



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
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 *Bacteries* endophytes et associées a la *Rhizosphere* d'elgtaf *Atriplex halimus*

Présenté par :

DJEBABLI RABAB

MECHERI RAOUIA

Devant le jury

Président	Dr. Souhail maalem	Professeur	Université de Tébessa
Promoteur:	Dr. Ahmed dakkak	MCA	Université de Tébessa
Examineur :	Dr. Souad mehalaine	MCB	Université de Tébessa

Date de soutenance : **15 Juin 2021**

Note : Mention :

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENT

Nous remercions tout d'abord «Allah» tous puissant qui nous a donné la santé, le courage et la patience afin de pouvoir accomplir ce modeste travail. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Nos vifs remerciement et nos profonde gratitude s'adressent à monsieur AHMED DEKKEK, université de Tébessa. qui a accepté nos encadrer , ses précieuses orientations , conseils, contrôles et suivis, sa patience extrême, son assistance, et ses encouragements .

Nos remerciements vont aussi à

Me SOUHAIL MAALEM d'avoir ménagé son temps pour présider ce jury , Mme SOUAD MEHALAINE pour avoir bien voulu siéger dans ce jury afin d'examiner et critiquer ce mémoire et nous éclairer par ces précieuses conseils. Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs et tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leur écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nos rencontrer et aider durant nos recherche

A nos parents

Pour l'enfance merveilleuse qu'ils nous ont offerte ainsi que pour leurs encouragements.

Pour leurs soutiens et leurs aides.

Avec tout notre amour

DEDICACES

Mon Dieu ne blâme la nuit que par vos remerciements et ne blâme le jour que par votre obéissance, à celui qui a atteint le message et a conduit la confiance et a conseillé la nation au Prophète de la miséricorde, la paix et les bénédictions de Dieu soient sur lui.

Le chemin de vie de mon père bien-aimé est illuminé. À ceux qui m'ont envoyé patience, optimisme et espoir d'avancer dans la réalisation de mes rêves, ma chère mère.

Aux vents de ma vie, mes frères **ABD
ELHAMID, IBRAHIM, MOHAMMED, AYMEN.**

Au source de ma vie et aux visages innocents des pousses et à la lumière de la maison **SIRIN , SADJA, AMIR**

A ceux que j'ai partagés toute ma vie **ILHEM, AZHAR , CHAHRA.**

A ceux qui ont goûté aux plus beaux moments **Wided** à ceux qui se distinguent en donnant et en épanouissant tous les amis.

RABAB

A mes parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études.

Aucun mot, aucun dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être. Trouver ici chère mère et cher père, dans ce modeste travail, le fruit de tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour.

A la mémoire de Mama **Charifa** et **Bouthaina** qui avez toujours été fiers de moi. que Dieu pitié d'eux.

A ma seule sœur : NAWAL Ta présence à mes cotés m'a toujours donné l'impression d'être proche de toute la famille. Sans toi ma vie ne serait que simple.

A mon bra droit: Wided *Je voudrais t'exprimer à travers ces quelques lignes tout l'amour et toute l'affection que j'ai pour toi. Je t'aime sœur !*

A mes chers frères et sœurs: **FATMA, MOUFIDA, KARIM** et sa femme **WAHIBA, DJALLAL, FAWAZ, KHALED, WARDA** Pour votre présence, votre soutien, vos encouragements tout au long de ces années.

A tous mes grandes frères et sœurs et leurs femmes et hommes, oncle, tantes, cousines, cousins, a toute ma famille MECHERI Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond

A tous mes amis

A tous ceux qui m'ont aidé dans mes études et ma vie.

A ce qui a été un tournant dans ma vie.

A tous ceux qui m'aime et me connaissent d'un proche ou de loin.

RAOUIA

SOMMAIRE

CHAPITRE 1:REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Generalité sur l'atriplex	3
1.1. Definition	3
1.2. Repartition	4
1.2.1. Dans le monde	4
1.2.2. Dans l'algerie	4
1.3. Physiologie d'atriplex	6
1.4. L'interet d'atriplex	6
2. Génénralite sur la Rhizosphere	7
2.1. Etymologie	8
2.2.Definition	8
2.3.Activité du Rhizosphere	8
2.4.La microflore Rhizospherique	9
2.5. Les bacteri Rhizospherique	10
2.6. L'effet sur les plantes	10
3.Généralite sur l'Endophyte	11
3.1. Definition	11
3.2. La relation plante-endophyte	11
3.3. Le role physiologique et ecologique des endophytes	12
3.4. Le role des endophytes dans la tolérance aux stesse abiotique	13
4. les bacteries responsables a la croissance des plantes (PGPR)	13
4.1.Definition	14

4.2. L'efet direct des PGPRs sur les plantes	14
4.2.1. Fixation d'Azote	14
4.2.2. Solubilisation du Phosphate (SP	15
4.2.3. Solubilisation du Potassium (SK	15
4.2.4. Production des sidérophores	16
4.2.5. Production des phytohormones	16
4.2.6. Acide Indole Acétique (IAA)	17
4.2.7. Production des cytokines	17
4.2.8. Estimation de l'acide gibbérellique	17
4.3. Effet indirect des PGPR sur les plantes	17
4.3.1. Productions des antibiotiques	18
4.3.2. Induction d'un système de résistance	19
4.3.2.1. Effet phytoprotectrice Sidérophores	19
4.4 Interet agronomique des PGPRs	19
4.5. Formation des biofilm par les PGPRs	20

CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODE

1. Presentation du materiel végétal	22
1.1. Classification systhématique	22
1.2. Tolérance	22
2. Presentation de la zone du prelevement(Tebessa	23
3. Sites choisie pour les prélèvement	23
4. Prélèvement des échantillons du sol et des racines	24
5 .Analyse chimique du sol	24
6. Préparation des milieux et mise en culture	26
6.1 Les séries de dilutions	27
6.2. Stockage et préservation	27

7.1.Préparation des souches	27
7.2 Test de solubilisation du phosphate	27
7.3 Test de solubilisation de potassium	28
7.4 Test de production d'IAA	28
8. TEST API 20 E	29

CHAPITRE 3: RESULTAT ET DISCUSSION

analyse du sol	31
olement des souches pures	31
est de solubilisation du phosphate(SP	31
3.1.Analyse statistique	32
4.test de solubilisation du potassium (SK	32
5.production d'IAA	33
6.LES traits PGPR des isolats testés	34
7. Resultats du test API 20 E	35
Referances bibliografphiques	

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre de tableau	Page
Tableau 01	Nombre approximatif des espèces d' <i>Atriplex</i> dans diverses régions et pays arides et semis arides du monde	4
Tableau 02	Répartition des différentes espèces d' <i>Atriplex</i> dans l'Algérie	5
Tableau 03	Composition du milieu Aleksandrow	28
Tableau 04	composition du milieu et du réactif du test de production d'IA	29
Tableau 05	Tableau statistique des variances d'analyse du sol	31
Tableau 06	Analyse de la variance ISP	32
Tableau 07	Analyse de la variance ISK	32
Tableau 08	Analyse de la variance IAA	32
Tableau 09	Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %	33
Tableau 10	Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %	34

LISTE DES FIGURE

N°	Titre de figure	Page
Figure 01	Production de biomasse de différents groupes de plantes suivant la salinité	3
Figure02	Usage fourrager	7
Figure03	Représentant la rhizosphère	8
Figure 04	La structure de la rhizospher	10
Figure 05	Interactions entre plantes et bactéries cooperatives dans la rhizosphère	11
Figure 06	Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate	16
Figure 07	Mécanismes de l'intéraction Plante-PGPR	20
Figure 08	Le processus du développement de biofilm	21
Figure 09	<i>ATRIPLEX HALIMUS</i>	22
Figure 10	Carte bioclimatique de la w. de Tebessa	23
Figure 11	Paysage de site 01 BOULHAF EDDIR	24
Figure 12	parametres geologiques de site 01	24
Figure 13	desPRELEVEMENTS DES ECHANTILLON DU SOL DE RHIZOSPHERE ET LES RACINES DE SITE 01(2021)	25
Figure 14	LES ETAPES D'ANALYSE CHIMIQUE DU SOL	26
Figure 15	Les séries de dilutions	27
Figure 16	test API 20 E	30
Figure 17	histogramme des indices de solubilisation du phosphate par l'isolat testes	32
Figure 18	histogramme des indices de solubilisation du potasium par l'isolat testes	32
Figure 19	histogramme representant les concentration de production d'IAA par les isolats testes	34
Figure 20	histogramme representant les traits PGPR chez les isolats testés	34
Figure 21	répartition proportionnelle des isolats selon les traits PGPR étudiés	35
Figure 22	Resultats du test API 20 E	35

LISTE D'ABRIVIATIONS

°C : degré Celsius

Fe : Fer

G : gramme

IAA : Indol Acid Acetic

mL : millilitre

mm : millimètre

NBRIP : National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

pH : Potentiel d'Hydrogène

SP : Solubilisation du P (Phosphate)

SK : Solubilisation du k(potassium)

T/MIN : tour par minute

TITRE : Isolement et caractérisation des bactéries endophytes et associées à la Rhizosphère d'elgtaf (*Atriplex Halimus*)

RESUME

L'utilisation des bactéries endophytes et associées à la rhizosphères d' *Atriplex halimus* peut orienter les pratiques agricoles vers une perspective durable et plus respectueuse de l'environnement.

26 isolats issus de 12 échantillons de la Rhizosphère et les racines de la plante *Atriplex Halimus* qui pousse dans des conditions d'aridité et sol salée accrue au niveau de deux régions de Tebessa (commune Morset- Elmallaha -région du nord et Boulhaf eddir -Kissa- région médiane), ont été utilisés pour isolés et identifier des bactéries à traits PGPR

en évaluant leur efficacité à production IAA et à solubiliser le phosphate et le potassium ce qui permettra de leurs mécanismes d'action 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, 13 souches capables de solubiliser le P, 14 souches capables de solubiliser le K et enfin 08 souches d'intérêt qui ont présenté un important potentiel PGPR et qui sont susceptibles d'être utilisés dans des programmes d'amélioration de la productivité agricole.

MOTS CLES :

Endophytes, Rhizosphère, *Atriplex halimus*, Phytohormones, solubilisation des minéraux.

TITLE

Isolation and characterisation of endophytic bacteria associated with the rhizosphere of elgtaf (*Atriplex halimus*)

ABSTRACT

The use of endophytic bacteria associated with the rhizosphere of *Atriplex halimus* can orientate agricultural practices towards a sustainable and more environmentally friendly perspective

26 isolates collected from 12 samples from the Rhizosphere and root of *Atriplex Halimus* plant growing under severe aridity conditions and salty soil in Tebessa (Morset – elmallaha – north, boulhaf eddir –kissa – the middle), were used to isolate and identify these PGPR trait bacteria evaluating their efficiency in producing IAA phytohormone and potassium 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, 13 strains capable of solubilizing P, 14 strains able to solubilize K and finally 8 strains of interest that showed significant PGPR, which are likely to be involved in programs of agricultural productivity improvement.

KEY WORDS

Atriplex halimus, rhizosphere, Endophytic Bacteria, minerals solubilization, Phytohormones .

العنوان

عزل و دراسة البكتيريا الداخلية الملاصقة لجذور القطف *Atriplex halimus*

ملخص

تتركز هذه الدراسة على عزل البكتيريا الداخلية الملاصقة لجذور القطف ودراساتها تم اسخدام 26 عزلة بكتيرية من 12 عينة من المنطقة الملاصقة لجذور نبات *Atriplex halimus* و جذوره و الذي ينمو تحت ظروف جافة و في تربة مالحة في منطقتين من تبسة (مرسط -الملاحة منطقة شمالية ، و بولحاف الدير -كيسة - منطقة وسطية) من اجل انتقاء و تحديد بكتيريا ال PGPR و تقييم كفاءتها في انتاج الهرمون النباتي IAA و اذابة الفوسفات و البوتاسيوم و هذا ما سيساعد على فهم آليات عملها و اختيار سلالات فعالة سمحت لنا هذه الدراسة بتسجيل تنوع بيولوجي في الكائنات الحية الدقيقة و المعظولة و الذي اكدته نتائج الاختبارات المختلفة ، خاصة انتاج ال IAA ، 13 سلالة قادرة على اذابة P و 14 سلالة قادرة على اذابة ال K و اخيرا تم حصر 8 سلالات قيمة من البكتيريا ذات فعالية كبيرة و التي من المرجح ان تستخدم في بامج تحسين الانتاج الزراعي

كلمات مفتاحية

Atriplex halimus، التربة الملاصقة للجذور،البكتيرية الداخلية، هرمونات نباتية ، اذابة معادن

Introduction

La productivité agricole doit augmenter de manière significative dans les années à venir pour faire face à la croissance démographique mondiale ascendante et les dommages environnementaux. Pour résoudre ce problème et obtenir des rendements plus élevés, les agriculteurs sont devenus dépendants des sources d'engrais chimiques, qui en plus d'être coûteuses, épuisent les ressources d'énergie non-renouvelables et posent des risques pour l'homme et l'environnement. (FAO, 2015).

Il serait évidemment avantageux d'utiliser des moyens biologiques efficaces pour fournir les minéraux indispensables à la croissance des plantes et d'orienter les pratiques agricoles vers une approche plus durable et plus respectueuse de l'environnement. Cela inclue l'utilisation de bactéries favorisant la croissance des plantes. (Glick, 1995).

Il est envisagé que dans un avenir assez proche, des bactéries promotrices de croissance des plantes (PGPR) commenceront à remplacer l'utilisation des produits chimiques dans les stratégies de développement durable de l'agriculture, en effet, la production de biofertilisants contenant des souches bactériennes isolées de la rhizosphère des plantes a pris une importance considérable, vu qu'ils sont plus tolérants aux conditions abiotiques extrêmes, telles que la température, la salinité et la sécheresse et qu'ils améliorent la productivité en facilitant l'absorption des nutriments par les plantes sans afficher aucun danger pour l'environnement et les humains. (Vessey, 2003).

La recherche des formes bactériennes, entre-autres les PGPR, à partir des plantes endémiques et spontanées appartenant au cortège floristique de l'Algérie, poussant dans des conditions environnementales extrêmes, est devenue un choix de qualité, vu que le nombre des travaux scientifiques reste très timide dans ce domaine.

Notre travail consiste donc à isoler des bactéries à partir de la rhizosphère de la plante *Atriplex halimus*, communément appelée Elgtaf, connue pour ses vertus médicinales et sa haute résistance aux conditions extrêmes de l'environnement, en effet, elle pousse dans les régions désertiques en arrivant même à produire une biomasse impressionnante.

Dans le but d'isoler et d'identifier ces PGPR, 12 échantillons de la rhizosphère de cette plante localisée au niveau de deux régions de TEBESSA ont été utilisés afin d'évaluer la capacité de ces souches à promouvoir la croissance par le biais de mécanismes de production d'IAA et de solubilisation de phosphate et de potassium.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITE SUR L'ATRIPLEX

Les Atriplex sont des plants arbustes vivaces et halophytes présent dans la plupart des régions du globe, ce développe sur les surface riche en chlorures et nitrates (terrains salés) .

Les Atriplex comprennent environ **417** espèces de **48** dans le bassin méditerrané, et **5** espèces employés pour le fourrage

1.1. DEFINITION

Les halophytes sont des plantes naturellement adaptées aux milieux salés. La concentration intracellulaire de ces plantes en peut attendre 1M grâce à le halo adaptation spécifique des enzymes de la paroi cellulaire et des tissus (**Flowers et al., 1986; Köhl, 1997**). De point de vue écologique les halophytes sont classées en trois catégories: -Les halophytes proprement dit: tolèrent des taux relativement faibles, de 40 à 100 mM dans une solution de sol. -Les euhalophytes: pouvant supporter des concentrations salines de l'ordre de 100 à 500 mM, tel que Atriplexs pp. -Les hyperhalophytes: se développant à des concentrations salines excédant celles de l'eau de mer, tel que Suedaspp, Salicorniaspp (**Le Houérou, 1993; Kerbab, St**).

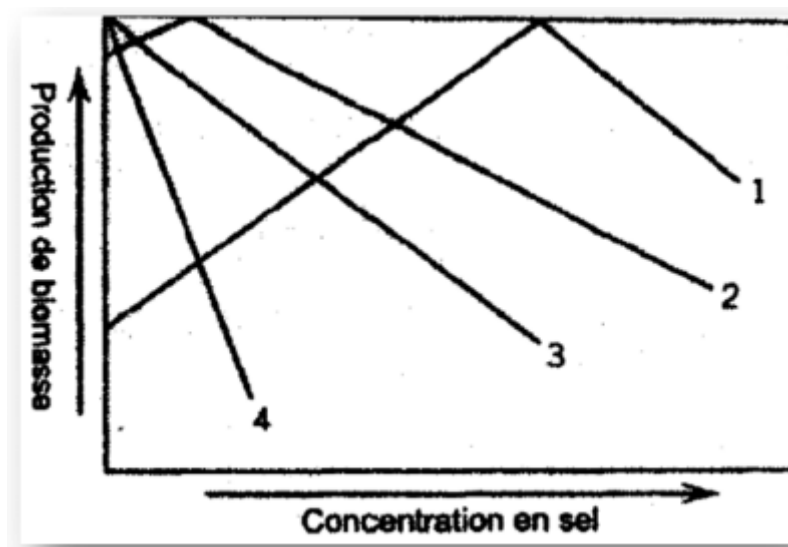


Fig 01: Production de biomasse de différents groupes de plantes suivant la salinité (1) Halophytes vraies, (2) Halophytes facultatives, (3) Non-Halophytes résistantes, (4) Glycophytes (**Jabnoue, 2008**).

1.2. REPARTION

1.2.1. Dans le monde:

Atriplex se trouve dans la plus part des régions du monde en grande Bretagne, la Sibérie, l'Alaska, la Patagonie, la Norvège et l'Afrique du sud . L'espèce *A. Halimus* est spontanée dans les payé du nord de l'Afrique et proche d'orient jusqu'a Iran ver le sud. En Europe cette espèce présente dans les régions méditerranéennes en Bulgarie, et aussi le massif de l'Hoggarr

Tableau 01: Nombre approximatif des espèces *d'Atriplex* dans diverses régions et pays arides et semis arides du monde (Bouchoukh, 2010).

Pays ou régions	Nombre d'espèce et/ou sous-espèce	Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous espèces
États unis	110	Baja Californie	25
Australie	78	(Mexique)	22
Bassin méditer.	50	Afrique du nord	20
Europe	40	Texas	20
URSS	40	Afrique du sud	20
Proche orient	36	Iran	18
Mexique	35	Syrie	17
Argentine	35	Palestine / Jordanie	17
Californie	32	Algérie / Tunisie	16
Chili	30	Bolivie / Pérou	

1.2.2. Dans L'Algérie :

En Algérie l'Atriplex spontané dans les étages bioclimatiques et les régions arides et semi-arides, elle est présente dans les zones (Tiaret, Tbessa, Msila, Saida, Djelfa, Boussaâda, Biskra, Batna). Atriplex se rencontre aussi sur le Sahara, particulièrement dans la région de Béchar où les nappes longent les dépressions d'Oued .

Tableau 02: Répartition des différentes espèces d'*Atriplex* dans l'Algérie (Qezel & Santa, 1962).

Espèces	Nom	Localisation
Annuelles (Différent généralement par la forme des feuilles, du port et des valves fructifères)	<i>A.chenopodioides</i> Batt.	Bouhanifia (Mascara) (très rare).
	<i>A.littoralis</i> L.	Environ d'Alger (rare).
	<i>A.hastata</i> L.	Assez commune dans le Tell et très rare ailleurs.
	<i>A.patula</i> L.	Assez commune dans le Tell et très rare à Aflou.
	<i>A.tatarica</i> L.	Annaba et Stif (très rare)
	<i>A.rosea</i> L.	Biskra et sur le littoral d'Alger et d'Oran (très rare)
	<i>A.dimorphostegia</i> Kar et Kir.	Sahara septentrional (assez commune), sahara central (rare).
	<i>A.tornabeni</i> Tineo.	Sahel d'Alger, Golfe D'Arzew (très rare)
Vivaces (Différent généralement par la forme des feuilles, la taille de l'arbrisseau, le port des tiges et l'aspect du périanthe).	<i>A.portulacoides</i> L.	Assez commune dans le Tell
	<i>A.halimus</i> L.	commune dans toutes l'Algérie.
	<i>A.mollis</i> Desf.	Biskra et Oued –el-khir (très rare).
	<i>A.coriacca</i> Forsk.	
	<i>A. glauca</i> L.	Commune en Algérie.

1.3. PHYSIOLOGIE D'ATRIPLEX

Le genre *Atriplex* caractérisé par une anatomie foliaire de type Kranz (présence d'une gaine de cellules de grands dimensions qui entourent les tissus vasculaires) appartient au groupe des plantes C4 (Mulas & Mulas, 2004; SmailSaadon, 2005; Ighilhariz, 2008). Les feuilles de plantes en C4 sont généralement plus minces que celle des plantes en C3 (Ighilhariz, 2008). De nombreuses recherches ont démontré que ce type de plantes est caractérisé par une grande productivité (Mulas & Mulas, 2004).

Les plantes soumises aux contraintes engendrées par la salinité ou la sécheresse. Réagissent par une modification de leur teneur en certains composés organiques appelés osmolytes ou osmoprotecteurs (Hubac & VieiraDasilva, 1980; Hubac, 1990; Ighilhariz, 1990; Monneveux & This, 1997). Ces réactions d'adaptation sont destinées à rétablir

1.4. L'INTERET DES ATRIPLEX

1.4.1. Usage fourrager et valeur alimentaire

L'*Atriplex halimus* est aussi très apprécié. Cette appréciabilité croît avec l'entrée en maturation des graines (Juillet) et devient forte dès mi-Septembre pour s'annuler à la fin de Décembre. Il est donc préférable de ne pas pâturer l'*A. halimus* ni d'ailleurs de la majorité des autres *Atriplex* durant l'hiver et le printemps. Étudiée dans le cadre de la convention recherche/développement établie avec l'INRAT, la composition chimique de l'*Atriplex halimus* est également sujette; comme le cas de la majorité des autres espèces ligneuses; à des variations selon la saison et le type de l'année (sèche ou pluvieuse).

- La teneur en matière sèche est minimale en hiver (19 % au mois de Février) et maximale en été (45 % au mois d'Aout).

- La teneur en cellulose brute est surtout influencée par l'époque de prélèvement, le minimum (10 % MS) est atteint au printemps et le maximum (28 % MS) en été.

- L'évolution des teneurs en matières azotées totales est inverse à celle de la MS. Les teneurs les plus

élevées ont été enregistrées au mois de Février (20 à 24 % MS), période correspondant à l'apparition des jeunes pousses. En automne (période de fructification) les teneurs chutent vers des valeurs de 9 à 12 % MS. (Cherif hafsa



Figure 02: Usage fourrager

2. GENERALITE SUR LA RHIZOSPHERE

La rhizosphère est le volume de sol influencé par les racines. On distingue en général le **rhizoplan** qui est l'interface racine/sol et le sol rhizosphérique situé au voisinage immédiat de la racine et soumis à son influence. Elle est le lieu des échanges entre sol, racines, microorganismes et faune associés. Ces échanges, intenses, se traduisent par des flux bi-directionnels d'eau et de nutriments (**Lynch, 1990**). La plante y mobilise l'eau et les éléments minéraux nécessaires à son développement et à sa croissance. Dans la rhizosphère jusqu'à 30 % des composés photosynthétisés par la plante sont remis à la disposition des micro-organismes qui y vivent par le biais d'un phénomène appelé exsudation racinaire. Ces exsudats racinaires incluent une grande quantité d'acides organiques et de sucres ainsi que des composés organiques complexes. Ils sont transformés en biomasse microbienne ou réoxydés en CO₂. La richesse de la rhizosphère en sucres, en acides organiques, en isoflavonoïdes, en régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plante, rend ce microenvironnement un site d'une remarquable activité biologique et d'une richesse naturelle en vers de terre, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries (**Paul et Clark, 1996**).

2.1. Étymologie :

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par **Lorenz Hiltner (Anton et al., 2008)**, bactériologiste spécialiste de microbiologie du sol et professeur d'agronomie au collège Technique de Munich. (**Lombi et al., 2001**). « Rhizo » vient du grec rhiza signifiant racine. « Sphère » vient du latin sphaera (même sens), mot provenant lui-même du grec ancien sfaira (signifiant balle, ballon, ou globe). La sphère définit le champ d'influence du système racinaire. En raison du volume qu'elle occupe, par rapport au volume de la plante, la rhizosphère est aussi appelée la « moitié cachée » (the hidden half en anglais) (**Bowen et Roriva, 1991**).

2.2. Définition:

La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes et soumise à leur influence directe. C'est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral. Qui peut être affecté par le tassement du sol, un ennoisement durable, sa salinisation, son eutrophisation ou la pollution, ou encore par des phénomènes d'aridification. Aussi elle est la région d'activité microbienne intense (**Anoua et al., 1997**).

Elle joue un rôle important dans la résistance des sols à l'érosion, au gel, aux incendies, aux inondations, etc. De même pour la résilience de ces sols et des plantes cultivées (Les enjeux sont donc également agronomiques) (**Krafczyk et al., 1984**).



Fig03: Représentant la rhizosphère
(Filearchide.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom_f3ce1.)

2. 3. Activité de la rhizosphère :

La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines (**Mench, 1985**). Ces exsudats favorisent le

développement de la microflore pathogène ou non. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter (**Schroth et Hildenbrand, 1964**). De même, la densité des bactéries est plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines : il s'agit de «l'effet rhizosphère» (**Foster et Rovira, 1978**). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes.

Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les sidérophores, antibiotiques, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (**Lemanceau, 1992**).

Une flore bactérienne diversifiée, connue sous l'abréviation PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), rhizobactérie promotrice de la croissance des plantes est bénéfique à la croissance et à la santé des plantes. On en distingue deux grands groupes : les PGPR phytostimulatrices et les PGPR phytoprotectrices (**Malek, 2015**)

2. 4. La microflore rhizosphérique:

Le sol n'est pas simplement le support dans lequel les plantes s'enracinent et puisent les éléments nutritifs indispensables à leur développement. Le sol est un réservoir important de micro-organismes (champignons et bactéries), en termes de diversité et de densité. (**symbiotech.com**)

La microflore du sol est complexe et variée. Elle comprend la bactérie, les champignons, les protozoaires et des virus. La distribution des micro-organismes du sol est hétérogène et dépend des facteurs nutritionnels et des facteurs physico-chimiques de sorte que les densités varient mais bien sûr les plus importantes se trouvent au niveau de la rhizosphère (**Prescott et al., 2003**).

En effet, un gramme de sol végétalisé contient environ 1 milliard de bactéries réparties en 5 à 25000 espèces dont la plupart ne sont pas encore connues, ni même cultivables en laboratoire (**symbiotech.com**)

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. On estime 1 gramme de sol peut contenir jusqu'à 10⁹ bactéries par examen microscopique direct tout ou partiel un facteur (1/100 peut être isolé par la technique de culture on parle à VNC) (**Malek, 2015**). Si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Les actinomycètes constituent l'ordre des actinomycètes. Ce sont des bactéries filamenteuses, septées, ramifiées, (**Larpen et al., 1989**).

Les mycètes sont également présents dans le sol. En effet, extra racinaire tous les sols contiennent une microflore abondante. La biomasse fongique est sans doute très variable suivant les cas peut atteindre entre 120 Kg/ha et plus d'une tonne, dans les sols normaux (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des

sols. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : Mucor, Trichoderma et Aspergillus (Noumeur, 2008).

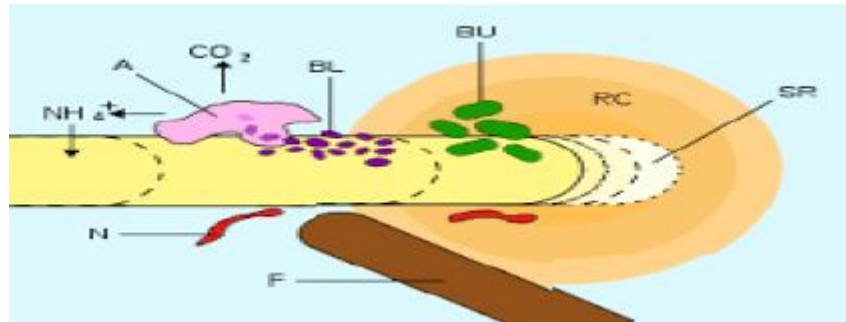


Fig 04 : La structure de la rhizosphère

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/37/Rhizosphere.svg/1200pxRhizosphere.svg.png>)

A=Amibe digérant une bactérie BL= Bactérie à énergie limitée BU= Bactérie à énergie non limitée RC=Racine SR=Poils absorbants racinaires F=Mycélium d'un champignon N=Ver nématode

2. 5. Les bactéries rhizosphérique ou rhizobacteries :

Les rhizobactéries sont des bactéries qui présentent l'aptitude à coloniser les racines de façon intense (Schroth et Hancock, 1981, 1982). Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp fluorescents* (Lemanceau, 1992).

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol racine. En effet, le rhizo plan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant (Curl, 1982). Ces échanges sont réciproques.

2.6. L'EFFET SUR LES PLANTES

Plusieurs interactions, bénéfiques (symbioses) ou non, voire délétères (pathogénie) sont observées entre plantes, bactéries et champignons du sol fleuriront l'activité biologique de ce sol. Parmi les interactions bénéfiques aux plantes, on peut citer les symbioses fixatrices d'azote, les associations avec les bactéries promotrices de croissance (PGPR) ou de santé, ou les interactions avec les champignons mycorrhizogènes. (Elaine, 2015). Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes salons plusieurs mécanismes, de manière directe ou indirecte (figure 3). Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant

Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Haas et Defago, 2005).

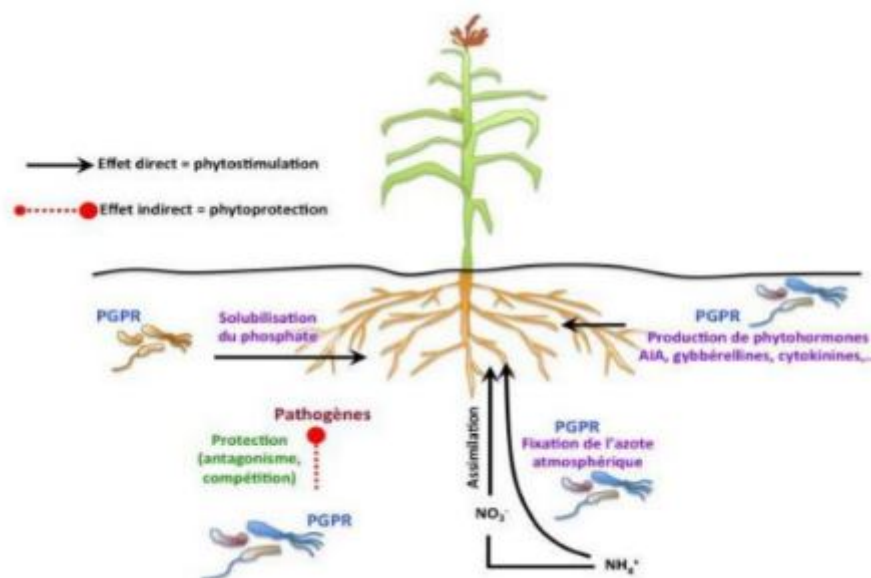


Fig 05: Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère (Khan et al., 2009)

3. GENERALITE SUR L'ENDOPHYTE :

3.1. DEFINITION

Le terme «endophytes», initialement introduit par De Bary en **1866**, concerne tous les organismes qui se reproduisent dans les tissus végétaux, distincts des épiphytes qui vivent à la surface des plantes, («endo-» signifie à l'intérieur; «phyte» est dérivé du mot grec phyto, qui signifie plante) (Rodrigues, 1996). Depuis la découverte des champignons endophytes dans l'ivraie (*Lolium temulentum*) en Allemagne, en **1904**, plusieurs chercheurs ont défini les endophytes de différentes manières (Tan et Zou, 2001) : Carroll (1986) a défini les endophytes comme suit «les endophytes mutualistes, sont des champignons qui colonisent les parties aériennes des tissus végétaux vivants et ne provoquent pas de symptômes de maladie". Petrini (1991) a proposé une extension de la définition pour inclure «tous les organismes vivant dans les organes végétaux qui à un certain moment de leur vie, peuvent coloniser les tissus végétaux internes sans causer de dommage apparent à l'hôte".

3.2. LA RELATION PLANTE-ENDOPHYTE

Les endophytes sont caractérisés par différents modes de vie, selon les espèces des

champignons et les plantes hôtes. L'interaction plante-endophyte peut aller de l'antagonisme au mutualisme, c'est pourquoi la gamme d'interactions a été désigné comme un continuum **(Zabalgoeazcoa, 2008)**.

Des études ont montré que les endophytes sont plus susceptibles d'être mutualistes lors de la reproduction verticale (systémique) via les semences, et hostile à l'hôte lors de la transmission horizontale (non systémique) par l'intermédiaire des spores **(Schardl et al., 1991; Saikkonen et al., 1998)**.

Certains endophytes peuvent être isolés à partir des plantes et sont considérés comme des agents pathogènes latents **(Mostert et al., 2000; Photita et al., 2004)**. 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 **(Zabalgoeazcoa, 2008)**.

Certains champignons saprophytes trouvés couramment dans les parties sénescents des plantes ont été isolés comme endophytes à partir des tissus sains. Ces espèces endophytes se comportent comme des saprophytes latents, et colonisent de façon asymptomatique des espaces restreintes tant que leurs hôtes se développent, lorsque les tissus de l'hôte sont infectés ou décèdent les endophytes se développent et se reproduisent **(Zabalgoeazcoa, 2008)**.

À l'autre extrémité du continuum, il y a les endophytes qui sont bénéfiques pour leurs hôtes, les plus connus dans ce groupe sont les espèces des genres *Neotyphodium* et *Epichloë* qui peuvent fournir une défense contre les herbivores, ainsi que la tolérance à la sécheresse et une meilleure utilisation des éléments nutritifs à leurs hôtes **(Schardl et al., 2004)**. En plus il existe d'autres espèces mutualistes qui protègent leurs plantes hôtes contre les agents pathogènes et d'autres améliorent la croissance de ces dernières. **(Zabalgoeazcoa, 2008)**.

3.3. Le rôle physiologique et écologique des champignons endophytes

12

Il est généralement admis que les communautés des champignons endophytes jouent un rôle important, et bénéfique dans la physiologie et la capacité d'adaptation écologique des plantes hôtes **(Tan et Zou, 2001)**. Les plantes infectées par des champignons endophytes résistent mieux à l'environnement hostile, et ont donc souvent un avantage distinct contre le stress biotiques et abiotiques par rapport aux plantes qui ne sont pas infectés par les

endophytes.

Les endophytes symbiotiques confèrent plusieurs avantages, y compris la promotion de la croissance, la résistance à la sécheresse, une meilleure résistance aux ravageurs, les insectes et les herbivores, l'augmentation de la compétitivité, l'amélioration des taux de photosynthèse et la tolérance aux facteurs stressants comme la présence de métaux lourds, le faible pH, la salinité élevée, et les infections microbiennes (**Lewis, 2004; Mandyam et Jumpponen, 2005; Waller et al., 2005; Zhang et al., 2006**).

3.4. Le rôle des endophytes dans la tolérance aux stress abiotique

De nombreux facteurs environnementaux influencent la croissance et la survie des plantes. Il a été observé que les plantes infectées par les champignons endophytes ont une plus grande tolérance à la sécheresse, la chaleur, la toxicité des métaux et à la salinité élevée (**Waller et al., 2005; Rodriguez et al., 2004; Lewis, 2004**).

Il a été rapporté que certains champignons endophytes protègent leur hôte de la sécheresse (**Clay et Schardl, 2002**). Par exemple, l'infection de la fêtuque élevée par les endophytes développerait un potentiel osmotique faible.

Une tolérance au sel a aussi été observée chez les plantes infectées par des endophytes.

Redman et ces collaborateurs (**2002**) ont démontré que les endophytes augmentent également la tolérance à la chaleur de leur hôte. La tolérance thermique a été observée chez la plante *Lanuginosum dichanthelium* infectée par l'endophyte *Curvularia* sp, et exposée à une forte température de 65°C pendant 10 jours, alors que les plantes non infectées ne résistaient même pas à une température de 40°C.

Alternativement, il est suggéré que les endophytes fonctionnent comme un «déclencheur biologique» pour les plantes pour activer leur réponse au stress plus rapidement et plus fortement que les plantes non symbiotiques ou non infectées (**Redman et al., 2002**).

4. Les bactéries responsable de la croissance des plantes (PGPR : Plante growth Rhizobacteria)

Les populations bactériennes du sol ont la capacité de croître rapidement et utilisent une très large gamme de substances différentes comme sources d'éléments nutritifs. La flore bactérienne est

dispersée dans le sol, souvent liée aux particules du sol, beaucoup interagissent avec les racines des plantes. (Jha et al, 2011)

4.1.DÉFINITION

Les PGPR sont des bactéries vivant librement au sein de la microflore rhizosphérique des plantes, elles améliorent le développement des plantes, sans oublier leur pouvoir de lutte contre les microorganismes phytopathogènes, en effet certaines bactéries, notamment les bactéries du genre *Pseudomonas* sont de plus en plus utilisées comme bio-fongicides vu leur capacité à produire un vaste éventail de métabolites antifongiques, les recherches se sont focalisées sur *Pseudomonas putida* vu sa nature non-pathogène pour promouvoir le développement des plantes et les protéger contre les pathogènes. (Kaur et al, 2014).

Il existe donc deux types de collaboration des PGPR avec les plantes :

- Des rhizobactéries vivant librement en dehors des cellules de la plantes.
- Des bactéries symbiotiques vivant à l'intérieur des plantes et échangeant les métabolites directement avec la plante.

Le rôle de PGPR n'est pas mis en œuvre uniquement par l'effet direct d'une seule souche bactérienne mais par cet échange moléculaire établi entre les micro-organismes du sol et les plantes. (Goswami et al, 2016)

4.2.Effet directe des PGPR sur la plante :

Les bactéries PGPR facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (Munees et Mulugeta, 2014)

4.2.1. Fixation d'azote :

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N₂ dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N₂ atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N₂ par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim et Rees, 1994). Les bactéries fixatrice de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote. La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racines dans le végétale, dans le quelle l'azote est fixé à L'ammoniaque et le rendre disponible pour l'hôte (Munees et Mulugeta, 2014)

4.2.2. Solubilisation du phosphate

Le phosphore et le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, il est largement disponible dans le sol sous deux formes organique et inorganique (**khan et al., 2009**). Il joue un rôle pratiquement important dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (**Khan et al., 2010**). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles: les ions monobasique (H_2PO_4) et basique (HPO_4^{2-}) (**Govind et al., 2015**). La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Ces microorganismes bénéficient directement du P bio disponible nécessaire pour leur croissance. De même

d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures. Notons que ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (**Salma, 2015**)

4.2.3. Solubilisation du potassium

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (**Parmar et Sindhu, 2013**). En outre, en raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles. (**Kumar et Dubey, 2012**) On a signalé que les micro-organismes des sols jouaient un rôle clé dans le cycle K naturel et, par conséquent, les microorganismes solubilisants de potassium présents dans le sol pourraient fournir une technologie alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (**Rogers et al., 1998**)

4.2.4. Production des sidérophores :

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (**Neilands, 1995**). Ces oligoéléments qui ont une forte compétition certaines bactéries sont capables de séquestrer le fer du milieu environnant à l'aide de molécules appelées sidérophores. Ces sidérophores se lient avec l'ion ferrique et forment un complexe sidérophore-ferrique qui se lie ensuite avec des récepteurs dépendants de la suspension de fer à la surface de la cellule bactérienne. L'ion ferrique est ensuite relâché et actif dans le cytoplasme comme ion ferreux. Beaucoup de plantes peuvent utiliser divers sidérophores

bactériens comme sources de fer, beaucoup de bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* de la rhizosphère (Kuffner et al., 2008). Le sidérophore le plus connu est l'aérobactine (figure 4), isolée pour la première fois de *Aerobacteraerogenes* (Gibson et Magrath, 1969).

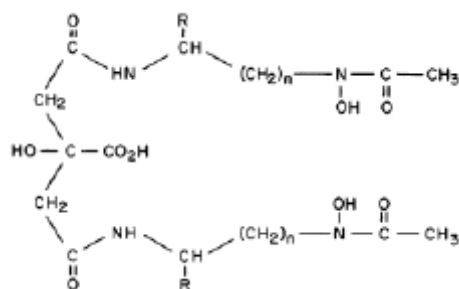


Fig 06 : Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate (Gibson et Magrath, 1969).

Pour l'aérobactine, R 5 COOH et n 5 4. L'aérobactine, un second sidérophore provenant de bactéries entériques, peut être codée sur des plasmides ou sur le chromosome.

4.2.5. Production des phytohormones :

Une large gamme de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des substances qui régulent la croissance et le développement des plantes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2013)

4.2.6. Acide Indole Acétique (IAA):

Les plantes ont développé des systèmes élaborés pour réguler les niveaux cellulaires de l'IAA (Normanly et Bartel, 1999). L'IAA représente l'une des hormones végétales les plus importantes, ce qui renforce de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes tout au long du cycle cellulaire de la plante, de la division cellulaire, de l'allongement cellulaire et de la différenciation (Guilfoyle et al., 1998). Généralement, IAA affecte la division, l'extension et la différenciation des cellules végétales; Stimule la germination des semences et des tubercules; Augmente le taux de développement du xylème et des racines; Contrôle les processus de croissance végétative; Initie la formation de racines latérales et accidentelles; Médiatise les réponses à la lumière, à la gravité et à la fluorescence; Affecte la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance à des conditions stressantes. En outre, l'IAA

bactériennes augmentant la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol. En outre, l'IAA rhizobactérienne dégage les parois cellulaires de la plante et, en conséquence, facilite une augmentation de l'exsudation des racines qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries rhizosphériques (**Glick, 2012**). Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes. Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en imitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines. Il favorise la survie des bactéries dans la rhizosphère. Les poids des tiges et des racines des plantes de blé sont influencés positivement par l'ajout de l'AIA (**Cherif, 2014**)

4.2.7. Production des cytokines :

Plusieurs plantes stimulant la croissance des bactéries telle que *Azotobacter sp*, *Rhizobium sp*, *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* et *Paenibacillus polymyxa* peuvent produire des cytokines ou des gibbérellines ou les deux pour la promotion de la croissance des plantes (**Kang, 2010**). Certaines souches de bactéries phytopathogènes peuvent également synthétiser des cytokines. Cependant, il semble que les PGPR produisent des niveaux inférieurs de cytokines par rapport aux phytopathogènes, de sorte que l'effet des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sur la croissance des plantes est stimulant tandis que l'effet des cytokinines des agents pathogènes est inhibiteur (**Glick et al., 2007**).

4.2.8. Estimation de l'acide gibbérellique

L'acide gibbérellique a été quantifié en utilisant la méthode de Holbrook et al. (1961) avec des modifications mineures. Les cultures bactériennes étaient dans le milieu de bouillon King's B et centrifugé après croissance comme décrit ci-dessus pour séparer les cellules. La pastille a été utilisée pour l'estimation des protéines. Le pH des surnageants a été ajusté à 2,5 en utilisant du HCl 0,1 M et en utilisant des volumes d'acétate d'éthyle. L'extraction de l'acide gibbérellique a été effectuée en phase organique deux fois. À 1,5 mL d'extrait, 0,2 mL de ferrocyanure de potassium ont été ajoutés et centrifugés à 1000 rpm pendant 10 minutes. Au surnageant, un volume égal de 30 % de HCl a été ajouté et le mélange a été incubé à 20°C pendant 75 min. 5% HCl a été utilisé comme blanc et l'absorbance a été mesurée dans un UV-Visible spectrophotomètre (Elico, Inde) à 254 nm. La concentration en acide gibbérellique a été déduite en utilisant un graphique standard et la quantité a été exprimée en milligramme d'acide gibbérellique par milligramme protéine. (**Bactériol. J., 5 (1) : 13-24, 2015**)

4.3. Effet indirect des PGPR sur les plantes :

4.3.1. Productions des antibiotiques :

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de biocontrôle les plus puissants et les plus étudiés chez les PGPR. (Shilev, 2013) exemple d'antibiotiques produits par PGPR : l'acide phénazine-1-carboxylique l'oomycineA, les rhamnolipides (Fernando et al., 2005) . l'acide phénazine-1-carboxylique a été secrété par *Pseudomonas fluorescens* 2-79 Souche, *Pseudomonas fluorescens* 2-79, synthétise l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), un antibiotique pigmenté qui inhibe *G. graminis* var. *Tritici* et d'autres agents pathogènes racémiques in vitro à moins de (1 g / ml), Les mutants de 2-79 défectueux dans la production de PCA (Phz-) ne parviennent pas à inhiber *G. graminis* var. *Tritici* et sont considérablement réduits dans leur capacité à supprimer le take-all, tandis que les mutants génétiquement restaurés pour la production de PCA (Phz +) regroupent de manière coordonnée l'activité antifongique in vitro et sur le blé. Ces résultats suggèrent fortement que le contrôle de prise en charge par la souche 2-79 est dû en grande partie à la production de PCA dans la rhizosphère de blé. Les efforts visant à définir le rôle des antibiotiques dans le contrôle biologique ont toujours été entravés par le manque de preuves directes que les antibiotiques sont présents dans les sols naturels dans lesquels la suppression de la maladie peut se produire. Les contraintes physiques et biologiques à la production, l'activité et la détection des antibiotiques dans le sol ont été revues, dont la plus fondamentale est probablement l'insuffisance nutritionnelle. Les sols modifiés avec des nutriments organiques ou traités pour augmenter la disponibilité des nutriments supportent souvent la production d'antibiotiques (linda et al., 1990)

. L'oomycineA : ce dernier et responsable de l'aptitude de *pseudomonasa* réduire 70% l'infection de la racine par *pythium* cotton et de sa capacité à augmenter de 50% l'émergence des graines de cootton (Shilev ,2013)

Les rhamnolipides : *Pseudomonas aeruginosa* produit et sécrète des bio-tensioactifs glycolipides contenant du Rhamnose appelés Rhamnolipides. La production de Rhamnolipides dépend des voies métaboliques centrales, telles que la synthèse des acides gras et les sucres activés par le dTDP, ainsi que sur les enzymes participant à la production de l'alginate d'exopolysaccharide. La synthèse de ces tensioactifs est régulée par un système de régulation génétique très complexe qui contrôle également différents traits associés à la virulence de *P. aeruginosa*. Les Rhamnolipides ont plusieurs applications industrielles et environnementales potentielles, y compris la production de produits chimiques fins, la caractérisation des surfaces et des revêtements de surface, comme additifs pour l'assainissement environnemental et comme agent de contrôle biologique (Maier et Soberón-Chávez ,2000).

Ces antibiotiques sont connus pour posséder des activités antivirales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes, cytotoxiques, antitumorales et agissant également sur la croissance de plantes (Fernando et al., 2005 et Kim, 2012).

4.3.2. Induction d'un système de résistance :

PGPR peut déclencher chez la plante un phénomène connue sous le nom d'induction de la résistance systémique qui est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise qui se produit lorsque la plante active ses mécanismes de défense en réponse à une infection par un agent pathogène (corné et al., 2009). Les plantes inoculé avec des PGPR peuvent également fournir une résistance systémique contre un large éventail de pathogènes végétaux. Les maladies d'origine fongique, bactérienne et virale et, dans certains cas, même les dommages causés par les insectes et les nématodes peuvent être réduits après l'application de PGPR (Naznin et al, 2012) il conférer à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire (cherif ,2014)

4.3.2.1. Effet phytoprotectrice Sidérophores :

Les PGPR, notamment du genre *Pseudomonas*, sont connues pour leur faculté de produire des sidérophores dans le milieu. Ce sont des substances chélatrices du fer, avec une grande affinité au fer ferrique (Fe³⁺) Elles améliorent sa disponibilité à leur profit en cas de carence du sol et rendent difficile son assimilation aux autres populations microbiennes déficientes en cet élément. Ce phénomène est un aspect de compétition qui participe efficacement à l'antagonisme contre les agents phytopathogènes en réduisant leurs effectifs dans le sol. En outre, la plante peut facilement assimiler les complexes de sidérophores et ainsi promouvoir sa croissance Les sidérophores peuvent fixer aussi d'autres métaux dans le sol tels que le magnésium, le manganèse et le chromium. D'après d'autres études, les PGPR peuvent extraire le fer des sidérophores formés par d'autres microorganismes (kirdi, 2011).

4.4 INTERET AGRONOMIQUE DES 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 microorganismes, tout en stimulant la croissance des plantes. Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extracellulaire (Gray & 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).

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).

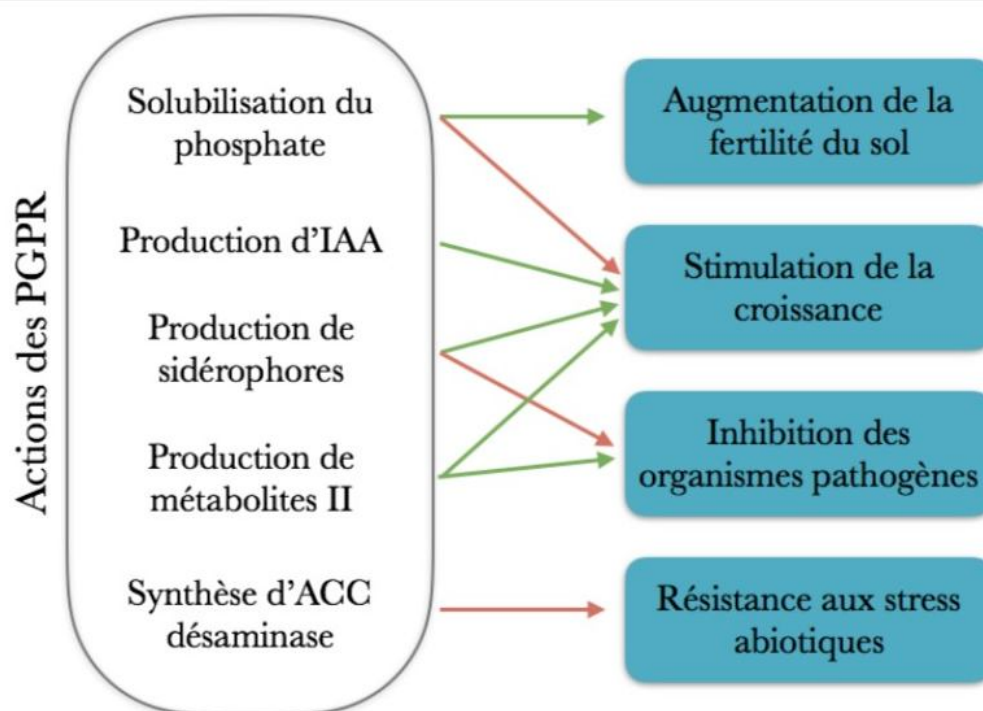


Fig07: Mécanismes de l'interaction Plante-PGPR (Flèches vertes : effets directs ; flèches rouges : effets indirects)

4.5. Formation des biofilm par les PGPR :

Parmi les communautés microbiennes du sol associées aux plantes, les bactéries bénéficiaires de colonisation des racines (rhizobactéries), connues sous le nom de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Lugtenberg et Kamilova, 2009) .Ils sont connus comme des groupes prédominants qui exercent des 'effets bénéfiques dans l'amélioration de la croissance des plantes. Ceci y compris par leur différent activités solubilisation du phosphate, production des antibiotique ...etc. (Zehnder et al, 2001) Les biofilms sont des communautés microbienne uni ou multi adhérentes aux surfaces biotiques ou abiotiques et / ou en contact intime l'une avec l'autre, enfermées dans une matrice auto-produite de substances polymères extracellulaires (EPS). Des biofilms moins complexes avec un nombre inférieur de cellules sont décrits de manière variable

comme des microcolonies, des agrégats ou des grappes de cellules (**Ramey et al, 2004**). La production de biofilm par PGPR reflète leur pouvoir de colonisation du système racinaire et est considéré comme une activité PGPR importante (**Prescott ,2003**). Les cellules bactériennes peuvent présenter deux modes de croissance générale: soit en tant que cellules planctoniques, soit comme une communautés en surface appelées biofilms. Les biofilms sont définis comme des colonies denses de cellules uniques ou multi-espèces de cellules microbiennes adhérant soit à une surface biotique ou abiotique encastrée dans une matrice autoproduit composée de substances polymères extracellulaires (**Davey et al., 2000**). Plusieurs étapes sont impliquées dans la formation du biofilm, par réponse à des indices environnementaux la présence des nutriments les cellules planctoniques se déplacent vers une surface appropriée et se fixe premièrement à une surface selon leur fimbria et/ou pili par une faible force de Ven Der Wall ou liaison hydrogène pour rendre la fixation réversible par le temps l'attachement deviens essentiellement irréversible, par la suite d'une accumulation d'interactions faibles et un changements dans l'expression des gène, c'est-à-dire que lorsque les cellules bactériennes commencent à sécréter EPS. Lorsque de nombreuses cellules bactériennes ont été regroupées dans ce pré-biofilm en croissance en raison de la division cellulaire bactérienne et d'autres microbes se joignant, développent des micro colonnes qui conduisent finalement à la formation de macro colonies(biofilms matures).Enfin, lorsque le biofilm est assez grand, les cellules bactériennes commencent à se détacher du biofilm, ces cellules bactériennes reprenant leur mode de croissance planctonique ou créant leur propre biofilms(**Emily, 2015**).

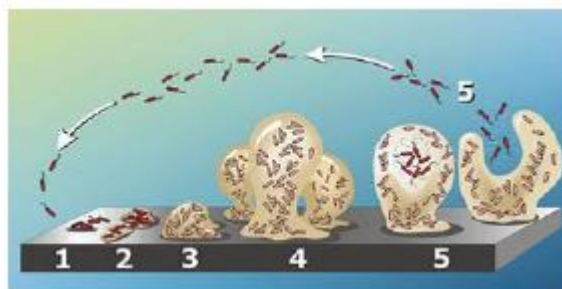


Fig08 : Le processus du développement de biofilm.

Les étapes du développement de biofilm:

1. adhésion Initial réversible.
2. Attachement Irréversible.
3. Formation des Micro colonie.
4. Formation des Macro colonie.
5. Détachement

CHAPITRE 02

MATERIEL ET METHODE

1. PRESENTATION DU MATERIEL VEGETAL

L'*Atriplex halimus* L. est un arbuste natif d'Afrique du Nord où il est très abondant (**Kinet et al., 1998**) Il s'étend également aux zones littorales méditerranéennes de l'Europe et aux terres intérieures gypso-salines d'Espagne. *Atriplex halimus* L. est un arbuste fourrager autochtone qui tolère bien les conditions d'aridité (sécheresse, salinité,...) (**Souayah et al., 1998**) *Atriplex halimus* est un Arbuste de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre. Les feuilles sont alternes, pétiolées, plus au moins charnues, couvertes de poils vésiculeux blanchâtres, ovales, assez grandes et font 2 à 5 cm de longueur et 0,5 à 1 cm de largeur.



Fig09: *ATRIPLEX HALIMUS* (kissa – boulhaf eddir; 2021)

1.1.CLASSIFICATION SYSTEMATIQUE

Règne: Plante

Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Caryophyllidae

Ordre: Caryophyllales

Famille:Chénopodiaceae

Genre: *Atriplex halimus* (Benmansour, 2014)

1.2.TOLERANCES

l' *A. halimus* résiste très bien au froid même au-delà de -10°C . l'espèce est considérée conductivité de l'ordre de 60 mmhos/cm), (basses plaines littorales, dépressions continentales comme halophyte et croît dans toutes les zones gypseuses salées (Le houérou, 1993).

2. Presentation de la zone du prelevement(Tebessa)

Tébessa est situé à l'est des hauts plateaux et au nord-est des régions désertiques, bordé à l'est par la république TUNISIENNE, et au nord par SOUKAHRAS, à l'ouest par états D'UM AL-BOUAGHI, de KHENCHELA et au sud par l'état de L'OUED avec une superficie totale estimée à **13878 Km²**.

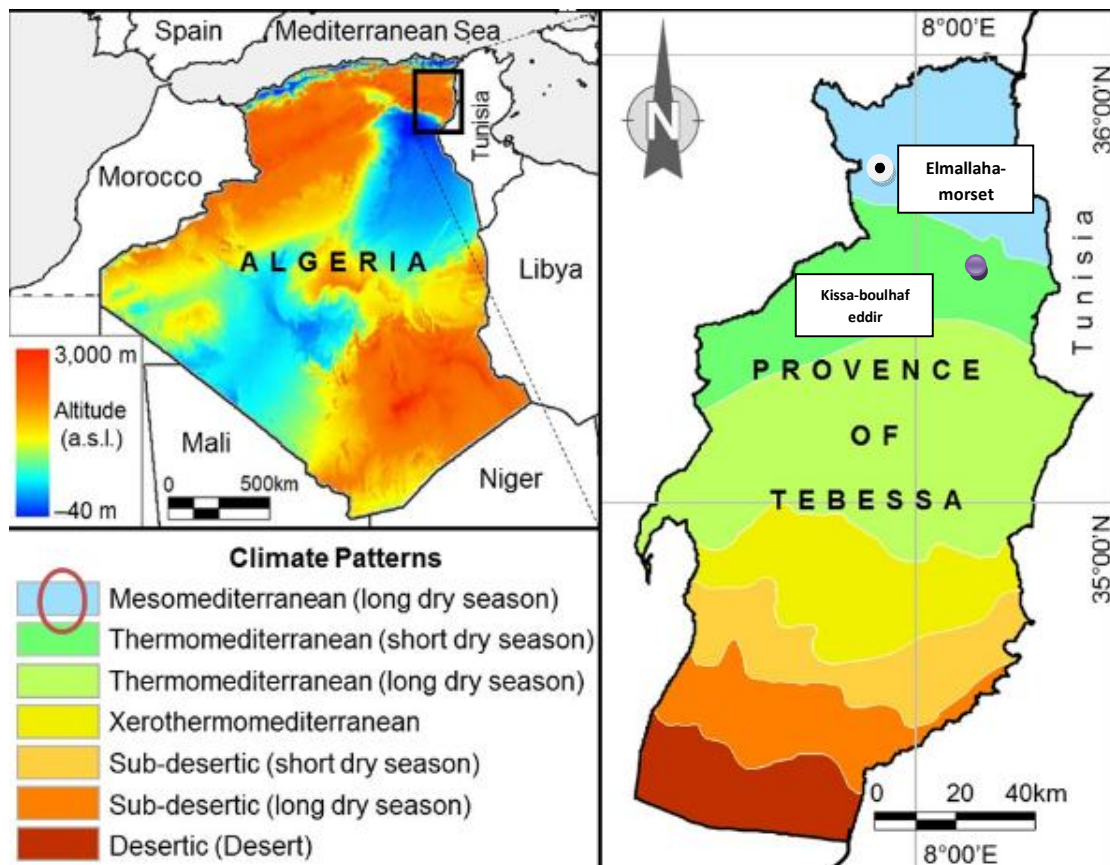


Fig10: Carte bioclimatique de la w. de Tebessa

- **Commune Morset- Elmallaha(région du nord)**
- **Commune Boulhaf eddir- kissa(région médiane)**

3. SITES CHOISIS POUR LES PRELEVEMENTS



Fig11: Paysage de site 01 BOULHAF EDDIR (kissa 2021)



Fig12: parametres geologiques de site 01

4. Prélèvement des échantillons du sol et des racines

La technique de prélèvement consiste à enfoncer une spatule stérile dans le sol à profondeur de 10 à 20 cm à proximité des racines et de placer les prélèvements dans des flacons stériles et étiquetés. Spécial pour le sol, puis couper les racines avec des

[Materiel et methode]

ciseaux stériles et les mettre dans des flacons stériles et étiquetés pour les racines contenant une petite quantité d'eau distillée sterile(2mL).Nous avons répété ce processus trois fois dans différentes zones du même site.



01

02

Fig13: Prelevements des echantillon du sol de la rhizosphere et les racines

5 . Analyse chimique du sol

Afin de mesurer la teneur des sols étudiés en éléments NA, Ca et K, on agite trios échantillons de 10g de chaque sol étudié dans 100 ml d'eau distillée pendant 5 min, après filtration par papier filtre, on récupère le filtrat de chaque échantillon pour doser les minéraux ciblés : Na, Ca et K et pour mesurer la conductivité et le pH en utilisant respectivement un spectrophotomètre à flamme et un pH mètre à électrodes.



Fig 14: Les etapes d'analyse chimique du sol

6. Préparation des milieux et mise en culture

6.1 Les séries de dilutions

A l'aide d'une micropipette de 1000 ML, une série de dilutions (10^{-1} à 10^{-6}) 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^{-6} .

La racine est lavée avec du hgc12 et avec de l'eau distillée stérile dix fois pour assurer l'élimination des bactéries de la rhizosphère. Nous prenons une section longitudinale de la racine et la plaçons au milieu de culture.

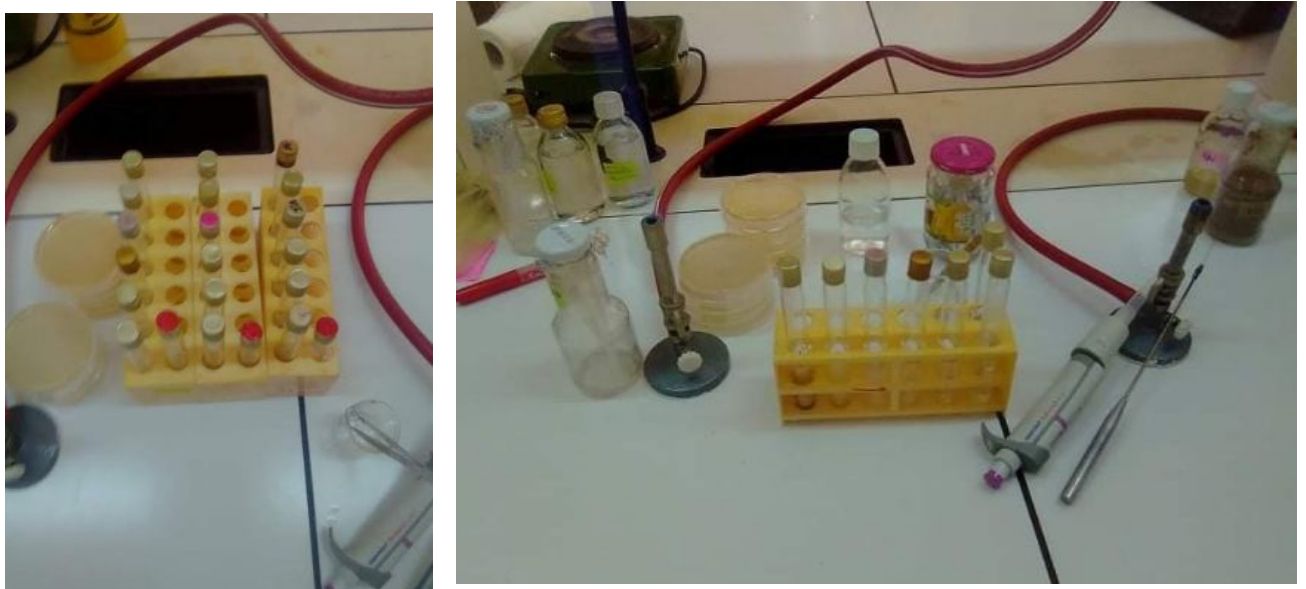


Fig 15: Les séries de dilutions

6.2. 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 de notre étude (Botton et al. 1990).

7. 7.1.Préparation des souches

[Materiel et methode]

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

7.2 Test de solubilisation du phosphate

On creuse 4 puits (répétitions) à l'aide d'une once de platine à la surface de chaque boîte de pétri contenant le milieu NBRIP agar, puis on dépose 10 µL de l'inoculum bactérien dans chaque puits, ces boîtes sont incubées à 28°C pour 3 jours. La capacité de solubilisation est déterminée d'après l'existence d'un halo transparent qui correspond à la zone de lyse autour de la colonie bactérienne. Cette efficacité de solubilisation est estimée comme un indice : Diamètre de solubilisation / Diamètre de croissance. (Gonzalez et al, 2018 ; Abiala et al, 2015)

7.3 Test de solubilisation de potassium

10 µL de chaque inoculum bactérien est transféré sur le milieu Aleksandrow, les boîtes seront incubées à 30°C durant une période de 3 jours, la formation de zones claires prouve une solubilisation du potassium (Meena et al, 2013)

Tableau 03 : Composition du milieu Aleksandrow (Meena et al, 2013)

Milieu Aleksandrow
Ingrédients g/l
- Mg SO ₄ 7.H 2 0 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

L'indice d'efficacité de solubilisation est estimé comme suit :

Diamètre de solubilisation (zone claire) / Diamètre de croissance de la colonie bactérienne.

7.4 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 mixé 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.

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	Ingrédients ml
- Peptone 5,0	- Fe Cl 3 (0,5 M) 5
- Beef extract 3,0	- H 2 SO 4 150
- Eau distillée 1000 ml	- Eau distillée stérile 250
- pH 7,4+0,2	

8. TEST API 20 E

Après les résultats des tests, 9 souches ont pu produire l'IAA et solubilisation du P et du K nous les avons soumis au test API 20E pour connaître leur noms scientifiques dans la classification internationale, comme suite

Purification

Réensemencement des 9 souches dans le milieu de culture pour obtenir des échantillons plus pure

Coloration de GRAM

Nous soumettons des échantillons purs à une coloration de GRAM (étapes en annexe 01), 8 souches dont G (-) seront soumises au test API 20E. Le test est montré dans fig 20



Fig 16: Test API 20 E

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

[Resultats et discussion]

1. ANALYSE DU SOL

TABLEAU 05: Tableau statistique des variances d'analyse du sol

	Repetitions	Site 1			Site 2		
		P1	P2	P3	P1	P2	P3
PH	R1	7.83	7.98	8.00	7.69	7.43	7.43
	R2	7.82	7.97	8.00	7.68	7.42	7.46
	R3	7.91	7.72	8.00	7.73	7.34	7.5
	Moyennes	7.85	7.89	8.00	7.70	7.40	7.46
	Ecartype	0.05	0.15	0.00	0.03	0.05	0.04
Conductivite	R1	147.1	136.6	213	1648	1691	329
	R2	117	124.4	218	1738	1671	311
	R3	125.8	157.2	209	1611	1762	333
	Moyennes	129.97	139.40	213.33	1665.67	1708.00	324.33
	Ecartype	15.48	16.58	4.51	65.32	47.82	11.72

2. Isolement des souches pures

L'isolement des souches à partir des dilutions allant de 10^{-3} à 10^{-6} nous a permis d'isoler 26 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 de solubilisation du phosphate(SP)

Histogramme des indices de solubilisation des phosphates par l'isolat testés. La courbe marqué revele une difference entre les indices de SP enregistrés par les 13 isolats parmi les 26 testés ou elle atteint 1,00 comme valeur la plus élevée isolat A3 et de 0,32 comme valeur la plus basse isolat A11.

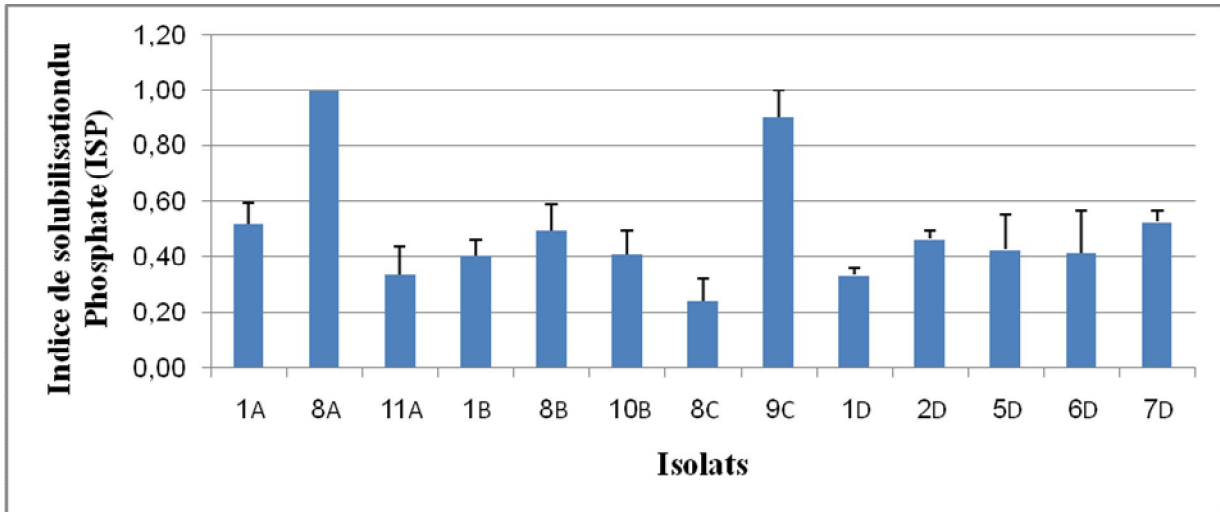


Fig 17: histogramme des indices de solubilisation du phosphate par l'isolat testes

3.2. ANALYSE STATISTIQUE

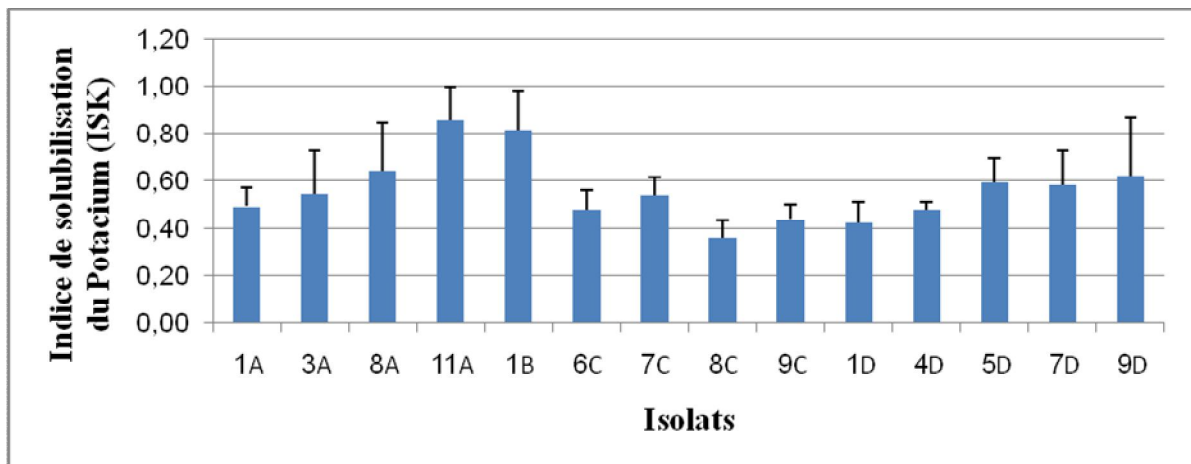
L'analyse statistique a révéle une defference très hautement significatives entre les indices de SP enregistrés par les 13 isolats (tableau06) qui ont montre un pouvoir de solubilisation

Tableau 06: Analyse de la variance ISP

Source	DL	Som Car ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolat isp	12	1,703	0,14192	1,87	0,088 NS
Erreur	26	1,972	0,07585		
Total	38	3,675			

4. Test de solubilisation du potassium (SK):

La fig 18, montre les 14 isolats qui ont pu solubilisation le k à partir du milieu conventionel Aleksandrow l'isolat A11 a montré le plus important taux de solubilisation suivi



[Resultats et discussion]

Fig 18: histogramme des indices de solubilisation du potassium par l'isolat testes

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative entr les isolats ($p=0,004$) pour la solubilisation du potassium sur milieu Aleksandrow, regropés en 5 groupes différents par le test de Tukey (annexe n°2)

TABLEAU 07: Analyse de la variance ISK

Source	DL	Som Car ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolats ISK	13	0,7614	0,05857	3,25	0,004**
Erreur	28	0,5043	0,01801		
Total	41	1,2657			

5. Production d'IAA

L'histogramme représentant les concentration de production d'IAA par les isolats testes les tests qualitatif (fig 19) marqué par le virage de la couleur du milieu du culture après l'ajout du réactif de Salkowski du rosâtre au marron indique une nette production d'IAA par 26 isolats parmi les 26 testés, en signalant que tous les isolats peuvent transaminer le tryptophane en IAA avec des difféeants concentration.

Ceci nous pousse à juger la production d'IAA comme l'une des caractéristiques peincipales des PGPRs comme l'ont avancé Aron et al, 2011, En signalant qu' Atriplex halimus est une plante bactérienne de la rhizosphère produisent de l'IAA, ainsi, l'application de tels micro-organismes présents au nivau des racines d'Atriplex halimus sur le terrain augmente les niveaux endogènes d'IAA de la plante et a donc un effet remarquable sur la croissance de cette dernière

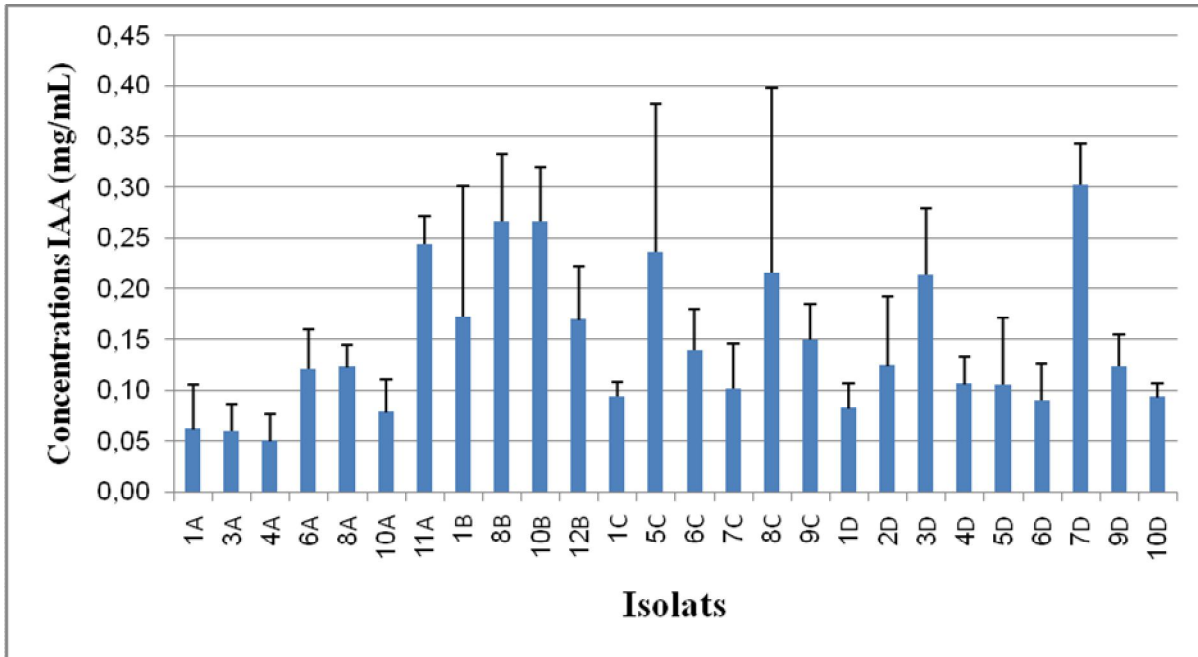


Fig 19: histogramme representant les concentration de production d'IAA par les isolats testes

L'analyse statistique a révéle une différence très hautement significative entre les isolats pour la production d'IAA regroupés par le test de Tukey en 5 groupes différents (annexe n °2)

Tableau 08: Analyse de la variance IAA

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Isolats	25	0,3932	0,015726	3,64	0,000***
Erreur	52	0,2245	0,004317		
Total	77	0,6176			

6.LES traits PGPR des isolats testés

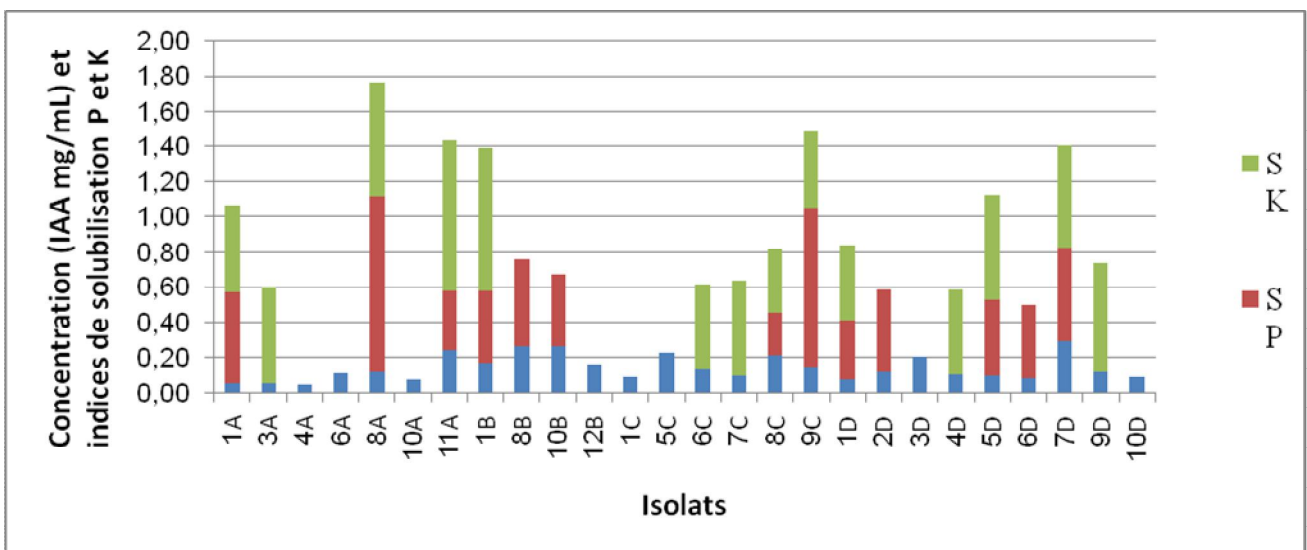


Fig 20: histogramme representant les traits PGPR chez les isolats testés

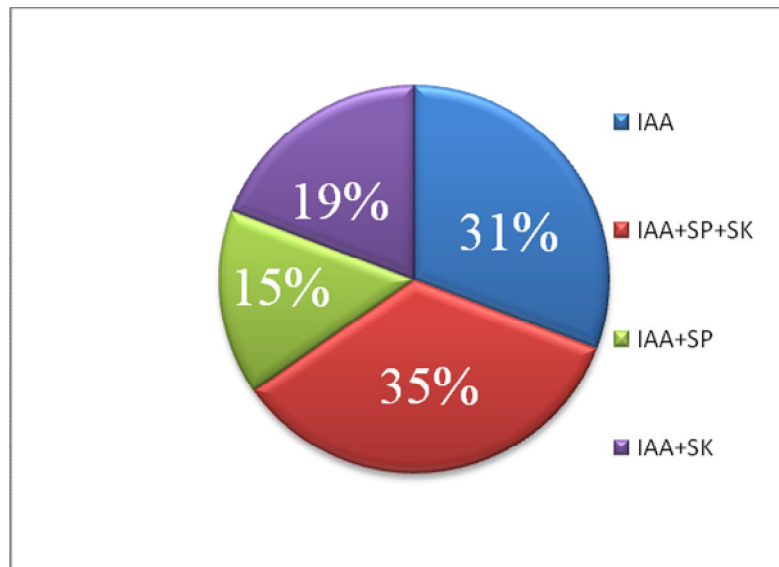


Fig 21 : répartition proportionnelle des isolats selon les traits PGPR étudiés

7. Resultats du test API 20 E

- ✓ Isolat A1: *ACINETOBACTER Baunanii*
- ✓ Isolat A8: *pantoea SSp3*
- ✓ Isolat A11: *Providencia stuarti*
- ✓ Isolat B1: *pantoea SSp2*
- ✓ Isolat C8: *pseudomonas oryzibobitons*
- ✓ Isolat D1: *Serratia ficaria*
- ✓ Isolat D5: *pantoea SSp2*
- ✓ Isolat D7: *pseudomonas oryzibobitons*



Fig 22: Resultats du test API 20 E

CONCLUSION

Cette contribution à isoler des PGPR à partir de la rhizosphère de *ATRIPLEX HALIMUS*, nous a permis d'identifier certaines bactéries caractérisées par des traits PGPR intéressants. La majorité des bactéries isolées sont productrices d'IAA, même si le taux de production varie considérablement d'un isolat à l'autre. 13 isolats ont montré un pouvoir de solubilisation du phosphate alors que 14 isolats ont pu solubiliser le potassium, certains isolats ont même réagit dans le milieu de solubilisation de potassium modifié caractérisé par des conditions plus stressantes. Ce qui confirme la biodiversité des bactéries isolées de la même rhizosphère.

On a pu identifier 8 souches à intérêt agronomique, 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 biofertilisants pour faciliter l'absorption des minéraux et réduire les besoins en engrais chimiques.

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 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.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUE

A

Anton Hartmann, Michael Rothballer et Michael Schmid, 2008.« Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », *Plant and Soil*, vol. 312, no 1-2, novembre, p. 7

ANOUA, B., Jaillard, B., RUIZ, J., Bénét, J. C., et Cousin, B. 1997. Couplage entre transfert de matière et réactions chimiques dans un sol. Partie 2: Application à la modélisation des transferts de matière dans la rhizosphère. *Entropie*, 33(207), 13-24.

Arora NK, Tewari S, Singh R ,2013.Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their Mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs. In: Arora NK (ed.) *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. Springer, 411-449

B

Bacteriology Journal 5 (1): 13-24, 2015 ISSN 2153-0211 / DOI: 10.3923/bj.2015.13.24

© 2015 Academic Journals Inc.

- **Benmansour, MY., (2014).** Contribution à l'étude physiologique des Atriplexes de la région de l'Emir Abdelkader. (Wilaya d'Ain Té mouchent). Diplôme de master. Université de Tlemcen. P: 18-19.

BENREBIHA .F Z: Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'Atriplex locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger Pp: 5- 20, (1987)

C

Clay K. & Schardl C. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*; 160 Suppl 4: 99-127.

Cherif Hafsa ,2014. Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1

CHOUKR-ALLAH .R: the potential of halophytes in the development and rehabilitation of arid and semi-arid zones .CIHEAM Instituto Agronomico mediterraneo, BARI, Italy .Pp1-13, (1996).

Curl EA ,1982. The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. *Plant Dis* 66, 624-630

D

Dommergues, Y. Mangenot, F,1970. **écologie microbienne du sol .Masson et Cie, 2013.**Microbacterium avec l'uranium. Th doctorat : Microbiologie : Université d'AixMarseille, paris, pp9- 72(796).

E

Elustondo, J., DA. Anger., MR. Laverdière, et A. N'Dayegamiye (1990). Etude comparative de l'agrégation et de la matière organique associée aux fractions granulométriques et sept sols sous culture de maïs en prairie. *Can. J. Soil Sci.* 70: 395- 402.

Emily claudia ricci,2015.investingating the role of pseudomonas sp. And bacillus sp .biofilms as plant growth promoting inoculants.McGill university,motereal.Quebec.Canada

F

Flowers, T. J., Hajibagheri, M. A., et Clipson, N. J. W., (1986). Halophytes. *Q. Rev Biol.* P61: 313-337

Foster RC, Rovira AD ,1978. The ultrastructure of the rhizosphere of *Trifolium subterraneum* L. In: *Microbial ecology* (MW Loutit, JAR Miles, eds) Springer-Verlag, Berlin, 278-290

G

Germida, J. J., S. D. Siciliano, R. de Freitas et A. M. Seib (1998). Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *FEMS Microbiol. Ecol.*, **26**:43–50.

Gibson, F., and Magrath, D. J,1969. *Biochim. Biophys. Acta* 192, 175–187

Glick B.R.,2012. *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applications* Hindawi Publishing Corporation, Scientifica

Glick BR, Todorovic B, Czarny J, Cheng Z, Duan J, et al,2007. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Crit Rev Plant Sci* 26: 227-242.

Goswami D., Janki N. Thakker , Pinakin C. Dhandhukia (2016) Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review article *Cogent Food & Agriculture* (2016), 2: 1127500

Govind Gupta, Shailendra Singh Parihar, Narendra Kumar Ahirwar, Sunil Kumar Snehi and Vinod Singh ,2015. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture, MicrobBiochemTechnol*, 7:2

http://www.symbiotech . over . blog.com Solution biologique pour le sol et la plant. **Institut de Génie Rural,1973.** Travaux pratiques Guide de laboratoire. Suisse, 50 pages.

GLICK, B.R., 2012. *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applications.* In: Scientifica. Octobre 2012. Vol. 2012, p. 1-15. DOI 10.6064/2012/963401.

H

Hubac, C., et Vieira, Dasilva J., (1980). Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. vég*:18(1). P:45-53.

Hubac, C., (1990). Croissance et développement des végétaux. Impact de la salinité et de l'aridité sur la croissance de développement et l'amélioration de végétaux. Séminaire université. D'Oran.

I

Ighilharig –Hennia, Z.,)2008). Contribution à la valorisation d'*Atriplex halimus*. L et *Atriplex canescens* (push) Nutt par la tolérance des plantes cultivées in vitro. Thèse de doctorat d'état, université d'Oran Es-Senia. Oran. P:143.

J

Jabnoue M., (2008). Adaptation des plantes au stress salin. Cours. 48p.

Jha, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., & Saraf, M. (2011). Enterobacter: Role in plant growth promotion. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses* (pp. 159–182). Berlin: Springer Berlin Heidelberg. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9>

K

Khalid, A., M. Arshad et Z.A. Zahir (2006). Phytohormones: microbial production and applications. In: *Biological Approaches to Sustainable Soil Systems.* (Eds.): N. Uphoff , A.S. Ball,

E. Fernandes, H. Herren, O. Husson, M. Laing, C. Palm, J. Pretty, P. Sanchez, N. Sanginga and J. Thies. Taylor & Francis/CRC, Boca Raton, Florida. p. 207-220.

Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA ,2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. Arch Agron Soil Sci 56:73-98

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

- **Kinet, J.-M.,** Benrebiha, F., Bouzid, S., Laihacar, S. et Dutuit, P. (1998) Le réseau Atriplex: Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semiarides. Cahier d'agriculture. Vol. 7, pp. 505-509

Kim J, D.C,1994.Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation Biochemistry, 33 (), pp. 389–397

kirdi billal ,2011.Rôle des PGPR « Plant GrowthPromotingRhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites.Mémoire Magister en Sciences Agronomiques,Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach –Alger)

Krafczyk, I., Trolldenier, G., et Beringer, H. 1984. Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. Soil Biology and Biochemistry, 16(4), 315-322.

Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Gorfer M, Sessitsch A ,2008.Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. Plant Soil 304: 35-44

Kumar P, Dubey RC ,2012.Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of Phaseolus vulgaris. J CurrPersApplMicrobiol 1: 6-38

L

Larpent J. P. et Sanglier J. J, 1989.Biotechnologie des antibiotiques. Masson. Paris. 130 pages (31-61).

LemanceauP, 1992. Effets b'en'efiques de rhizobact'eries sur les plantes : exemple des Pseudomonas spp fluorescents. Agronomie, EDP Sciences, 12 (6), pp.413-437.

- **Le Houérou, H. N.** (1992) The role of saltbushes (Atriplex spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean basin : a review. Agroforestry systems. Vol 18, pp. 107-148.

- **Le Houérou, H. N.,** (1993). Salt-tolerant plants for the arid regions of the Mediterranean isoclimatic zone,. In H. Lieth and A. Al Masoom (ed), Towards the rational use of the high salinity tolerant plants, Vol. 1.1. Kluwer Publishers, Netherlands. P:403-422.

Lewis G.C. (2004). Effects of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of Lolium perenne with and without infection by the fungal endophyte Neotyphodium lolii. Annals of Applied Biology 2004; 144: 53-63.

Linda S. Thomashow, David M. Weller, Robert F. Bonsall, and Leland S.Pierson,1990. Production of the Antibiotic Phenazine-1-Carboxylic Acid by Fluorescent Pseudomonas Species in the Rhizosphere of Wheat. U.S. Department of Agriculture, Washington State University. 56(4)pp 908–912.

Lugtenberg B, Kamilova F,2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 63:541–556

Lynch, J.M. (1990). The Rhizosphere. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.

Lombi, E, 2001.*Trace Elements in the Rhizosphere.* CRC Press. Cité dans *Microbial Health of the Rhizosphere*

M

Malek F ,2015.interaction microbienne cours assure aux Master II microbiologie et Magistère Maitrise de la qualaté et du développement microbien. Université de Tlemcen. P :17

Mandyam K. & Jumpponen A. (2005). Seeking the elusive function of the rootcolonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* 53: 173-189.

Mench M ,1985 . Influence des exsudats racinaires solubles sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs (*Zea mays* L). Thèse de Dr del'INPL, Univ Nancy, 109 p

Mostert L., Crous PW. & Petrino O. (2000). Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to the *Phomopsis viticola* complex. *Sydowia* 54: 46-58.

MuneesAhemad,MulugetaKibret , 2014 .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20

N

Naznin HA, Kimura M, Miyazawa M, Hyakumachi M,2012. Analysis of volatileorganic compounds emitted by plant growth promoting fungus *phoma* sp. GS8- 3 for growth promotion effects on tobacco. *Microbe Environ* 28: 42-49.

Neilands, J.B., 1995. Siderophores structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Biol. Chem.* 270, 26723–26726.

Normanly, J., and Bartel, B,1999. Redundancy as a way of life-IAA metabolism. *Curr. Opin. PlantBiol.*, 2, 207-213

P

Parmar P, Sindhu SS ,2013. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J Microbiol Res* 3: 25-31.

Paul, E.A., et F.E. Clark (1996). *Soil Microbiology and Biochemistry*, 2nd Edition. Academic Press, New York.

Photita W., Lumyong S., Lumyong P., Mckenzie E.H.C. & Hyde K.D. (2004). Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? *Fung Divers* 16: 131-140.

- **Pourrat, Y. et Dutuit, P. (1994)** Étude précoce des effets morphologiques et physiologiques du rapport sodium/calcium in vitro sur une population d'*Atriplex halimus*. *John Libbey Eurotext*. Paris, pp. 283-295.

R

Ramey BE, Matthyse AG, Fuqua C ,2004. The FNR-type transcriptional regulator SinR controls maturation of *Agrobacterium tumefaciens* biofilms. *Mol Microbiol* 52:1495–1511

Redman R. S., Sheehan K. B., Stout R. G., Rodriguez R. J. and Henson J. M. (2002).

Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*; doi: 10.1126/ science.1078055.

Rodrigues K.F. (1996). Fungal endophytes of palms. In: Redlin, S.C., Carris, L.M. (Eds.),

Endophytic Fungi in Grass and Woody Plants: Systematics, Ecology, and Evolution. APSP

Rodriguez R. J., Redman R. S. & Henson J. M. (2004). The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Migration and Adaptation Strategies for Global Change* 9: 261-272.ress,St. Paul, Minnesota, USA pp. 31-65.

Rogers J.R., Bennett, P.C. and Choi, W.J., 1998, Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *American Mineralogy*, 83, 1532-1540.

S

SOUZA, R. de, AMBROSINI, A. et PASSAGLIA, L.M.P., 2015. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. In : *Genetics and Molecular Biology*. 2015. Vol. 38, p. 401 – 419.

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: 319-343.

Salma Taktek ,2015. Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat . université LAVAL québec canada

Schardl C. L., Leuchtman A. & Spiering M. J. (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review of Plant Biology* 55: 315-340.

Schroth MN, Hildenbrand DC ,1964 . Influence of plant exudates on root-infecting fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2, 101-132

Schroth MN, Hancock JG ,1981. Selected topics in biological control. *Annu Rev Microbiol* 34, 453-476
Schroth MN, Hancock JG ,1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216, 1376-1381

Shilev S ,2013. Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. *Chapitre5 plant microbe symbiosis fundamentals and advance* naveenkumararora editor

T

Tan R. X. & Zou W. X. (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports* 18: 448-459.

V

VESSEY, K., 2003. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. In : *Plant and soil*. 2003. Vol. 255, p. 571-586.

W

Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., Huckelhoven R., Neumann C., von Wettstein 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 National Academy Sciences of the United States of American* 102: 13386-13391.

WILSON A. D: Halophytes and shrubs in semi-arid regions of Australia: value for grazing and land stabilization In: V.R squires and A.T AYOUB, (1994)

Z

Zabalgoeazcoa I. (2008). Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. Spanish Journal of Agricultural Research 6: 138-146.

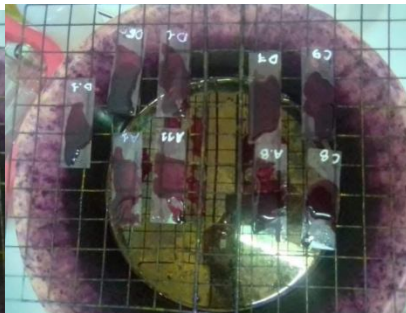
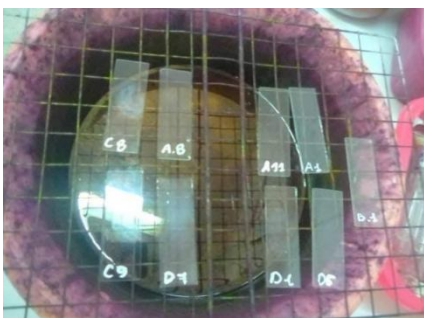
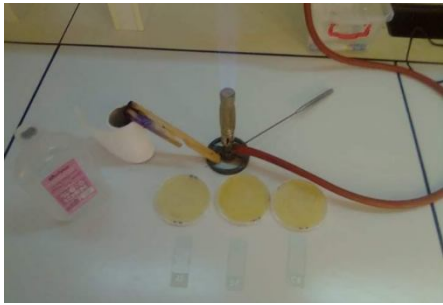
Zhang H. W., Song Y. C. and Tan R. X. (2006). Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Reports 23: 753-771.

- **Zehnder GW, Murphy IF, Sikora EJ, Klopper JW ,2001.** Application to rhizobacteria for induced resistance. Eur J Plant Pathol 107:39–50

ANNEXES

ANNEX 01

TEST API 20 E (purification , coloration de GRAM)



ANNEX 02

Tableau 09 : Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Isolats ISK	N	Moyenne	Groupement		
A11	3	0,8571	A		
B1	3	0,8148	A	B	
A8	3	0,644	A	B	C
D9	3	0,620	A	B	C
D5	3	0,5944	A	B	C
D7	3	0,5833	A	B	C
A3	3	0,545	A	B	C
C7	3	0,5417	A	B	C
A1	3	0,4944	A	B	C
D4	3	0,4815	A	B	C
C6	3	0,4815	A	B	C
C9	3	0,4398		B	C
D1	3	0,4259		B	C
C8	3	0,3631			C

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Tableau 10 : Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Isolats	N	Moyenne	Groupement		
D7	3	0,3018	A		
B10	3	0,2673	A	B	
B2	3	0,2672	A	B	
A11	3	0,2438	A	B	C
C5	3	0,2363	A	B	C
C8	3	0,216	A	B	C
D3	3	0,2140	A	B	C
B1	3	0,1720	A	B	C
B12	3	0,1691	A	B	C
C9	3	0,1494	A	B	C
C6	3	0,1388	A	B	C
D2	3	0,1234	A	B	C
D9	3	0,1226	A	B	C
A8	3	0,1221	A	B	C
A6	3	0,1200	A	B	C
D4	3	0,1058	A	B	C
D5	3	0,1049	A	B	C
C7	3	0,1014	A	B	C
C1	3	0,09348		B	C
D10	3	0,09295		B	C
D6	3	0,0902		B	C
D1	3	0,0815		B	C
A10	3	0,0781		B	C
A1	3	0,0614		B	C
A3	3	0,0594		B	C
A4	3	0,0501			C

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.