

## République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université chahid cheikh Larbi Tébessi -Tébessa

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

Département : Etres vivants

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

Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière: Sciences Biologiques Option: Ecophysiologie végétale

Thème:

Isolement et caractérisation des bactéries endophytes et associées à la rhizosphere d'ElBatom Pistacia atlantica dans la région de Tebessa

Présenté par:

**Maamri Insaf** 

**Tabet Loubna** 

#### Devant le jury composé de :

Dr. <b>FATMI Hindel</b>	MCB	Université de Tébessa	présidant
Dr. SGHIR Hanane	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr. DEKAK Ahmed	MCA	Université de Tébessa	Promoteur

Date de soutenance : 07 / 06 / 2023

Note:..... Mention:.....

#### REMERCIMENT

Remercions Dieu d'abord

C'est une satisfaction de revenir à ses compagnons, et merci beaucoup au professeur **Dr.DEKAK AHMED** Sur acceptation de ce mémorandum et sur les indications qui nous sont données.

Merci aux enseigants **FATMI HINDEL** ET **MME''SGHIR HANEN**"d'avoir accepté qu'ils discutent notre travail.

Nous témoignons aussi, notre profonde gratitude à l'égard des enseignants et des laborantins de la faculté des sciences de la nature et de la vie pour l'intérêt qu'ils ont manifesté à notre formation et tous les efforts qu'ils ont déployés pour nous permettre de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

A mes parents Pour leurs encouragements. Pour leurs soutiens et leurs aides.

A tous ceux et celles qui nous ont aidés, de près ou de loin, nous disons Merci du fond du cœur.

### Dédicace

Mon voyage d'étude a pris fin après la fatigue et les difficultés.

Tout d'abord, je voudrais remercier Dieu de m'avoir donné la force de mettre fin à cet humble acte.

Je dédie ce travail à

Mon cher papa MAHMOUD et ma chère maman LYNDA pour les efforts déployés pour ma réussite et de prier pour moi d'atteindre mes objectifs.

Mes sœurs NIHEL, NOUSSAIBA et mon frère ZIED pour leurs soutien.

Mes chéris HANEN, ASMA, SIHEM, pour me soutenir et m'aider

Ma collègue LOUBNA

Mes amis HALA, MERIEM, DORSSAF,

Chérie "W", pour son aide et soutien dans les moments difficiles.

Celui qui a été crédité de ma carrière et m'a aidé et s'il marchait.

Insaf



## Dédicace

Hier était un rêve.

Tout d'abord, je remercie l'estime de soi pour ses efforts.

J'offre ce travail à

Mon père bien-aimé LAMIN, ma chère mère FATIMA remercie pour ce qu'ils m'ont donné.

À mes sœurs SARA NOURA ROUFAIDA

Pour la petite amie de mon âme AMINA

Pour les petites amies HADJER DOURSAF MALAK MERIEM YOUSRA

Et enfin, merci et amour INSAF

**LOUBNA** 



### ملخص

السلالات البكتيرية المتحصل عليها من نباتات برية بخصائص PGPR ، مما يبرز أن النبات من أصل طبيعي هو مصدر للبكتيريا ذات الأنشطة الأيضية المتنوعة ، والتي لها القدرة على لعب دور مهم للغاية في تكيف النباتات مع بيئتها الطبيعية.

من أجل اختيار وتحديد بكتيريا PGPR وتقييم كفاءتها في إذابة معادن الفوسفات والبوتاسيوم وإنتاج الهرمون النباتي. IAA

تركز موضوع هذه الدراسة على عزل البكتريا الملاصقة للجذور والنباتات الداخلية في الفستق الاطلسي حيث تم عزل 12 عزلة بكتيرية من 6 عينات مأخوذة من منطقة بوخضرة - تبسة -.

جميع البكتيريا المعزولة هي من منتجي IAA ، على الرغم من أن معدل الإنتاج يختلف بشكل كبير من عزلة إلى أخرى. أظهرت 8 عزلات قدرة ذوبان الفوسفات بينما تمكنت 9 عزلات من إذابة البوتاسيوم. من ناحية أخرى ، تمكنا من تحديد 6 سلالات ذات أهمية زراعية تقدم العديد من سمات. PGPR

هذه النتيجة تقدم لنا اعتبارا أنه من الممكن استخدام هذه السلالات في تحسين الإنتاج الزراعي والحفاظ على البيئة.

الكلمات المفتاحية : Pstacia atlentica ، البكتيريا الداخلية ، بكتيريا ريزوسفير ، سمات PGPR.

#### Résumé

Les souches obtenues à partir de plantes poussant à l'état sauvage présentaient de meilleures caractéristiques PGPR, soulignant que les plantes sauvages d'origine naturelle sont une source de bactéries aux activités métaboliques diverses, qui peuvent être des acteurs très importants dans l'adaptation des plantes à leur environnement naturel.

Afin de sélectionner et d'identifier les bactéries PGPR et d'évaluer leur efficacité dans la dissolution du phosphate et des minéraux potassiques et la production de l'hormone végétale AIA,

Cette étude porte sur l'isolement des bactéries associées à la rhizosphere et endophytes du *Pstacia atlentica* où 12 isolats bactériens de 6 échantillons prélevés dans la zone de Boukhadera - Tébessa - en fait l'objet de cette étude.

Toutes les bactéries isolées sont productrices d'IAA, même si le taux de production varie considérablement d'un isolat à l'autre. 8 isolats ont montré un pouvoir de solubilisation du phosphate alors que 9 isolats ont pu solubiliser le potassium. D'autre part on a pu identifier 6 souches à intérêt agronomique présentant plusieurs traits PGPR.

Cela contribue à tenir compte est susceptible d'être utilisé dans l'amélioration de la production agricole et préservation de l'environnement.

Mots clés: Pstacia atlentica, endophytes, bactéries associées à la rhizosphere, traits PGPR.

#### Abstract

Strains obtained from wild plants with PGPR characteristics, highlighting that plant of natural origin are a source of bacteria with diverse metabolic activities, which can be very important players in the adaptation of plants to their natural environment.

In order to select, identify PGPR bacteria and evaluate their efficiency in the dissolution of phosphate, and potassium minerals and the production of the plant hormone IAA.

This study focuses on the isolation of bacteria associated with the rhizosphere and endophytes of *Pstacia atlentica* where 12 bacterial isolates from 6 samples taken from the Boukhadera - Tébessa area - are the subject of this study.

All isolated bacteria are IAA producers, although the rate of production varies considerably from one isolate to another. 8 isolates showed phosphate solubilization power while 9 isolates were able to solubilize potassium. On the other hand, we were able to identify 6 strains of agronomic interest presenting several PGPR traits.

This helps to consider is likely to be used in improving agricultural production and preserving the environment.

**Keywords**: *Pstacia atlentica*, endophytic bacteria, rhizospheric bacteria, PGPR traits.

#### Liste d'abréviations

°C: degré Celsius

μL: microlitre

μs: microsimense

 $\boldsymbol{P}: phosphate$ 

**K**: potassium

Fe: Fer

IAA: Indol Acid Acetic

**ISP**: indice de Solubilatrice du P (Posphate)

**ISK** : indice de Solubilatrice du k (Potassium)

ml: millilitre

**mm**: millimètre

**g** : gramme

mg: milligramme

NBRIP: National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium

nm: nanomètre

**PGPR**: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

**T/MIN**: tour par minute

%: pourcentage

**GN**: gélose solide

H: heure

min: minute

**PSB**: phosphate solubilising Bacteria

**KSB**: potassium solubilising Bacteria

**FAO:** Food and Agriculture Organization

Table des matières	
Eléments	Page
Introduction	1
Chapitre 1:Revue Bibliographique	
1.Généralité sur la rhizosphère	3
1.1.Etymologie	3
1.2.Définition	3
1.3.Importance de rhizosphère	4
1.4.Les bactéries Rhizospherique	4
2.Généralité sur l'Endophyte	5
2.1.Définition	5
a) Les bactéries	5
b)Les champignons	6
2.2.La relation plante-endophyte	6
<b>2.3.</b> Le rôle physiologique des endophytes	6
2.4.Le rôle écologique des endophytes	7
2.5.Le rôle des endophytes dans le tolérance aux stresse abiotique	7
3.Les bactéries responsables a la croissance des plant(PGPR)	7
<b>3.1.</b> Définition	8
<b>3.2.</b> Mécanisme directe des PGPR sur les plantes	8
<b>3.2.1</b> fixation d'azote	9
<b>3.2.2</b> Solubilisation du Phosphate(SP)	9
<b>3.2.3.</b> Solubilisation de Potassium(SK)	9
<b>3.2.4.</b> Production de siderophore	10
<b>3.2.5.</b> Production des Phytohormones	11
a)Acide Indole Acétique (AIA)	11
<b>b</b> )Citokinine	12
c)Gibbérelline	12
<b>3.3.</b> Mécanisme indirecte des (PGPR) sur les plantes	13
<b>3.3.1</b> Production des antibiotique	13
<b>3.3.2.</b> Induction d'un système de résistance	
Chapitre2:Matériel et Méthode	l l
1. Présentation matériel biologique	16
2.Classification de <i>Pistacia atlantica</i>	16
3.Répartition(dans le monde, dans l'Algérie, dans région Tébessa)	17
<b>4.</b> Présentation de la zone du prélèvement Tébessa (Boukhadra)	17
5. Prélèvement des échantillons du sol et des racines	17
<b>6.</b> Analyse chimique du sol	17
7. Préparation des milieux et mise en culture	18
7.1. isolement des bactéries associées à la rhizosphère	18
7.2. isolement des bactéries endophytes	18
8. paramètres étudiés	19
<b>8.1.</b> Test de solubilisation du Phosphate	19
<b>8.2.</b> Test de solubilisation de Potassium	19
<b>8.3.</b> Test de production de AIA	20

Chapitre03:Résultats et Discussion			
1.Analyse du sol	22		
2.Isolement des souches pores	22		
3.Test de solubilisation du Phosphate (SP)	22		
<b>4.</b> Test de solubilisation de Potassium(SK)	23		
<b>5.</b> Production d'AIA	24		
<b>6.</b> biodiversité des isolats	26		
<b>7.</b> Étude des trait PGPR des isolats	26		
<b>8.</b> Discussion des résultats	28		
conclusion	30		
Référence Bibliographique			
Annexe			

Liste des tableaux	Page
Tableau01: Classification de Pctacia atlantica	16
Tableau02: Composition du milieu NBRIP	19
Tableau03: Composition du milieu ALEKSANDROV	20
<b>Tableau04:</b> Composition de réactif Salkowski	20
Tableau05: Tableau statistique des variances d'analyse du sol	22
<b>Tableau06:</b> Analyse de la variance ISP	23
Tableau07: Analyse de la variance ISK	24
<b>Tableua08:</b> Analyse statistique de la production d'IAA	26

Liste des figures	Page
Figure01: Mécanisme d'action des PGPR	8
Figure02: Impact des hormones végétales	10
<b>Figure03:</b> Structure chimique de acid indole 3-acétique (AIA)	11
Figure04: structure chimique de Cytokinine	12
Figure05: structure chimique de Gébbérelline	12
Figure06: La plante de <i>Pistacia atlantica</i> .	16
Figure07: Analyse des paramètresdu sol	18
Figure08: Préparation des séries de dilutions	18
Figure09: Coupes des racines sur milieu de culture	19
Figure 10: Différentes formes des isolats bactériennes	22
Figure 11: Solubilisation du phosphate par les isolats testés	23
Figure 12: histogramme des indices de solubilisation du phosphate par l'isolat testés	23
Figure 13: Solubilisation du Potassium par les isolats testés	24
<b>Figure 14:</b> histogramme des indices de solubilisation du potassium par l'isolat testent	24
Figure 15: le virage de la couleur du milieu de culture après l'ajout du réactif de	25
Salkowski	25
<b>Figure 16</b> : Histogramme de la production d'IAA d'isolat testes	26
Figure 17: Dendrogramme montrant les différentes classes des isolats testés	27
Figure 18: venn diagramme des isolats testés	



#### Introduction

Pour faire face à l'escalade des changements environnementaux et à l'expansion démographique mondiale tout en obtenant des rendements plus élevés, la productivité agricole devra considérablement augmenter au cours des prochaines années. Les agriculteurs dépendent des engrais chimiques, qui sont coûteux, épuisent les sources d'énergie non renouvelables, présentent des dangers pour les personnes, les animaux et l'environnement, et épuisent également les sources d'énergie non renouvelables. (FAO,2018).

Il est évident qu'il serait avantageux d'adopter des méthodes biologiques efficaces pour fournir les minéraux nécessaires à la croissance des plantes et pour influencer les pratiques agricoles vers une perspective plus durable et respectueuse de l'environnement. Cela comprend l'utilisation de microbes pour encourager la croissance des plantes. (Glick,1995).

Stratégies de développement durable La production de bio-engrais contenant des bactéries isolées de la rhizosphère végétale a une importance considérable, car elles tolèrent mieux les conditions abiotiques extrêmes, comme la température, la salinité et la sécheresse. On prévoit que les bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) commenceront à remplacer les produits chimiques en agriculture. De plus, ils augmentent la production en améliorant l'apport en nutriments des plantes tout en ne présentant aucun risque pour l'environnement ou les personnes. (**Dekak,2022**).

Notre travail est centré sur l'isolement des bactéries endophytiques et associées à la rhizosphère du pistache de l'Atlas connue sous le nom de batum ( *Pistaccia atlentica*). Dispersés dans les zones aride et semi-aride connu par sa capacité de résistance aux stresse hydrique et stresse thermique.

Dans le but d'isoler et d'identifier des PGPR, six échantillons de la rhizosphère et des racines de cette plante localisée au niveau de la région de BOUKHADHRA ont été utilisés afin d'évaluer la capacité de ces souches de présenter des traits PGPR par biais de mécanismes de production d'AIA, de solubilisation de phosphate et de potassium.

# Partie bibliographique

#### 1. Généralité sur rhizosphère

#### 1.1. Étymologie

Le terme "rhizosphère" a été utilisé pour la première fois en 1904 par Lorenz Hiltner, professeur d'agronomie au Collège technique de Munic et bactériologue spécialisé dans la microbiologie des sols. Rhizo est dérivé du mot grec pour racine, rhiza. Le mot "sphère" vient du mot latin sphaera, qui a le même sens que le mot grec sfaira, qui signifie boule, boule ou globe. La sphère d'influence du système racinaire est définie. Le terme "moitié cachée" (l'hiddenhalf) fait référence au volume de la rhizosphère par rapport au volume de la plante. (Anton et al.,2008)

#### 1.2. Définition

La région de sol entourant les racines d'une plante est connue sous le nom de rhizosphère. Lorenz Hiltner a inventé l'expression "rhizosphère" en 1904; "rhizo" est dérivé du grec "rhiza," qui signifie "racine," et "sphère" se réfère à la zone d'influence. Selon Hiltner, la rhizosphère est la minuscule zone du sol qui abrite une vague d'activité microbienne autour des racines des légumineuses. Ce terme a ensuite été élargi pour inclure toutes les plantes. Enfin, il désigne la région située à quelques centimètres de la racine, où se produit l'échange d'éléments nutritifs et d'eau, ainsi que la zone étroite (1-2 mm) qui entoure immédiatement la surface de la racine. Ainsi, la rhizosphère sert de centre d'échange entre les plantes et les minéraux; c'est un milieu complexe avec une variété d'interactions (Anoua et al., 1997).

la rhizosphér, la plus grand écosystéme terreste, est la parteie du sol proche des racine des plante, la surface des racine à l'intérieurdu sol sur 1à 3 mm Andrea. Marquez (2021)

Au sein de la rhizosphère, on distingue

- Rhizosplain : la surface meme des tissus racinaire
- Endorhizosphre: l'interface entre la racine et la microflore à l'intérieure de la racine
- Histosphere: qui est la region habitent l'interieur des tissus à l'exterieur des cellules
- Cytosphere: les micro-organismes habitent l'interieur meme des cellules (Gabat et al.,
   2010)

#### 1.3. Importance de rhizosphère:

D'après Marquez (2021) Les interactions entre les plantes et les micro-organismes du sol sont ce qui donne à la rhizosphère son importance.

- Au travers de la rhizosphère les plantes récupèrent les nutriments. Il en va de même pour l'eau et le carbone dont les bactéries, les champignons, les insectes, les vers ont besoin pour survivre.
- La microflore de la rhizosphère protège la racine contre les pathogènes, contre les maladies des racines et produit des substances qui stimulent la croissance des plantes, comme l'acide indole-acétique, les gibbérellines et les cytokinines.
- Se produit la Fixation Biologique du Nitrogène (FBN), c'est-à-dire que les microorganismes donnent aux plantes des composés azotés assimilables (ammonium et nitrate), qu'ils fabriquent à partir de l'azote atmosphérique dans le sol (N2).

#### 1.4. Les bactéries Rihizosphérique :

Les bactéries du sol sont très importantes dans les cycles biochimiques et sont utilisées dans la production agricole depuis des décennies. Ce sont des bactéries libres qui peuvent aussi faciliter, directement ou indirectement, l'enracinement et la croissance des plantes. (Kumar; Meenu, 2015)

Les bactéries rhizosphériques non pathogènes peuvent parfois accélérer considérablement la croissance des semis. Bien que divers facteurs puissent influer sur les réponses des semis aux bactéries de la rhizosphère, la compatibilité génotypique des plantes et des bactéries peut dicter le type de réponse. Cependant, il n'est pas clair si de telles relations résultent de l'évolution de nouveaux génotypes bactériens dans la rhizosphère ou si des bactéries bénéfiques pour les plantes sont choisies et enrichies dans la rhizosphère à partir de la variabilité génotypique préexistante dans la flore bactérienne résidente. La spécificité génotypique entre les plantes et les bactéries rhizosphériques bénéfiques peut se développer avec le temps. Quelle que soit la source de cette spécialisation, les génotypes isolés de Triticum aestivum L., Trifolium repens L., ou Loliurn perenne L. peuvent bénéficier uniquement de la promotion du développement végétatif par des souches de bactéries du sol et de la rhizosphère appartenant au genre Bacillus. L'influence d'un chromosome sur le génotype de la plante hôte a été identifiée comme source de spécialisation des bactéries végétales dans le blé de printemps (Chanway; Holl, 1992).

#### 2. Généralité sur les Endophytes

#### 2.1. Définition

Wilson, (1995) a avancé qu'au niveau le plus élémentaire, endophyte pourrait simplement se référer à la localisation de l'organisme. Ainsi, un endophyte est un organisme qui vit à l'intérieure d'une plante. Les organismes communément associés au terme endophyte sont les champignons et les bactéries et je limiterai mon utilisation du terme à ces organismes. Ainsi, à son niveau le plus simple, tout champignon ou bactérie trouvé dans les tissus végétaux serait considéré comme un endophyte.

Ce terme a subi de nombreux changements.

- « Les endophytes sont un groupe de microorganismes qui colonisent les tissus sains de leurs plantes hôtes sans symptômes, bien qu'ils puissent finir par mener à la maladie. »
- Les champignons et les bactéries appelés endophytes provoquent des infections asymptomatiques des tissus végétaux qui passent inaperçues pendant une partie ou la totalité de leur cycle de vie.

#### a)Les bactéries

Les bactéries sont les organismes les plus nombreux dans le sol avec une moyenne comprise entre 1 x 106 et 1 x 109 organismes par gramme de sol de la rhizosphère. En raison de leur faible masse, ils ne représen Ce terme a subi de nombreux changements. • « Les endophytes sont un groupe de microorganismes qui colonisent les tissus sains de leurs plantes hôtes sans symptômes, bien qu'ils puissent finir par mener à la maladie. »

Tent qu'une petite quantité de la biomasse du sol. De nombreuses études suggèrent en effet que les protéobactéries et les Actinobacteria forment les populations dominantes les plus courantes (>1%, généralement beaucoup plus) trouvées dans la rhizosphère de nombreuses espèces de plantes différentes. Diverses souches de rhizobactéries PGPR qui favorisent la croissance des plantes ont été utilisées avec succès pour les inoculations des cultures. Ceux-ci comprennent des membres du genre bactérien Azospirillum,Bacillus (Ambreen et al., 2012), Pseudomo- nas (Cobsen, 2004) Rhizobium (Ambreen et al., 2012), Serratia et Stenotrophomonas (Rayan et Al., 2009)

#### b)Les champignons

Les champignons pathogènes et symbiotiques sont associés à la rhizosphère . Ils ont en moyenne entre 105 et 106 organismes par gramme de sol de la rhizosphère. Les zygomycètes et les hyphomycètes s'établissent le plus facilement dans la rhizo-sphère parce qu'ils métabolisent les sucres simples . Les populations de champignons dans la rhizosphère et le rhizoplan se situaient entre 5.0 x 102 et 4.5 x 104 cfu/g et 2.0 x 102 à 2,0 x 104 cfu/g respectivement. De nombreux pathogènes végétaux sont des champignons, mais onlya peu de fonges sont des pathogène. Groupe spéciale de champignon particulièrement bénéfique dans l'agriculture sont ceux qui forment une symbiose mycorrhizal avec les racines végétales . Certains champignons importants dans la rhizosphère sont les espèces d'Aspergillus , de Rhizopus de Geotrichum, de Mucor, de Penicillium, d'Acremonium , de Curvularia, de Trichoderma et de Saccharomyces ( Rhodotane et al., 2012)

#### 2.2 Relation plante-endophyte

Selon le type de champignons et les plantes hôtes, les endophytes ont différents styles de vie. Parce que la relation entre une plante et un endophyte peut aller de l'antagonisme au mutualisme, la gamme des interactions a été désignée comme un continuum. Zabalgogeazcoa, (2008). Selon les recherches, le repiquage horizontal (non systématique) des cellules internes par les spores est plus susceptible d'entraîner l'échange de cellules hôtes hostiles que la réplication verticale (systémique) des cellules intérieures par les graines. (Schardl et al., 2004; Saikkonen et al.,1998). Les pathogènes latents sont des endophytes qui ont été isolés des plantes. (Mostert et al., 2000). Toutefois, ces derniers ne constituent pas une fraction importante des endophytes, la plupart des endophytes de ce type ne causent pas de symptômes sur les plantes hôtes. (Zabalgogeazcoa, 2008).

#### 2.3. Rôle physiologique d'endophytes

Les champignons endophytes interagissent avec la plante hôte pour accomplir un certain nombre de fonctions avantageuses qui améliorent la santé de l'hôte et augmentent directement ou indirectement la productivité de la plante. Ces fonctions comprennent la défense contre les microorganismes pathogènes et les herbivores, la promotion de la croissance et la production de métabolites secondaires qui stimulent la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques. (Beatriz et Taides, 2017).

#### 2.4. Rôles écologiques des endophytes

Les endophytes fongiques font partie intégrante des communautés microbiennes

communément associés aux plantes. Ils ont de nombreux rôles écologiques différents qui incluent le mutualisme, commensalisme et parasitisme (Carroll, 1988; Arnold, 2007; Saikkonen, 2007; Sieber, 2007). Ils se produisent également sur une variété d'hôtes comprenant des arbres, des arbustes, des herbes, mousses, fougères et lichens (Stone et al., 2000; Zhang et al., 2006). Bien qu'il y ait beaucoup preuves des effets positifs que les endophytes confèrent à certains hôtes tels que les graminées, il existe peu d'informations sur le rôle écologique que jouent les endophytes sur d'autres hôtes tels que les arbres, (Siegel, 1993; Siegel et al., 1987; Clay 1988, 1990; Funk et al., 1993; Saikkonen et al., 1998)

#### 2.5. Rôle des Endophytes dans la tolérance aux stress abiotiques

Les fonctions des endophytes dans la résistance au stress abiotique L'environnement est en constante évolution, forçant les plantes à s'adapter aux températures rigoureuses, aux pénuries d'eau et aux polluants. De nombreuses études ont démontré que les plantes qui abritent des champignons endophytes sont plus résistantes aux stress environnementaux tels que la sécheresse, la chaleur, la toxicité des métaux et la salinité élevée. (Waller et al., 2005).

#### 3. Les bactéries responsables de la croissance des végétaux(PGPR)

#### 3.1. Définition

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère, pour lesquelles un effet positif sur la physiologie végétale. 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). Un type particulier de bactéries appelées rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) peuplent la rhizosphère et les racines des plantes. Ils interagissent avec la plante hôte de diverses façons qui lui sont bénéfiques sur le plan nutritionnel et pathologique. Les effets favorables de PGPR comprennent fixer l'azote atmosphérique, solubiliser les phosphates, produire des siderophores, synthétiser les régulateurs de croissance des plantes, protéger les plantes en produisant des antibiotiques, et enfin aider les plantes à développer une résistance. La bactérie sert également d'agent purifiant favorable à l'environnement lorsqu'elle est utilisée pour la biorestauration. La communauté scientifique s'est montrée très intéressée par le PGPR, qui

s'est également imposé comme un instrument très fiable pour des méthodes de production culturale respectueuses de l'environnement et durables. PGPR est un candidat fort pour la bioprospection pour une application à long terme en agriculture et la biorestauration pour le bien de tous. (Sinha et al., 2021).

Les **PGPR** peuvent être classées en deux types en fonction de leur degré d'association avec les cellules racinaires.

- Extracellulaires (ePGPR).
- Intracellulaires (iPGRP). (Gray et Smith, 2005; Viveros et al., 2010).

#### 3.2. Mécanisme direct des PGPR sur les plants

Les bactéries de la rhizosphère sont les PGPR qui peuvent améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes par exemple la fixation biologique de l'azote, la solubilisation du phosphate, la solubilisation de potassium, la production des phytohormone (AIA). (Munees et Mulugeta, 2014)

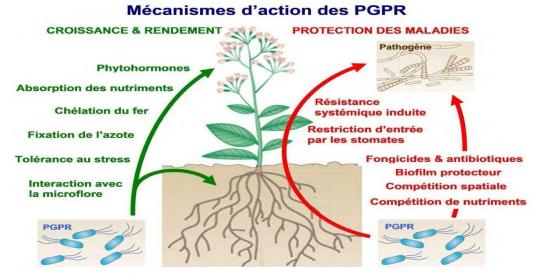


Figure01: Mécanisme d'action des PGPR

#### 3.2.1 Fixation d'azote

All life depends on nitrogen, which is also the most important nutrient for plant development and productivity. Despite making almost 78% of the atmosphere, nitrogen is nevertheless inaccessible to plants. Unfortunately, no species of plant can convert atmospheric nitrogen into ammonia and use it for growth. Thus, biological nitrogen fixation (BNF), which converts atmospheric nitrogen to ammonia by nitrogen-fixing microorganisms via a sophisticated enzyme system known as nitrogenase, transforms atmospheric nitrogen into plant-utilizable forms. Il y a deux façons dont les bactéries fixatrices d'azote peuvent

transférer l'azote atmosphérique aux plantes : symbiotiquement et non-symbiotiquement. Une bactérie et une plante s'engagent dans une connexion mutualiste connue sous le nom de fixation azotéimbiotique. La bactérie pénètre d'abord dans la racine, puis se déplace vers les nodules qui prennent la morphologie où la fixation de l'azote a lieu. Rhizobia est un vaste genre de rhizobactéries qui peut former des relations symbiotiques avec les plantes en colonisant leurs nodules radiculaires, où l'azote est converti en ammoniaque et mis à la disposition de l'hôte. (Munees et Mulugeta, 2014).

#### 3.2.2. Solubilisation de Phosphate

Après l'azote (N), le phosphore est l'ingrédient essentiel pour la nutrition des plantes. Presque toutes les fonctions métaboliques clés des plantes, comme la photosynthèse, la transmission d'énergie, la transduction de signaux, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration, en dépendent d'une façon ou d'une autre. Les formes organiques et inorganiques sont abondamment présentes dans les sols. Comme 95 à 99 % du phosphate est présent sous forme insoluble, immobilisée et précipitée, les plantes ne peuvent pas l'utiliser. Seules deux formes solubles de phosphate, les ions monobasiques (H2PO4) et dibasiques (HPO42-), sont absorbées par les plantes. Les rhizobactéries qui soutiennent la croissance des plantes dans le sol utilisent diverses méthodes pour utiliser le phosphore qui n'est pas disponible pour les plantes et les aident à le rendre afin que les plantes puissent l'absorber **Gupta et al,(2015).** 

#### 3.2.3. Solubilisation de potassium

Sur des plaques moyennes modifiées d'Aleksandrov, la solubilisation du potassium par des isolats de rhizobactéries a été étudiée à l'aide de la méthode d'essai ponctuel. Nous avons préparé des plaques de milieu Aleksandrov modifié (A) avec de la poudre de mica (une forme insoluble de potassium) et de milieu (B) avec K2HPO4 (une forme soluble de potassium). une boucle de développement de 48 heures de la souche rhizobactérienne. Sur chaque plaque, dix cultures bactériennes ont été placées dans le même ordre sur deux types différents de plaques moyennes. Pendant trois jours, les plaques ont été incubées à 28,2 °C. En fonction de leur capacité à créer des zones de solubilisation, divers isolats de rhizobactéries ont été utilisés pour détecter la solubilisation du potassium (**Parmar et Sindhu**, **2013**).

#### 3.2.4. Production de siderophore

D'autres micro-organismes ont beaucoup de difficulté à accéder au fer parce que le PGPR libère des siderophores de faible poids moléculaire pouvant chélater le fer. Le fer sous forme soluble du sol est lié par les siderophores pour le rendre disponible aux plantes. (Chakraborty et al.,2009). Ainsi, le complexe siderophore-Fe est absorbé par les racines des plantes (Crowley, 2006).

Les espèces de Pseudomonas les plus connues qui produisent le sidérophore sont Pseudomonas fluorescents et Pseudomonas putida. De nombreuses maladies, en particulier les champignons, sont incapables de se développer normalement dans des environnements à faible taux de Fe (Compant et al.,2005).

Pseudomonas sidephores sont considérés comme des agents de lutte biologique en raison de leur grande capacité à chélater le fer (**Cornelis, 2010**).

#### 3.2.5. Production des phytohormones

Les phytohormones régulent toutes les activités cellulaires dans les hautes plantes et jouent un rôle important dans l'organisation de nombreuses voies de transduction des signaux pendant la réponse des plantes aux stress abiotiques (Naeem Khan et al., 2020).

Les phytohormones auxines, cytokinines, gibbérellines, éthylène et acide abscisique (ABA) jouent un rôle clé dans ce règlement (Arora, 2013).

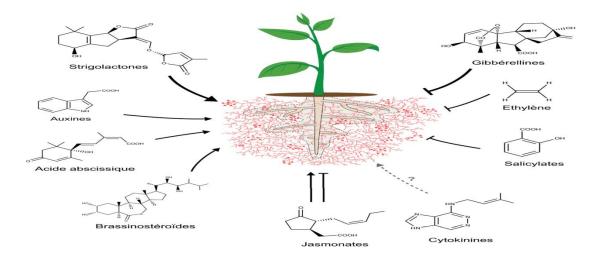


Figure02: Impact des hormones végétales (Simon, 2020)

#### a) Acide Indole Acétique

L'AIA est la première hormone végétale identifiée. L'AIA joue un rôle clé dans la régulation des processus liés à la croissance des plantes comme l'élongation cellulaire, le développement des tissus vasculaires et la dominance apicale. (**Fahad et al., 2015**)

La première classe d'hormones végétales à être reconnue comme telle est la famille des auxines (AIA). Les principales fonctions des auxines dans la création du système racinaire et des composants aériens de la plante comprennent l'influence des stades spécifiques de division, d'allongement et de différenciation cellulaire. L'acide indole-3-acétique (AIA) est la forme active d'auxine la plus répandue et la mieux documentée chez les plantes, bien que d'autres formes d'auxine d'origine naturelle et biologiquement actives soient également présentes, y compris l'acide indole-3-butyrique, l'acide 4-butyrique, le chloroindole-l'acide 3-acétique et l'acide phénylacétique. De plus, un certain nombre de formes qui combinent des sucres ou des acides aminés avec des formes initialement actives pour permettre leur inactivation et leur stockage sont disponibles. Le tryptophane sert de précurseur dans la biosynthèse de l'AIA, mais de nombreuses voies peuvent entraîner sa production. acide pyruvique (3-pyr). (Pons, 2020).

Figure 03: structure chimique de acid indole 3-acétique (AIA ) (Pons, 2020)

#### b)Cytokinine

Certaines variétés de bactéries phytopathogènes productrices de cytokines. L'effet des rhizobactéries stimulant le développement des plantes sur la croissance des plantes est stimulant, tandis que l'effet des cytokinines des pathogènes est inhibant. Cependant, il semble que les RPG libèrent moins de cytokines que les phytopathogènes (Glick et al., 2007).

Figure04: structure chimique de Cytokinine (Pons, 2020)

#### c)Gibbérelline

Sont des acides contenant des résidus d'isoprène qui sont produits par des plantes, des champignons et des bactéries supérieurs. Un grand nombre (136) de gibbérellines distinctes sont trouvées et décrites. Ils ont un impact sur la division cellulaire et l'allongement, et ils jouent un rôle dans un certain nombre de processus de développement, y compris la germination des graines, la floraison, la fructification et le retard de sénescence dans de nombreux organes d'une grande variété d'espèces végétales (MacMillan, 2001).

De nombreuses études ont indiqué que les PGR produisant de la gibbérelline peuvent favoriser la croissance des plantes, et que cet impact favorable sur la biomasse végétale est souvent corrélé à une teneur accrue en gibbérelline dans les tissus végétaux. (Atzhorn et al., 1988

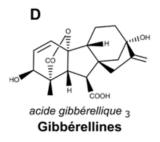


Figure05: structure chimique de Gibbérelline (Pons, 2020)

#### 3.3. Mécanisme indirecte des PGPR sur les plantes

Le principal avantage de l'utilisation de PGPR est que les plantes ont un niveau plus élevé de résistance aux maladies pathogènes. La production d'antibiotiques, la concurrence (pour les nutriments, l'oxygène, l'espace), l'activation de la résistance systémique induite (RSI), et la production d'enzymes (chitinase, protase, lipase) ne sont que quelques-uns des moyens par lesquels les risobactéries contribuent à la lutte contre ces facteurs. Cette défense

est connue sous le nom de lutte biologique (Lugtenberg et Kamilova ,2009 ; Glick, 2012 ; 2014).

#### 3.3.1. Productions des antibiotiques

La production d'antibiotiques par des micro-organismes terrestres est essentielle au maintien de la vie dans l'environnement hautement concurrentiel de la rhizosphère. La capacité des micro-organismes à concurrencer d'autres populations microbiennes est fortement influencée par leur capacité à produire des antibiotiques. Il sert de norme de rendement pour l'encouragement involontaire du développement des plantes. Elle implique la lutte contre les phytopathogènes d'origine terrestre. Amphisine, 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), cyanure d'hydrogène, oomycine A, phénazine, pyolutéorin, pyrolnitrine, tensine, tropolone, et les lipopeptides cycliques ne sont que quelques-uns des antibiotiques générés par PGPR qui ont été identifiés. Le stade de développement de la plante qui sera inoculée et les facteurs environnementaux de la rhizosphère doivent être considérés tout en choisissant une rhizobactérie appropriée souche pour la synthèse d'antibiotiques. Par conséquent, il est recommandé d'utiliser une variété de souches choisies pour diverses circonstances afin de maximiser l'efficacité du contrôle d'un certain nombre de maladies des plantes dans des conditions rhizosphériques fluctuantes. (Petterson et Baath, 2004).

#### 3.3.2. Induction d'un system de bioresistance

Les rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes (PGPR) sont essentielles pour réduire les facteurs de stress biotiques et abiotiques chez les plantes. Les rhizobactéries vivent dans les tissus végétaux de façon endophyte, symbiotique ou se fixent à la surface de la racine, et elles interagissent entre elles en produisant une variété de produits chimiques métaboliquement actifs. Les exsudats radiculaires sont cruciaux pour la colonisation et la croissance des microorganismes de la rhizosphère, qui interagissent avec les plantes et régulent des processus physiologiques complexes, conduisant à l'induction d'une tolérance systémique chez les plantes. Différents métabolites et siderophores produits par Bacillus sporulés augmentent la croissance des plantes sous stress et améliorent également la défense des plantes. Les espèces de bacilles produisent des exopolysaccharides et des siderophores qui sont nécessaires à l'équilibre ionique et au transport efficace de l'eau dans des conditions de stress hydrique, de salinité et de stress des métaux lourds. La souche Pseudomonas SFP1 tolérante aux métaux fabrique de l'acide acétique indole. En outre, il crée des enzymes qui décomposent les parois cellulaires, y compris les chitosinases, protéases, cellulose, glucanase,

HCN et lipopolypeptides, qui sont toxiques pour les bactéries pathogènes, les champignons, les virus et les nématodes. Ces micro-organismes produisent une variété de saccharides, y compris le tréhalose, comme l'une de leurs stratégies de stress. Le tréhalose empêche la décomposition de nombreux produits chimiques et molécules dans les plantes stressées et les aide à résister aux stress biotiques et abiotiques. Les taux de proline et de malondialdéhyde ont été réduits après l'inoculation bactérienne, mais les taux de superoxyde-dismutase, de catalase et de peroxydase ont augmenté.( Khan et al., 2020).

## Matériel et méthode

#### 1. Présentation du matériel biologique

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf) est un arbre puissant, au tronc bien individualisé et aux feuilles caduques. Cet arbre peut vivre n'importe où depuis les marges du Sahara jusqu'aux montagnes avec un niveau moyen de sous-humidité grâce à son écologie hautement plastique. (**Bouabdelli et al., 2015**). Le pistachier de l'Atlas est un arbre de 10 à 15 m de hauteur (**Monjauze,1968**) ,sa hauteur peut atteindre 20 m. (**Yaaqobi et al., 2009**). On leur donne d'autres noms: elbetoum, botma, betouma ou btouma ou encore boutmaia en Arabe, local et Iggh en berbère, (**Evreinoff, 1955**). Les quatre sous-espèces contiens une même formule chromosomique de 2n=28 (**Ghaffari et al., 2003**).



Figure06: La plante de Pistacia atlantica

#### 2. Classification de Pistacia atlantica

**Tableau01**: Classification de *Pctacia atlantica* 

Règne	Plantae	Référence
Phylum	Tracheophyta	(Londron,1981)
CLASS	Magnoliopsida	
<b>Sous Classe</b>	Rosidea	
Ordre	Sapindales	
Famille	Anacardiaceae	
Gene	Pistacia	
Espèce	Pistacia atlantica DESF	
Sous- espèce	MUTICA, Cabulica, Kurdica, Atlantica	(Benhassaini et Belkhodja, 2004)

#### 3. Répartition

Le pistachier de Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) est un arbre dont La majeure partie de l'aire de distribution se retrouve en Afrique du Nord (Maroc, Algérie et Tunisie). Cependant, on le trouve aussi au Moyen-Orient, à Chypre, en Libye (Cyrénaïque) et aux îles Canaries. (**Harfouche et al., 2005**). Ce dernier il figure parmi les plantes non cultivées protégées en Algérie, dans lequel il se distingue par une distribution relativement dispersée; on le trouve dans:

\*Les petits groupes isolés,

\*l'ouest de l'Algérie (Oran et Ain Sefra) à travers l'est de la Tunisie,

\*la plaine de Mitidja au Sahara Nord. \*Montagnes et zones semi-arides (Monjauze, 1980; Ozenda, 1983).

#### 4. Présentation de la zone de prélèvement

Les six échantillons prélevés pour notre étude sont réalisés au niveau de la localité de Boukhadra, plus précisément dans le point géodésique (latitude N35°46'41,9" et longitude E8°23,6). Une zone qui est considéré comme bassin minier pour extraction du fer brute.

#### 5. Prélèvement des échantillons (Sol et Racine)

Par une spatule stérile nous creusons dans le sol à une profondeur de 10 à 20 cm près des racines, l'échantillon et rempli dans un flacon stérile, Puis les racines coupées avec un ciseau stériles et mis dans un flacon stérile étiquet, trois répétition pour chaque échantillon sont effectués.

#### 6. Analyse chimique de sol

Pour analysé le sol étudie, on a préparé trois échantillons de chaque sol. Prélevé 1g de sol dans 10ml d'eau distillé et agiter, après filtration sur du papier filtre. Le filtrat de chaque échantillon à été récupère pour mesurer le pH et la Conductivité par un pH-mètre.



Figure 07 : Analyse des paramètres du sol

### 7. Préparation des milieux et mise en culture

#### 7.1. Isolement des bactéries associées à la Rhizosphère

Pour préparer une séries de dilution (10 <sup>-1</sup>à10<sup>-3</sup>), en diluant pour chaque échantillon 1g du sol dans 10 mL d'eau distillée stérile (pour obtenir la dilution 10<sup>-1</sup>), puis on répétent la même opération en ajoutant 1ml de la dilution mère (de chaque échantillon) à 9ml d'eau distillée, jusqu' à obtenir la dilution 10<sup>-3</sup>.



Figure 08: Préparation des séries de dilutions

#### 7.2. Isolement des bactéries Endophytes

Pour les échantillons des racines, sont rincées avec l'eau de javel, puis avec HgCL<sub>2</sub>, pour éliminer les bactéries de rhizosphère puis avec l'eau distillée cinq fois, après on procèdent par des coupes longitudinaux et placée sur le milieu de culture.



Figure 09 : Coupes des racines sur milieu de culture

#### 8. Paramètres étudiés

#### 8.1. Test solubilisation de Phosphate

Le teste a été réalise dans des boites de pétries contenant le milieu gélosées NBRIP. On creuse 4 répétition par boite de pétrie à l'aide de cure-dent stérile (piqué la surface de la gélose). Ces boites sont incubées à 28°C pour 3 jours. Le pouvoir solubilisant est détermine par la présence d'un halo transparent correspond a la zone de lyse autour de la colonie bactérienne.L'indice de solubilisation(ISP)= Diamètre du halo autour du point/ Diamètre de la colonie (Gonzalez et al., 2018 ; Abiala et al., 2015).

Tableau02: Composition du milieu NBRIP

	Milieu NBRIP				
_	MgCL <sub>2</sub> -6H <sub>2</sub> O5g				
_	MgSO <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O 0.25g				
_	KCL0.2g				
_	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1g				
_	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> )5g				
_	Glucose10g				
_	Agar15g				
_	Eau distillée1L				
	pH=7				

#### 8.2. Test solubilisation de Potassium

Suivons même méthode qui est utilisé pour le test de phosphate est changé le milieu de révélation de la solubilisation de Potassium (Aleksandrov) puis les cultures sont incubées à 30°C pour 7 jours. La révélation de la solubilisation est assurée par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie bactérienne. L'indice de solubilisation (ISK) est calculé comme suit (Meena et al. 2013).:

(ISK)= Diamètre du halo autour du point/ Diamètre de la colonie

Tableau03: Composition du milieu ALEKSANDROV

	ALEKSANDROV				
_	MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	0.005g			
_	FeCL <sub>3</sub>	0.1g			
-	CaCO <sub>3</sub>	2g			
_	Mica	3g			
_	Glucose	5g			
_	Agar	15g			
_	Eau distillée	1000ml			
	pH=7				

#### 8.3. Test production d'AIA

Les souches ont été inoculées dans le Bouillon Nutritif contenant 1g de Tryptophane. Ces cultures on été incubées à 30°C durant 5jours, centrifugée à 13400t/min pendant 10min. Ajouter le réactif Salkowski au surnageant avec un ratio (2:1), puis incubé dans l'obscurité durant 75min, après avoir êtres lus au spectrophotomètre à 535nm les concentrations ont été déterminée par l'équation issu de la courbe d'étalonnage Annexe 01(Gonzalez et al., 2018).

**Tableau04**: Composition de réactif Salkowski

Bouillon Nutritif	Réactif de Salkowski
- Bouillon nutritif8g	- FeCL <sub>3</sub> (0.5M)5ml
- Ttyptophane1g	- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 150ml
- Eau distillée1000ml	- Eau Distille Sterile250ml

## Résultats et discussion

#### 1. Analyse chimique de sol

Après avoir mesuré le pH et la conductivité de 3 échantillons prélevés on a noté .Convergence entre les valeurs PH. où la valeur la plus élevée est E1(7,38±0,20) comparée à d'autres valeurs. La valeur la plus faible E3 (7,12±0,023).

Valeur la plus élevée en conductivité  $E2(502,67~\mu s/cm \pm 114,42)$  et valeur la plus faible  $E3(445,33~\mu s/cm \pm 41,24)$ .

Le pH du site est neutre (E1) à légèrement alcalin, et légèrement salin au salin. Selon le tableau d'appréciation du pH et la salinité des sols mentionné par (**Bocoum**, **2004**).

Paramètres	E1	E2	E3
рН	7,2	7,31	7,11
	7,6	7,15	7,11
	7,34	7,2	7,15
Moyenne ± Ecartype	7,38±0,20	7,22±0,082	7,12±0,023
Conductivité (μs/cm)	469	374	399
	439	541	459
	464	593	478
Moyenne± Ecartype	457,33±16,07	502,67±114,42	445,33±41,24

**Tableau05:** Tableau d'analyse du sol

#### 2. Isolement des souches pures

les 12 isolats (06 racines,06 sol) pures, ont été isolées suite a une variété de colonies sur le milieu utilisé (GN).



Figure 10 : Différentes formes des isolats bactériennes

#### 3. Teste de solubilisation de phosphate (SP)

Dans la figure 11 nous observons la zone de lyse autour des colonies bactériennes qui démontre le pouvoir des isolats à solubiliser le phosphate.

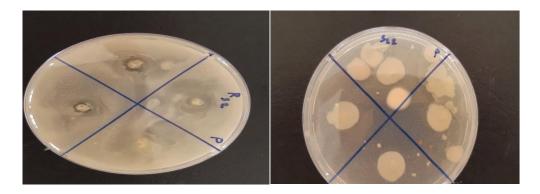


Figure 11 : Solubilisation du phosphate par les isolats testés

L'histogramme des indices de solubilisation de phosphates par les isolats testés. Montre une différence entre les indices de SP (9isolats parmi 12 isolats). ISP(1.97  $\pm$  0,95) la valeur plus élevée enregistrer par (S22), et  $(1.11\pm0.00)$  comme valeur plus basse (R211).

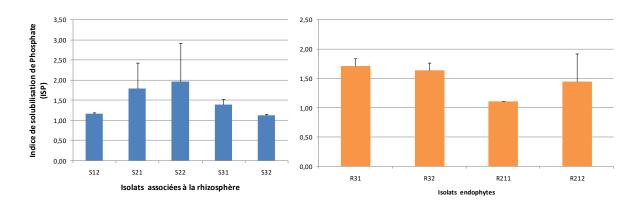


Figure 12 : histogramme des indices de solubilisation du phosphate par l'isolat testés

L'analyse statistique à révélé une déférence très hautement significatives (p<0,001) entre les indices de SP enregistrés par les 9 isolats (tableau 06), qui ont montre un pouvoir de solubilisation. Regroupée en 2 groupes déférents par le test Tukey ( $\alpha$ =0,05). G1(R32,R31,S22,S21,R212,S31,S12,S32,R212); G2(S11,R112,R111) Annexe 02

Tableau06: Analyse de la variance ISP

Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeurde p
		ajust			
isolats	11	22,369	2,0336	15,98	0,000***
Erreur	36	4,580	0,1272		
Total	47	26,949			

#### 4. Test de solubilisation de Potassium (SK)

La zone claire autour des colonies bactériennes indique la solubilisation du potassium (Figure 10)

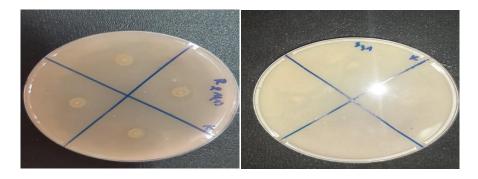
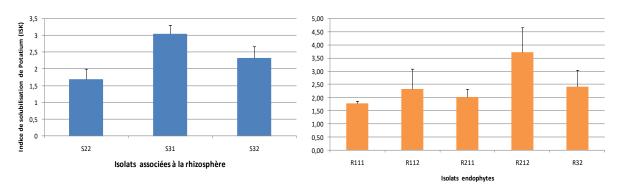


Figure 13 : Solubilisation du Potassium par les isolats testés

L'histogramme des indices de solubilisation de Potassium par l'isolats testés fait ressortir une différence entre les indices de SK(8 isolats parmi 12 isolats). La valeur 3.72±0,95 comme la plus élevée (R212), et 1.70± 0,30 comme valeur la plus minime (S22).



**Figure 14 :** histogramme des indices de solubilisation du potassium par l'isolat testent.

L'analyse statistique à révélé une déférence très hautement significatives (p<0,001) entre les indices de SK enregistrés par les 8 isolats (tableau07), qui ont montre un pouvoir de solubilisation. Regroupée en 6 groupes déférents par le test Tukey ( $\alpha$ =0,05). G1(R212), G2(S31), G3(R32,R112), G4(S32,R211,R11), G5(S22), G6 (S21,S12,S11,R31) Annexe 02.

**Tableau07:** Analyse de la variance ISK

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
isolats	11	75,105	6,8277	35,88	0,000***
Erreur	36	6,850	0,1903		
Total	47	81,955			

#### 5. Production de l'IAA

Le test qualitatif et quantitatif est caractérisé par un changement de couleur du milieu de la culture de transparent à rose après l'ajout du réactif de Salkowski . Cela indique la production de IAA par les 12 isolats testés, en signalant que tous les isolats peuvent transaminer le tryptophane en IAA avec des différentes concentrations (Figure 12).



Figure 15: le virage de la couleur du milieu de culture après l'ajout du réactif de Salkowski

L'histogramme représentant la concentration de production d'IAA par les isolats testés (Figure13 ), montre que les trois isolat R31, R32 et S11 sont les meilleurs productrices de cet phytohormone qui sont respectivement (0,15 mg/mL  $\pm$  0,04) (0,12 mg/mL  $\pm$  0,02) (0,20 mg/mL  $\pm$  0,06).

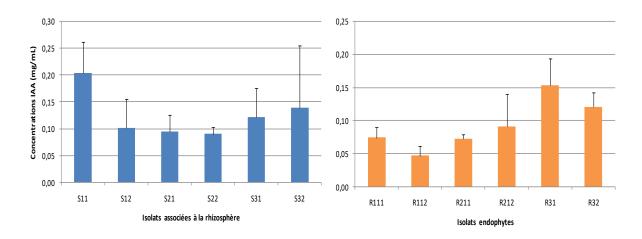


Figure 16: Histogramme de la production d'IAA d'isolat testes

L'analyse statistique a révélé une différence très significative entre les isolats pour la production d'IAA regroupés par le test de Tukey ( $\alpha$ =0.05) en trois groupes différents G1(S11), G2(R31,S32,S31,R32,S12,S21,R212,S22), G3(R111,R211,R112) Annexe 02.

**Tableau08:** Analyse statistique de la production d'IAA

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
isolats	11	0,07830	0,007119	2,97	0,007**
Erreur	36	0,08636	0,002399		
Total	47	0,16467			

#### 6. Biodiversité des isolats

L'analyse de la classification ascendante hiérarchique des données figure 14, divise les isolats de la rhizosphère et les endophytes de *Pistacia atlantica* en trois classe différentes C1(R31,S12,S21), C2(R2,R211,R212,R111,R112,S22,S31,S32), C3(S11). Annexe 03

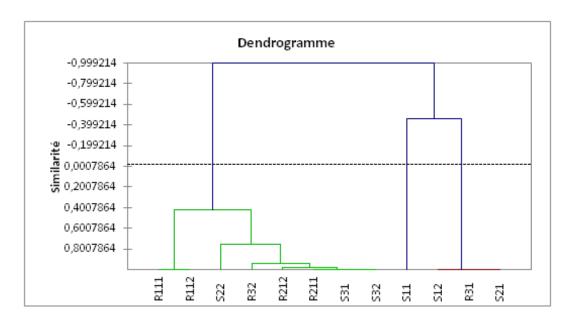


Figure 17: Dendrogramme montrant les différentes classes des isolats testés

#### Étude des traits PGPR des isolats

Le venn diagramme regroupe six isolats caractérisés par des traits PGPR SP, SK et production IAA (R32,R211,R212,S22,S31,S32) représentant 50% des isolats testés, le deuxième groupe formé par des isolat capable de SP et produire IAA (R31,S12,S21) affichant 25% des isolats testés, le troisièmes groupe qui SK et produit de l'IAA (R111,R112) enregistrant 16.7% des isolats, en dernier lieu l'isolat S11qui est caractérisé que par la production de l'IAA avec un pourcentage de 8,3%.

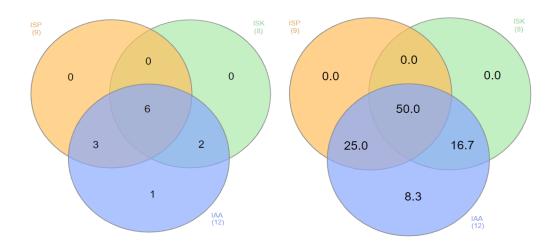


Figure 18 : venn diagramme des isolats testés

#### Discussion des résultats

Les résultats obtenus dans notre étude font sortir une biodiversité des isolats avec présence des certaines d'entre eux montrant un intérêt très important, de l'étude avancé par Gupta et al., (2022) sur le total de 58 isolats, seulement 37 ont pu récupérer sur pikovskaya agar. De ces isolats, seuls 12 isolats ont montré une bonne capacité de solubilisation des phosphates basée sur des zones claires formées par les colonies bactériennes. La souche bactérienne utilise plusieurs voies de solubilisation des phosphates minéraux, et les processus de solubilisation de différentes sources de phosphate sont interdépendants et indépendants, ce qui indique que la souche bactérienne peut s'adapter à différents environnements sources de phosphate et présente un bon potentiel pour de futures applications (Liu et al 2020). Avec du phosphate naturel et l'inoculation par des bacteries solubilisatrice efficace du phosphate (P) ont considérablement augmenté la croissance, la nodulation et l'absorption de P des pois chiches fertilisés avec du phosphate naturel (Alemneh et al., 2021).

L'application de bactéries solubilisant le phosphate pour l'amélioration des pools de phosphate existants dans le sol est importante pour la croissance des plantes. Certaines bacteries présentaient un fort potentiel de solubilisation du phosphate, une production d'acide indole acétique (IAA) et d'acide organique, ainsi que des résistances antibactériennes et antibiotiques. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, présentaient un fort potentiel de solubilisation du phosphate et par conséquent les rhizobactéries favorisent la croissance des plantes (Afzal et al.,2023)

Les bactéries solubilisantes le potassium peuvent convertir les K insolubles aux formes solubles; donc en utilisant les bactéries comme biofertilisantes est une solution durable pour l'amélioration de la croissance des plantes, de la nutrition, de la croissance des racines et la compétitivité et la réduction de l'utilisation d'engrais chimiques potassiques (Ghadam et al.,2019)

L'application de ces souches bactérienne solubilisatrice du potassium a considérablement amélioré la longueur des pousses, le poids frais, le poids sec et la teneur en chlorophylle des plantes cultivés dans des conditions salines. Par conséquent, ces souches pourraient être des bioinoculants qui peuvent être utilisés pour protéger les plantes contre le stress salin (Ashfaq et al.,2020)

Des bactéries ont été isolés en tant que PGPR producteurs d'IAA et sélectionnés dans pour leur exploitation dans le développement de la croissance des plantes dans des conditions de stress. L'impact de l'application externe d'IAA synthétique a considérablement augmenté la croissance des plantes (Pal et al., 2019).

La croissance de la plante est améliorée grâce aux rhizobactéries directement en fixant l'azote atmosphérique, la solubilisation du phosphate insoluble et les sécrétions d'hormones végétales, aussi faciliter la croissance des plantes indirectement par la production de sidérophores, la production d'antibiotiques et enzymes lytiques, production de HCN et régulation des conditions de stress (Rehman et al.,2020)

Les résultats de certaines recherche scientifique confirment qu'une évaluation plus approfondie de ces PGPR (présentant des multi-traits pour la promotion de la croissance des plantes) est nécessaire sur les plantes cultivées pour révéler leur rôle pragmatique dans des conditions de stress normales et abiotiques et s'ajouter au consortium de biofertilisants pour une agriculture durable. D'autres travaux de recherche montrent que l'application d'inoculant PGPR a considérablement augmenté les rendements des cultures par l'utilisation de telles souches PGPR ayant divers traits PGP comme bioinoculant (Singh et al., 2020; Moon et al.,2022)

#### Conclusion

Cette contribution à isoler des PGPR à partir de la rhizosphère et des racines de *Pistacia atlantica* nous a permis d'identifier certaines bactéries caractérisées par des traits PGPR intéressants. Toutes les bactéries isolées sont productrices d'IAA, même si le taux de production varie considérablement d'un isolat à l'autre. 8 isolats ont montré un pouvoir de solubilisation du phosphate alors que 9 isolats ont pu solubiliser le potassium. Ce qui confirme la biodiversité des bactéries isolées de la même rhizosphère et des racines de la même espèce végétale.

On a pu identifier 6 souches à intérêt agronomique présentant plusieurs traits PGPR, capables de produire l'IAA et de solubiliser le K et le P, ces souches-là peuvent être incorporées dans des programmes d'amélioration des rendements des végétaux à large consommation en les introduisant comme des bio fertilisants pour faciliter l'absorption des minéraux et réduire les besoins en engrais chimiques.

Il est très important de définir la position taxonomique des isolats par des techniques génomiques comme la 16S rRNA, ainsi le séquençage des gènes de ménage.

Il est très judicieux de signaler que ce travail doit être approfondi par des tests sous serre en inoculant des espèces végétales par nos isolats à traits PGPR afin de tester leur potentiel à promouvoir la croissance des plantes, à induire la tolérance aux différents stress biotiques et abiotiques ainsi que la phytoremédiation des sols pollués et dégradés pour valoriser leurs rôle dans la préservation de l'environnement.

# Références Bibliographiques

#### A

- -A.AMBEREEN .HISAMUDDIN ,I.R.MERAJUI ,ABBASI,S.RUSHDA;plant growth pormoting rhizosobacteria **AN** OVERVIEW,j.nat.pord.plant resor ,2(1),19-31
- -Afzal, A., Bahader, S., Ul Hassan, T., Naz, I., & Din, A. U. (2023). Rock phosphate solubilization by plant growth-promoting Bacillus velezensis and its impact on wheat growth and yield. *Geomicrobiology Journal*, 40(2), 131-142.
- -Alemneh, A. A., Zhou, Y., Ryder, M. H., & Denton, M. D. (2021). Is phosphate solubilizing ability in plant growth-promoting rhizobacteria isolated from chickpea linked to their ability to produce ACC deaminase?. *Journal of Applied Microbiology*, *131*(5), 2416-2432.
- -AL-Saghir, M. G. (2006). Phylogenetic analysis of the genus Pistacia (Anacardiaceae) (Thèse de doctorat, Université de Virginia Tech)
- Andrea.Marquez(2021) https://www.projetecolo.com/rhizosphere-definition-composition-et-importance-268.html
- -Arora, N. K., Tewari, S., & Singh, R. (2013). Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs. *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances*, 411-449.
- -Ashfaq, M., Hassan, H. M., Ghazali, A. H. A., & Ahmad, M. (2020). Halotolerant potassium solubilizing plant growth promoting rhizobacteria may improve potassium availability under saline conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192, 1-20.
- -Atzhorn RA, Crozier CT, Wheeler et Sandberg G . (1988). Production of gibberellins and indole-3- acetic acid by Rhizobium phaseoli in relation to nodulation of phaseolus vulgaris roots. Planta .175: 532-538

B

- -B.J.JACOBSEN .N.K. ZIDACK,B.J.LARSON; the ROLE OF BACILLUS-BASADE BIOLOGICAL CONTRAOL AGENTS IN INTE-GRATED PEST MANAGENT SISTEMS, DISEAES. PHYTOPATOLOGY, 94, pp1272-1275 (2004)
- -Beatriz d S. S., Taides T. d. S. (2017). Endophytic fungi in economically important plants: ecological aspects, diversity and potential biotechnological applications. J. Bioen. Food Sci. v.4, n.2, 113-126.

- -Belhadj, S., Derridj, A., Auda, Y., Gers, C., & Gauquelin, T. (2008). Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de Pistacia atlantica en Algérie. *Botany*, 86(5), 520-532.
- -Benabdallah, F. Z. (2012). Etude morphologique des feuilles et des fruits du pistachier de l'atlas (Pistacia atlantica Desf) et valorisation des huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine (Doctoral dissertation, Université de Biskra-Mohamed Khider).
- -BENHSSAINI H., BELKHODJA M. 2004. Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. La feuille et l'aiguille 54: 1-2
- -Bocoum M. 2004. Méthodes d'analyses des sols. Doc de travail. Institut National de Pédo logie, Dakar Sénégal, 55 pp.
- -BOUABDELLI.Z.Blhadj.S et Smail-Sadoun N.(2015) contribution à l'étude des champignons mycorhiziens chez les pistachier de l'Atlas en milieu aride, Wilaya de Djelfa .ElWahat pour les recherches et les Etudes Vol.8n°2.pp90-98

 $\mathbf{C}$ 

- -Chaitanya Kmar Jha and Meenu Saraf(015).Plant growth promotin rhizobacteria(PGPR):a review.E3 Jaurnal of Africultural Research and Development.Vol5(2).108-119pp.
- -Chakraborty U, Chakraborty B, Basnet M, Chakraborty A (2009) Evaluation of Ochrobactrum anthropi TRS-2 and its talc based formulation for enhancement of growth of tea plants and management of brown root rot disease. J App Microbiol 107:625–634
- -Chanway, C. P., & Holl, F. B. (1992). Influence of soil biota on Douglas-fir (Pseudotsuga menziesii) seedling growth: the role of rhizosphere bacteria. *Canadian Journal of Botany*, 70(5), 1025-1031.
- -Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA (2005) Use of plant growthpromoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. App Env Microbiol 71:4951–4959
- -Cornelis P (2010) Iron uptake and metabolism in Pseudomonads. App Microbiol Biotech 86:1637–1645
- -Crowley DE (2006) Microbial siderophores in the plant rhizosphere. In: Barton LL, Abadia J (eds) Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Plant Microb. Springer, Dordrecht, pp 169–198

-Curl, E. A., & Truelove, B. (2012). *The rhizosphere* (Vol. 15). Springer Science & Business Media.

D

-Dekak, A., Slama, H., Chergui, M., & Mekahlia, M. N. (2022, January). Properties of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Rhizospheric Soil of Citrulus colocynthis (Cucurbitaceae) in northeastern Algeria. In *New Prospects in Environmental Geosciences and Hydrogeosciences: Proceedings of the 2nd Springer Conference of the Arabian Journal of Geosciences (CAJG-2), Tunisia 2019* (pp. 103-106). Cham: Springer International Publishing.

-Dhaked, B. S., Koli, G. K., Triveni, S., Reddy, R. S., Jaiswal, A., & Koli, D. K. (2022). Screening of potassium and zinc solubilizing bacteria for plant growth promoting properties (PGPR) from different rhizospheric soil. *Pharma Innov J*, 11(2), 1315-1319.

 $\mathbf{E}$ 

-Evreinoff, V. A. (1955). Le Pistachier. Etude pomologique. In : Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée, vol. 2, n°7-9, Juillet-août-septembre 1955. pp. 387-415 ; doi : https://doi.org/10.3406/jatba.1955.2236

 $\mathbf{F}$ 

-Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F. A., Khaliq, A., Saud, S., ... & Huang, J. (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant growth regulation*, 75, 391-404.

-FAO: World fertilizer trends and outlook to 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy, www.fao.org/3/a-i4324e.pdf (2015)

Ghadam Khani, A., Enayatizamir, N., & Norouzi Masir, M. (2019). Impact of plant growth promoting rhizobacteria on different forms of soil potassium under wheat cultivation. *Letters in Applied Microbiology*, 68(6), 514-521.

G

-GHAFFARI S.M., SHABAZAZ M., BEHBOODI B.S. 2003. Chromosome variation in Pistacia genus. XIIIème réunion de GREMPA sur l'Amandier et le Pistachier. Portugal. Options méditerranéennes, Série A, Séminaires méditerranéens 63.

- -Glick B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol., 41:109-117.
- -Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6), 227-242.
- -Global Biodiversity Iformation Facility(2021). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. https://doi.org/10.15468/39omei accessed via GBIF.org
- -Gobat, J. M., Aragno, M., & Matthey, W. (2010). Le sol vivant: bases de
- -Gonzalez A.H., D. Morales Londono, E. Pille da Silva, F.X.I. Nascimento, L.F. de Souza, B.G. da Silva, A.D. Canei, R.D. de Armas, A.J. Giachini and C.R.F.S. Soares, (2018), Bradyrhizobium and Pseudomonas strains obtained from coal-mining areas nodulate and promote the growth of Calopogonium muconoides plants used in the reclamation of degraded areas, Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072, doi:10.1111/jam.14117.
- -Gray, E., and Smith, D. (2005). Intracellular and extracellular PGPR:
- -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. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.
- -Gupta, R., Kumari, A., Sharma, S., Alzahrani, O. M., Noureldeen, A., & Darwish, H. (2022). Identification, characterization and optimization of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSRB) from rice rhizosphere. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 35-42.

#### Η

- -Harfouche, A., Chebouti-Meziou, N., & Chebouti, Y. (2005). Comportement comparé de quelques provenances algériennes de pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). *Forêt méditerranéenne*, 26(2), 135-142.
- -https://gifex.com/fr/fichier/carte-vierge-de-la-wilaya-de-tebessa/(carte kharita)

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.mapaq.gouv.qc.ca%2FSiteCollectionDocuments%2FRegions%2FMonteregie-

Ouest%2FJournees\_horticoles\_2014%2F3\_decembre%2FHorticulture\_biologique%2F15h30 \_a\_PhytoBio\_LAMBERT.pdf&psig=AOvVaw01oTk-

https://www.projetecolo.com/rhizosphere-definition-composition-et-importance-268.html

#### K

-Khan, N., Bano, A., Ali, S., & Babar, M. A. (2020). Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, *90*, 189-203.

#### L

- -Liu, Y. Q., Wang, Y. H., Kong, W. L., Liu, W. H., Xie, X. L., & Wu, X. Q. (2020). Identification, cloning and expression patterns of the genes related to phosphate solubilization in Burkholderia multivorans WS-FJ9 under different soluble phosphate levels. *AMB Express*, 10(1), 1-11.
- -Lugtenberg B., Kamilova F. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria. Annu. Rev Microbial. 63: 541-556

#### $\mathbf{M}$

- -MacMillan, J. (2001). Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. *Journal of plant growth regulation*, 20(4).
- -Meena O.P., Maurya B.R., Meena V.S., (2013), Influence of K solubilizing bacteria on release of potassium from waste mica, Agriculture for sustainable Development 1(1):53-56, 2013/article
- -Monjauze, A. (1968). Distribution and ecology of Pistacia atlantica Desf. Algeria. Bull Soc Hist Nat Afr Nord, 56, 1-128.
- -Moon, Y. S., & Ali, S. (2022). Isolation and identification of multi-trait plant growth—promoting rhizobacteria from coastal sand dune plant species of Pohang beach. *Folia Microbiologica*, 67(3), 523-533.
- -Mostert L., Crous PW. & Petrino O. (2000). Endophytic fungi associated with shots and leaves of Vitis vinifera, with specific reference to the Phomopsis viticola complex. Sydowia 54: 46-58.

-MuneesAhemad,MulugetaKibret , 2013 .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of King Saud University – Science, January Volume 26, Issue 1

#### N

-Naeem Khan, Asghari Bano, Shahid Ali,Md, Ali Baebar(2020).Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. Plant Growth Regulation 90:189-203.

#### 0

-O.A.Oywole,N.Asiotu (2012).Rhizospher microbial communities areview. Departement of Microbiology,Federal university of Technology,Minna P.M.B65,Minna,Niger State,(NIGERIA).E-mail:oyewolefemi@gmail.com.6(10) 271\_279 pp

#### P

- -Pal, A. K., Mandal, S., & Sengupta, C. (2019). Exploitation of IAA Producing PGPR on mustard (Brassica nigra L.) seedling growth under cadmium stress condition in comparison with exogenous IAA application. *Plant Science Today*, *6*(1), 22-30.
- -Parmar, P., & Sindhu, S. S. (2013). Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. *J Microbiol Res*, *3*(1), 25-31. pédologie, biologie des sols (Vol. 14). PPUR Presses polytechniques.p 656

#### R

- -R.P.Rayan,S.Monchy,M.Cardinal,S.Taghavi,L.Crossaman,M.B.Avison,G.Berg,D.van der Lelie,D.J.Maxwell;Versatility and adaptation of bacteria from the genus stenotrophomonas.Nature Re-views Microbology,7.514.545.(2009).
- -Rehman, F. U., Kalsoom, M., Adnan, M., Toor, M., & Zulfiqar, A. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production: A review. *SunText Rev. Biotechnol*, *I*(2), 1-6.

#### S

-Saikkonen, K., Faeth, S. H., Helander, M., & Sullivan, T. J. (1998). Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual review of Ecology and Systematics*, 29(1), 319-343.

- -Schardl, C. L., Leuchtmann, A., & Spiering, M. J. (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *55*, 315-340.
- -Simon Pons. (2020) Les hormones dans la symbiose mycorhizienne : étude de la production et des effets d'hormones végétales par les champignons endomycorhiziens. Interactions entre organismes. Univer- sité Paul Sabatier Toulouse III,. Français. NNT : 2020TOU30293 . tel-03333973. https://theses.hal.science
- -Singh, T. B., Sahai, V., Ali, A., Prasad, M., Yadav, A., Shrivastav, P., ... & Dantu, P. K. (2020). Screening and evaluation of PGPR strains having multiple PGP traits from hilly terrain. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(4), 38-44.
- -Sinha, D., Mukherjee, S., & Mahapatra, D. (2021). Multifaceted potential of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): An overview. *Handbook of Research on Microbial Remediation and Microbial Biotechnology for Sustainable Soil*, 205-268.
- -Slimani, A., Raklami, A., Oufdou, K., & Meddich, A. (2023). Isolation and characterization of PGPR and their potenzial for drought alleviation in barley Plants. *Gesunde Pflanzen*, 75(2), 377-391. Soil Biol. Biochem. 37,

#### W

- -Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., Huckelhoven R., Neumann C., von W. D., Franken P. and Kogel K. H. 2005. The endophytic fungus Piriformospora indica reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences USA (102):13386-13391.
- -Wilson, D. (1995). Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos*, 274-276.

#### Y

-Yaaqobi, A., El Hafid, L., & Haloui, B. (2009). Etude biologique de pistacia atlantica Desf. De la region orientale du maroc. Biomatec Echo | Volume 3 | Number 6 | pp. 39 – 49 |.

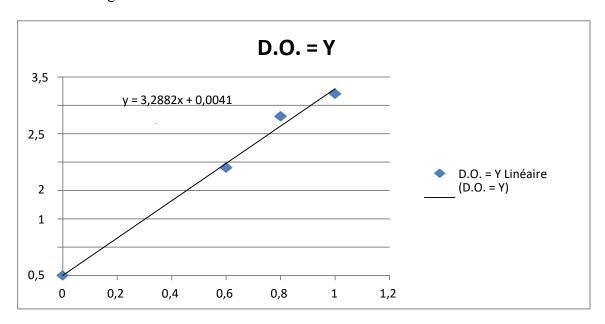
#### $\mathbf{Z}$

-Zabalgogeazcoa, I. (2008). Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens: a review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6, 138-146.

## Annexe

Annexe 1:

Les courbes d'étalonnage



Annexe 02

## Analyse statistique

## ANOVA à un facteur contrôlé : ISP en fonction de isolats

**Comparaisons deux à deux de Tukey** 

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

isolats	N	Moyenne Groupement
2	4	1,854 A
1	4	1,7868 A
10	4	1,775 A
9	4	1,639 A
4	4	1,398 A
11	4	1,3819 A
8	4	1,1774 A
12	4	1,1402 A
3	4	1,111 A
7	4	0,000000 B
6	4	0,000000 B
5	4	0,000000 B

### ANOVA à un facteur contrôlé : ISK en fonction de isolats

**Comparaisons deux à deux de Tukey** 

## Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

isolats	Ν	Moyenne G	irou	pem	ent
4	4	3,625 A			
11	4	2,833 A	В		
2	4	2,688 A	В	C	
6	4	2,583 A	В	C	
12	4	2,333	В	C	
3	4	2,021	В	C	
5	4	1,8333	В	C	
10	4	1,700		C	
9	4	0,000000			D
8	4	0,000000			D
7	4	0,000000			D
1	4	0,000000			D

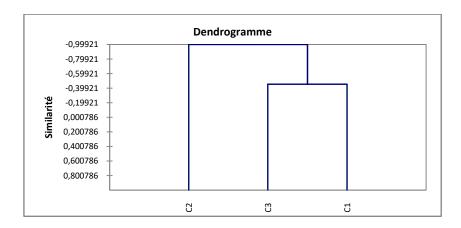
## ANOVA à un facteur contrôlé : IAA en fonction de isolats

## **Comparaisons deux à deux de Tukey**

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

isolats	Ν	Moyenne Gro	upement
7	4	0,2041 A	
1	4	0,1531 A	В
12	4	0,1394 A	В
11	4	0,1220 A	В
2	4	0,1204 A	В
8	4	0,1014 A	В
9	4	0,0946 A	В
4	4	0,0915 A	В
10	4	0,09002 A	В
5	4	0,07406	В
3	4	0,07254	В
6	4	0,04668	В

Annexe 03 Classification hiérarchique



Classe	1	2	3
	R31	R32	S11
	S12	R211	
	S21	R212	
		R111	
		R112	
		S22	
		S31	
		S32	