces pour libérer le K des minéraux contenant du K (Hu et al., 2006 ; KeshavarzZarjani et al., 2013 ; Krishnamurthy, 1989 ; Liu et al., 2012 ; Prajapati et al., 2012 ; Prajapati et al., 2013 ; Saiyad et al., 2015 ; Sheng et He, 2006). Il est également connu que le type d'acide organique produit par KSB peut être différent. Parmi les différents acides organiques impliqués dans la solubilisation du K insoluble, l'acide tartérique, l'acide citrique, l'acide succinique, l'acide α -cétogluconique et l'acide oxalique sont les acides les plus importants libérés par KSB (Meena et al., 2014).

3.EFFET DE KSB SUR LA CROISSANCE ET LE RENDEMENT DES PLANTES

Avec l'introduction de variétés de cultures à haut rendement et l'intensification progressive de l'agriculture, les sols s'épuisent en stock de K à un rythme plus rapide. L'inoculation de graines et de semis de différentes plantes avec KSB a généralement montré une amélioration significative du pourcentage de germination, de la vigueur des semis, de la croissance des plantes, du rendement et de l'absorption de K par les plantes dans des conditions de serre et de champ (Anjanadevi et al., 2016; Awasthi et al., 2011 ; Lynn et al., 2013 ; Meena et al., 2015a ; Meena et al., 2014 ; Subhashini et Kumar, 2014 ; Zhang et al., 2013 ; Zhang et Kong, 2014). Par exemple, Lin et al. (2002) ont observé une augmentation de 125 % de la biomasse, alors que l'absorption de K et de P était supérieure à 150 % dans le plant de tomate en raison de l'inoculation de la souche RCBC13 de bactéries dissolvant les silicates *B. mucilaginosus* par rapport aux plants non inoculés. Parmar (2010) a montré que l'inoculation de l'isolat K-solubilisant HWP47 dans le blé (*Triticumaestivum* L.) var. WH711 a provoqué une augmentation de 51,46 % du poids sec des

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

racines (RDW) dans le sol 60 jours après le semis en pots. De même, une augmentation de 44,28 % du poids sec des pousses (SDW) a été trouvée dans les plantes inoculées avec HWP47. L'ajout de matériau rocheux ainsi que l'inoculation de l'isolat HWP47 ont montré une augmentation de 22,35 % du RDW et de 73,68 % du SDW. Les isolats HWP15 et HWP47 ont également provoqué une absorption importante de K dans les tissus des pousses. De même, **Badar et al. (2006)** ont rapporté que l'application de KSB avec des minéraux contenant du potassium et du phosphore sur le sorgho a amélioré le rendement en matière sèche de 48 %, 65 % et 58 % ; absorption de phosphore de 71 %, 110 % et 116 % ; et l'absorption de K de 41 %, 93 % et 79 % dans les sols argileux, sablonneux et calcaires, respectivement.

Comme rapporté par des chercheurs précédents, l'inoculation avec KSB a également exercé des effets bénéfiques sur la croissance du coton et du colza (**Sheng, 2005**), de l'aubergine (**Han et Lee, 2005**), du poivron et du concombre (**Han et Lee, 2006 ; Sangeeth et al., 2012**), arachide (**Youssef et al., 2010**), maïs (**Abou-el-Seoud et Abdel-Megeed, 2012 ; Leungvutiviroj et al., 2010 ; Singh et al., 2010**), sorgho (**Badr et al., 2006**), blé (**Sheng et He, 2006**), herbe du Soudan (**Basak et Biswas, 2012 ; Basak et Biswas, 2010**), sorgho (**Badr et al., 2006**), thé (**Bagyalakshmi et al., 2012**), gombo (**Prajapati et al., 2013**), la pomme de terre (**Abdel-Salam et Shams, 2012**) et la tomate (**Lynn et al., 2013**). Ces études indiquent que l'utilisation de KSB comme bio-engrais pour l'amélioration de l'agriculture peut réduire l'utilisation de produits agrochimiques et soutenir une production végétale respectueuse de l'environnement (**Archana et al., 2013 ; Archana et al., 2012 ; Prajapati et al., 2013**).

3.1.PRODUCTION SIDEROPHORES

Le mot sidérophore vient du grec, signifiant sideros : fer et phore : porteur. Les sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 Daltons (**Neilands, 1995**). Ils sont utilisés pour solubiliser les ions ferriques par les microorganismes aérobies. Comme les bactéries, certains champignons, mais aussi les organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) répondent aux conditions de carence en fer (**Ratledge et Dover, 2000**). Les quelques exceptions sont les bactéries anaérobies et certaines levures telles que *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* (**Neilands, 1987, Lesuisse et Labbe, 1989, Howard, 1999**). Cependant, ces levures peuvent utiliser des sidérophores produits par d'autres organismes (**Neilands, 1987**). Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et l'environnement aquatique (**Guerinot, 1994**). Dans la rhizosphère, on estime que la concentration de sidérophores varie de

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

quelques micromoles à quelques milli molaies (**Hersman et al., 1995**). Les sidérophores sont également importants pour la virulence (**Ratledge et Dover, 2000**).

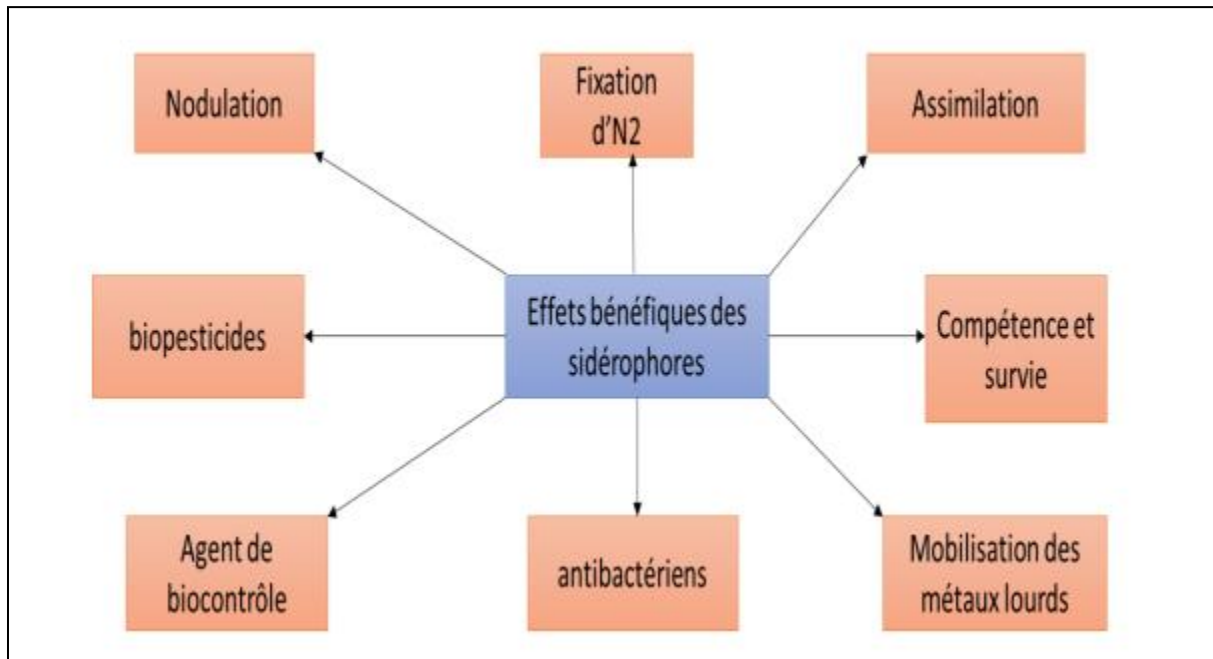


Fig4 : Fonctions biologiques des sidérophores(Moustaine et al., 2017).

3.2.PRODUCTION DES PHYTOHORMONES

Ce mécanisme comprend la stimulation bactérienne des phytohormones (auxine ou cytokinine). Cela permet à la plante de développer un système racinaire abondant lui permettant notamment de coloniser une plus grande surface de sol, et améliorer l'état nutritionnel des plantes (**Beauchamp, 1993; Klopper, 1993, Ramos et al., 2009**)

Les phytohormones sont des molécules naturellement produites par les plantes, qui peuvent avoir pour effet de stimuler ou d'inhiber la croissance végétale. Les phytohormones qui interviennent dans la stimulation de la croissance regroupent les molécules de trois familles principales, les auxines, les cytokinines et les gibbérellines (Bouriquet,) Certaines PGPR sont capables de produire ces hormones.

Les auxines d'origine végétale sont connues pour inhiber la croissance du bourgeon terminal, mais sont également impliquées dans la croissance et la différenciation cellulaire. Elles participent à l'élongation et à la prolifération cellulaire, à la rhizogenèse et autres organogenèses, ainsi qu'à la transcription (**Bohn-Courseau, 2010 ; Bouriquet**). L'IAA, pour acide indole -3-acétique, est l'auxine majoritaire dans les plantes et la plus étudiée (**Bohn-Courseau, 2010**). Lorsqu'elle est synthétisée par les bactéries , elle a deux fonctions principales . L'IAA bactérienne stimule

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

l'augmentation de la surface et de la longueur racinaire , donnant accès à la plante à un volume d'exploration du sol important pour une meilleure acquisition des éléments nutritifs (**Glick, 2012**). Cependant, une production excessive d'IAA peut inhiber la croissance racinaire et entraver le développement normal de la plante (**Xie et al., 1996**). Deuxièmement, l'IAA permet un relâchement des parois cellulaires au niveau des racelles afin de faciliter les exsudations, sources d'énergie pour le développement bactérien (**Glick, 2012**). Elle intervient également dans la germination.

Le rôle des gibbérellines s'exprime principalement dans l'élongation cellulaire au niveau des méristèmes, induisant l'élongation des tiges et la croissance racinaire. Elles interviennent également dans la levée de la dormance et l'induction florale (**Nambara, 2013**). Des bactéries peuvent produire des gibbérellines en tant que métabolites secondaires , intervenant dans les voies de signalisation des interactions plante -bactérie(**Bottini et al., 2004**). Dans ce cas, la gibbérelline permet de stimuler la croissance aérienne et racinaire et de maintenir la structure de la plante («vigueur») (**Bottini et al., 2004**). Les cytokinines, en combinaison avec l'auxine, servent à la prolifération des tissus via la stimulation de la division cellulaire, de l'organogenèse et de la différenciation de certains organes (**Nambara, 2013**). Enfin, ces molécules interviennent dans le ralentissement du vieillissement des feuilles (Bouriquet). Les phytohormones ont ainsi un rôle direct sur la croissance végétale, mais peuvent aussi intervenir dans d'autres voies métaboliques et de signalisation.

3.3.ACIDE ACETYLE INDOLE AIA

Les PGPR peuvent directement influencer la croissance des plantes, soit par la production de phytohormones (auxines, gibbérellines, etc.) ou par la promotion de l'accès aux nutriments. Les bactéries vivant en association avec les plantes ou dans la rhizosphère sont plus aptes à prospérer à partir des substrats excrétés par les racines des plantes et ainsi convertir les différents substrats en hormones ou autres substances bénéfiques à la croissance des plantes(**Addison, S.L.,2010**). La production de phytohormones par les rhizobactéries pouvant aider à la croissance des plantes représente une caractéristique importante dans l'association plante-rhizobactérie.

La famille des auxines est une importante famille de phytohormones de croissance.(**Kochar, M 2011**) L'acide-indole-acétique (IAA) est l'auxine la plus naturellement distribuée chez les plantes vasculaires, les mono et dicotylédones, les filicophyta et les gymnospermes L'IAA est impliqué dans presque tous les aspects de la croissance et du développement chez la plante (**Srivastava, L.M. (2002)**) et est connu pour être impliqué dans l'initiation des racines, la division et

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

l'élargissement cellulaire .La production d'IAA a été détectée chez plus de 80 % des bactéries en provenance de la rhizosphère. Cependant, la 15 documentation de la production d'IAA par les bactéries Gram positive est rare (**Shahab, S. and Ahmed, N. (2011)**) Parmi les espèces bactériennes capables de produire de l'IAA, on retrouve les genres *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Bacillus* (**Yuan, C-L.,2011**)

La biosynthèse d'IAA chez les différentes rhizobactéries peut être influencée par plusieurs facteurs environnementaux, tels que le pH acide, le stress osmotique ou la limitation de carbone (**Spaepen,S,2007**) Une étude faite sur la composition de la rhizosphère chez le soya résistant au glyphosate a démontré une modification de la rhizosphère de même que le potentiel à produire de l'IAA chez les rhizobactéries(**Zobiolo, L.H.S.,2011**)Plusieurs VOies de synthèse existent et leur utilisation varie selon le micro-organisme étudié. Il est possible qu'un micro-organisme possède plus d'une voie de biosynthèse. Le tryptophane a été identifié comme le précurseur de la biosynthèse de l'IAA. Les différentes voies de synthèse sont classées selon les intermédiaires entre le tryptophane et l'IAA.

3.4. PRODUCTION DE CYTOKINES :

Les micro-organismes du sol qui colonisent les racines et favorisent la croissance des plantes représentent un sous-ensemble de bactéries de la rhizosphère appelées rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou PGPR (**Kloepper et al.1989**). Les PGPR peuvent produire des effets directs ou indirects sur les plantes hôtes. Les effets indirects sont ceux liés à la production de métabolites, tels que les antibiotiques, les sidérophores ou le HCN,qui augmentent la croissance des plantes en diminuant les activités des agents pathogènes ou des micro-organismes délétères. Les PGPR peuvent produire des effets directs sur la croissance des plantes en produisant des métabolites, tels que les régulateurs de croissance des plantes (PGR) qui favorisent directement la croissance des plantes, ou en facilitant l'absorption des nutriments par la plante (**Kloepper 1993 ; Glick 1995**). Les informations sur la production microbienne de PGR et leurs effets sur la croissance des plantes sont limitées et se concentrent principalement sur l'éthylène et les auxines (**Arshad et Frankenberger 1993 ; Glick 1995**).Production de cytokinines par des bactéries phytopathogènes telles que *Agrobacterium* et *Pseudomonas* spp. est bien connue (**Akiyoshi et al. 1987**). Cependant, il a été rapporté que les PGPR, y compris *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*spp. synthétisent des cytokinines en culture pure (**Nieto et Frankenberger 1989 ; Arshad et Frankenberger 1993 ; Timmusk et al. 1999**),qui agissent comme PGR et influencent les processus physiologiques et de

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

développement des plantes tels que la division cellulaire, la germination des graines, le développement des racines, l'accumulation de chlorophylle, l'expansion des feuilles et le retard de la sénescence (**Salisbury et Ross 1992**). Les cytokinines endogènes sont synthétisées dans les racines et transloquées vers les pousses dans le xylème. Ils jouent un rôle dans la communication racine à pousse, et leurs niveaux peuvent changer à mesure que les fonctions racinaires et les conditions du sol changent (**Patrick 1987; Rubery 1987**). et **Frankenberger 1993**). Le but de cette étude était de démontrer la production de cytokinine par plusieurs souches de PGPR en culture pure et de caractériser quantitativement la synthèse de trois métabolites de cytokinine par une souche de *Pseudomonas fluorescens*, G20-18, un mutant spontané résistant à la rifampicine (RIF) de G20-18, et deux mutants dérivés de *TnphoA* avec une capacité réduite à synthétiser des cytokinines qui augmentent la croissance des plantes en diminuant les activités des agents pathogènes ou des micro-organismes délétères. Les PGPR peuvent produire des effets directs sur la croissance des plantes en produisant des métabolites, tels que les régulateurs de croissance des plantes (PGR) qui favorisent directement la croissance des plantes, ou en facilitant l'absorption des nutriments par la plante (**Kloepper 1993 ; Glick 1995**). Les informations sur la production microbienne de RPG et leurs effets sur la croissance des plantes sont limitées et se concentrent principalement sur l'éthylène et les auxines (**Arshad et Frankenberger 1993 ; Glick 1995**). Production de cytokinines par des bactéries phytopathogènes telles que *Agrobacterium* et *Pseudomonas* spp. est bien connue (**Akiyoshi et al. 1987**). Cependant, il a été rapporté que les PGPR, y compris *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* spp. synthétisent des cytokinines en culture pure (**Nieto et Frankenberger 1989 ; Arshad et Frankenberger 1993 ; Timmusk et al. 1999**), qui agissent comme RPG et influencent les processus physiologiques et de développement des plantes tels que la division cellulaire, la germination des graines, le développement des racines, l'accumulation de chlorophylle, l'expansion des feuilles et le retard de la sénescence (**Salisbury et Ross 1992**). Les cytokinines endogènes sont synthétisées dans les racines et transloquées vers les pousses dans le xylème. Ils jouent un rôle dans la communication racine à pousse, et leurs niveaux peuvent changer à mesure que les fonctions racinaires et les conditions du sol changent (**Patrick 1987; Rubery 1987**). et **Frankenberger 1993**). Le but de cette étude était de démontrer la production de cytokinine par plusieurs souches de PGPR en culture pure et de caractériser quantitativement la synthèse de trois métabolites de cytokinine par une souche de *Pseudomonas fluorescens*, G20-18, un mutant spontané résistant à la rifampicine (RIF) de G20-18, et deux mutants dérivés de *TnphoA* avec une capacité réduite à synthétiser les cytokinines.

3.5. STIMULATION DES ACIDES GIBBERELLIQUES

Le rôle de la gibbérelline se manifeste principalement dans l'allongement cellulaire au niveau du méristème, induisant l'élongation de la tige et la croissance des racines. Les bactéries peuvent produire de la gibbérelline en tant que métabolite secondaire et participer à la voie de signalisation de l'interaction plante-bactérie. La gibbérelline aide à stimuler la croissance aérienne et racinaire et à maintenir la structure de la plante. De nombreux PGPR sont connus pour produire de la gibbérelline pour favoriser la croissance des racines et des parties aériennes, augmentant ainsi la vigueur des semis, d'où un meilleur rendement alimentaire (Grover *et al.*, 2020).

4. EFFET DE BIOCONTROLE SUR LA PLANTE

4.1. PRODUCTION D'ANTIBIOTIQUES (ATB) :

Certains composés synthétisés par les PGPR et isolés à l'origine pour leur activité antifongique. Par conséquent, l'effet de l'induction de la pyocyanine lors du traitement des plantes de tomates avec *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 a été rapporté (Audenaert *et al.*, 2002). D'autre part, certaines bactéries Gram positives, telles que *Bacillus spp* ont prouvé leur capacité à stimuler les mécanismes de défense des plantes, mais en général, la nature n'est pas claire (Kloepper *et al.*, 2004). Au cours des années passées, les composés organiques volatils, en particulier le 2,3-butanediol, étaient les seuls déterminants connus chez *Bacillus* (Ping et Boland, 2004). En effet, l'inoculation des semences avec certaines bactéries agronomiques importantes peut provoquer des modifications structurelles des parois végétales : lignification des parois cellulaires végétales, dépôt de callose, accumulation de composés phénoliques (Ward *et al.*, 1991, Conrath *et al.*, 2015). L'inoculation des plantes avec des bactéries PGPR peut également provoquer des changements physiologiques et biochimiques, conduisant à la synthèse de protéines et à la production de produits chimiques impliqués dans les mécanismes de défense des plantes : l'accumulation de la protéine PR « Pathogenesis Related » (représentant un groupe de protéines produites par les végétaux dont la production est fortement induite lors de l'infection), la synthèse de phytoalexines et la production accrue d'enzymes lytiques (Pieterse *et al.*, 2016). Pendant longtemps, l'induction d'une résistance systémique s'est avérée efficace pour contrôler les champignons qui affectent les racines des plantes et les parties aériennes (Van Peer *et al.*, 1991, Leeman *et al.*, 1995). Ces mécanismes sont également impliqués dans la lutte contre diverses bactéries et virus (Maurhofer *et al.*, 1992, Boro *et al.*, 2011)

La sécrétion de substances antibiotiques est un phénomène très courant dans la nature. Les bactéries de la rhizosphère PGPR produisent beaucoup d'antibiotiques. Plusieurs études récentes

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

ont montré que les antibiotiques sont un mode d'action des agents de lutte biologique. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté des résultats très encourageants, indiquant que les antibiotiques sont un mode d'action pour la plupart des agents de lutte biologique (**Ghadbane, 2014**). La production d'antibiotiques est un critère très important pour mesurer la compétitivité des microorganismes avec d'autres populations de microorganismes (**Compant et al., 2005**). Elle consiste à lutter contre les phytopathogènes terrestres (**Maurhofer et al., 1992**).

5. INDUCTION D'UN SYSTEME DE RESISTANCE

Les plantes sont exposées à un large éventail de stress environnementaux, tels que les températures élevées, le froid, la sécheresse, la salinité, l'alcalinité, la lumière ultraviolette et l'infection par des agents pathogènes. Le stress abiotique est la principale cause de perte de récolte mondiale, dépassant les 30 %. Parmi ces stress, la salinité est considérée comme l'un des principaux stress abiotiques qui limitent les rendements des cultures en raison de la réduction de la photosynthèse, de la respiration et de la synthèse des protéines. Le sel peut provoquer des troubles nutritionnels chez les plantes, entraînant un manque de plusieurs nutriments et une forte augmentation des niveaux de Na. Le principal effet du stress de la salinité est un stress hyperionique et hyperosmotique, qui peut provoquer un stress oxydatif des plantes dans les cas graves. Le stress oxydatif est à l'origine d'espèces réactives de l'oxygène ReactiveOxygenSpecies (ROS) qui sont nocives pour les plantes. Les ROS tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les ions superoxyde (O₂⁻), l'oxygène singulet (1O₂), le radical hydroxyle (OH⁻) etc. sont des molécules toxiques pour le métabolisme des plantes. Les ROS sont très réactifs et peuvent endommager les biomolécules telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Selon plusieurs chercheurs à travers le monde, l'application de PGPR dans les plantes affectées par le sel peut réguler les niveaux tels que le super oxyde dismutase (SOD), la Catalase (CAT), l'Ascorbate Peroxydase (APX), le Glutathion Réductase (GR) etc. Par exemple **Wang et al. (2012)**, ont rapporté que l'application d'une souche de PGPR *B. cereus* AR156 sur la tomate (*Lycopersicon esculentum*) sous un tel stress abiotique a montré une augmentation des activités de SOD, Peroxydase (POX) et CAT dans la plante, indiquant probablement une meilleure activation de la défense lorsqu'elle est traitée avec des PGPR. De plus, les PGPR provoquent une résistance systémique induite (RSI) (la RSI est une capacité de défense développée par la plante lorsqu'elle est stimulée par divers agents, y compris des rhizobactéries) chez les plantes en augmentant la résistance physique et mécanique de la paroi cellulaire et en modifiant les réponses physiologiques et biochimiques de l'hôte. Cela conduit à la synthèse de produits chimiques défensifs tels que la chitinase, la peroxydase et les protéines liées à la maladie. La L-proline (un acide aminé) est aussi

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

une importante molécule marqueur de stress qui s'accumule dans les tissus végétaux sous l'effet de plusieurs stress abiotiques, y compris le stress salin. Son accumulation augmente sous le stress salin, elle protège la structure repliée de la protéine de la dénaturation, stabilise les membranes cellulaires en interagissant avec les phospholipides, agit comme piègeur de radicaux hydroxyles, ou comme source d'énergie et d'azote. En général, la L-proline joue un rôle majeur dans l'ajustement osmotique des plantes (Goswami et al., 2016).

6. INTRET AGRONOMIQUE DES PGPR :

La performance des PGPR comme bio-fertilisant fait face à différents problèmes. Pour qu'un bio-fertilisant soit performant celui-ci doit être capable de compétitionner avec la flore indigène de la plante, rester stable dans le sol, survivre au différentes saison et changement de température. De plus, l'utilisation de bactérie non-sporulante apporte différents problèmes pour la formulation, la stabilité ainsi que l'entreposage du produit. Beaucoup de PGPR ont été testé pour leur potentiel comme bio-fertilisant pour la plupart les tests ont été effectués dans des conditions contrôlées. Cependant le manque de donnée sur l'écologie, la survie des PGPR ainsi que la rhizosphère de la plante contribue à l'utilisation peu efficace des PGPR dans les champs (Martinez-Viveros O.,2009)Le manque de constance des PGPR dans les différents types de sol ainsi qu'avec les différents cultivars jouent un rôle sur la faible utilisation des PGPR. Jusqu'à présent les bio-fertilisant qui ont démontré le plus de succès commercialement étaient à base de bactéries à gram positif sporulante(Martinez-Viveros O.,2009)

7.L'AMELIORATION DE LA QUALITE DU SOL

Les microorganismes du sol décomposent la matière organique soluble et insoluble et libèrent ensuite des éléments minéraux disponibles pour les plantes.*Induction de l'immunité* Certaines PGPR peuvent stimuler le système immunitaire des plantes et leur permettre une résistance contre certains virus, les champignons et même les bactéries pathogènes. Le phénomène est désigné ISR (InducedSystemicResistance) ou résistance systémique induite. *Augmentation de la biodisponibilité de certains éléments essentiels* Certaines PGPR produisent des sidérophores permettant la chélation du fer pour être ensuite absorbé par la plante ou une enzyme de type phytase permettant la solubilisation des phosphates. (Martinez-Viveros O.,2009)

8.TOLERANCEAUXSTRESS

Certaines PGPR produisent des enzymes ACC désaminase (1-aminocyclopropane-1- carboxylate), qui facilitent le développement des plantes en réduisant leur production d'éthylène (Hydrocarbure gazeux incolore). Les PGPR produisant cet enzyme peuvent ainsi soulager la plante de plusieurs stress causés par des infections, l'absorption de métaux lourds,

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

une salinité élevée et même la sécheresse (Macking, 2007). L'ensemble de ces activités fait des PGPR une alternative biologique et écologique intéressante à considérer par rapport aux différents produits chimiques de synthèse existants.

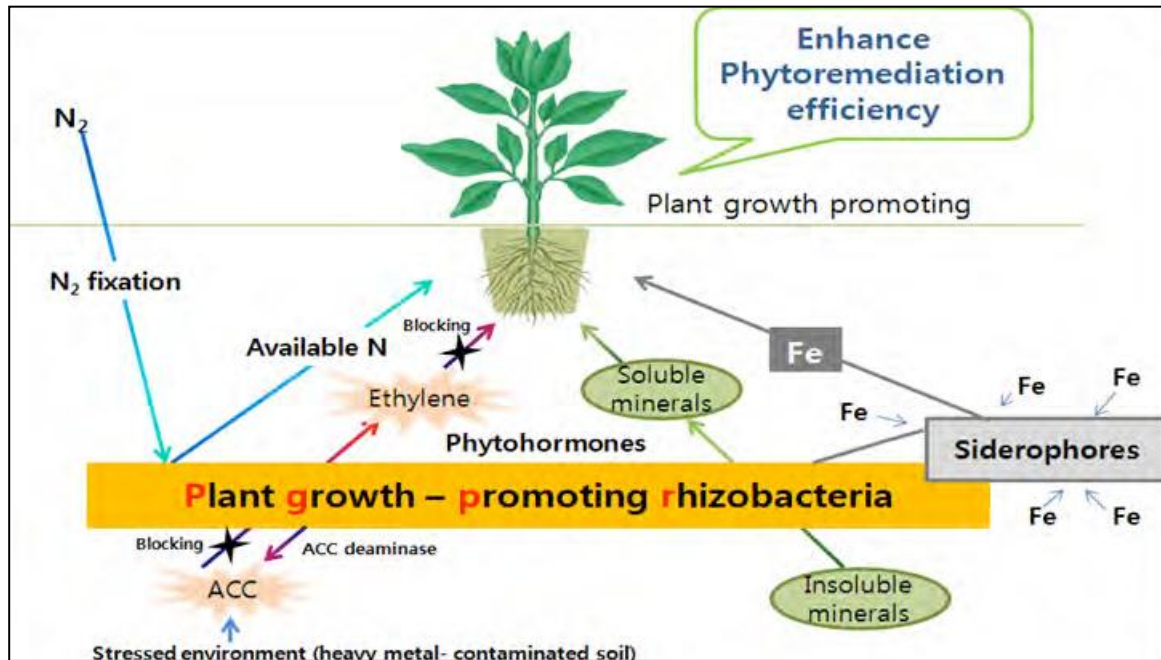


Fig 05 : Les différents Rôle des PGPR(Macking,2007)

9.DEFINITION DES ENDOPHYTES:

Un micro-organisme endophyte est défini par le fait qu'il passe au moins une partie de son cycle de vie à l'intérieur d'une plante. Les micro-organismes endophytes peuvent être des bactéries, des archées ou des champignons. Les niches écologiques au sein de la plante peuvent être très variables et dépendre de facteurs propres à la plante mais également de l'environnement extérieur. Les endophytes peuvent se trouver dans les espaces intercellulaires mais également de façon intracellulaire. Les endophytes ont de nombreuses fonctions dans la plante (Sahin *et al.*, 2004; Khan, 2005). Par exemple produire des phyto-hormones, aider dans l'assimilation de l'azote, entrer en compétition avec les pathogènes, produire des antibiotiques ou participer au recyclage de la matière. Les endophytes peuvent même protéger les plantes des animaux herbivores et des insectes. Par exemple le champignon *Epichloë festucae* var. *lolii* se développe à l'intérieur d'une plante herbacée (ray-grass anglais ; nom scientifique *Lolium perenne* L.) Faeth SH, Sullivan TJ. **Mutualistic** 2003. Certaines molécules produites par ce champignon sont toxiques pour les moutons qui mangent la plante hébergeant ce champignon. D'autres molécules produites par ce même micro-

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

organismes au contraire vont empêcher la prédation de la plante par des insectes. (Caporaso JG et al,2010)

Les endophytes peuvent être transmis par voie horizontale (depuis l'environnement ou via un vecteur comme un insecte) ou verticale (en étant associés à la graine). La présence d'endophyte est régulée par le système immunitaire de la plante. Une densité de micro-organismes trop importante peut conduire à l'activation de quorum-sensing et des mécanismes de virulence associés ce qui serait néfaste pour la plante.(Siqueira VM, Conti R, Araújo JM,2011)

9.1.APPLICATIONSPOURL'AGRICULTURE

Les endophytes peuvent être utilisés comme engrais naturels pour stimuler la croissance des plantes. Pour cela, des consortiums microbiens seraient plus efficaces que des souches isolées pour cette fonction. L'utilisation de micro-organismes endophytes permettrait de diminuer le recours aux engrais et pesticides chimiques. (Caporaso JG et al,2010)

9.2. CLASSIFICATION DES ENDOPHYTES

Les endophytes sont actuellement divisés en 4 classes Faeth SH, Sullivan TJ. Mutualistic 2003selon la famille de l'endophyte concerné, la localisation dans les tissus de l'hôte et le mode de transmission.(Siqueira VM, Conti R, Araújo JM,2011)

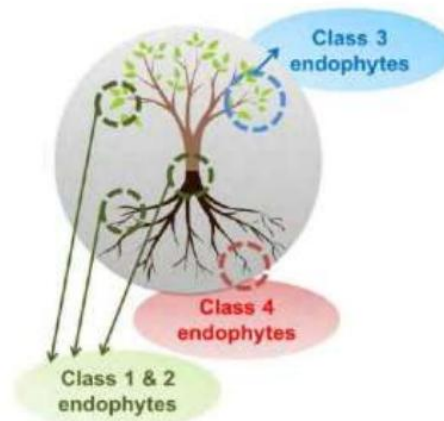


Fig06 : Les classes d'endophytes selon la localisation des tissus colonisés(Siqueira VM, Conti R, Araújo JM,2011)

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

9.2.1. LESENDOPHYTES DE CLASSE 1

Ils sont constitués par des champignons appartenant à la famille des Clavicipitaceae (Ascomycota) qui regroupe des champignons essentiellement parasites de plantes, d'insectes ou autres. Cette famille est constituée actuellement de 37 genres (Faeth SH, Sullivan TJ. *Mutualistic* 2003) dont quatre possèdent des espèces capables d'endophytisme : Balansia, Ephelis, Epichloë et Neotyphodium. Nous laisserons de côté l'endophytisme des espèces des genres Balansia et Ephelis, peu documenté. (Sahin et al., 2004; Khan, 2005)

Les endophytes issus des Clavicipitaceae, sont des champignons colonisant un spectre étroit d'hôtes, restreint aux plantes herbacées des familles Poaceae, Juncaceae et Cypéraceae. Les champignons capables d'endophytisme ne représentent qu'une petite partie des Clavicipitaceae. Ils sont majoritairement issus des genres Epichloë et Neotyphodium et colonisent les parties aériennes ainsi que le rhizome des plantes hôtes. Les racines ne sont pas colonisées. Ils forment des infections systémiques intercellulaires, dans le milieu apoplastique (Glick, 1995 ; Marques et al., 2010)

Les mycéliums ne sont que très rarement trouvés dans le faisceau vasculaire de l'hôte (Sahin et al., 2004; Khan, 2005)

Tableau 1 : Subdivisions des endophytes de classe 1 (Sahin et al., 2004; Khan, 2005)

	Symptomatic (Type I)	Mixed (Type II)	Asymptomatic (Type III)
Fungus:			
Reproduction	Sexual	Both	Clonal
Transmission	Horizontal	Both	Vertical
Propagule	Ascospores	Both	Seeds
Host:			
Reproduction	Sterile/clonal	Partial sterility	Sexual
Interaction	Pathogenic	Intermediate	Mutualistic
Infection frequency	Low-moderate	Intermediate	High
Taxonomy	Entire grass family	C3 pooid grasses	C3 pooid grasses

Les types I et II sont constitués par le genre Epichloë. L'infection par le champignon, après une phase asymptomatique, peut finir par provoquer des symptômes délétères sur l'hôte, lorsque le champignon atteint sa forme de reproduction sexuée et interrompt la floraison de la plante.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

9.2.2. CLASSE 2

Les endophytes de classe 2 sont tous issus de Dikarya. Ils sont en majorité constitués d'Ascomycota (uniquement des Pezizomycotina), mais ils comprennent également quelques représentants des Basidiomycota (Agaricomycotina, Pucciniomycotina) (**Siqueira VM, Conti R, Araújo JM, 2011**) Les champignons endophytes de classe 2 présentent un spectre d'hôte large. Ils peuvent coloniser toutes les parties de la plante et croissent de manière extensive dans le milieu intercellulaire principalement (**Shaharoon et al., 2008**).

La transmission est le plus souvent verticale, mais il y a parfois transmission horizontale, en particulier lorsque l'hôte est en sénescence : le champignon émerge de l'hôte et sporule. Certains de ces endophytes sont également saprophytes et peuvent coloniser le (**Glick, 1995 ; Marques et al., 2010**)

9.2.3. CLASSE 3

Ils sont tous issus de Dikarya. Ils sont en majorité constitués d'Ascomycota, en particulier les Pezizomycotina, (familles des Sordariomyceta, Dothideomyceta, Pezizomyceta, Leotiomyceta et Eurotiomyceta). On trouve également des Basidiomycota, plus souvent présents dans les tissus ligneux que dans les tissus foliaires Faeth SH, Sullivan TJ. Mutualistic 2003 (**Glick, 1995 ; Marques et al., 2010**).

9.2.4. CLASSE 4

Leur position phylogénétique n'est pas encore clairement établie. Ils appartiendraient aux Ascomycota du sous-embranchement des Pezizomycotina : en particulier les ordres des Pleosporales, Pezizales et **Kumar et al. (2014)**

Les endophytes de classe 4 présentent un spectre d'hôte large, bien qu'on les retrouve souvent associés à des arbustes ou arbres, en particulier les espèces de conifères (**Shaharoon et al., 2008**). Ils ne colonisent uniquement que les racines de la plante, de manière extensive. Ils sont caractérisés par la nature de leurs hyphes. Ces dernières sont septées et de couleur sombre de par la présence de mélanine. Ce sont les DarkSeptateEndophyte (DSE). Dans les racines, ces champignons forment de façon occasionnelle des micro-sclérotos et pour certaines espèces une structure similaire au réseau de Hartig, structure formée par les champignons ectomycorhiziens (**Siqueira VM, Conti R, Araújo JM, 2011**)

10. LA RELATION ENTER LES ENDOPHYTES ET LES RHIZOSPHERES

Les micro-organismes de la rhizosphère pourraient contribuer à la santé, à la croissance et à la productivité des plantes (**Cheng et al. 2020 ; Mendes et al. 2013**). Cependant, certains groupes microbiens importants, tels que *Pseudomonas* et *Bacillus*, ont diminué avec la profondeur du sol. Des études antérieures ont révélé que *Bacillus* manipule potentiellement le statut redox de l'hôte et contribue à surmonter une période critique du développement et de l'établissement des semis en raison de ses activités catalase élevées et de sa teneur en superoxyde (**Pitzschke 2016**). Les taxons dominants dans la couche supérieure du sol soutenaient la couche supérieure du sol en tant que site d'activité significative par rapport aux autres couches de sol. (**Shaharoon et al., 2008**).

CHAPITRE 02

MATERIEL ET METHODE

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. PRESENTATION DU MATERIEL VEGETAL (*STIPATENACISSIMA*)

L'alfa (*Stipa tenacissima* L.) est représenté dans la haute plaine de Midelt par des touffes en bon état et de grande taille pouvant atteindre parfois des hauteurs allant jusqu'à 1,20 m, avec une densité moyenne à forte. Il y constitue un écosystème steppique intramontagnard spontané, caractérisé par une bonne régénération qui témoigne de conditions topo-édapho-climatiques propices à sa croissance et à sa reproduction. (**BENSTITI F., 1974**).

L'approche climatique utilisée pour caractériser cette steppe de plaine (par opposition à la steppe de versant) est fondée sur deux critères climatiques : la pluviosité (et plus généralement les précipitations) et la température. Chacun des deux paramètres a été analysé sous différents angles en ayant recours à différents indicateurs. Ces critères ne sont pas les seuls facteurs climatiques agissant sur les conditions de vie de l'alfa et de son cortège d'espèces végétales steppiennes ; mais ils sont prédominants. (**Shaharoon et al., 2008**).

CLASSIFICATION SYSTEMATIQUE

- vulgaire: L'alfa.
- Nom scientifique: *Stipa tenacissima*
- Règne: Plantae
- Division: Magnoliophyta
- Classe: Liliopsida
- Ordre: Poales
- Famille: Poaceae
- Genre: *Stipa*
- Espèce: *Stipa tenacissima* (**BENSTITI F., 1974**)

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

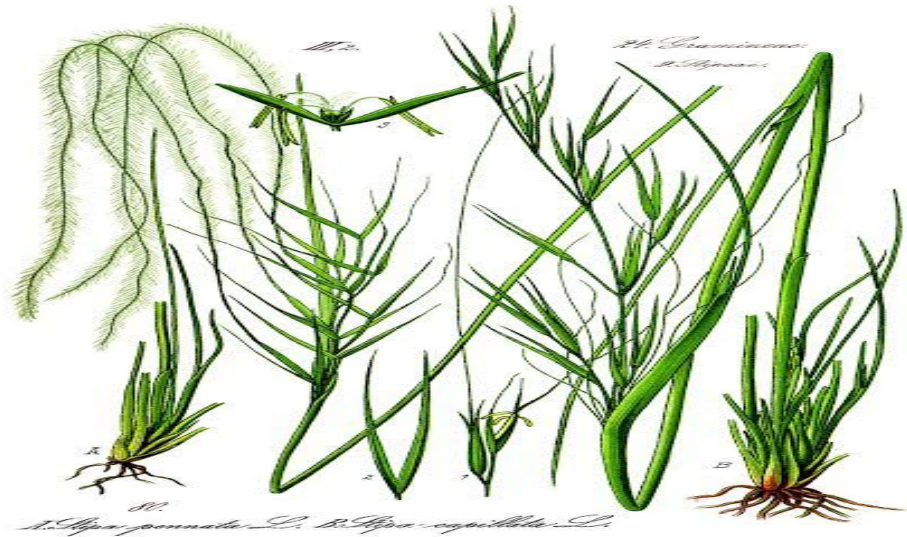


Fig07 : Structure Morphologique des stipa (BENSTITI F., 1974)

2.PRESENTATION DELAZONEDUPRELEVEMENT(TEBESSA)

La zone d'étude est située au Nord de la wilaya de Tebessa au niveau de la localité de Mesloula commune d'Elaouinet. La zone qui est connu comme un ancien dépôt des déchetsminier et caractériser par un couvert végétale spécifique avec un climat sec de long saison.

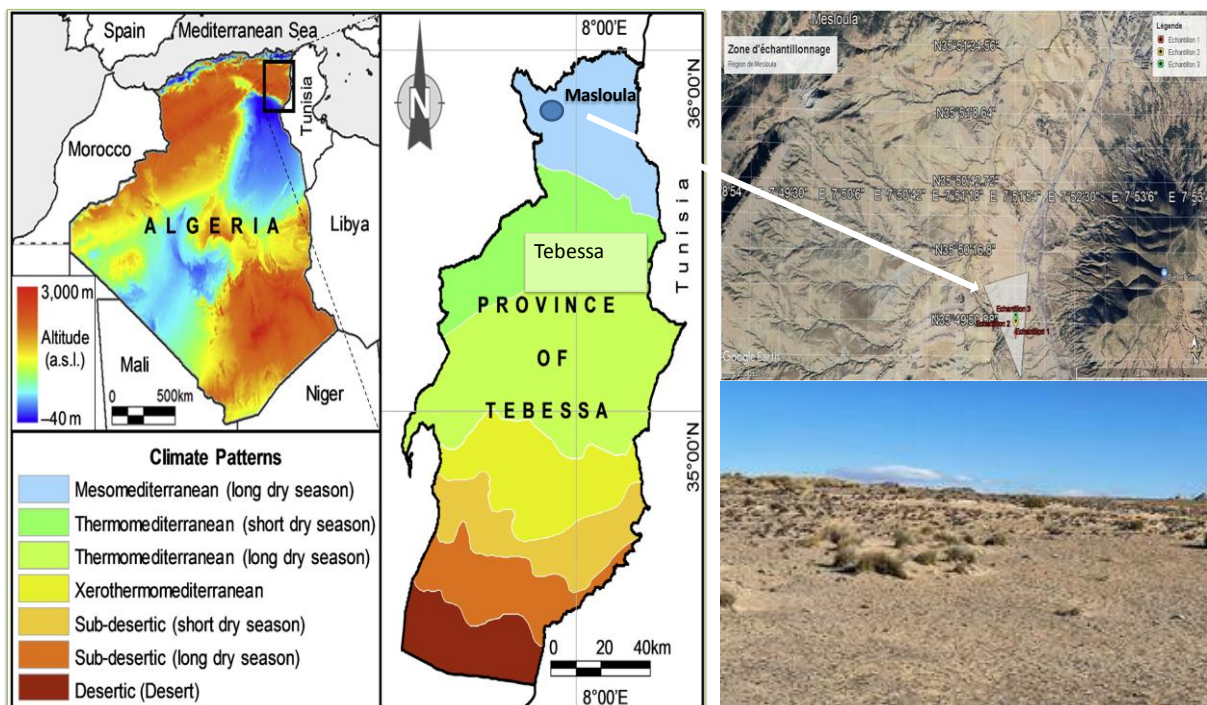


Fig08 : Carte géographique de la zone d'échantillonnage

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

3. prélèvement d'échantillons de sol et des racines

Prélèvement d'échantillons de sol et technique de prélèvement de racines consiste à enfoncer une cuillère stérile dans le sol à une profondeur de 10 à 20 cm près des racines et mettre les échantillons dans des flacons stériles et étiquetés. Sol spécial, puis couper les racines de 24 ciseaux [méthode matérielle] stériles et les mettre dans des récipients stériles et les racines étiquetées contiennent une petite quantité d'eau distillée stérile (2 ml), nous avons répété ce processus trois fois dans différentes régions du même site.



Fig09 : Prélèvements des échantillons du sol de la rhizosphère et les racines

4. analyse des paramètres physico-chimiques du sol

L'analyse physico-chimiques du sol est limitée aux mesures du pH et de la conductivité du sol en utilisant un pH mètre, cinq répétitions sont réservées pour chaque paramètre étudié.



Fig10 : pH mètre

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

5. ISOLEMENT DES BACTÉRIES

5.1. PRÉPARATION DES MILIEUX ET MISE EN CULTURE

5.1.1. LES SÉRIES DE DILUTION ;

A l'aide d'une micropipette, une série de dilutions (10^{-1} à 10^{-4}) a été préparée pour chaque échantillon en prélevant 1 g du sol et le plaçant dans 9 ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai stérile pour obtenir une dilution 10^{-1} , puis on répète la même opération en ajoutant 9 ml d'eau distillée à 1 ml de chaque dilution jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} .

La racine est stérilisée par du HgCl_2 pour assurer l'élimination des bactéries de la rhizosphère et en suit rincée par de l'eau distillée stérile dix fois pour éliminer les traces de HgCl_2 . Nous prenons une section longitudinale de la racine et la plaçons sur le milieu de culture.

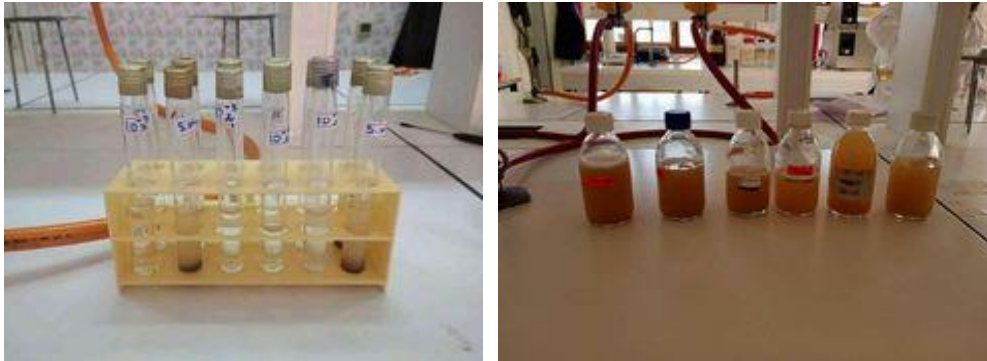


Fig11 : Les milieux de culture et les séries de dilutions

5.1.2. STOCKAGE ET PRÉSERVATION :

1 ml de chaque souche isolée sera conservé à -80°C dans des flacons Eppendorf additionnés de glycérol pour des études ultérieures (longue durée) ; Le reste de l'inoculum sera stocké dans des tubes à essai stériles à -4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les risques de variations pendant les différents tests. (Botton et al. 1990)

6. PRÉPARATION DES SOUCHES

22 isolats potentiels de cultures pures des endophytes et de la rhizosphère ont été choisis pour subir les différents tests, ces souches ont été repiquées sur le milieu NBRIP liquide et conservées à -4°C .

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

6.1. TEST DE SOLUBILISATION DU PHOSPHATE

Le test de solubilisation du phosphate était réalisé dans des boîtes de petri contenant le milieu NBRIP agar, et l'ensemencement est effectué par piqure directe sur le milieu en utilisant des cures dent stériles, quatre répétitions sont assurées pour chaque isolats, les boîtes ensemencées sont incubées à 28°C pour 3 jours.

La capacité de solubilisation est déterminée d'après l'existence d'un halo transparent autour des colonies bactériennes, qui correspond à la zone de lyse. Cette efficacité de solubilisation est estimée comme un indice : Diamètre de solubilisation / Diamètre de croissance. (Gonzalez et al, 2018 ; Abiala et al, 2015)

6.2. TEST DE SOLUBILISATION DE FER SUR MILIEU PHOSPHATE MODIFIÉ :

Ce test a été expérimenté sous une autre variante plus stressante du milieu de solubilisation du phosphate, en changeant la source de Fer, du SO_4 , 7HO_2 au Fe SO_4 , 7HO_2 utilisé dans les amendements agricoles pour exterminer les microorganismes pathogènes afin de vérifier la réaction des isolats testés face à ce stress abiotique.

6.3. TEST DE SOLUBILISATION DE POTASSIUM :

Le test de solubilisation du potassium était réalisé dans des boîtes de petri contenant le milieu Aleksandrow (Meena et al, 2013) et l'ensemencement est effectué par piqure directe sur le milieu en utilisant des cures dent stériles, quatre répétitions sont assurées pour chaque isolats, les boîtes ensemencées sont incubées à 28°C pour 3 jours.

Tableau 02 : Composition du milieu Aleksandrow (Meena et al, 2013)

Milieu Aleksandrow
Ingrédients g/l
- $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005
- Mica (source de K) 2,0
- Ca HPO_4 2,0
- Ca CO_3 2,0
- Fe Cl_3 0,1
- Glucose 5,0
- Eau distillée 1000 ml
pH 7,2±0,2

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

L'indice d'efficacité de solubilisation est estimé comme suit : Diamètre de solubilisation (zone claire) / Diamètre de croissance de la colonie bactérienne.

6.4. TEST DE SOLUBILISATION DE CALCIUM :

Le test de solubilisation du calcium était réalisé dans des boîtes de petri contenant le milieu (Pikovskaya, 1948), et l'ensemencement est effectué par piqure directe sur le milieu en utilisant des cures dent stériles, quatre répétitions sont assurées pour chaque isolat, les boîtes ensemencées sont incubées à 28°C pour 3 jours.

Tableau 03: Composition du milieu (Pikovskaya 1948) après modification

Milieu pikovskaya	
Ingrédients g/l	
- Mg SO ₄ · 7H ₂ O	0,005
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,05
- Na-InsP ₆	2.5
- NaCl	0.1
- KCl	0.1
- MnSO ₄ · 7H ₂ O	0.125
- FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.1
- Agar	7.5
- Glucose	5,0
- Eau distillée	1000 ml
pH = 7,2 ± 0,2	

6.5. TEST DE PRODUCTION D'IAA :

Les souches ont été inoculées dans un bouillon nutritif avec 500 µg ml⁻¹ de tryptophane, ces cultures ont été incubées à 28°C sous agitation constante de 150 t/min durant 4 jours, elles seront centrifugées à 13400 t/min pour une durée de 10 min, Le surnageant est mélangé avec le réactif de Salkowski avec un ratio de 2:1, le tout est incubé dans l'obscurité totale durant 75 min à une température ambiante, puis lu au spectrophotomètre à 525 nm.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 04: composition du milieu et du réactif du test de production d'IAA (Gonzalez et al, 2018)

Le Bouillon nutritif	Réactif de Salkowski
ingrédients g/l - Peptone 5,0 - Beefextract 3,0 - Eau distillée 1000 ml - pH 7,4+0,2	Ingrédients ml - Fe Cl 3 (0,5 M) - H 2 SO 4 150 - Eau distillée stérile 250

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

1.ANALYSECHIMIQUEDE SOL :

L'analyse chimique du sol a montré que les sols de la zones d'étude enregistre un pH qui varie entre $6,46 \pm 0,15$ et $6,85 \pm 0,11$ qui peut être qualifier de sol légèrement acide a neutre et d'une conductivité entre $1681,80 \pm 241,56$ et $1713 \pm 166,43$ très salin selon Bocoum,(2004) .

Tableau 05 : résultats de l'analyse chimique des sols étudiés

Echantillons	pH	Conductivité $\mu\text{S}/\text{cm}$
E1	$6,85 \pm 0,11$	$1713 \pm 166,43$
E2	$6,48 \pm 0,12$	$1445,60 \pm 183,97$
E3	$6,46 \pm 0,15$	$1681,80 \pm 241,56$

2.ISOLEMENTSDESSOUCHESPURES :

L'isolement des souches à partir des dilutions allant de 10^{-3} à 10^{-6} nous a permis d'isoler 22 isolats selon leur aspect macroscopique : couleur, forme, texture . Nous avons constaté une grande diversité de colonies dans le milieu utilisé(GN solide) réputés pour permettre la différenciation entre les espèces du genre des endophytes, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques.

3-TEST SOLUBILISATIONDUPHOSPHATE

La zone claire autour des colonies bactériennes est signe de solubilisation du P

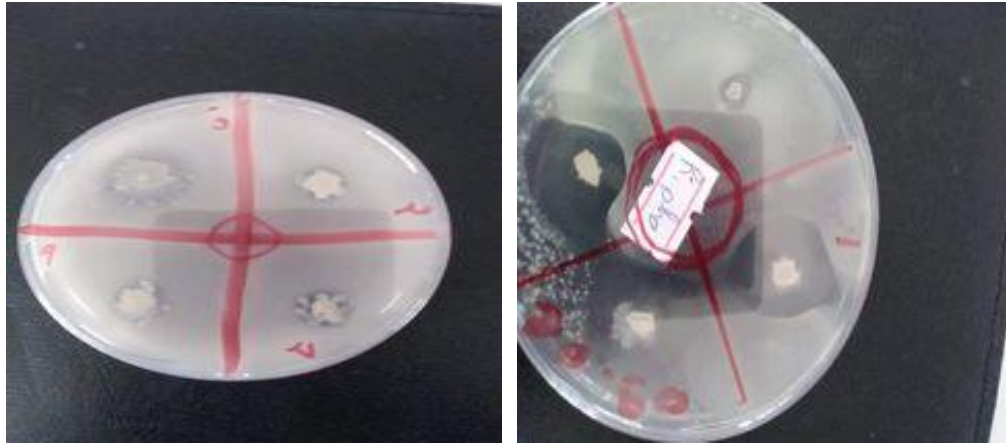


Fig12 :Solubilisation du phosphate par les isolats testés

Histogramme des indices de solubilisation de phosphates par les isolats testés révèle une différence entre les indices de SP enregistrés parmi les isolats 22 testés SE15 a montré le plus haut indices de solubilisation suivi des isolats SE21 qui enregistre la valeur plus basse.

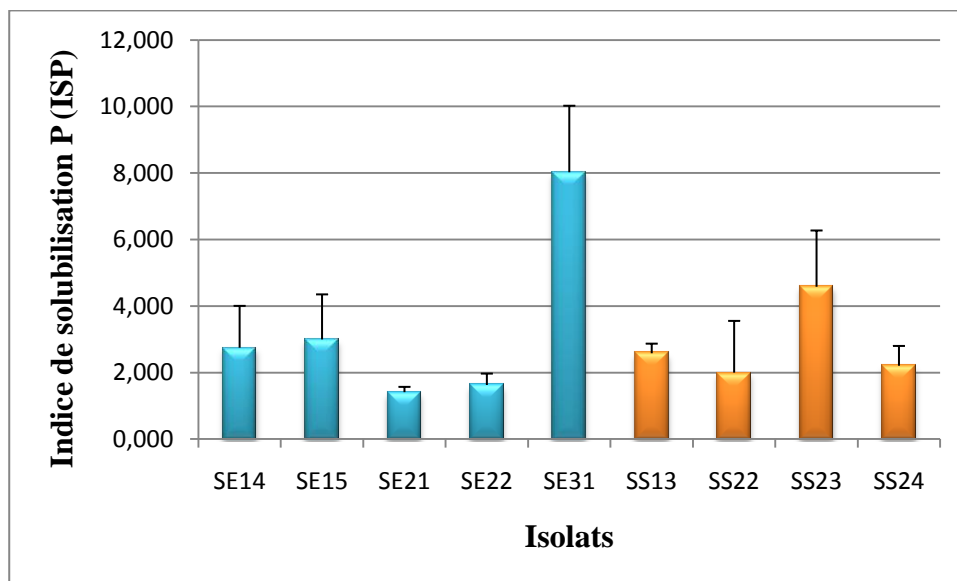


Fig13 : Histogramme des indices de solubilisation des phosphate par les isolat testés

L'analyse statistique révèle une différence non significative entre les indices de SP enregistrés ($P=0.077 >0.05$) par les 09 isolats (tableau06) qui ont montré un pouvoir de solubilisation.

Les micro-organismes solubilisant le phosphate stimulent la croissance des plantes par plusieurs mécanismes, notamment la solubilisation du P organique et la minéralisation du P inorganique,

qui libèrent du P soluble comme nutriment pour les plantes (Emami-Karvani et Chitsaz-Esfahani, 2021).

Tableau 06 :Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolats ISP	12	176,5	14,704	1,83	0.077 NS
Erreur	39	313,7	8,044		
Total	51	490,2			

4-TEST DE SOLUBILISATION DU FER

Cette variante du test de solubilisation du Fer on a pu observer la réaction de 11 isolats qui ont pu solubiliser le Fe à partir du milieu.

L'Histogramme des indices de solubilisation de Fe par l'isolat testés, fait ressortir une différence entre les indices de SFe enregistrés par les isolats parmi les 22 testés. Avec SE11 qui a montré le plus haut indices de solubilisation suivi des isolats SE14, SS22 qui ont marqué les valeurs les plus faible.

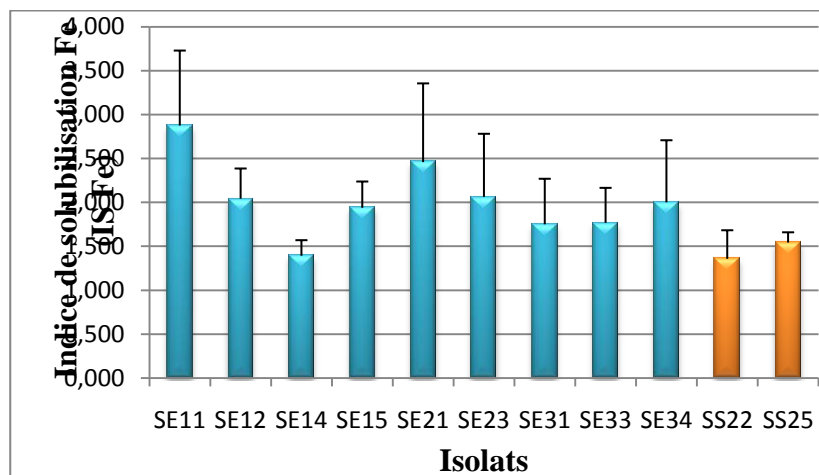


Fig14 : Histogramme du test de solubilisation de Fer

L'analyse statistique révèle une différence non significative ($P=0.085 < 0.05$) entre les indices de SFe enregistrés par les 09 isolats (tableau 06) qui ont montré un pouvoir de solubilisation.

La souche bactérienne *Enterobacter cloacae* solubilisatrice du fer pourrait être une nouvelle alternative pour favoriser la croissance et la santé des cultures de bananes (Macedo-Raygoza et al., 2019).

Tableau 07 :Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolats IS Fe	15	12,91	0,8607	1,69	0,085
Erreur	48	24,45	0,5093		
Total	63	37,36			

5-TESTSOLUBILISATIONDUPOTASIUM (K) :

L'ensemble des isolats en montre une réponse négative vis-à-vis la solubilisation du potassium.

6-TESTSOLUBILISATIONDU CALCIUM(Ca) :

La zone claire autour des colonies bactériennes est signe de solubilisation du calcium

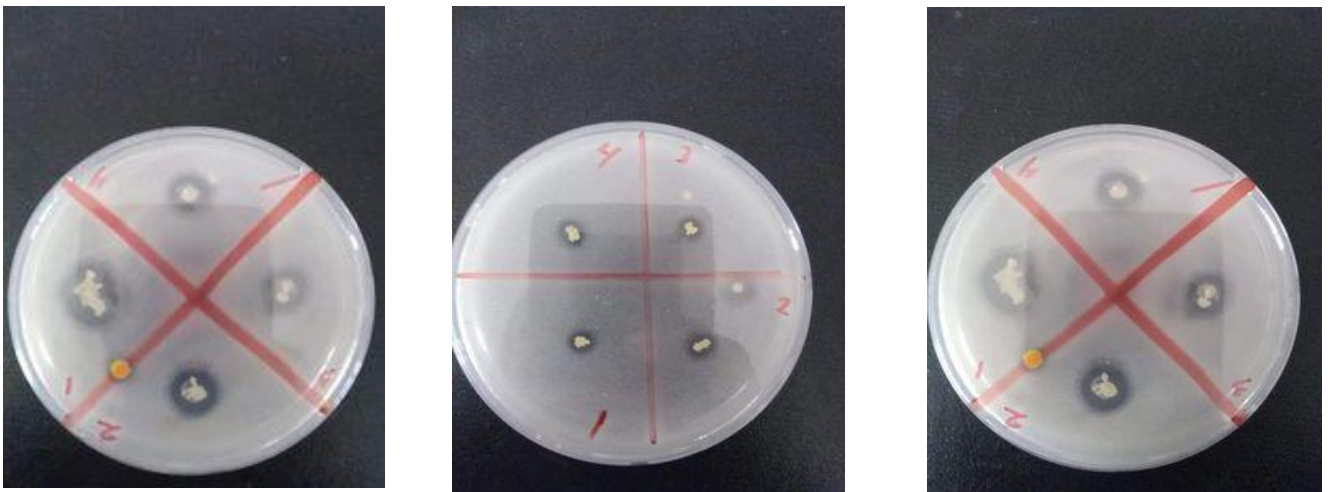


Fig15 : solubilisation du calcium sur milieu Pikovskaya

L'Histogramme des indices de solubilisation du calcium révèle une différence entre les indices enregistrés par les isolats parmi les 22 testés qui a montré le plus haute indices de solubilisation a été enregistré par l'isolatSS21 et la plus faible valeur est marquée par l'isolatSE34.

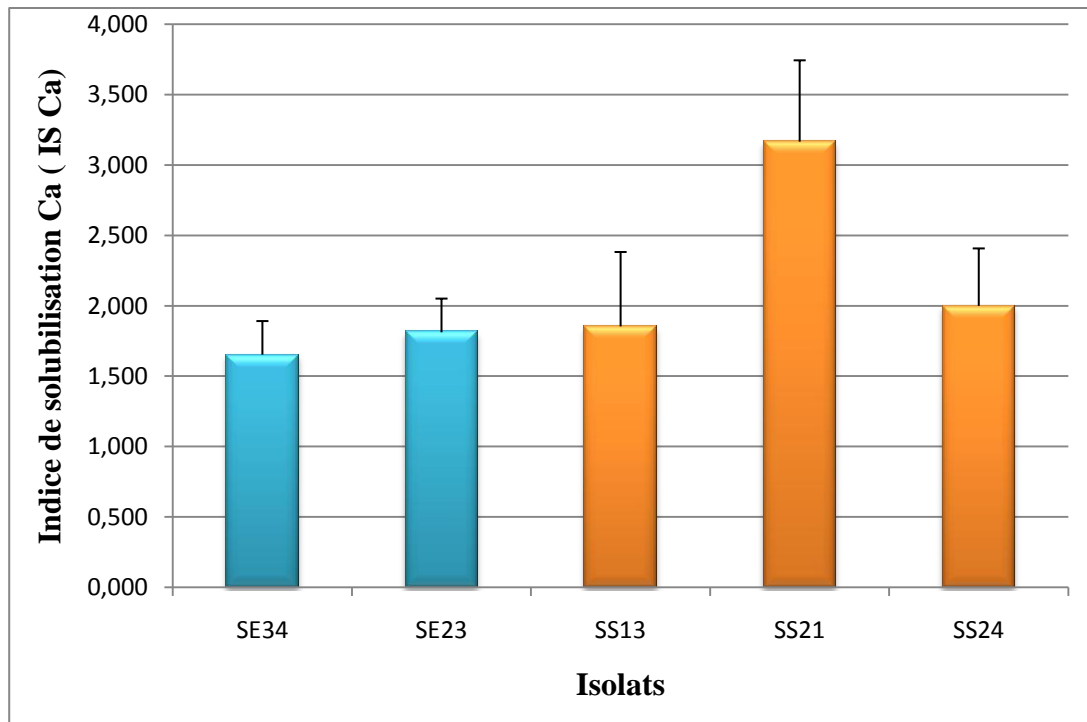


Fig16 :Histiogrammetest de solubilisationde fersur milieuphosphatmodifie

L'analyse statistique montre une différence non significative ($P=0,543 < 0.05$) entre les indices de Ca enregistrés par les 06 isolats (tableau08) qui ont montré un pouvoir de solubilisation.

des milieux avec des calcium solubles sont utilisés pour le criblage semi-quantitatif des bactéries solubilisant les calcium sur la base du halo de solubilisation formé autour des colonies. Nous montrons que le volume du milieu de culture (15, 20 et 30 mL) et la méthode d'inoculation (cure-dent vs microgoutte) influencent fortement le diamètre du halo de solubilisation, et ceci doit être considéré en amont pour la sélection des isolats les plus efficaces dans cette (Marra, L 2020)

Tableau 08 :Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolats IS Ca	6	3,965	0,6609	0,86	0,543 NS
Erreur	21	16,229	0,7728		
Total	27	20,194			

7. TEST DE PRODUCTION IAA

Le test qualitatif (figure 30) marqué par le virage de la couleur du milieu de culture après l'ajout du réactif de Salkowski du rosâtre au marron indique une nette production de l'IAA par les 22 isolats testés.

Ceci nous pousse à juger la production d'IAA comme l'une des caractéristiques principales des PGPR comme l'ont avancé Aeron et *al*, 2011, en signalant qu'environ 95% de la flore bactérienne de la rhizosphère produisent de l'IAA; ainsi, l'application de tels micro-organismes sur le terrain augmente les niveaux endogènes d'IAA de la plante et a donc un effet remarquable sur la croissance de cette dernière.

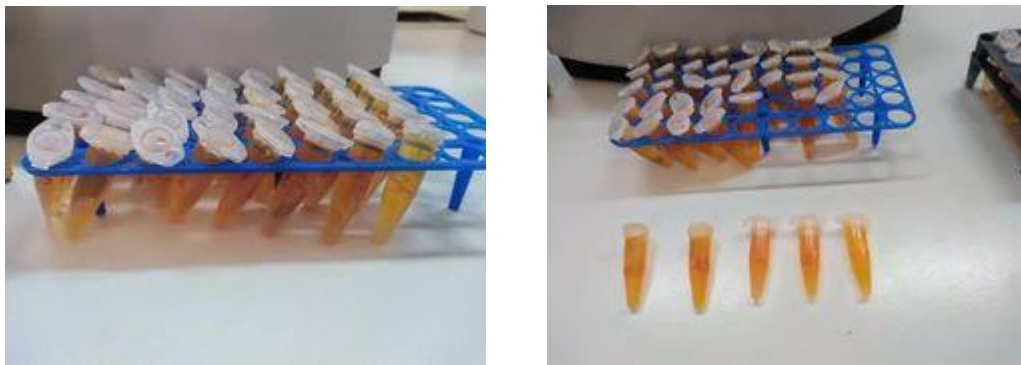


Fig17 : Test de production d'IAA

La Fig.18 représente la production en IAA des 22 isolats dont on peut remarquer que l'isolat SS31 est la meilleure productrice de phytohormones contrairement à l'isolat SE15 est la plus faible productrice.

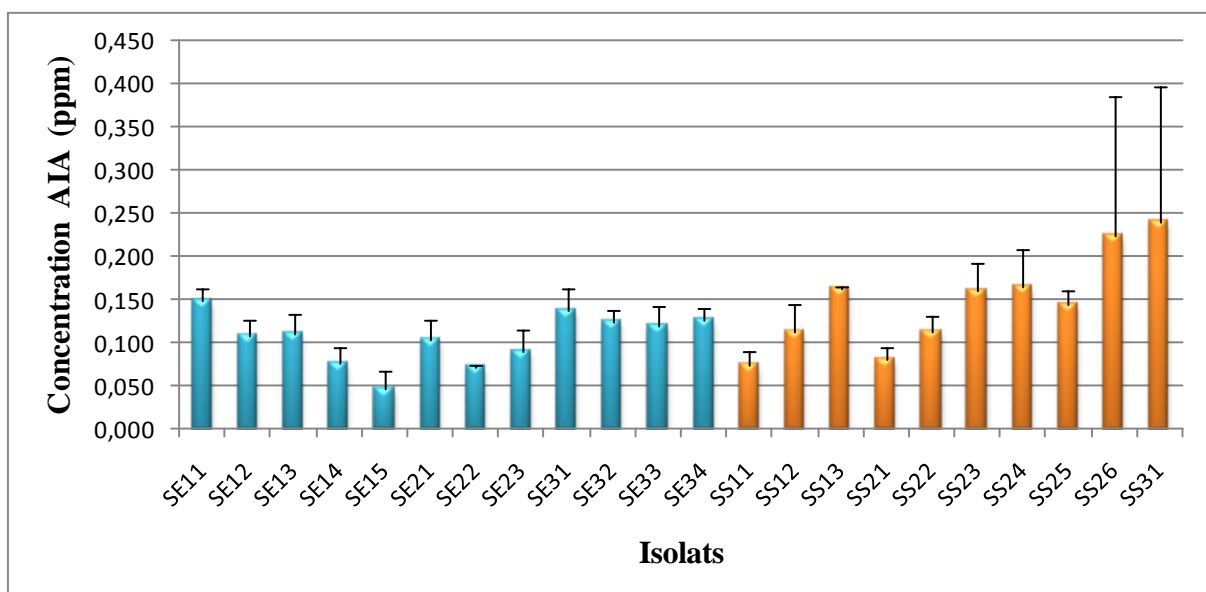


Fig 18 : Histogramme test de solubilisation production IAA

L'analyse statistique (Tableau n : 09) a révélé une différence hautement significative ($P < 0,01$) entre les isolats pour la production d'IAA regroupés par le test de Tukey à un niveau de signification $\alpha = 5 \%$ en cinq groupes différents (annexe n°1)

Tableau 09 : Analyse de la variance

Source	DL	SomCar		Valeur	
		ajust	CM ajust	Valeur F	de p
Isolats AIA	26	0,1856	0,007139	2,36	0,003
Erreur	61	0,1844	0,003022		

ETUDE DE LA BIODIVERSITE DES ISOLATS

La biodiversité des isolats a été testée en utilisant une classification hiérarchique ascendante (figure 19), a fait répartir les bactéries de la rhizosphère et des racines de *Stipa tenacissima* en 6 classes différentes comme mentionné dans le tableau (Annexe n : 02).

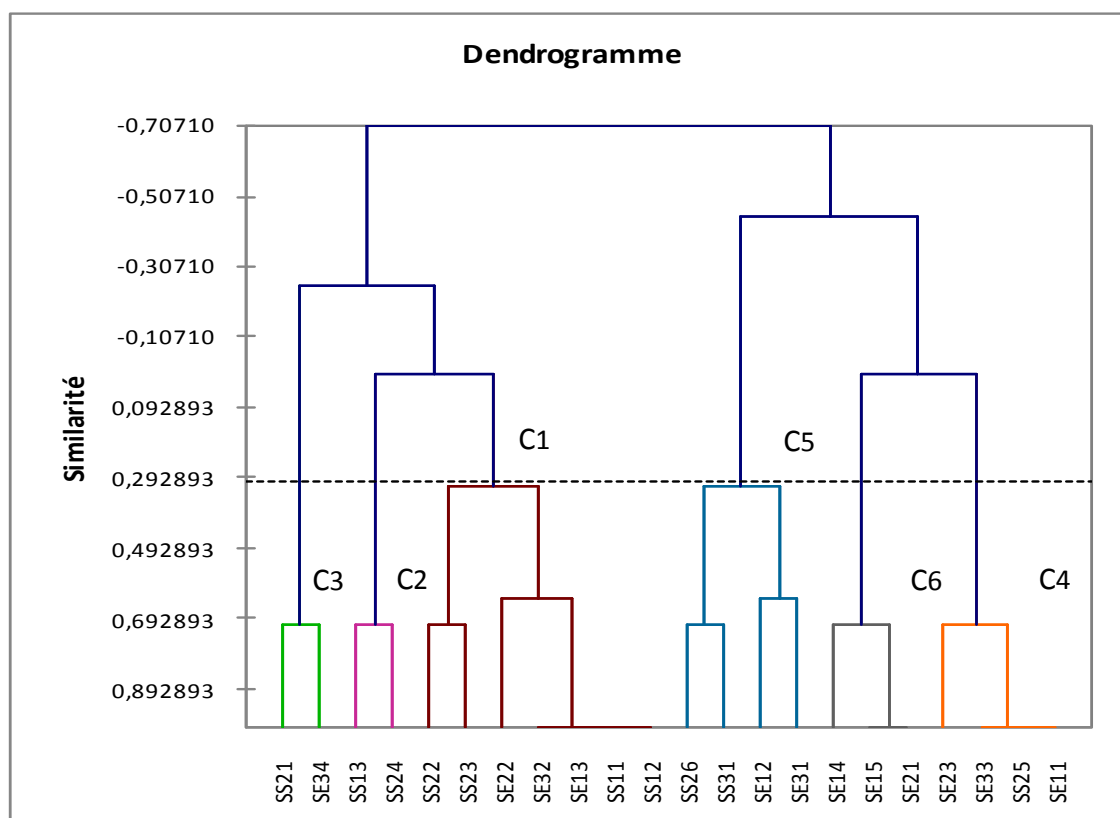


Fig 19 : Dendrogramme montrant les différentes classes des isolats testés à un seuil de similarité égale à 30 %

Le double regroupement des paramètres étudiés est la repenses phénotypiques des isolats vis a vis l'ensemble des conditions des expérimentations, fait ressortie qu'il existe une synergie dans l'effet des paramètres étudiés sur la biodiversité des isolats, comme indiquer sur le Heatmaps (fig 20)., la solubilisation du Fe et P sont regroupées dans la même classe tandis que la solubilisation du Ca et K sont contenues dans la même classe que la résistance aux deux métaux lourds testés.

principalement parce que le rôle de la rhizosphère en tant qu'unité écologique a pris de l'importance dans le fonctionnement de la biosphère et aussi parce que les mécanismes d'action des PGPR ont été profondément étudiés. Un PGPR putatif est qualifié de PGPR lorsqu'il est capable de produire un effet positif sur la plante lors de l'inoculation, démontrant ainsi de bonnes compétences compétitives par rapport aux communautés existantes de la rhizosphère. Le PGPR influence la promotion directe de la croissance des plantes en fixant l'azote atmosphérique, en solubilisant les phosphates insolubles, en sécrétant des hormones telles que l'IAA, les GA et les kinétines en plus de la production de désaminase d'ACC (acide 1-aminocycloprapane-1-carboxylique), qui aide à la régulation de l'éthylène. La résistance systémique induite (ISR), l'antibiose, la compétition pour les nutriments, le parasitisme, la production de métabolites (cyanure d'hydrogène, sidérophores) supprimeurs de rhizobactéri (Jha, C. K., & Saraf, M. 2015)

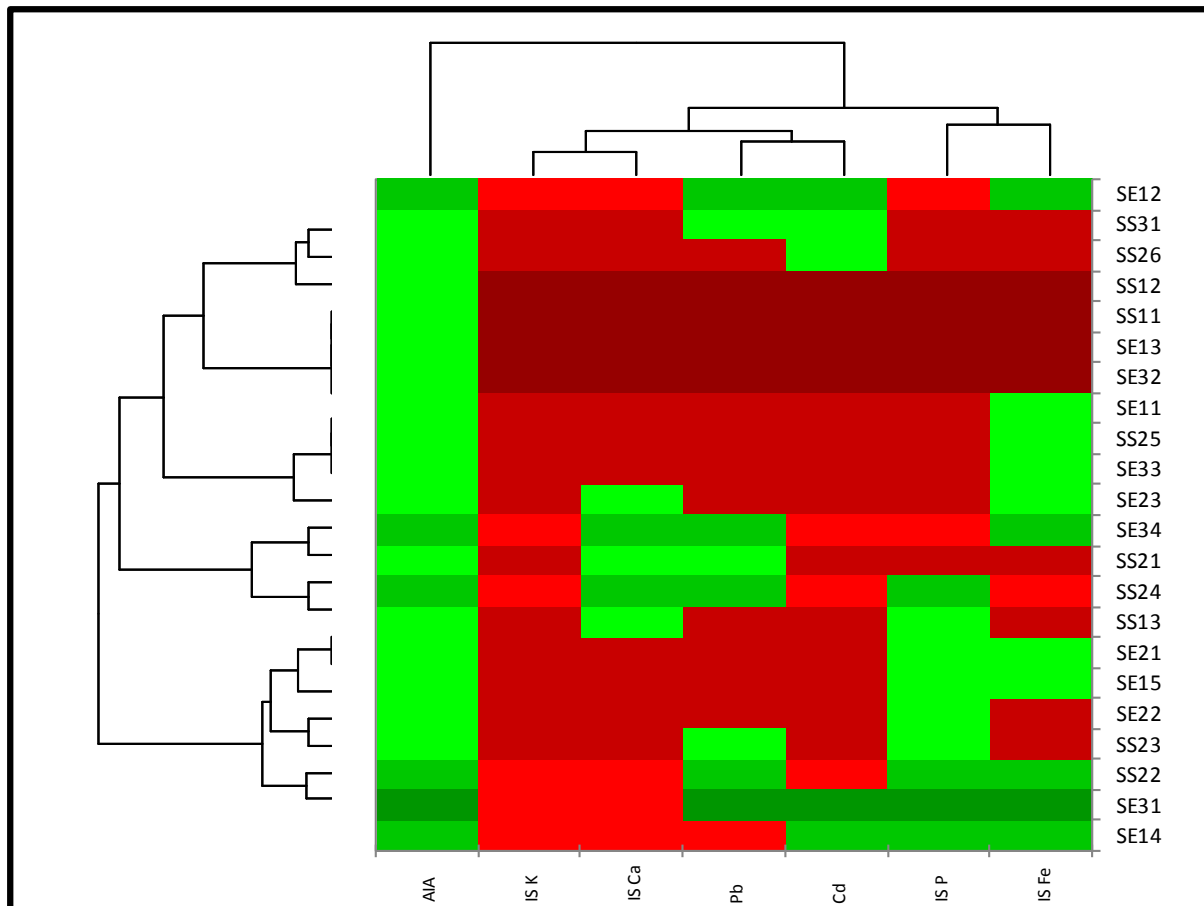


Fig20 : Heatmaps basé sur un double regroupement des paramètres étudiés et le comportement phénotypique des isolats.

ETUDE DES TRAITS PGPR DES ISOLATS

L'étude des traits PGPR des isolats associés à la Rhizosphère Et les Racines Du *Stipa Tenacissima* en utilisant une analyse par réalisation d'une projection du comportement des isolats vis-à-vis les paramètres étudiés qui se résume à un VENNDIAGRAMME, qui met en évidence la présence de deux isolats qui sont caractérisés par plusieurs traits PGPR, l'isolat SE31 caractérisé par la solubilisation du P, Fe, productrice de l'IAA et une résistance aux fortes concentrations du Pb et Cd. D'autre part l'isolat SE12 a solubilisé uniquement le Fe et transaminé le tryptophane en IAA avec une nette résistance aux deux métaux lourds étudiés.

Bacillus amyloliquefaciens suivi de *Pseudomonas brassicacearum* s'est avéré être le PGPR le plus efficace selon plus de trois traits, qui solubilisent le phosphore insoluble, produisent de l'IAA, de l'ammoniac, du HCN et du sidérophore et présentent une activité antifongique (Pathak et al, 2019).

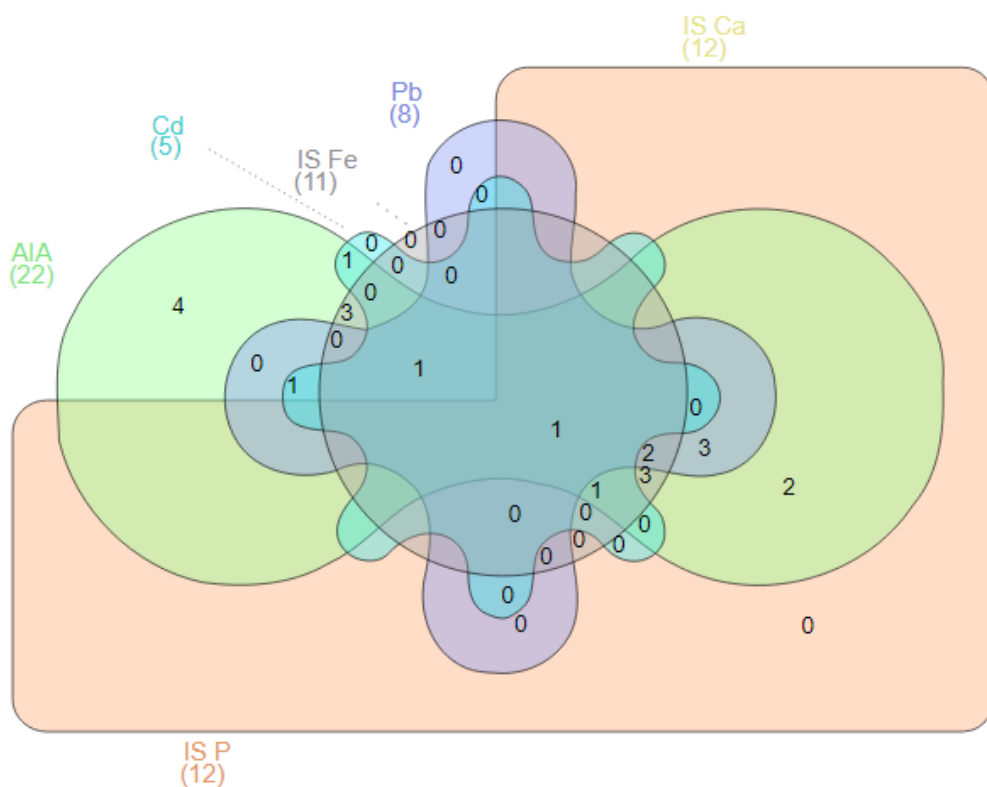


Fig 21 : Figure representant un VENNDIAGRAMME illustrant les traits PGPR des isolats

Conclusion :

Cette contribution a isoler des PGPR a partir de la rhizosphère et des racines de *Stipa tenacissima*, nous a permis d'identifier certaines bactéries caractérisées par des traits PGPR intéressants la majorité des bactéries isolées sont productrices d'IAA, même si la taux de production varie considérablement d'un isolat a l'autre. 11 isolats ont montré un pouvoir de solubilisation du Fer alors que 06 isolats ont pu solubiliser le calcium, 07 isolats solubiliser le phosphate, ce qui confirme la biodiversité des bactéries isolées de la même rhizosphère et des racines de la même plantes.

On a pu identifier 02 souches a intérêt agronomique , capables de produire l'IAA et solubiliser Ca et P et Fe, ces souches la peuvent être incorporées dans des programmes d'amélioration des rendements des végétaux a large consommation en les introduisant comme des biofertilisant pour faciliter l'absorption des minéraux et réduire les besoin en engrais chimiques et de les utiliser comme des agents biologiques de bioremédiations des sols pollués par les métaux lourds .

Il est très judicieux de signaler que ce travail doit être approfondi par des tests sous serre en inoculant d'autres espèces végétales par nos isolats a traits PGPR afin de tester leur potentiel a promouvoir la croissance des plantes, a induire la tolérance aux différents stress biotique et abiotique ainsi que la bioremédiations, bio-contrôles et biofertilisant en plus des travaux de séquençage génomique entre autre le séquençage de la sous unité 16SrRNA pour déterminer la position taxonomique exacte de nos isolats PGPR.

Référencent

- Abdel-salam, m.a, shams, a.s. 2012. feldspar-k fertilization of potato (*Solanum tuberosum* L.) augmented by biofertilizer. J. agric. environ. sci. 12, 694-699.
- Abou-el-seoud, i., abdel-megeed, a. 2012. impact of rock materials and biofertilizations on p and k availability for maize (*Zea Maize*) under calcareous soil conditions. saudi J. biol. sci. 19, 55-63.
- Ackrill, p., day, j. &ahmed, r. 1988. aluminum and iron overload in chronic dialysis. kidney international. supplement, 24, 163-7.
- Adesemoye, a.o., kloepper, j.w. 2009. plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. appl. microbiol. biotechnol. 85, 1-12.
- Agler, m. t., ruhe, j., kroll, s., morhenn, c., kim, s. t., weigel, d., et al. (2016). microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. plos Biol. 14:e1002352.
- Ahmad, f., ahmad, l, khan, m. s. (2008) screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. microbiolres 163: 173-181.
- Ahmad, m., nadeem, s.m., naveed, m., zahir, z.a. 2016. potassium-solubilizing bacteria and their application in agriculture, in: meena, v.s., maurya, b.r., verma, j.p., meena, r.s. (eds.), potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. springerindia, new delhi, pp. 293-313.
- Almeida, h j., pancelli, m.a., prado, r.m., cavalcante, v.s., cruz, f.j.r. 2015. effect of potassium on nutritional status and productivity of peanuts in succession with sugar cane. jsoil Sci. plant nutr. 15, 1-10.
- Andrews, m me. 2017specificity in legume-rhizobia symbioses. intenational journal of molecular sciences, 18, 39.
- Anjanadevi ip john n.sjohn,k.s, jeeva, m l., misra,r s. 2016. rock inhabiting potassium solubilizing bacteria from kerala, india: characterization and possibility in chemical kfertilizer substitution. j basic microbiol. 56, 67-77.
- Archana, d n andish, m., s avalagi,v., alagawadi, a 2013 c haracterization of potassium solubilizing bacteria ksb from rhizosphere soil. bioinfolrt aquarterly j. life sci. 10, 248-257.

- Fiske, ch. and subbarow, y (1925) the colorimetric determination of phosphorus. *j. boil chem.* 66: 375.
- Garcia, m.,marina, m., laborda, f. torre, m. 1998. chemical characterization of commercial soybean products. *foodchemistry*, 62, 325-331.
- Gawryjolek, k., furtak, k., grzadziel, j. galazka, a. 2021. identification and characterization of metabolic potential of different strains from genus rhizobium. *multidisciplinary digital publishing institute proceedings*, 19.
- Ghadbane, m. 2014. microflore rhizosphérique de quelques fabacées (légumineuses) endémiques dans les régions de Boussaâda et de Biskra. Thèse de doctorat en biologie végétale, université ferhat abbas sétif 1. 156 p.
- Gibson,k. e., kobayashi, h. walker, g. c. 2008. molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *theannual review of genetics*, 42, 413-441.
- Glazebrook, j., chen, w., estes, b., chang, h. s., nawrath, c., métraux, j. p., zhu, t. katagiri, e. 2003. topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *theplant journal*, 34, 217-228.
- Glick, b. r. 1995. the enhancement of plant growth by free-living bacteria. *canadian journal of microbiology*, 41, 109-117
- 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. plantgrowth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *scientifica*. 2012, 963401.
- Glick, b.r., 2012. plantgrowth-promoting bacteria: mechanisms and applications. in: *scientifica*. octobre 2012. Vol. 2012, p.
- Goswami, d., thakker, j. n. dhandhukia, p.c. 2016. portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *cogentfood agriculture*, 2, 1-19..
- Graham, p. h. vance, c. p. 2003. legumes: importance and constraints to greater use. *plant physiology*, 131, 872-877.
- Gray, e. j., and Smith, d. l. (2005). intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *soil biol. biochem.* 37, 395–412.

- Grover, m., bodhankar, s., sharma, a., sharma, p., singh, j. nain, l. 2020. PGPR mediated alterations in root traits: way towards sustainable crop production. *frontiers in sustainable food systems*, 4, 287.
- Guerinot, m. l. 1994. microbial iron transport. *annual review of microbiology*, 48, 743-772.
- guptasood, s. 2003. chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants. *femsmicrobiology ecology* 45, 219-227.
- Gundala, p.b., chinthala, p., sreenivasulu, b. 2013. a new facultative alkaliphilic, potassium solubilizing, bacillus sp. isolated from mica cores of nellore district, andhra pradesh, india. *research and reviews. j. microbiol. biotechnol.* 2, 1-7.
- Gupta, g., parihar, s. s., ahirwar, n. k., snehi, s. k. singh, v. 2015. plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *microbiologiebiochemologie technologie*, 7, 96-102.
- Haas, d. défago, g. 2005. biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *naturereviews microbiology*, 3, 307-319.
- Haas, dkeel, c. 2003. regulation of antibiotic production in root-colonizing pseudomonas spp. and relevance for biological control of plant disease. *annual review of phytopathology*, 41, 117-153.
- Han, h.s., lee, k.d. 2005. phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant. *res. j. agric. biol. sci.* 1, 176-180.
- Hartmann, a., schmid, m., van tuinen, d., berg, g. 2009. plant-driven selection of microbes. *Plant & Soil*, 321, 235-257.
- Haub, c.,gribble, j., jacobsen, l. 2012. worldpopulation data Sheet 2012. populationreference bureau, washington.
- Herrmann, a. 2011. the chemistry and biology of volatiles (1 ed). johnwiley sons ltd, 430 p.
- hersman, l., lloyd, t. sposito, g. 1995. siderophore-promoted dissolution of hematite. *geochimica cosmochimicaacta*, 59, 3327-3330.
- Hiltner, l. (1904). uber neuere erfahrungen und probleme auf dem debiete der bo denbakteriologie und unter besonderer beruecksichtigung der grundund und brache. *zbl. bakteriol.* 2, 14–25.

- Hirsch, p. r., and mauchline, t. h. (2012). who's who in the plant root microbiome? nat. biotechnol. 30, 961–962.
- Hirsch, e.r., and mauchline, t.h. (2012). who's who in the plant root microbiome? nat. biotechnol. 30, 961–962.
- Howard, d. h. 1999. acquisition, transport, and storage of iron by pathogenic fungi. clinicalmicrobiology reviews, 12, 394-404.
- Hu, g, huang, s., chen, h., wang, f. 2010. binding of four heavy metals to hemicelluloses from rice bran. foodres. ionternational. 43, 203-206.
- Hu, x., chen, j., guo, j. 2006. two phosphate-and potassium-solubilizing bacteria isolated from tianmu mountain, zhejiang, china. world j. microbiol. biotechnol. 22, 983-990.
- Huang, z, he, l., sheng, x., he, z. 2013. weathering of potash feldspar by *Bacillus* sp. L11. wei sheng wu xue bao. actamicrobiol. sinica. 53, 1172-1178.
- Hung, r lee, s., bennett, j. w 2015fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems.applied microbiology biotechnology, 99, 3395-3405.
- Idrishh. a., labuschagne, n. korsten, l. 2007. screening rhizobacteria for biological control of fusarium root and crown rot of sorghum in ethiopia. biological control, 40, 97-106.
- Igarashi, ry. and seefeldt, lc (2003) nitrogen fixation: the mechanism of the mo-dependent nitrogenase. critrev. biochem. molbiol 38, 351-384.
- . Singh, d.p. singh plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): microbes in sustainable agriculture in m. abdul, g. elisabeth, amadalena (eds.), management of microbial resources in the environment, springer, heidelberg (2013), pp. 361-385.
- Jones, d.l., dennis, p.g., owen, a.g., van hees, p.a.w. 2003. organic acid behavior in soils– misconceptions and knowledge gaps. Plant soil. 248, 31-41.
- Keshavarz zarjani, j., aliasgharzag, n., oustan, s., emadi, m., ahmadi, a. 2013. isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some iranian soils. arch. agron. soil Sci. 59, 1713-1723.
- Kloepper, j. w., ryu, c.-m.et zhang, s. 2004. induced systemic resistance and promotion of plant growth by bacillus spp. phytopathology, 94, 1259-1266.

- Leyben, j. j., mcginley, k. j., nordstrom, k. m. webster, g. f. 1987. skin microflora. journal of investigative dermatology, 88, 65s-72s.
- Leyval, c., berthelin, j. 1989. interactions between laccaria laccata, *Agrobacterium radiobacter* and beech roots: influence on p, k, mg, and fe mobilization from minerals and plant growth. plantsoil. 117, 103-110.
- Liu, d., lian, b., dong, h. 2012. isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. geomicrobiol. J. 29, 413-421.
- Loper, j. schroth, m. 1986. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. phytopathology, 76, 386-389.
- Lundberg, d. s., lebeis, s. l., paredes, s. h., yourstone, s., gehring, j., malfatti, s., et al. (2012). defining the core arabidopsis thaliana root microbiome. nature 488, 86–90
- Ma, y., oliveira, r. s., freitas, h., zhang, c. 2016. biochemical and molecular mechanisms of plant-microbe-metal interactions: relevance for phytoremediation. front. plant sci. 7
- Man, l. y., cao, x. y., sun, d. s. 2014. effect of potassium-solubilizing bacteria-mineral contact mode on decomposition behavior of potassium-rich shale. chin. j. nonferrous Met. 24, 48-
- Martinez-viveros o., jorquera m. a., crowley d. e., gajardo g., mora m. l. (2010) mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. j. soil sci. plant nutr. 10: 293-319.
- Martins, g. m. 2012. communautés microbiennes de la baie de raisin : incidence des facteurs biotiques et abiotiques. thèse de doctorat en sciences, université de bordeaux ségalen (bordeaux 2). 289 p.
- Maurya, b. r., meena, v. s., meena, o. p. 2014. influence of inceptisol and alfisol's potassium solubilizing bacteria (KSB) isolates on release of k from waste mica. vegetos. 27, 181-187.
- Maxwell, dlumsden, r. 1970. oxalic acid production by sclerotinia sclerotiorum in infected bean and in culture. phytopathology, 60, 1395-1398.
- Meena, v. s., maurya, b. r., bahadur, i. 2015a. potassium solubilization by bacterial strain in waste mica. bangladeshj. bot. 43, 235-237.
- Meena, v. s., maurya, b. r., verma, j. p. 2014. does a rhizospheric microorganism enhance k+ availability in agricultural soils?. microbiol. res. 169, 337-347.

- Melaani, a. 2012. contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *pseudomonasfluorescens*. thèse de doctorat en microbiologie, université d'oran, algérie. 219 p.
- Mezaache, s. 2012. localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme. thèse de doctorat en microbiologie, université de Sétif 1 - ferhat abbas. 221
- Miethke, m. marahiel, m.a. 2007. siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *microbiology molecular biology reviews*, 71, 413-451
- Miloud, y. 2018. etude du potentiel bénéfique des souches de *rhizobium* pour *medicago truncatula*: symbiose, solubilisation du phosphate et lutte contre la verticilliose. thèse de doctorat en science, institut national polytechnique de toulouse (toulouse inp). 248
- Mo, b., lian, b. 2011. interactions between *Bacillus mucilaginosus* and silicate minerals (weathered adamellite and feldspar): weathering rate, products, and reaction mechanisms. *chinesej. geochem.* 30, 187-192
- 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. *internationaljournal of environment, agriculture biotechnology*, 2, 238-708.
- Neilands, j. 1987. comparative biochemistry of microbial iron assimilation. iron transport in microbes, plants & animals, 3-34.
- rhizosphere at different stages of plant growth. *applied environmentalmicrobiology*, 66, 948-955.
- Piechulla, b. Pott, m. b. 2003. plant scents—mediators of inter-and intraorganismic communication. *planta*, 217, 687-689.
- Pieterse, c. m., dejonge, r. & berendsen, r. l. 2016. the soil-borne supremacy. *trends in plant science*, 21, 171-173.
- Ping, l. boland, w 2004. signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *arabidopsis*. *trends in plant science*, 9, 263-266.

- Potard, k. 2017. Les émissions de composés organiques volatiles (cov) des sols dans les paysages agricoles : identification des sources et incidences sur la qualité de l'air. thèse de doctorat en biologie, université de Rennes 1. 157 p.
- Prajapati, k.,sharma, m., modi, h. 2012. isolation of two potassium solubilizing fungi from ceramic industry soils. life Sci. leaflets. 5, 71-75.
- Prajapati, k., Sharma, m.c., modi, j.a. 2013. Growth promoting effect of potassium solubilizing microorganisms on okra (abelmoscus esculantus). int. j. Agri. sci. res. (IJASR). 1, 181-188.
- Preston, g. m. 2004. plant perceptions of plant growth-promoting pseudomonas. philosophicaltransactions of the royal society b, 359, 907-918.
- Rahman, m. s., Ano, t. shoda, m. 2007. biofilm fermentation of iturin a by a recombinant strain of Bacillus subtilis 168. Journal of Biotechnology, 127, 503-507.
- Raj, s.a., kannaiyan, s., kumar, k,govindarajan, k. 2004. solubilization of silicate and concurrent release of phosphorus and potassium in rice ecosystem. biofertilizers technology for rice based cropping system. 372-378.
- Rajawat, m.v.s., singh, s., tyagi, s.p., Saxena, a.k 2016. amodified plate Assay for rapid screening of potassium-solubilizing bacteria. pedosphere. 26, 768-773.
- Ratledge, c. dover, l. g. 2000. Iron metabolism in pathogenic bacteria. annual reviews in microbiology, 54, 881-941.
- Rehman, f., kalsoom, 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.
- Transcriptome changes of arabidopsis during pathogen and insect attack.molecularplant microbe interactions, 18, 923-937.
- Tsukanova, k., meyer, j. Bibikova, t. 2017. effect of plant growth-promoting rhizobacteria on plant hormone homeostasis. south African journal of botany, 113, 91-102.
- Uroz, s., calvaruso, c., turpault, m.-p., frey-klett, p. 2009. mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. trendsmicrobiol. 17, 378-387.

- Van kessel, c. hartley,c. 2000. agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crops Research*, 65, 165-181.
- Van loon, l., bakker, p. pieterse, c. 1998. systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *annualreview of phytopathology*, 36, 453-483.
- Van loon, l.c., bakker, p.a.h.m et pieterse, c.m.j., 1998. systemic resistance rduced by rhizosphere bacteria. in :annual Review of phytopathology. september 1998. Vol. 36, n° 1, p. 453-483. DOI 10.1146/annurev.phyto.36.1.453.
- Van peer, r., niemann, g. schippers, b. 1991. induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by pseudomonas sp. strain WCS 417 r. *Phytopathology*, 81, 728-734.
- Vejan, p., abdullah, r., khadiran, t., ismail, s. nasrulhaq boyce, a. 2016. role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability. *molecules*, 21, 573.
- Vessey j.k. (2003) plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *plantsoil* 255, 571-586.
- Vessey, j. k. 2003. plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *plant soil*, 255, 571- 586. wang, c., guo, y., wang, c., liu, h., niu, d., wang, y. guo,j. 2012. enhancement of tomato (*lycopersicon esculentum*) tolerance to drought stress by plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) *bacillus cereus* ar156.*journal of agricultural biotechnology*, 20, 1097-1105.
- Vessey, k., 2003. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. in :*plant and soil*. 2003. vol. 255, p. 571-586.
- Zeng, x., liu, x., tang, j., hu, s., jiang, p., ki, w., xu, l. 2012. characterization and potassium-solubilizing ability of *Bacillus Circulans* z 1–3. *adv. sci.*
- Zhang, c., kong, f. 2014. isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. *appl.soil. ecol.* 82, 18-25
- Zhang, l., and mah, t. f. (2008). involvement of a novel efflux system in biofilmspecific resistance to antibiotics. *j. bacteriol.* 190, 4447–4452.
- Zhu, h., choi, h. k., cook, d. r. shoemaker, r. c. 2005. bridging model and crop legumes through comparative genomics. *plant physiology*, 137, 1189-1196.

- Badri dv, weir tl, van der lelie d, vivanco jm. rhizosphere chemical dialogues:335 plant-microbe interactions. *curropin biotechnol.* 2009;20(6):642–650.
- Benstitif., 1974 - contribution à l'étude de potentialité d'une nappe alfatière dans la région de moudjebara (Djelfa)
- Bertollo p. assessing iandscape health: a case study from northeastern italy. *environmanag.* 2001;27:349–365.
- Bidultg. et debrachj. (1948) - physique du globe et météorologie au maroc ; état de nos connaissances en 1947. *soc. sc. nat. maroc*, volume jubilaire, p. 55-92.
- -Boundyp., 1952 – guides du forestier en afrique du nord. ed. la maison rustique, paris.
- Bulgarelli d, rott m, schlaepi k, loren ev, van themaat n, ahmadinejad fa, rauf p, huettel b, reinhardt r, schmelzer d, peplies j, gloeckner fo, amann r, eickhorst t, schulze-lefert p. revealing structure and assembly cues for arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *nature.* 2012;488(7409):91–95.
- Chen b, shen j, zhang x, pan f, yang x, feng y. the endophytic bacterium, *sphingomonas samr12*, improves the potential for zinc phytoremediation by its host, *sedum alfredii*. *plosone.* 2014
- Compant, s., cambon, m. c., vacher, c., mitter, b., samad, a., sessitsch, a. (2020). the plant endosphere world — bacterial life within plants. *environmental microbiology*, 10.1111/1462–2920.15240. advance online publication.
- Curep. (1964) - représentation synthétique des climats. *doc. cart. prod. vég.,série "généralités"*, vol. 3 (art.1), p. 55-114.
- Écologie mondiale et conservation volume 22, juin 2020, e00992 article de recherche original diversité microbienne dans les sols de la rhizosphère de trois espèces de stipa des prairies orientales de la mongolie intérieure
- Hata k, sone k. isolation of endophytes from leaves of *neolitsea sericea* in broadleaf and conifer stands. *mycoscience* 2008;49:229-32.
- Youngbae s,kims, park cw. a phylogenetic study of *polygonum sect. tovara* (polygonaceae) based on its sequences of nuclear ribosomal dna. *plantbiol* 1997;40:47-52.
- Azevedo jl, araujo wl. genetically modified crops: environmental and human health concerns. *mutat Res* 2003;544:223-

- Rosenblueth m, martínez-romeroe. bacterial endophytes and their interactions with hosts. *amphytopathol soc* 2006;827-37.
- Bing la, lewis lc. suppression of *ostrinia nubilalis* (hu'bner) (lepidoptera: pyralidae) by endophytic *beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin. *environentomol* 1991;20:1207-11.
- Noel o, nicholash. endophytes – the chemical synthesizers inside plants. *sciprogr* 2004;87.
- Tan rx, zou wx. endophytes: a rich source of functional metabolites. *natprod rep* 2001;18:448-59.
- Rao y, chenc, zhao b. study on the eliminating phlegm effect and bacteriostatic action of compound maidong pills. *chinosp pharm j* 2008;28:615-7.
- Lugtenberg, bj. j., caradus, j. r., johnson, l. j. (2016). fungal endophytes for sustainable crop production. *femsmicrobiology ecology*, 92(12),
- Papik, j., folkmanova, m., polivkova, m., suman, j., uhlik, (2020). the invisible life inside plants : deciphering the riddles of endophytic bacterial diversity. *biotechnologyadvances*, 107614.
- Saikkonen k, faeth sh, helander m, sullivan tj. fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *annurev ecol evol syst* 1998;29:319-43.
- Faeth sh, sullivan tj. mutualistic, asexual endophytes in a native grass are usually parasitic. *amnat* 2003;161: 310-25.
- Rodriguez rj, white jf, arnold ae, redman rs. fungal endophytes: diversity and functional
- Vasiliauskas r, menkis a, finlayrd, stenlid j. wooddecay fungi in fine living roots of conifer seedlings. *nphytol* 2007;174:441-6.
- Selosse ma, vohník m, chauvet e. out of the rivers: are some aquatic hyphomycetes plant endophytes? *nphytol* 2008;178:3-7.
- Gamboa ma, laureano s, bayman p. measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: does size matter *mycopathologia* 2003;156:41-5.
- Bocoum m. 2004. méthodes d'analyses des sols. doc de travail. institut national de pédo logie, dakar - sénégal, 55 pp.
- Macedo-raygoza, g. m., valdez-salas, b., prado, f. m., Prieto, k. r., yamaguchi, l. f., kato, m. j., ...beltrán-garcía, m. j. (2019). *enterobacter cloacae*, an endophyte that establishes a

nutrient-transfer symbiosis with banana plants and protects against the black sigatoka pathogen. *frontiers in microbiology*, 10, 804.

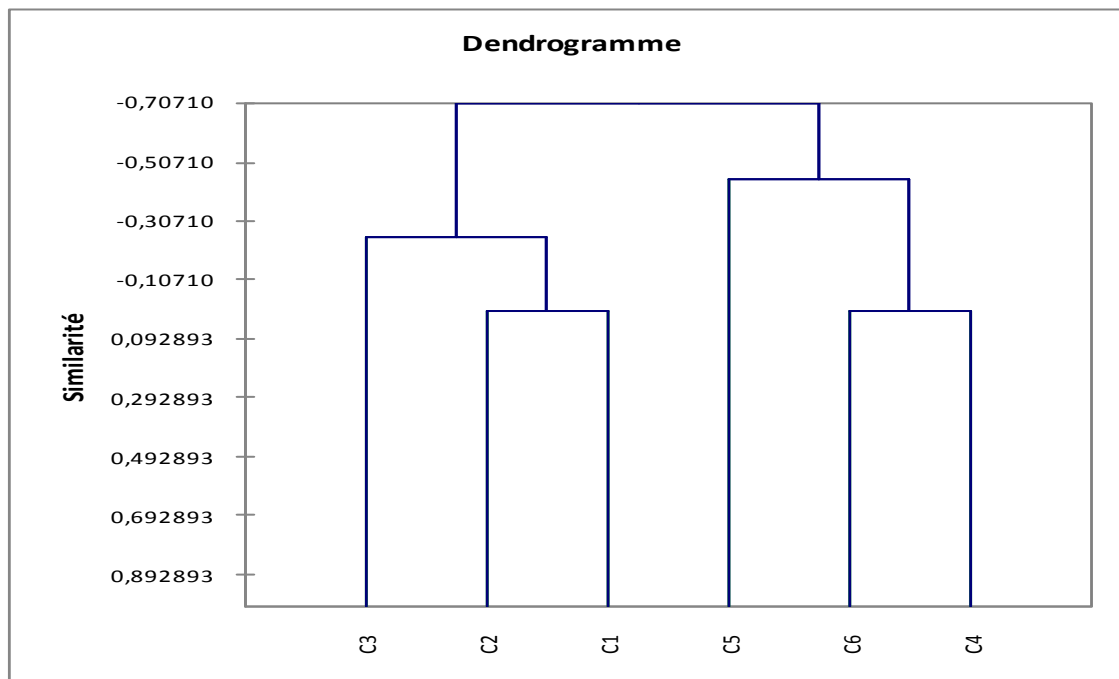
-
- Emami-karvani, z., chitsaz-esfahani, z. (2021). phosphorus solubilization: mechanisms, recent advancement and future challenge. in *soil microbiomes for sustainable agriculture* (pp. 85-131). springer, cham.
- Oliveira-longatti, s. m. d., marra, l. m., carvalho, t. s. d., & moreira, f. m. d. s. (2020). the culture medium volume and the inoculation method should be considered in semi-quantitative screening of calcium phosphate solubilization by bacteria. *acta scientiarum. agronomy*

Annexes :

Annexes : 01

Isolats			
AIA	N	Moyenne	Groupement
SS31	4	0,2401	A
SS26	4	0,2244	A B
SS24	4	0,1658	A B C
SS13	4	0,16271	A B C
SS23	4	0,1599	A B C
SE11	4	0,14994	A B C
SS25	4	0,14538	A B C
SE34	6	0,12911	A B C
SE33	6	0,1278	A B C
SE32	2	0,12287	A B C
SE35	1	0,1210	A B C
SE13	1	0,1207	A B C
SE31	1	0,1186	A B C
SS12	4	0,1122	A B C
SS22	4	0,11177	A B C
SE12	4	0,10744	A B C
SE16	1	0,1071	A B C
SE21	4	0,1026	A B C
SE25	2	0,0937	A B C
SE24	2	0,0824	A B C
SE23	2	0,0817	A B C
SE22	1	0,07603	A B C
SE14	5	0,0886	A B C
SS21	4	0,08174	A B C
SS11	4	0,07391	A B C
SE15	5	0,0537	A C

Annexes : 02



Annexes : 03

Résultats par classe :

Classe	1	2	3	4	5	6
Objets	7	2	2	4	4	3
Somme des poids	7	2	2	4	4	3
Variance intra-classe	0,6667	0,5000	0,5000	0,2500	0,8333	0,3333
Distance minimale au barycentre	0,5345	0,5000	0,5000	0,2500	0,6124	0,3333
Distance moyenne au barycentre	0,7103	0,5000	0,5000	0,3750	0,7739	0,4444
Distance maximale au barycentre	1,2536	0,5000	0,5000	0,7500	0,9354	0,6667
	SS11	SS13	SS21	SS25	SS26	SE14
	SS12	SS24	SE34	SE11	SS31	SE15
	SS22			SE23	SE12	SE21
	SS23			SE33	SE31	
	SE13					
	SE22					
	SE32					

Annexes : 04

Isolats		
ISP	N	Moyenne Groupement
7	4	8,03 A
8	4	5,52 A
12	4	3,694 A
11	4	3,35 A
3	4	2,839 A
1	4	2,750 A
2	4	2,252 A
13	4	2,208 A
10	4	2,001 A
9	4	1,968 A
4	4	1,4141 A
5	4	1,289 A
6	4	1,226 A

Annexes n : 05

Isolats		
IS Ca	N	Moyenne Groupement
6	4	2,353 A
5	4	2,346 A
7	4	2,000 A
4	4	1,854 A
1	4	1,654 A
3	4	1,513 A
2	4	1,286 A

Annexes n : 06

Isolats		
IS Fe	N	Moyenne Groupement
1	4	2,875 A
7	4	2,458 A
8	4	2,089 A
13	4	2,000 A
2	4	1,974 A
10	4	1,750 A
3	4	1,596 A
6	4	1,580 A
16	4	1,5417 A
12	4	1,541 A
9	4	1,508 A
4	4	1,3917 A
11	4	1,334 A
5	4	1,309 A
14	4	1,308 A
15	4	1,145 A