

N°Ref :.....



Centre Universitaire
Abd Elhafid Boussouf Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Caractérisation des PGPR isolées du sol salin

Présenté par : DERBAL Rahima

DERMOUCHI Sabiha

Devant le jury composé de

Mme. HadeF. S	MAA CU Mila	Président
Mme. Bouchekrit .M	MCB CU Mila	Examinatrice
Mme. Rabhi. N	MAA CU Mila	Encadreur

Année Universitaire: 2018/2019

Remerciements

En premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de m' avoir donné la force ainsi que l' audace pour dépasser toutes les difficultés.

*Nous remercions notre promotric, Mme **N. RABHI** pour la confiance et l' attention qu' elle nous ' a accordée pendant la réalisation de ce travaille. Nous la remercier également pour tous ses efforts et ses critiques constructives pour nous diriger vers un esprit scientifique.*

*Nos vifs remerciements vont au Mme. **Hadef. S**, qui nous a fait le très grand honneur d' accepter de présider ce jury, et Mme. **Bouhekrit .M**, de nous avoir fait l' honneur de juger ce travail et pour le temps qu' elle a consacré pour l' examiner.*

*Nous remercions également **kalabe .R** pour avoir accepté de remplacée nous Encadreur merci pour leurs conseils.*

*Un grande merci aux Monsieur **SEMARA** pour leurs conseils et l' assistance qu' il nous a donnée.*

*Un merci spécial à Madame **YAHYAOU** pour leurs conseils.*

Nous tenons également à remercier tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, à l' élaboration de ce travail. Merci à nos enseignants durant les cinq ans de notre formation.

Dédicaces

Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux. Louange à dieu qui m'a aidé durant des années, éclairé et ouvert les portes du savoir.

C'est avec une profonde émotion que je dédie ce mémoire :

A mes chers parents Ali et Safia à qui je dois tant et qui n'ont pas cessé de me témoigner affection, pour leurs amour, soutient, et leurs encouragement, en espérant les rendre fières.

*A mes cher frère Fouad, Rami et à mes sœurs Assia, Remaissa et
Ritaje*

*A ma tante Safia qui a toujours cru en moi et n'a jamais cessé de
m'encourager.*

A mon grand père Rabah et sa femme Taous .

A mon oncle Said, sa femme Sakina et leurs fille Amira.

A ma binôme et soeur Rahima.

A toute ma famille Dermouchi et à toutes mes amies.

A toute la promotion « Biochimie Appliqué 2018-2019».

*Tous ceux dont l'amitié sincère mes agréable, et à tous ceux qui
étaient présents pour moi.*

SABIHA

Dédicace

A mes chers parents pour leur soutien, leur aide, et leur sacrifice et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude et tout mon amour.

A ma fiançai Nadjme adine merci pour tout ce que tu as fait pour moi, merci d'être à mes côtés.

*A mes sœur Ilham, Mouna, ASMA, Mariem, Amina, Ikram
Et mes frères Mouhamed lamine et wassime merci pour
l'amour et le soutien continu*

Ames amies sabiha, Mariam, Sara, Fatine ,Moufida.

A toute la promotion « biochimie appliquée 2018-2019 »

A toute ma famille et à toutes mes amies.

RAHIMA

Liste des tableaux

Tableaux	pages
Tableau 01 : Evolution du genre <i>Bacillus</i> entre 1986 et 2004.	15
Tableau 02 : Bactéries fixant l'azote et leur relation avec les plantes hôtes	19
Tableau 03 : Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA)	30
Tableau 04 : Paramètres physico-chimiques du sol étudié.	38
Tableau 05 : Analyse de la variance de la solubilisation des phosphates par les souches	39
Tableau 06 : La quantité de phosphate solubilisée pour chaque souche bactérienne.	40
Tableau 07 : Analyse de la variance de la production de l'AIA par les souches bactériennes.	42
Tableau 08 : La quantité de l'AIA produite par chaque souche bactérienne.	43
Tableau 09 : Analyse de la variance de la production de sidérophores par les souches bactériennes.	45
Tableau 10 : Le taux de sidérophores produit par chaque souche bactérienne	46
Tableau 11 : L'ensemble des variables utilisées pour la classification hiérarchique automatique des souches des sols salés vis-à-vis leurs activités PGPR.	49

Liste des figures

Figures	pages
Figure 01 : Sol dans un étang salé	05
Figure 02 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère	09
Figure 03 : Promotion de la croissance des plantes par les PGPR	16
Figure 04 : Cycle de l'azote atmosphérique	18
Figure 05 : Fonctions biologiques des sidérophores	22
Figure 06 : Synthèse d'IAA par voie dépendante du tryptophane	24
Figure 07 : Formation d'éthylène à partir de méthionine	26
Figure 08 : Biocontrôle et de biofertilisation	27
Figure 09 : Les différents Rôles des PGPR	31
Figure 10 : Localisation géographique de la zone de prélèvement	34
Figure 11 : Solubilisation des phosphates sur milieu liquide NBRIP par les souches bactériennes.	41
Figure 12 : Production d'AIA par les souches de bactériennes sur milieu minimum MS.	44
Figure13 : Production de sidérophores par les souches de bactériennes sur milieu King B.	47
Figure 14 : Dendrogramme de la classification hiérarchique automatique des souches des sols salés selon les activités PGPR.	50

Liste des abréviations utilisées

ACC:	1-aminocyclopropane-1-carboxylate
AIA:	L'acide indole acétique
Ca₃(PO₄)₂:	le phosphate tricalcique
CAS:	Chrom Azurol S
DO:	densité optique
Fe + ³:	ion ferrique
H₂O₂:	peroxyde d'hydrogène
HCN:	cyanure d'hydrogène
K+:	ion de potassium
LPS:	les lipopolysaccharides
minimum MS:	Minimal salt medium
N:	azote
NaCl:	chlorure de sodium
nb:	nombre
NBRIP:	National Botanical Research Institute of Phosphate growth medium
O₂⁻:	anion superoxyde
p:	Le phosphore
PGPR:	Plant growth-promoting rhizobacteria
pH:	potentiel d'hydrogène
PSB:	des bactéries solubilisant les phosphates
rpm:	rotation par minute
RSI:	Résistance systémique induite
TSA:	Tampon phosphate salin
TSI:	la tolérance systémique induite
mL:	millilitre
mM:	milli-mole
h:	heure
min:	minute
µl:	microlitre
µm:	micromètre
C°:	Degré Celsius

Sommaire

Remerciements	I
Dédicace.....	II
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des abréviations utilisées	VI
Sommaire	
Introduction.....	01
Revue bibliographique	
I-Sols salés.....	04
II-Salinisation.....	04
II-1- Définition.....	04
II-2- Effet de la salinité.....	06
II-2-1- Sur les microorganismes.....	06
II-2-2- Sur la structure du sol.....	06
II-2-3- Sur les végétaux	06
III-Diversité microbienne du sol	08
III-1- La rhizosphère.....	08
III-2- Les rhizobactéries.....	09
III-3- Les rhizobactéries promotrice de la croissance.....	10
IV-Diversité taxonomique des PGPR.....	10
IV-1- Alphaproteobacteria	10
IV-2- Betaproteobacteria.....	11
IV-3- Actinobacteria	11
IV-4- Gammaproteobacteria.....	11
IV-4-1 <i>Pseudomonas spp fluorescents</i>	12
IV-5- Firmicutes.....	14
IV-5-1- <i>Bacillus</i>	14
V-Les différent Mécanisme des PGPR.....	17
V-1- Mécanisme direct.....	17
V-1-1- Fixation d'azote	17
V-1-2-Solubilisation du phosphate.....	20
V-1-3-Solubilisation du potassium.....	20

V-1-4-Production de sidérophores.....	21
V-1-5- Production des phytohormones	23
V-2-Mécanisme indirecte	28
V-2-1-Compétition pour l'espace et les nutriments	28
V-2-2-Antibiose.....	28
V-2-3-Production HCN	29
V-2-4-Enzymes lytiques.....	29
V-2-5-Résistance systémique induite (RSI).....	31
VI- L'utilisation des PGPR dans l'agriculture.....	32
Matériel et Méthodes	
I- Echantillonnage	34
II- Analyses microbiologiques du sol.....	35
II-1- Isolement des souches bactériennes.....	35
II-2- Identification des souches.....	35
II-3- Conservation des souches.....	35
III- Caractéristiques promotrices de la croissance végétale	35
III-1- Solubilisation du phosphate sur un milieu solide et liquide.....	35
III-2- Production de l'AIA.....	35
III-3- Production de sidérophores.....	36
IV- Analyses statistiques.....	36
Résultats et Discussion	
I- Résultats.....	38
I-1- Caractéristiques physico-chimiques du sol étudié.....	38
I-2- Isolement des souches bactériennes.....	38
I-3- Activités PGPR.....	38
I-3-1- Solubilisation du phosphate sur un milieu solide et liquide.....	38
I-3-2- Production de l'AIA.....	42
I-3-3- Production de sidérophores.....	45
I-4- Analyse globale de l'effet de l'ensemble des souches bactériennes.....	48
II- Discussion.....	51
Conclusion.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
المخلص.....	

Références bibliographiques.....

Annexes

Introduction

Introduction

Le sol est une matrice vivante dynamique et constitue non seulement une ressource essentielle en matière de sécurité agricole et alimentaire, mais il contribue également au maintien de tous les processus de la vie. La salinité est l'un des facteurs majeurs responsables de la détérioration des sols en les rendant impropres à l'agriculture. Par leur concentration excessive en sels, les sols salins constituent un environnement défavorable pour la croissance de la plupart des légumineuses, elles provoquent une diminution du potentiel osmotique de la solution du sol, le déséquilibre nutritionnel et ou la toxicité des ions (Mater, 2015).

Près d'un milliard d'Ha de terres à travers le monde sont affectés par le sel, que ce soit par la salinité (397 millions d'ha) ou par les conditions de sodisation associées aux teneurs en sodium (434 millions ha). ce qui représente plus de 6% de la surface du globe, dont 3.8 % sont situés en Afrique (Eynard *et al.*, 2006). Ces écosystèmes salés, surtout rencontrés dans les pays arides et semi-arides sont caractérisés par une faible irrégularité des précipitations, associée à une forte évaporation favorisant l'accumulation du sel dans le sol (Ould Mohamdi *et al.*, 2011). En Algérie, 3.2 millions d'hectares de terres agricoles sont menacés par la salinité (Belkhodja et Bidai, 2004). Ce phénomène devient de plus en plus inquiétant car la salinité réduit la superficie des terres cultivables, menace la sécurité alimentaire, limiter la productivité végétale et le rendement agricole dans ces régions. La salinisation des sols est non seulement liée aux conditions climatiques, mais aussi à l'utilisation mal contrôlée des eaux d'irrigation et à leur mauvaise qualité (Mater, 2015).

Quels sont les différentes stratégies par lesquels le risque de la salinité peut être atténué afin d'améliorer la croissance et la productivité végétale dans les régions arides et semi arides ? Plusieurs stratégies ont été développées afin de diminuer les effets toxiques causés par une salinité élevée sur la croissance des plantes, y compris génie génétique des plantes (Wang *et al.*, 2000), et récemment l'utilisation de Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Dimkpa *et al.*, 2009).

Le sol est un environnement complexe abritant des populations de microorganismes ayant des particularités biologiques et biochimiques diverses. Parmi ces microorganismes, figurent des bactéries d'intérêt agricole (Diaw *et al.*, 2018) dites PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria), synonyme de Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes. Ces bactéries arrivent à s'adapter facilement et s'associer avec plusieurs plantes et induisent des améliorations significatives des rendements (Benchabane *et al.*, 2012). En effet, elles peuvent stimuler la croissance des plantes où réduire d'éventuelles maladies causées par les pathogènes comme les champignons, les bactéries, les virus, les nématodes (Rajkumar *et al.*, 2010 ; Ma *et al.*, 2011) grâce à une compétition pour l'espace et les nutriments (Haas et

Defago, 2005). Différents mécanismes appliquent par ces dernières, directs (solubilisation du phosphore, du potassium, fixation d'azote, séquestration du fer par les sidérophores, production de régulateurs de croissance...) ou indirects tels que (la production d'antibiotiques, la compétition pour l'espace et les nutriments, l'antibiose, RSI...) (Van Loon, 2007 ; Karnwal, 2009). Des effets bénéfiques sur le plan écologique ont été également signalés, avec ces rhizobactéries, par leur rôle dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol. Des études récentes ont exploité des techniques moléculaires pour comprendre le mode d'action des interactions plante-microbe entraînant une tolérance au stress induite (Benchabane *et al.*, 2012).

Cependant, l'activité de ces microorganismes peut être influencée par plusieurs facteurs parmi lesquels la salinisation des sols (Diaw *et al.*, 2018).

En effet, l'application des PGPR constitue une importance majeure dans l'agriculture, elle permet d'améliorer la croissance des plantes par l'emploi des ressources biologiques naturelles. Par ailleurs, l'utilisation des bactéries dans l'agriculture offre bon rendement même dans des conditions sévères comme la salinité, ceci est généralement lié à la stimulation du développement racinaire, la biosynthèse de phytohormones et l'apport de nutriments et de l'eau (Roberts, 2005).

L'objectif de ce travail découle naturellement de ces acquis. L'évaluation de quelques activités liées à la PGPR isoler à partir du sol salé, en s'appuyant sur leur capacité à solubiliser le phosphate, à produire l'auxine (AIA) et à produire les sidérophores.

Notre mémoire se présente en trois grands chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les recherches effectuées dans notre domaine de recherche.
- Le deuxième chapitre présente le matériel biologique, et les méthodes d'analyses suivies lors de cette expérimentation.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus et enfin, le mémoire se conclura en dégagant quelques perspectives de ce travail.

Revue Bibliographique

I- Sols salés

La formation des sols sal sodiques est liée à la présence de l'ion Na^+ , cation dominant, qui existe sous deux formes: une forme saline (NaCl , Na_2SO_4 , NaHCO_3 , Na_2CO_3) ou une forme échangeable liée au complexe organo-minéral (Montroi , 2017). La concentration saline totale de l'extrait de sol exprimée par une mesure de conductivité électrique. Celle-ci mesurée sur un extrait de pâte saturée ou sur un extrait l/l pour les sols trop sableux, doit être : supérieure à 15 dSiemens/m (ou mSiemens/cm) à 25°C ; ou supérieure à 7 dSiemens/m si le pH l/l est supérieur à 8,5 (sols carbonatés alcalins) ou inférieur à 3,5 (sols sulfatés acides) (Loyer, 1991).

Deux grands origine de formation de sol salé : la salure peut-être soit d'origine marine, c'est le cas des sols sulfatés acides des mangroves des côtes basses des bordures ouest-océaniques tropicales actuellement, c'est le cas des formations Triasiques et Mio-pliocènes de l'Afrique du Nord qui renferment des quantités considérables de sels. Ou soit d'origine continentale, principalement par évaporation de l'eau d'irrigation ou de l'eau qui stagne dans les parties basses du paysage. Ce dernier cas représente la situation la plus fréquente en Tunisie. Le transport des sels dans le paysage est assuré par les pluies de ruissellement, les réseaux de drainage artificiel, les cours d'eau (Job, 1992).

II- Salinisation

II-1- Définition

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes (Bouaouina *et al.*, 2000). Les effets de la salinité se manifestent au niveau de la plante entière à des degrés variables se traduisant par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité (Wang *et al.* , 2001). L'effet de la salinité n'est pas homogène pour tous les organes. Les réponses morphologiques, physiologiques et métaboliques de ces derniers sont différentes (Hilal et Singh., 1999) et parfois même opposées entre les stades juvéniles et adultes (Abo El Enein, 1991)

Depuis le début de XX^e siècle la superficie des terres agricoles touchées par la salinité c'est-à-dire une teneur excessive en sels minéraux, notamment NaCl ne cesse d'augmenter aujourd'hui, environ 25% des terres irriguées sont confrontés a ce problème, qui touché plus particulièrement les zone aride et semi-aride ; telle que les régions tropicales et méditerranéennes. La salinisation des sols de ces région souvent fertiles n'est pas seulement liées aux conditions climatique (salinisation primaire), mais également à l'activité de l'homme qui pour des raisons économique à développé une agriculture intensive souvent mal

contrôlée (salinisation secondaire). Le fort ensoleillement et la faible pluviométrie ont obligé les agricultures à irriguer en quantité importante et souvent avec une eau saumâtre. Les sels se sont accumulés au cours des ans à la surface des sols sans pouvoir être lessivés par les rares eaux de pluie ; rendant ainsi peu à peu les terres impropres à la culture (Abo El Enein ,1991). La germination des graines est le premier stade physiologique affecté par la salinité. à titre d'exemple : le taux de germination du cotonnier chute de 70% en présence de 12 grammes par litre de chlorure de sodium (NaCl) et la germination des tubercules de pomme de terre peut être retardée de 3 à 7 jours selon le degré de salinité du sol (Levy *et al.* , 1993). La croissance et la fructification sont également affectées, aussi bien au niveau quantitatif que qualitatif. En fait chez les légumineuses le stress saline perturbe non seulement la croissance du végétale mais également la fixation de l'azote en affectant les bactéries symbiotique des nodules. Le rendement des céréales telle que le riz, le blé et l'orge, base de l'alimentation des pays en développement est également affecté par la salinité (Epstein *et al.*, 1980). La salinité influence également la croissance et la qualité des fruites (Mizrahi et Pasternak, 1985), dont l'aspect et la qualité organoleptique sont modifiés, et dont la valeur marchande devient médiocre.



Figure 01 : Sol dans un étang salé (Legros, 2009).

II-2- Effet de la salinité

II-2-1- Sur les microorganismes

La salinité et la sodicité confèrent au sol des propriétés physiques et chimiques défavorables à la croissance des plantes, ce qui a justifié les nombreuses recherches réalisées dans ce domaine (Levigneron *et al.*, 1995). En revanche dans ces milieux, les propriétés biologiques sur base d'analyse des populations microbiens et de leur activités ont fait l'objet de très peu de travaux, notamment en ce qui concerne les soles algérien (Levigneron, 1995 ; Ali Hamoud *et al.*, 1980). Quant aux effets de la salinité sur les espèces microbiennes et la minéralisation de l'azote, les résultats obtenus restent limités voire controversés. La microflore n'est sensible que lorsque la conductivité électrique de l'extrait de pate saturée à 25C° atteint 62-66 ms/cm (Levigneron *et al.*, 1995). Alors que l'inhibition de l'activité microbienne est constatée à moine de 22 ms/cm et qu'une diminution de l'activité microbiologique total du sol est observée (Ali Hamoud *et al.*, 1980) à des valeurs de salinité très faibles.

II-2-2- Sur la structure du sol

La structure du sol peut être définie comme le regroupement des particules primaires du sol dans les agrégats. Ces derniers sont séparés entre eux par des pores dans lesquels le gaz et le liquide peuvent circuler. La structure du sol a une importance considérable sur son fonctionnement. D'une part, elle détermine la pénétration des racines dans le sol, d'autre part, elle agit sur les déplacements d'eau, d'éléments nutritifs de la masse du sol vers les racines (Lavelle et Spain, 2001). L'augmentation de la quantité de sodium dans un sol entraîne la destruction de sa structure. Un excès de sodium favorise la dispersion des colloïdes minéraux et par conséquence la réduction de la structure poreuse du sol. La salinisation augmente ainsi l'imperméabilité des couches profondes du sol ce qui empêche l'aération et la pénétration de l'eau nécessaire pour une croissance normale des plantes (Ghassemi *et al.*, 1995).

II-2-3- Sur les végétaux

II-2-3-1- Stress hydrique

Une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Ce la nécessite un ajustement osmotique adapté ; afin que le potentiel hydrique cellulaire et a celui du sol ce phénomène assure d'une part la poursuite de l'absorption de l'eau du sol ; d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence. Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence (Levigneron *et al.*, 1995).

II-2-3-2- Stress ionique

La toxicité ionique survient lorsque l'accumulation de sels dans les tissus perturbe des activités métaboliques de la plante comme l'absorption d'eau et de nutriments, l'ajustement osmotique, la synthèse de protéines et d'acides nucléiques, l'accumulation de solutés organiques, la respiration et la photosynthèse (Levigneron *et al.*, 1995). Des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse sont dues à plusieurs facteurs : la déshydratation des membranes cellulaires et la fermeture des stomates, ce qui réduit la perméabilité de CO₂, la toxicité du sel, la sénescence accrue induite par la salinité et le changement dans l'activité des enzymes (Parida et Das, 2005). En outre, le stress salin peut induire un stress oxydatif se traduit par une production excessive de radicaux libres d'oxygène y compris l'anion superoxyde (O₂⁻), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et les radicaux hydroxyles (OH⁻). Ces espèces réactives causent des dysfonctionnements intra membranaires et par conséquent la mort cellulaire (Parida et Das, 2005).

II-2-3-3- Stress nutritionnel

Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale, en particulier vis-à-vis des transporteurs ioniques cellulaires. Le sodium entre en compétition avec le potassium et le calcium ; et le chlorure avec le nitrate ; le phosphate et le sulfate ainsi. Il est possible de mettre en évidence l'influence du sel sur des activités métaboliques de la plante aussi nombreuse et importantes que l'absorption d'eau et de nutriment, l'ajustement osmotique, la synthèse de protéines et d'acide nucléiques, l'accumulation de soluté organique, ainsi que sur la balance hormonale, les taux de respiration, la photosynthèse et leur interaction avec la microflore du sol (Alam, 1994).

La photosynthèse étant réduite chez les plantes cultivées en milieu salin, cet effet dépressif serait à l'origine de la diminution de croissance. Tout fois que la photosynthèse et à long terme, décline d'avantage que cette dernière, on considère que l'assimilation de carbone par les plantes serait affectée par la salinité à cause d'une réduction de l'indice foliaire plutôt que du taux de photosynthèse (Munns ,1993).Le sel peut également provoque la modification du nombre de stomates ; du nombre et du diamètre des vaisseaux du xylème chez les halophytes, ou accélérer le cycle biologique avec du changement du carbone.

III- Diversité microbienne du sol

III-1- La rhizosphère

Le terme «rhizosphère» a été inventé par Lorenz Hiltner en 1904 pour définir la couche de sol autour des racines de la plante qui est peuplée des micro-organismes. « 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 (Lynch, 1990). En 1994, Clark a suggéré d'utiliser le terme «rhizoplan» pour designer la surface de la racine. Quant à Balandreau et Knowles (1978), ils ont appelé l'épiderme« l'endorhizosphère» et la zone à proximité immédiate d'épiderme «l'exorhizosphère» (**Fig : 02**) (Ashwathi, 2016). Dans cette zone typique du sol, les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques sont différents du sol distant (région du sol qui n'est pas sous l'influence directe des racines) (Seshadri, 2015).

La rhizosphère est la zone étroite du sol spécifiquement influencée par le système racinaire (Dobbelaere *et al.*, 2003). Les racines des plantes dégagent une grande diversité de nutriments organiques (acides organiques, phytosidérophores, sucres, vitamines, acides aminés, nucléosides, mucilage) et de signaux qui attirent les populations microbiennes, en particulier celles capables de métaboliser les composés exotiques et de proliférer dans cet habitat microbien (Bais. *et al.*, 2006 ; Pothier *et al.*, 2007 ; Badri *et al.*, 2009 ; Shukla *et al.*, 2011 ; Drogue *et al.*, 2013). Les exsudats de racines étant la plus grande source de carbone dans le sol, le compartiment de la rhizosphère abrite une riche communauté microbienne, comprenant jusqu'à 10^{10} bactéries par gramme de sol (Gans *et al.*, 2005 ; Roesch *et al.*, 2007) et englobant une grande diversité des taxons (Kyselková *et al.*, 2009 ; Gomes *et al.*, 2010) .

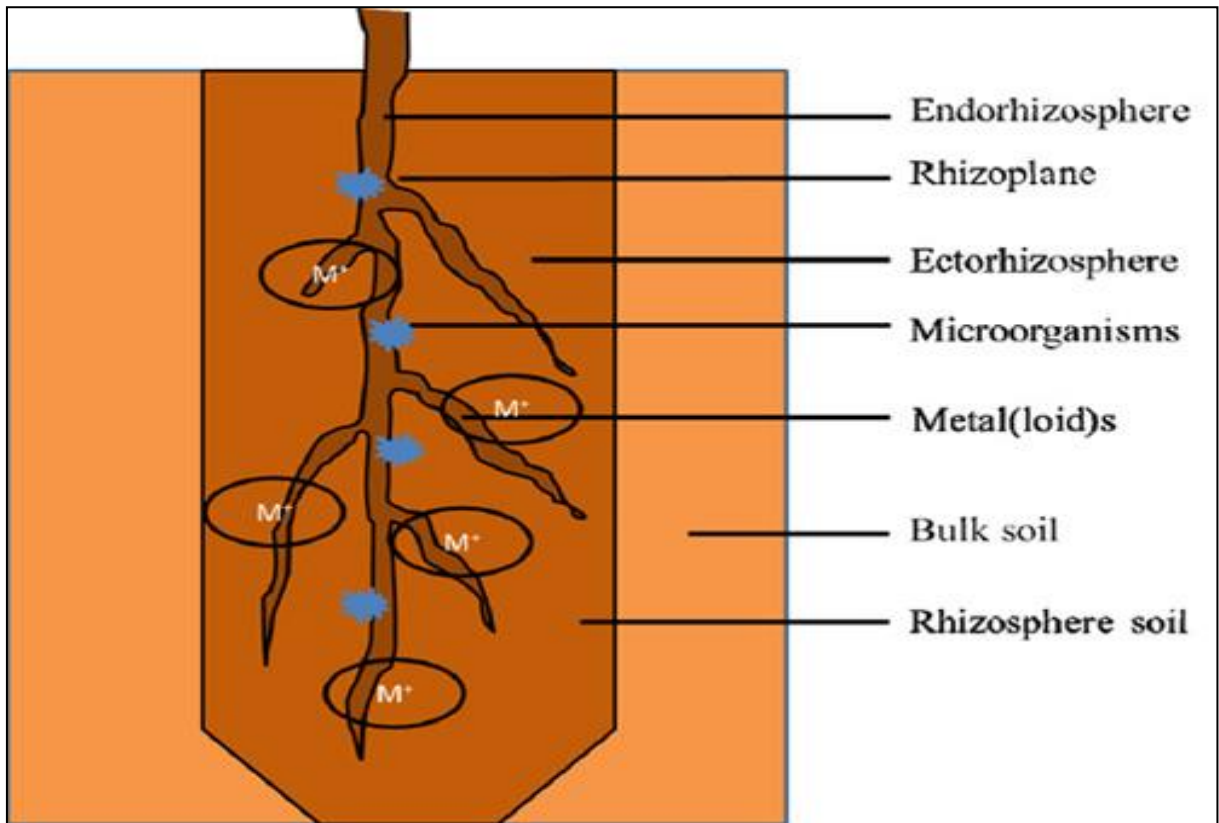


Figure 02 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (Seshadri et al., 2015).

III- 2- Les rhizobactéries

Les rhizobactéries sont présentes en grand nombre à la surface des racines où existent les nutriments provenant des exsudats racinaires (Lynch et Whipps, 1991 Ahemad et Kibret, 2014). Certaines d'entre elles sont capables de stimuler la croissance des plantes et de réduire leur maladie en supprimant les pathogènes du sol (Kloepper et Leong ,1980) Ces rhizobactéries constituent des agents prometteurs de lutte biologique contre les champignons, les bactéries, les virus et les nématodes. Elles jouent un rôle important dans les principaux cycles biogéochimiques via la régulation de la dynamique de la décomposition de la matière organique et la mise à disponibilité pour les végétaux de nutriments tels l'azote, le phosphore et le soufre (Bouché, 1977). Ces dernières sont capables de se multiplier et de rivaliser avec les autres microorganismes pour occuper une zone spécifique riche en éléments nutritifs.

L'association, le rôle et les effets que les rhizobactéries exercent sur la plante sont fonction du succès de leur établissement dans la rhizosphère; elles peuvent avoir un effet positif, négatif ou neutre sur la croissance des plantes (Suslow, 1982; Weller, 1988). L'inoculation des semences avec ces rhizobactéries se traduit généralement par des accroissements de rendement d'environ 10 à 30% (Suslow, 1982). Ces rhizobactéries appartiennent à différents groupes taxonomiques de bactéries (Lemanceau, 1992).

III-3- Les rhizobactéries promotrice de la croissance

Les rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes, connues sous le terme PGPR (Plant growth-promoting rhizobacteria) sont considérées comme des éléments principaux pour le développement des plantes sous des conditions de déséquilibre nutritionnel. Elles peuvent améliorer la croissance et la nutrition des plantes. Ces rhizobactéries peuvent stimuler directement la croissance de celles-ci en augmentant et en facilitant le prélèvement des éléments nutritifs du sol (Azote, Phosphore, Potassium, Fer) dans l'environnement racinaire, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale (phytohormones et substances biologiquement actives). Mais aussi les PGPR peuvent stimuler indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore qui leur est néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les rhizobia. Les effets antagonistes des PGPR impliquent la production d'antibiotiques et la compétition nutritionnelle avec les pathogènes végétaux, et en activant aussi les mécanismes de résistance induite chez les végétaux pour diminuer ou empêchant les effets délétères des organismes phytopathogènes dans la rhizosphère (Sharma et Johri, 2003).

Il existe un potentiel énorme à utiliser les rhizobactéries PGPR comme bioinoculum pour une grande variété de plantes cultivées et dans un large éventail de climat et de conditions édaphiques. Les recherches concernant ces bactéries et leurs modes d'action augmentent rapidement comme les efforts fournis pour leurs exploitations commerciales telles des bio fertilisants (Costa, 2007).

IV- Diversité taxonomique des PGPR

Au cours des dernières années, le nombre de PGPR identifiées est augmenté d'une façon significative, principalement puisque le rôle de la rhizosphère comme écosystème a gagné de l'importance dans le fonctionnement de la biosphère et que les mécanismes d'action des PGPR ont été suffisamment étudiés. Ces microorganismes cultivables, présentant une diversité de genres et d'espèces, appartiennent majoritairement aux quatre phyla suivants: Proteobacteries, Firmicutes, Actinobacteries et Bacteroidetes (Hugenholtz, 2002). Actuellement, de nombreux genres bactériens incluent les PGPR, révélant des taxons très divers (Kloepper, 1992).

IV-1- Alphaproteobacteria

Les PGPR appartenant à cette classe sont les *Rhizobia* d'abord classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Ces souches peuvent se comporter comme PGPR quand elles colonisent les racines des plantes non légumineuses dans une relation non spécifique. En effet, le genre *Rhizobium* contient également des souches PGPR qui plus tard ont été considérées

comme de nouveaux genres: *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* (Sawada *et al.*, 2003). Le genre *Gluconacetobacter* de la famille des *Acetobacteraceae* composé de bactéries endophytes obligatoires colonise les racines, la tige et les feuilles de la canne à sucre (Tejera *et al.*, 2003). Les espèces du genre *Azospirillum* décrites dans la famille de *Rhodospirillaceae* sont considérées comme promoteurs de la croissance des plantes. Les souches appartenant à ce genre se produisent sous forme de cellules libres dans le sol ou associées aux racines, tiges, feuilles et graines principalement des céréales et des graminées fourragères (Baldani *et al.*, 2005).

IV-2- Betaproteobacteria

Dans la famille *Burkholderiaceae*, le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées, elles sont isolées à partir des sols et des plantes. Quelques souches ont la capacité de fixer de façon symbiotique l'azote. *Ralstonia* est un genre également attribué à la famille des *Burkholderiaceae*. Il est comme le genre *Burkholderia* omniprésent (Moulin *et al.*, 2001).

IV-3- Actinobacteria

Le genre *Frankia* est fixateur symbiotique d'azote. Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont associées à des plantes actinorhiziennes pionnier de la colonisation des sols pauvres ou perturbés. D'autres Actinobacteria sont également des promoteurs de croissance des plantes mais ne participent pas à la symbiose. Ils appartiennent aux genres *Arthrobacter*, *Micrococcus* (Gray et Smith, 2005), *Curtobacterium* (Barriuso *et al.*, 2005) et *Streptomyces* (Siddiqui et Mahmood, 1999).

IV-4- Gammaproteobacteria

Dans la famille des *Pseudomonadaceae*, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer le l'azote et ne pas noduler les plantes (Sturz et Christie, 2003). De plus, *Pseudomonas* est le genre le plus abondant dans la rhizosphère parmi les bactéries à Gram-négatif du sol, et l'activité PGPR de certaines de ces souches est connue depuis de nombreuses années, résultant d'une large connaissance des mécanismes impliqués. Par contre, les genres inclus dans la famille des *Enterobacteriaceae* assurant la fonction de PGPR sont *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* et *Serratia* (Garrity, 2005).

IV-4-1- *Pseudomonas spp fluorescents*

IV-4-1-1- Présentation de *Pseudomonas spp fluorescents*

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, famille des *Pseudomonaceae*, ordre des Pseudomonales (Moore *et al.*, 2006). Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long, mobiles et asporulées (Bell-Perkins et Lynch, 2002). Ce sont aérobies obligatoires, à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO₃⁻ comme accepteur d'électrons. Elles ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe oxydatif (Moore *et al.*, 2006).

Les *Pseudomonas spp fluorescents* forment un groupe appartenant au genre *Pseudomonas* sensu stricto. Sont des bactéries ubiquistes. Présentent un intérêt pour l'agriculture car elles améliorent la croissance et l'état sanitaire des plantes. Ces effets bénéfiques sont associés à la production de métabolites secondaires (antibiotiques, sidérophores, phytohormones) ; Les membres de ce groupe se caractérisent par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores présentant un groupe chromophore jaune-vert, fluorescent sous rayonnement ultraviolet (Palleroni, 1992). Elles jouent aussi un rôle dans la protection de l'environnement (Lemanceau, 1992). De plus, la résistance naturelle de certains sols à diverses maladies d'origine tellurique a été associée à la présence de populations particulières de *Pseudomonas spp fluorescents* (Lucas *et al.*, 1989 ; Lemanceau et Alabouvette, 1993).

Les différents travaux conduits sur ces effets bénéfiques indiquent clairement que les activités intéressantes des *Pseudomonas spp fluorescents* reposent sur la nature de leur métabolisme carboné et énergétique. Ainsi, la stimulation de croissance des plantes et l'activité antagoniste à l'encontre des agents pathogènes exercés par les *Pseudomonas spp fluorescents* sont liées à la synthèse de métabolites secondaires particuliers (Haas *et al.*, 1991 ; Weller et Thomashow, 1993 ; Dowling et O'Gara, 1994). L'expression de l'ensemble de ces effets bénéfiques est d'autant plus intense que la densité bactérienne est élevée. De plus, des travaux récents réalisés sur des molécules particulières du groupe des homosérine-lactones indiquent que la synthèse de métabolites secondaires, antibiotiques en particulier, n'a lieu que si la densité bactérienne est suffisamment importante (Pierson et Wood, 1994 ; Pierson *et al.*, 1994). Or la fréquence de division cellulaire est conditionnée par le métabolisme basal des bactéries. De façon plus spécifique, le métabolisme carboné et énergétique influence les activités particulières impliquées dans les effets bénéfiques (Latour et Lemanceau, 1997).

Deux types de mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques. L'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante.

IV-4-1-2- Caractéristiques des souches de *Pseudomonas*

Les effets bénéfiques de la bactérisation résultent à la fois des activités spécifiques des bactéries et de leur densité dans la rhizosphère de la plante hôte. Ainsi l'efficacité des souches de *Pseudomonas fluorescents* utilisées dépend de leur aptitude à produire certains métabolites. Comme décrit précédemment, les métabolites responsables d'activités spécifiques intéressantes sont variés : sidérophores, antibiotiques, substances de croissance, lipopolysaccharides, etc (Lemanceau ,1992).

La sélection des souches *Pseudomonas fluorescents* performantes ne doit cependant pas se limiter à ces seules activités qui seraient de peu d'utilité, si les bactéries n'étaient pas aptes à se maintenir et à coloniser le système racinaire de la plante hôte. La compétence rhizosphérique des *Pseudomonas fluorescents* varie d'une souche à l'autre. Cette compétence définit l'aptitude d'une souche à se distribuer le long des racines de la plante hôte, à se multiplier et survivre pendant plusieurs semaines en présence de la microflore rhizosphérique Indigène (Bahme et Schroth, 1987; Weller, 1988).

Les caractéristiques bactériennes qui conditionnent la bonne compétence rhizosphérique des souches de *Pseudomonas* sont relativement méconnues. Ces caractéristiques semblent liées à l'aptitude des souches à :

- s'attacher à la racine.
- se déplacer vers et le long de la racine.
- entrer en compétition de façon efficace avec la microflore résidente.

En effet, la colonisation racinaire s'effectue en 2 temps. Les bactéries s'attachent d'abord à la racine et sont donc distribuées de façon passive. Puis elles se multiplient et colonisent de façon active la rhizosphère (Howie *et al.*, 1987).

L'attachement des bactéries à la racine résulte d'interactions physico-chimiques et biologiques entre les bactéries et la racine. Ainsi l'adhésion des bactéries à la racine serait d'autant plus efficace que la surface de la cellule bactérienne est hydrophobe (Van Loosdrecht *et al.*, 1987). Cette adhésion est également conditionnée par des phénomènes électrostatiques mettant en cause en particulier les charges de surface de la cellule bactérienne (James *et al.*, 1985; Dickson et Koohmaraie, 1989). Cependant, les travaux de Weger *et al* (1989) tendraient à minimiser l'importance de la composante physico-chimique de l'adhésion.

L'attraction des *Pseudomonas* vers la racine sous l'effet du chimiotactisme exercé par les exsudats et le déplacement de ces bactéries dans la rhizosphère sont également des composantes de la colonisation racinaire. À nouveau, leur importance est sujette à discussion. En effet, même si Scher *et al* (1985 et 1988) ont mis en évidence le chimiotactisme exercé par les exsudats de graines de soja à l'égard de *Pseudomonas fluorescents*, cette attraction n'a pas

pu être corrélée à une meilleure colonisation racinaire. Le rôle des flagelles bactériens dans la colonisation racinaire semble différer selon les souches et les conditions de croissance. Ainsi, de Weger *et al* (1987) ont démontré que la présence de flagelles permet, par exemple à la souche WCS374, de coloniser les racines profondes de façon efficace. Alors que ni Howie *et al* (1987), ni Scher *et al* (1988) n'ont observé de différence entre la colonisation des souches flagellées et de leurs mutants non flagellés.

La colonisation des *Pseudomonas* est également influencée par leur localisation au niveau de la racine. Ainsi les bactéries endophytes ou endorhizosphériques (McInroy et Kloepper, 1991; Van Peer *et al.*, 1990) seraient moins sujettes à la compétition que celles situées à l'extérieur de la racine. En effet, la densité des populations bactériennes, et donc l'intensité de la compétition, sont plus réduites à l'intérieur qu'à l'extérieur de la racine.

IV-5- Firmicutes

Parmi les bactéries telluriques à Gram positif *Bacillus* sont les types les plus communs et Les plus prédominants, ils représentent 95% de la flore isolée.

IV-5-1- *Bacillus*

Le genre *Bacillus* est composé de bactéries en forme de bâtonnets formant des endospores, à Gram positif, aérobies ou aéro-anérobies et qui incluent: mésophiles et extrémophiles. Ces microorganismes sont des chimiorganotrophes métaboliquement dépendantes des composés organiques en tant que sources de carbone et d'énergie. En outre, leur capacité à former des endospores très résistantes est la clé pour leur colonisation réussie d'une grande variété d'environnements. En raison de leur grande omniprésence dans la nature et la génétique et la diversité métabolique menant à la production de plusieurs antibiotiques et enzymes. Ces bactéries sont devenues de plus en plus intéressantes pour différentes applications biotechnologiques allant de la production d'aliments fermentés à enzymes industrielles d'ingénierie utilisées dans les industries alimentaires et des détergents (Priest *et al.*, 1993).

Tableau 01 : Evolution du genre *Bacillus* entre 1986 et 2004 (Govindasamy *et al.*, 2010).

Bergey's manual of systematic bacteriology (1ère ed., 1986)	Bergey's manual of systematic bacteriology (2ème ed., 2004)
<i>Bacillus acidocalderius</i>	<i>Acyclobacillus acidocalderius</i>
<i>Bacillus agri</i>	<i>Brevibacillus agri</i>
<i>Bacillus alginolyticus</i>	<i>Paenibacillus alginolyticus</i>
<i>Bacillus amylolyticus</i>	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>
<i>Bacillus alvei</i>	<i>Paenibacillus alvei</i>
<i>Bacillus azotofixans</i>	<i>Paenibacillus azotofixans</i>
<i>Bacillus brevis</i>	<i>Brevibacillus brevis</i>
<i>Bacillus globisporus</i>	<i>Sporosarcina globisporus</i>
<i>Bacillus larvae</i>	<i>Paenibacillus larvae</i>
<i>Bacillus laterosporus</i>	<i>Brevibacillus laterosporus</i>
<i>Bacillus lentimorbus</i>	<i>Paenibacillus lentimorbus</i>
<i>Bacillus macerans</i>	<i>Paenibacillus macerans</i>
<i>Bacillus pasteurii</i>	<i>Sporosarcina pasteurii</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>
<i>Bacillus popilliae</i>	<i>Paenibacillus popilliae</i>
<i>Bacillus psychrophilus</i>	<i>Sporosarcina psychrophilia</i>
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>
<i>Bacillus thermodenitrificans</i>	<i>Geobacillus thermodenitrificans</i>

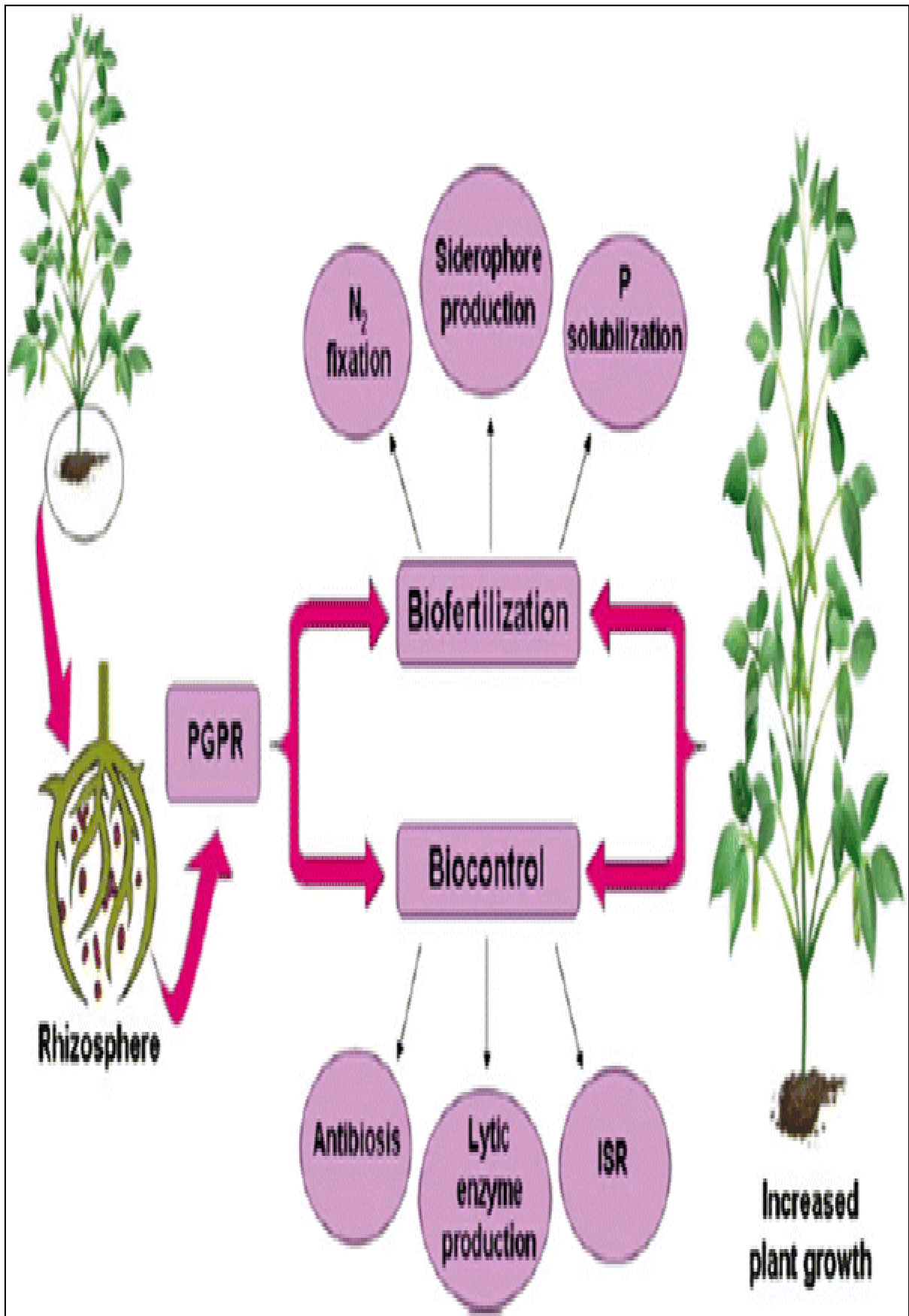


Figure 03 : Promotion de la croissance des plantes par les PGPR (Khan *et al.*, 2009).

V- Les différents Mécanismes des PGPR

Il existe toute une gamme de mécanismes permettant à la PGPR de stimuler la croissance des plantes. Ils sont en gros classés dans les mécanismes directs et indirects, en tant qu'activateurs de la croissance des plantes et agents de lutte biologique (Kundan *et al.*, 2015).

V-1- Mécanisme direct

Le mécanisme direct de PGPR est la principale étape nécessaire pour soutenir la croissance des plantes de manière directe. Il comprend la fixation de l'azote, la production de phytohormones, la solubilisation du phosphate et l'augmentation de la disponibilité du fer. Ces mécanismes influent directement sur l'activité de croissance de la plante, mais la manière dont elle influence varie d'une espèce à l'autre et d'une souche à l'autre (Bertrand *et al.*, 2000).

V-1-1- Fixation d'azote

L'azote est un élément essentiel de toutes les formes de vie et constitue le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes, bien que l'azote représente 78% de l'atmosphère, il n'est pas disponible pour les plantes (Gupta *et al.*, 2015). L'azote atmosphérique est converti en formes utilisables par les plantes par fixation biologique de l'azote N₂ qui le transforme en ammoniac NH₃ grâce à des microorganismes fixateurs d'azote utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Arora *et al.*, 2012).

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotique et non symbiotique. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre un microbe et la plante. Le microbe pénètre d'abord dans la racine, puis forme des nodules dans lesquels la fixation de l'azote a lieu. Les rhizobiums sont un vaste groupe de rhizobactéries capables d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et la formation de nodules racinaires avec des légumineuses, où l'azote est fixé à l'ammoniac et le rend disponible pour la plante (Ahemad et Kibret, 2014). PGPR sont généralement présentées comme des symbiotes: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* avec des légumineuses, *Frankia* avec des non-légumineuses et des arbustes (Gaby et Buckley, 2012).

Par ailleurs, la fixation de l'azote non symbiotique est effectuée par des diazotrophes libres, ce qui peut stimuler la croissance de plantes non légumineuses telles que le radis et le riz. Les Bactéries rhizosphérique non symbiotiques fixant l'azote appartenant à des genres tels que *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* et cyanobactéries (*Anabaena*, *Nostoc*) (Zahran, 2001 ; Ahemad et Kibret , 2014).

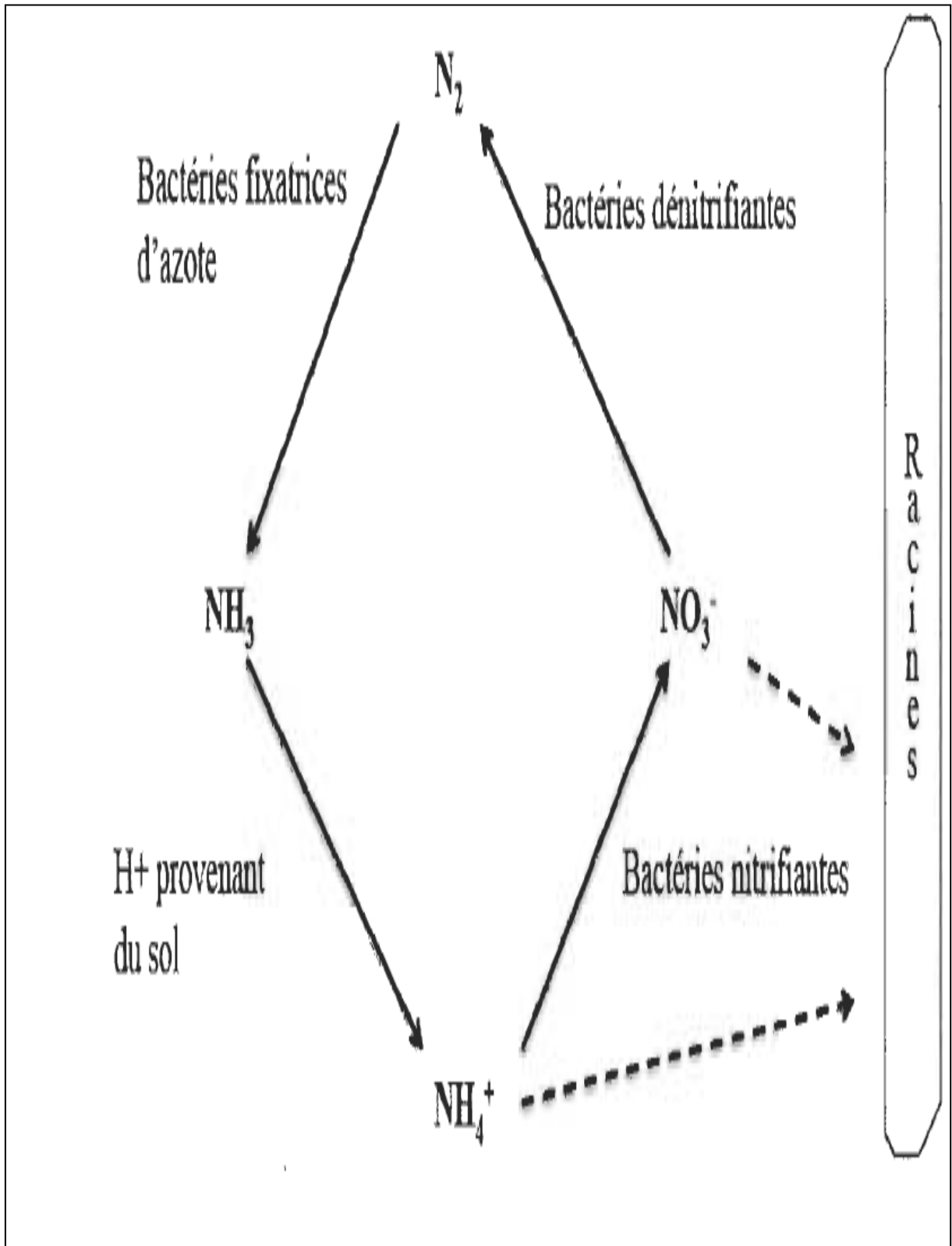


Figure 04 : Cycle de l'azote atmosphérique (Khan et al., 2009)

Tableau 02 : Bactéries fixant l'azote et leur relation avec les plantes hôtes (Kundan *et al.*, 2015).

PGPR	Relation	Plante hôte	Références
<i>Azospirillum</i> sp.	Non-symbiotique	Riz, blé, maïs, canne à sucre	Malik <i>et al.</i> , (1997). Gangwar et Kaur (2009).
<i>Azotobacter</i> sp.	Non-symbiotique (aérobie)	Paspalumnotatum herbe, maïs, blé	Dobereiner et Day (1975). Mrkovacki et Milic (2001).
<i>Azoarcus</i> sp.	Non-symbiotique (aérobie microaérophile)	Kallar, sorgho	Hurek <i>et al.</i> , (2002). Stein <i>et al.</i> , (1997).
<i>Acetobacter</i> sp.	Non-symbiotique (aérobie obligatoire)	Canne à sucre	Gillis <i>et al.</i> , (1989). Muthukumarasamy <i>et al.</i> , (2000).
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Symbiotique (endosymbiotique)	Blé, maïs, orge	Hoflich <i>et al.</i> , (1994).
<i>Bradyrhizobiumbetae</i>	Symbiotique	La betterave à sucre	Rivas <i>et al.</i> , (2009).
<i>Bradyrhizobiumjaponicum</i>	Symbiotique	Niébé, haricot mungo, soja	Rivas <i>et al.</i> , (2009).
<i>Burkholderia</i> sp.	Symbiotique (endo)	Riz	Baldani <i>et al.</i> , (2000).

V-1-2- Solubilisation du phosphate

Le phosphore (p) est l'élément clé le plus important dans la nutrition des plantes, après l'azote (N). Il joue un rôle important dans la pratiquement de tous les processus métaboliques majeurs des plantes, notamment la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration(Reed *et al.*, 2011). Les plantes ne peuvent pas utiliser de phosphate car 95 à 99% de phosphate est présent sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée (Khan *et al.*, 2010). Étant donné que la plupart des sols sont pauvres en phosphore et en engrais phosphatés qui ne sont pas abordables pour les agriculteurs en raison de leur coût élevé, il a été avantageux d'utiliser des microorganismes du sol en tant qu'inoculum pour la mobilisation du phosphate.ces microorganismes sont des bactéries solubilisant les phosphates (PSB) qui présentes dans le sol, PSB utilisent différentes stratégies pour hydrolyser le phosphore inorganique insoluble en phosphore organique soluble qui est absorbé par les plantes en tant que nutriment. Les principaux mécanismes de solubilisation du phosphate utilisés par les PSB comprennent (Pandey et Maheshwari, 2007) :

- en libérant des acides organiques et en affectant la mobilité du phosphore.
- au moyen de phosphatases qui aident à dissocier les groupes phosphates de la matière organique.

Cette connaissance de leurs mécanismes et de leur écologie dans la rhizosphère jouera un rôle essentiel dans leur utilisation en agriculture durable (Gyaneshwar, 2002). En plus d'abaisser le pH rhizosphérique, le PSB dissout le phosphate du sol en produisant des acides organiques de faible poids moléculaire tels que les acides gluconique et céto gluconique (Goldstein, 1995). Le pH rhizosphérique est abaissé par la production biotique d'échanges de libération de proton / bicarbonate (balance anion / cation) et gazeux (O_2 / CO_2). La capacité de solubilisation du phosphore par le PSB a une corrélation directe avec le pH du milieu (R Kundan *et al.*, 2015). PGPR solubilisant le phosphate inclus dans les genres *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium* *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* (Sharma *et al.*, 2013).

V-1-3- Solubilisation du potassium

Le potassium (K) est le troisième macronutriment essentiel à la croissance des plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très basses et plus de 90% du potassium dans le sol existe sous forme des roches insolubles et des minéraux silicatés (Zaidi *et al.*, 2009). Sans potasse adéquate, les plantes auront des racines peu développées, se développeront lentement, produiront de petites graines et auront des rendements plus faibles. Cela mettrait l'accent sur la recherche d'une source autochtone alternative de potassium pour

l'absorption par les plantes et le maintien de la teneur en potassium dans les sols pour maintenir la production végétale (Parmar et Sindhu ,2013).

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes sont capables de solubiliser la roche potassique par la production et la sécrétion d'acides organiques (Kumar et Dubey ,2012).telles que *Acidithiobacillus ferrooxidans* , *Bacillus edaphicus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus* sp et *Pseudomonas*, libèrent du potassium sous forme accessible à partir de minéraux porteurs de potassium dans les sols (Han et Lee, 2006).

V-1-4- Production de sidérophores

Le fer soit le quatrième élément le plus abondant sur Terre, dans les sols aérobies, il n'est pas facilement assimilable par les bactéries ou les plantes car l'ion ferrique ou Fe^{+3} qui est la forme prédominante dans la nature, n'est que peu soluble, de sorte que la quantité de fer disponible pour l'assimilation par les organismes vivants est extrêmement faible (Liu *et al.*, 2012). Les microorganismes ont développé des mécanismes spécialisés pour l'assimilation du fer, notamment la production de composés chélateurs du fer de faible poids moléculaire, appelés sidérophores, qui transportent cet élément dans leurs cellules (Ma, 2005 ; Arora *et al.*, 2013).Les sidérophores sont des composés de faible poids moléculaire chélateurs de Fe microbien, ils sont généralement des complexes stables et peuvent être de différents types, tels que les hydroxamates, les phénolcatécholates et les carboxylates. Les microbes libèrent les sidérophores pour piéger le fer de ces phases minérales par la formation de complexes de Fe^{3+} solubles qui sont absorbés par des mécanismes de transport actifs, mais les mécanismes des sidérophores ne sont actifs que sous faible disponibilité de fer (Kundan, *et al.*, 2015). Diverses études ont montré que des bactéries productrices de sidérophores appartenant aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* étaient isolées de la rhizosphère (Mehnaz, 2013).

En cas de stress tel que la pollution par les métaux lourds, les sidérophores aident les plantes à supporter ces stress. Les sidérophores jouent un rôle précieux dans le mécanisme de virulence chez les plantes ainsi que chez les animaux, car de nombreux microbes pathogènes sont essentiels à un apport suffisant en fer (Kundan, *et al.*, 2015).

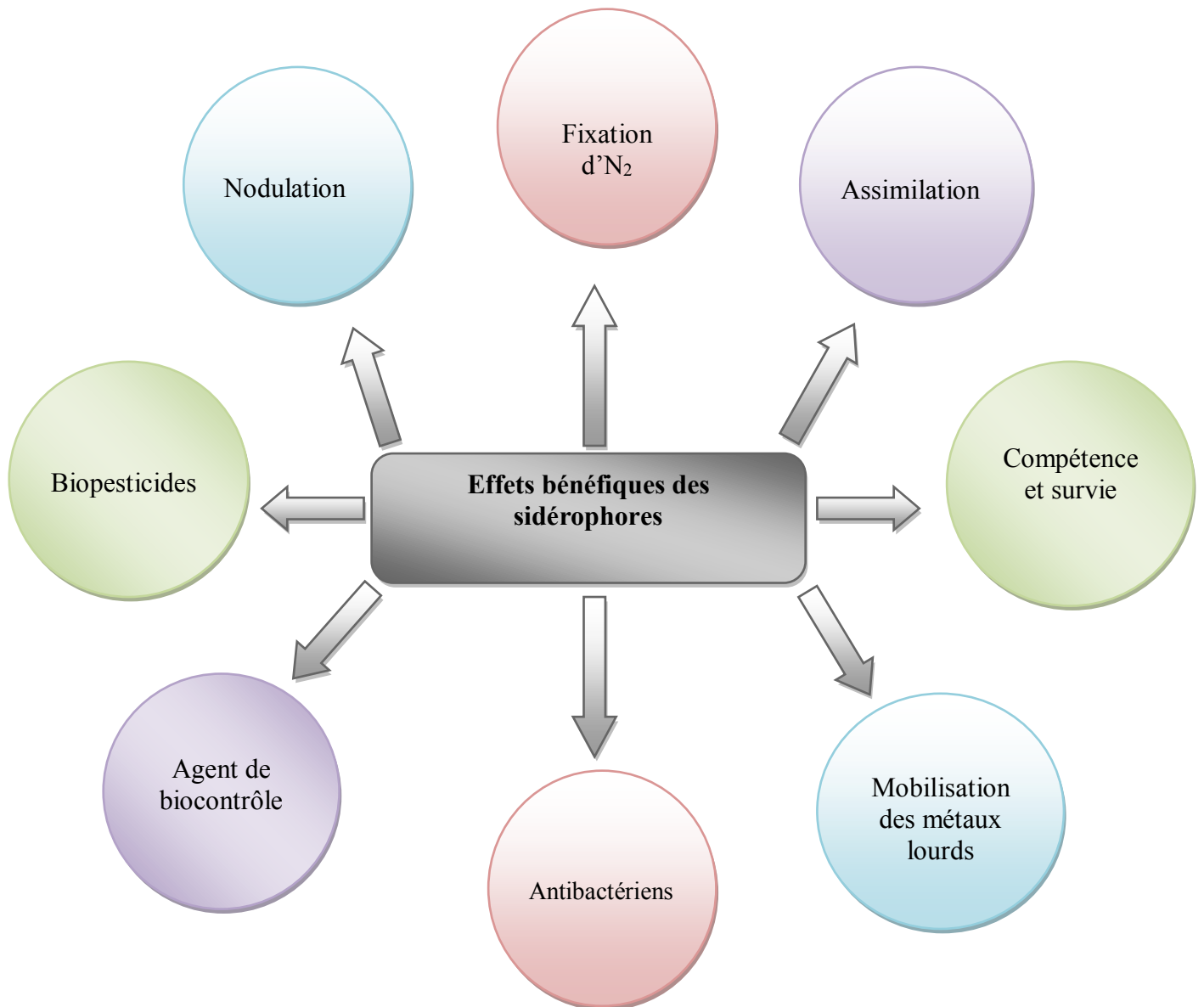


Figure 05 : Fonctions biologiques de sidérophores (Khan *et al.*, 2009).

V-1-5- Production des phytohormones

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokinines, les gibbérellines et l'éthylène. ces phytohormones sont les messagers chimiques qui jouent un rôle crucial dans la croissance naturelle et le développement des plantes(Ma, 2005).

V-1-5-1- Acide indole acétique (AIA)

Parmi les régulateurs de croissance des plantes, l'acide indole acétique (AIA) est l'auxine naturelle la plus répandue dans les plantes et son effet positif sur la croissance des racines (Sharma *et al.*, 2003). Il est proposé que jusqu'à 80% des rhizobactéries capables de synthétiser de l'acide indole acétique (AIA) colonisé à la surface des semences ou des racines agissent conjointement avec l'AIA endogène dans la plante pour stimuler la prolifération cellulaire et augmenter l'absorption par l'hôte des minéraux et des nutriments du sol (Zahran, 2001).

Le tryptophane est un acide aminé couramment trouvé dans les exsudats de racines. Il a été identifié comme la principale molécule précurseur de la biosynthèse de l'AIA chez les bactéries (Spaepen et Vanderleyden, 2011). La biosynthèse de l'acide indole acétique par des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes implique la formation d'acide indole-3-pyruvique et d'aldéhyde indole-3-acétique, mécanisme le plus courant chez des bactéries telles que *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Shilev, 2013).

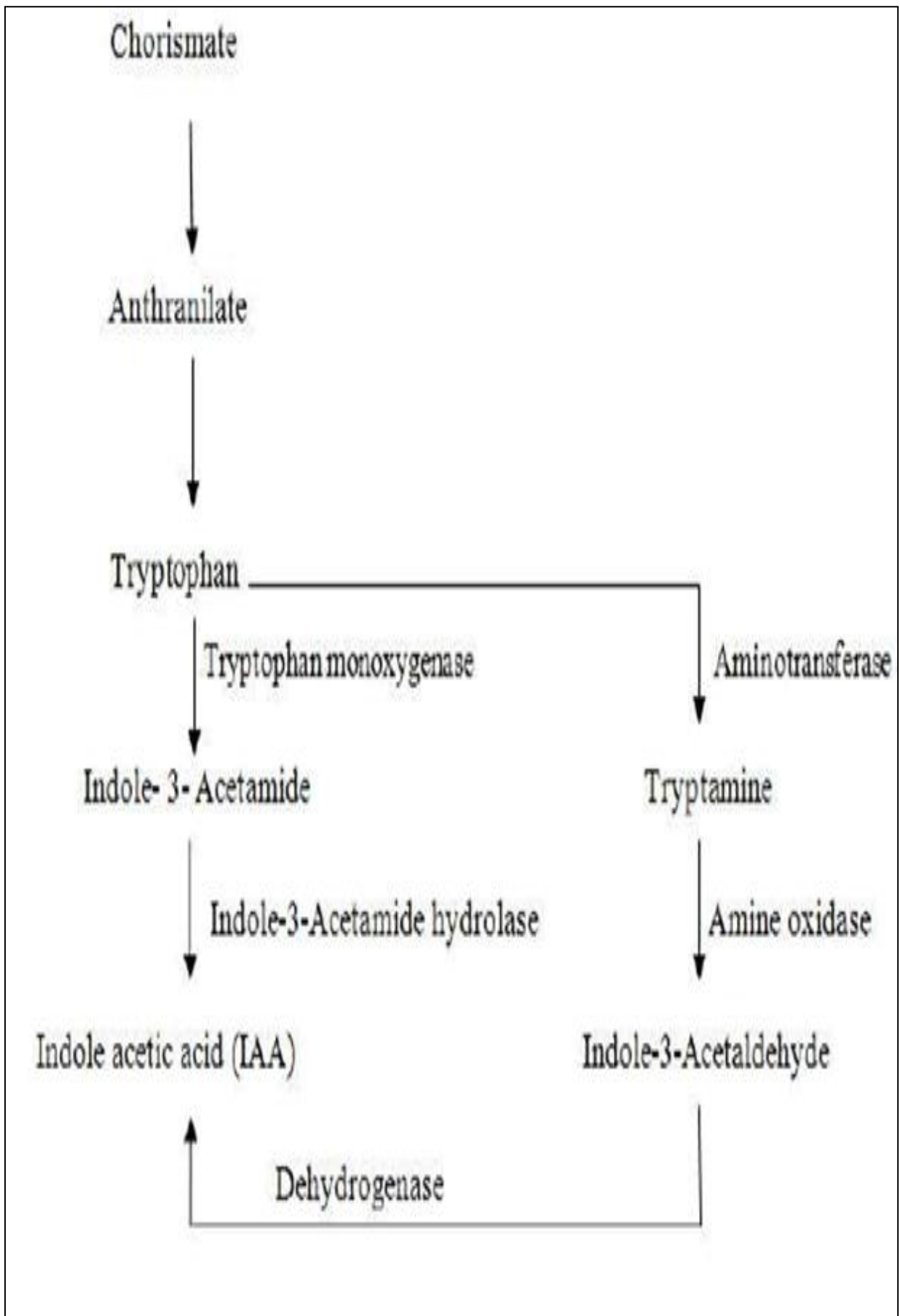


Figure 06 : Synthèse d'IAA par voie dépendante du tryptophane (Kundan *et al.*, 2015).

V-1-5-2- Cytokinines

Les cytokinines sont des phytohormones qui favorisent la division cellulaire dans les racines et les pousses des plantes. Ils sont des composés dont la structure est similaire à celle de l'adénine. Leur fonction principale est la croissance et la différenciation cellulaires. L'équilibre des cytokinines est influencé par les concentrations d'autres régulateurs de croissance, par exemple les auxines (Kundan *et al.*, 2015). Plusieurs rhizobactéries favorisant la croissance des plantes *Azotobacter sp*, *Rhizobium sp*, *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* et *Paenibacillus polymyxa* peuvent également produire des cytokinines (Etesami *et al.*, 2009).

V-1-5-3- Gibbérellines

Les gibbérellines sont des produits chimiques produits naturellement par les plantes et interviennent dans plusieurs aspects de la germination. Ils stimulent l'enzyme (alpha-amylase) et aident à l'hydrolyse de l'amidon présent dans de nombreuses graines en glucose pour être utilisé dans la respiration cellulaire. Les gibbérellines sont des hormones végétales qui influencent et contrôlent les processus de développement des plantes tels que l'élongation de la tige, la germination, la dormance, la floraison, l'expression sexuelle et la sénescence des feuilles et des fruits. Enfin, les gibbérellines agissent comme un messenger chimique et aident en mettant fin à la dormance (Kundan *et al.*, 2015).

V-1-5-4- Ethylène

L'hormone d'éthylène présente dans les plantes est la molécule la plus simple ayant un large éventail d'activités biologiques. Il est produit de manière endogène par les plantes et induit différents changements physiologiques chez les plantes au niveau moléculaire. Cette hormone gazeuse est formée par la dégradation de la méthionine présente dans toutes les cellules. La production d'éthylène dépend entièrement de son taux de production par rapport à son taux de fuite dans l'atmosphère (Kundan *et al.*, 2015). Il affecte la croissance de la plante par l'initiation des racines, la maturation des fruits, la germination des graines, l'inhibition de l'élongation des racines, en favorisant l'abscission des feuilles et activer la synthèse d'autres hormones végétales (Kang *et al.*, 2010).

Ethylène active à des concentrations extrêmement faibles ($0,05 \text{ ml l}^{-1}$) et est une «hormone de stress», comme l'illustre sa concentration en augmentant au cours de divers stress abiotiques et biotiques. L'accumulation d'éthylène en réponse au stress peut augmenter la tolérance de la plante ou exacerber les symptômes de réponse au stress et la sénescence (Morgan et Drew, 1997).

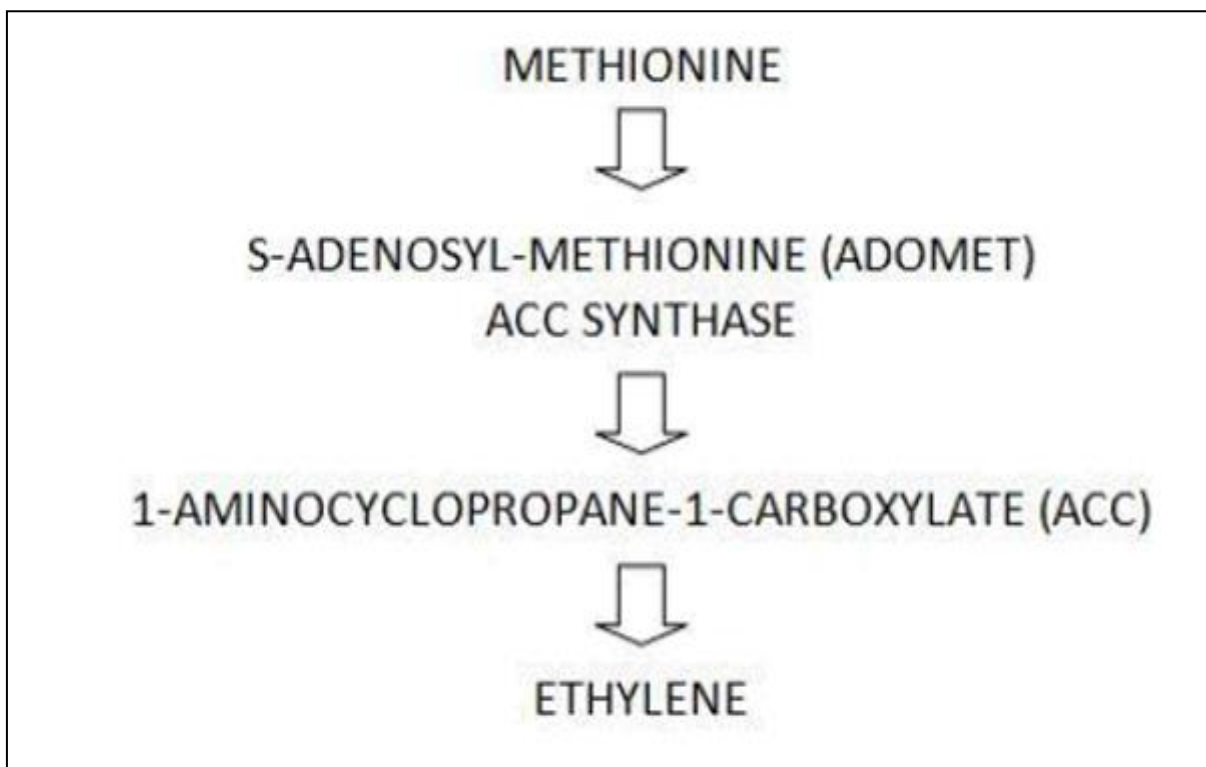


Figure 07 : Formation d'éthylène à partir de méthionine (Kundan, *et al.*, 2015).

V-1-5-5- ACC désaminase

La 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase est une enzyme vitale présente dans les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), qui régule la production d'éthylène en métabolisant l'ACC désaminase (précurseur immédiat de la biosynthèse de l'éthylène chez les plantes supérieures) en alpha-cétobutyrate et en ammoniac (Kundan *et al.*, 2015). L'inoculation de PGPR associée à l'activité de l'ACC désaminase pourrait être très utile pour favoriser la croissance et le développement des plantes dans des conditions de stress en réduisant la production d'éthylène induite par le stress. En diminuant l'abondance du précurseur d'éthylène ACC, l'activité de PGPR ACC réduirait la production d'éthylène dans les racines, ce qui pourrait atténuer l'effet de répression de l'éthylène sur la croissance des racines (Glick, 2005).

Actuellement, des souches bactériennes présentant une activité ACC désaminase ont été identifiées dans un large éventail de genres tels que *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* et *Rhizobium*, etc. (Etesami *et al.*, 2009).

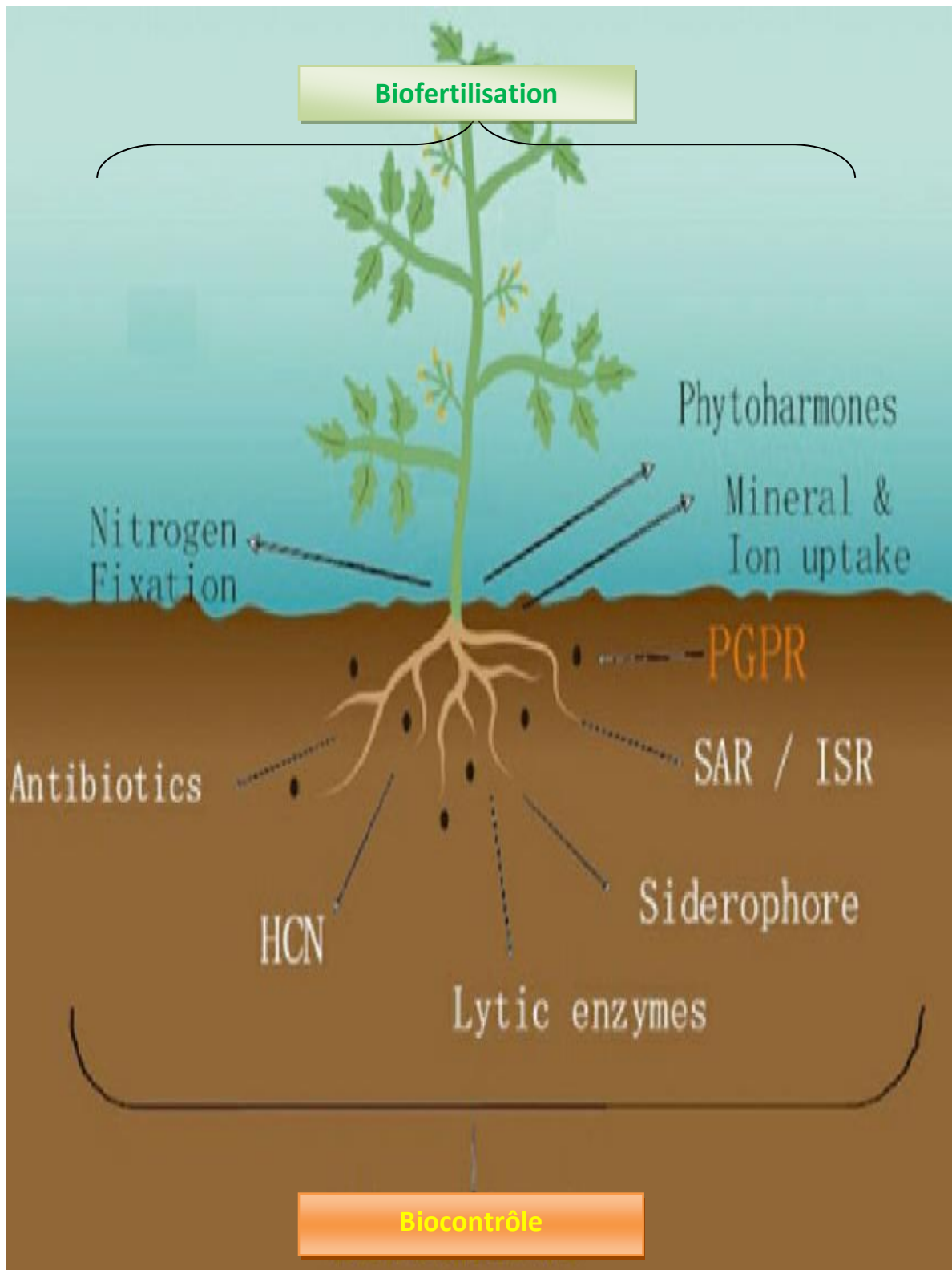


Figure 08 : Biocontrôle et biofertilisation (khan *et al.*, 2015).

V-2- Mécanisme indirecte

Les microorganismes phytopathogènes sont une menace majeure et chronique pour l'agriculture durable et la stabilité des écosystèmes dans le monde. Entier nuit à l'écologie des sols, perturbe l'environnement, dégrade la fertilité des sols. Par conséquent, ils ont des effets néfastes sur la santé humaine ainsi que la contamination des eaux souterraines (Gupta *et al.*, 2015).

V-2-1- Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997). L'idée que les rhizobactéries à croissance rapide pourraient éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie. Les PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Les autres propriétés renforçant le potentiel colonisateur d'une souche sont la mobilité (présence d'un flagelle) (Jofre *et al.*, 2004), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote (Berggren *et al.*, 2001; Gupta, 2003; Grover, 2004).

V-2-2- Antibiose

La base de l'antibiose est l'activité du biocontrôle qui basée sur la sécrétion des molécules qui tuent ou réduisent la croissance du pathogène cible, a été mieux comprise au cours des deux dernières décennies (Dowling et O'Gara, 1994 ; Whipps, 2001 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009). Les antibiotiques englobent un groupe hétérogène de composés organiques de faible poids moléculaire qui nuisent à la croissance ou aux activités métaboliques d'autres micro-organismes (Duffy, 2003).

Selon Haas et Défago (2005) , six classes de composés antibiotiques (pour lesquels leurs modes d'action sont en partie compris) sont davantage liées au contrôle biologique des maladies des racines: phénazines, phloroglucinols, pyolutérine, pyrrolnitrine, lipopeptides cycliques (tous diffusible) et du cyanure d'hydrogène (HCN; qui est volatil). Plus récemment, les biosurfactants lipopeptidiques produits par les espèces *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été impliqués dans le biocontrôle en raison de leur effet positif potentiel sur les interactions compétitives avec des organismes tels que les bactéries, les champignons, les oomycètes, les protozoaires, les nématodes et les plantes (Bruijn *et al.*, 2007 ; Raaijmakers *et al.*, 2010).

De nombreux types d'antibiotiques ont été isolés à partir de souches fongiques et bactériennes et cette diversité comprend des mécanismes d'action qui inhibent la synthèse des parois cellulaires de l'agent pathogène, influencent les structures membranaires des cellules et inhibent la formation de complexes d'initiation sur la petite sous-unité du ribosome (Maksimov *et al.*, 2011).

V-2-3- Production d'HCN

Le métabolite secondaire produit, qui agit comme un agent efficace pour le contrôle biologique des mauvaises herbes, est le HCN, qui est principalement synthétisé par les espèces de *Pseudomonas* et de *Bacillus*. Le HCN inhibera probablement la chaîne de transport d'électrons et l'apport d'énergie aux cellules, entraînant la mort des cellules. Il semble également que la PGPR inhibe le bon fonctionnement des enzymes et des récepteurs naturels, soit un mécanisme d'inhibition réversible et soit également connue pour inhiber l'action du cytochrome oxydase. (Kundan *et al.*, 2015).

V-2-4- Enzymes lytiques

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique est un autre mécanisme utilisé par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. Les souches de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent produire certaines enzymes telles que les chitinases, la déshydrogénase, la β -glucanase, les lipases, les phosphatases, les protéases, etc (Lanteigne *et al.*, 2012 ; Joshi *et al.*, 2012). Ils manifestent une activité hyperparasitaire, attaquant les agents pathogènes en excréant les hydrolases de la paroi cellulaire. Grâce à l'activité de ces enzymes, les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en particulier pour les protéger des stress biotiques et abiotiques en supprimant les champignons pathogènes, notamment *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora sp*, *Rhizoctonia solani* et *Pythium ultimum* (Hayat *et al.*, 2010 ; Nadeem *et al.* , 2013).

Tableau 03: Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA)

Agent de biocontrôle	Année d'enregistrement	organisme ou maladie ciblée	Cultures concernées
<i>Agrobacterium radiobacter</i> strain K84	1979	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Agrobacterium radiobacter</i> Strain K1026	1999	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> and <i>A. rhizogenes</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Ampelomyces quisqualis</i> isolate M-10	1994	Powdery mildew	Fruits, légumes et plantes ornementales
<i>Aspergillus flavus</i> strain AF36	2003	<i>Aspergillus flavus</i>	Coton
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 21,882	2004	<i>Aspergillus flavus</i>	Cacahuète
<i>Bacillus licheniformis</i> Strain SB3086	2003	Les pathogènes et rouilles foliaires	plantes ornementales et gazon ornemental
<i>Bacillus pumilus</i> Strain GB 34	2002	<i>Rhizocotonia, Fusarium</i>	Soja
<i>Basillus subtilis</i> GBO3	1992	<i>Rhizocotonia, Fusarium Aspergillus</i> et d'autres	Coton, arachides, soja, blé, orge, pois et haricots
<i>Basillus subtilis</i> MBI 600	1994	<i>Rhizocotonia, Fusarium, Alternaria</i> et <i>Aspergillus</i>	Coton, haricot, orge, blé, corn, pois, arachides et soja
<i>Bacillus subtilis</i> Strain QST 713	2000	Pathogènes, pourriture et rouilles foliaires	Cerises, courges, raisins, légumes foliaires, poivres, pommes de terre, tomates et noix
<i>Bacillus subtilis</i> var. <i>amylolique-faciens</i> strain FZB24	2000	<i>Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i>	arbres d'ombre et des forêts, plantes ornementales et arbustes

V-2-5- Résistance systémique induite (RSI)

La résistance systémique induite peut être définie comme un état physiologique de capacité de défense accrue induite en réponse à des stimuli environnementaux spécifiques. Par conséquent, les défenses innées de la plante sont potentialisées face aux défis biotiques ultérieurs (Kuffner *et al.*, 2008). Les plantes bioprimes avec certaines rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent également offrir une résistance systémique à un large spectre d'agents phytopathogènes. 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 rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (Avis *et al.*, 2008). De plus, la résistance systémique induite implique une signalisation du jasmonate et de l'éthylène dans la plante et ces hormones stimulent les réponses de défense de la plante hôte contre divers agents phytopathogènes (Compant *et al.*, 2005). De nombreux composants bactériens induisent une résistance systémique induite, tels que les lipopolysaccharides (LPS), les flagelles, les sidérophores, les lipopeptides cycliques, le 2,4-diacétylphloroglucinol, les homosérines lactones et les substances volatiles comme l'acétoïne et le 2, 3-butanediol (Naznin *et al.*, 2012).

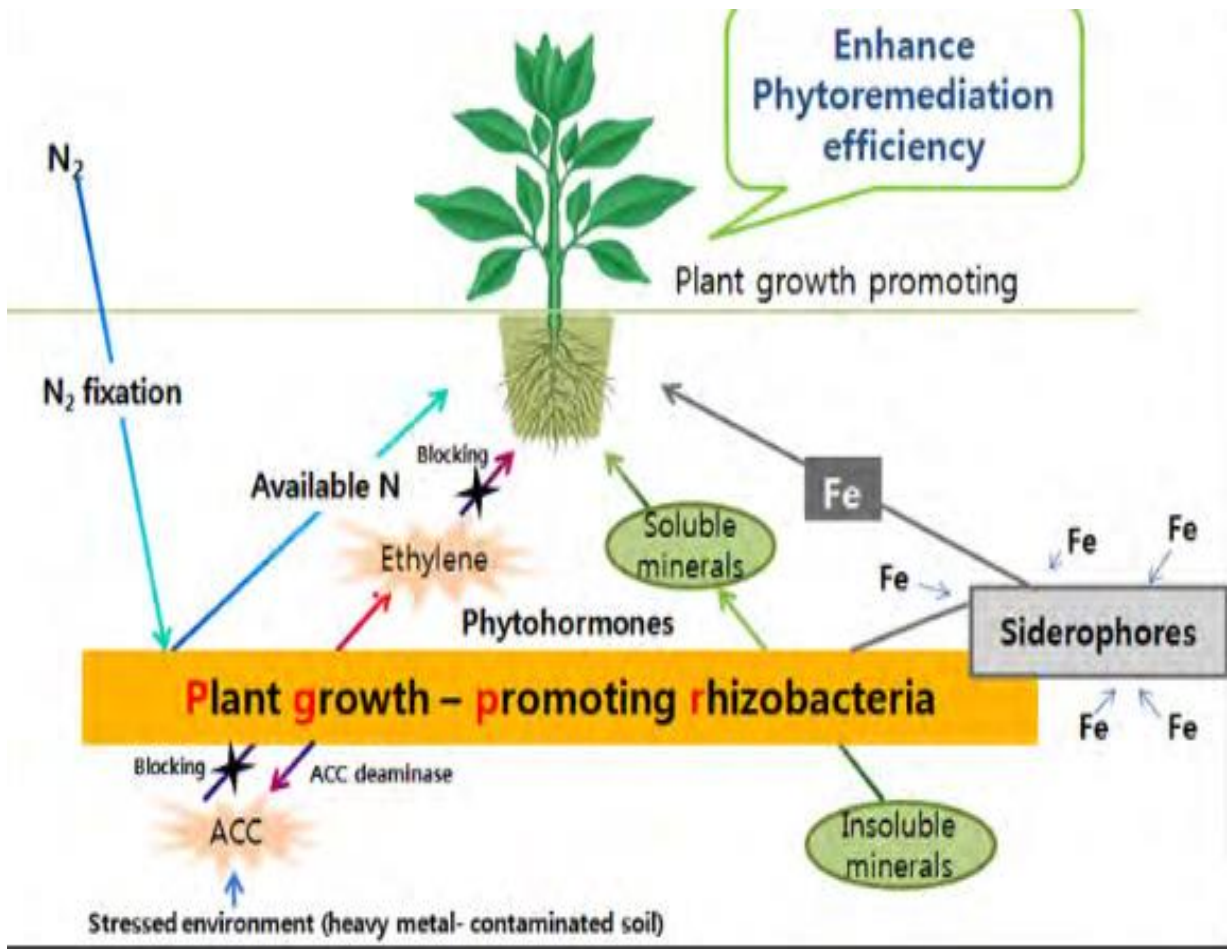


Figure 09 : Les différents rôles des PGPR (Macking, 2007).

VI- L'utilisation des PGPR dans l'agriculture

Actuellement, diverses formulations commerciales de PGPR sont en vente. Des formulations bactériologiques de *Rhizobium spp* sont disponibles dans plusieurs pays afin de favoriser la nodulation des légumineuses et de diminuer la fertilisation azotée des cultures. La formulation Zea-nit Plus est en vente en Italie. Il s'agit d'un inoculum à base d'*Azospirillum sp* développé pour inoculer le maïs (*Zea mays L.*) (Kloepper, 1992). De même, la formulation Quantum 4000, à base de *Bacillus subtilis* (Ehremberf) Cohn, souche A13 (Broadbent *et al.*, 1977), est commercialisée aux États-Unis pour lutter contre le *Rhizoctonia solani Kühn* chez l'arachide (*Arachis hypogaea L.*), le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) et le coton (*Gossypium hirsutum L.*). En Chine, des PGPR qui accroissent les rendements sont utilisées dans plusieurs cultures, et ce depuis 1985 (Kloepper, 1992). En 1987, 3,35 millions ha et plus de 48 cultures avaient été traités avec ces bactéries bénéfiques. La valeur des accroissements en rendement obtenus équivaut à plus de 60 millions de dollars canadiens.

Le problème le plus important qui rend le succès de l'implantation des PGPR incertain en agriculture provient de leur inconstance à promouvoir la croissance des plantes. Cette variabilité peut s'expliquer par les facteurs biotiques et abiotiques affectant la survie et les effets des PGPR dans la rhizosphère. Il est donc important de comprendre les premières étapes de l'établissement de l'association PGPR-plante afin d'optimiser les succès de la colonisation racinaire et l'expression du principe actif (Beauchamp, 1993).

Matériel et Méthodes

I- Echantillonnage

Le sol étudié a été prélevé en Mars 2015 à partir d'un champ d'orge moissonné situé à Chott El Beïdha dans la région de Hammam Essoukhna (Latitude 35°55'N et Longitude 05°45'E), au Sud-Est de Sétif. Le site se compose de deux habitats particuliers (sujet à la convention RAMSAR): le premier est la sebkha, c'est un lac naturel, excessivement salin, temporaire et dépourvu de végétation. Il s'inonde en période pluvieuse et s'assèche en été formant des croutes blanchâtres de sel. Le second est un chott ou prairie humide cernant la sebkha. Cette partie moins salinisée est aux halophytes. Les terrains voisins sont, dans leur grande majorité, des exploitations agricoles où la céréaliculture est l'activité la plus répandue. Les sols entourant le site sont alcalins à structures dégradées, argileux plus ou moins hydromorphes (Anonyme, 2005 ; Khaznadar *et al.*, 2009). Les échantillons du sol sont prélevés aseptiquement en plusieurs parcelles de champ (nb=6) distantes d'environ 100 m du lac principal sur une profondeur de 0 à 20 cm (Dellal et Halitim, 1992), après avoir écarté la couche superficielle du sol. Ils sont transportés au laboratoire et maintenus à 4 °C. Une première moitié du sol a servi pour les tests d'isolement ; l'autre moitié, pour les analyses physico-chimiques du sol.



Figure 10 : Localisation géographique de la zone de prélèvement (Anonyme, 2004).

II- Analyses microbiologiques du sol

II-1- Isolement des souches bactériennes

Pour isoler les bactéries à partir du rhizoplan de l'orge, de petits morceaux de racines sont immergés dans un tampon phosphate salin (Annexe1) et agités pendant 10 min à l'aide d'un vortex. Des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-8}) sont réalisées à partir de cette suspension dans une solution d'eau physiologique (8,5g/l NaCl) stérile. 0,1ml de chaque dilution est étalé à la surface du milieu de TSA.

II-2- Identification des souches

Trente colonies d'aspects différents, sont purifiées sur le milieu solide de TSA puis désignées par un numéro de code. L'identification de ces souches isolées est déterminée à base de l'aspect phénotypique de colonies et de l'examen microscopique.

II-3- Conservation des souches

Les souches pures sont conservées en milieu LB plus 15 % de glycérol à -20°C .

III- Caractéristiques promotrices de la croissance végétale

III-1- Solubilisation du phosphate sur un milieu liquide

La capacité des souches isolées à dissoudre le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a été testé selon la méthode décrite par Nautiyal (1999). Pour estimer la quantité du phosphate soluble, 10 ml de milieu liquide de NBRIP (Annexe 2) sont inoculés (1%) avec une culture bactérienne fraîche de (24h), et incubés à 28°C sous agitation (150 rpm). Après incubation à $28^{\circ}\text{C}/10$ jours les cultures sont centrifugées (1000 rpm/15 min). Le phosphate soluble dans le surnageant est déterminé par la méthode colorimétrique de Bray et Kurtz (1945). 9 ml de chaque surnageant sont ajoutés à 11 ml de réactifs d'extraction du phosphate soluble (Annexe 5) puis le volume est complété à 25 ml avec de l'eau distillée. Le mélange est agité vigoureusement et laissé à reposer 5 minutes. La lecture spectrophotométrique est réalisée à 660 nm contre un blanc. La quantité de phosphate solubilisée est déterminée d'après la courbe d'étalonnage) (Annexe 8).

III-2- Production de l'AIA

La production de l'AIA par les différentes souches étudiées a été testée sur un milieu minimum MS (Minimal salt medium) (Annexe 3) (Edi, 2003) additionné de tryptophane à une concentration finale de 5 mM (Fluka) (Khalid *et al.*, 2004). Ce dernier est ajouté après une stérilisation de la solution-mère (100 mM) à travers une membrane de $0,22\mu\text{m}$ de porosité. Les tubes de 10 ml de chaque milieu sont inoculés par 100 μl de différentes suspensions bactériennes non lavés, d'une culture fraîche (de 24h). Après incubation à

28°C/48h sous agitation (120 rpm), les cultures sont centrifugées à 3000 rpm /15min. 1ml de chaque surnageant obtenu est mélangé à 2 ml de réactif de Salkowski (Annexe 6). L'apparition d'une couleur rose indique la présence de l'AIA. La quantité de ce dernier est déterminée, d'après la courbe d'étalonnage (Annexe 9), par lecture de l'absorbance à 530 nm contre un témoin (1 ml de milieu non-inoculé + 2 ml de réactif de Salkowski). Ce test est réalisé en duplicata.

III-3- Production de sidérophores

Les souches bactériennes sont testées pour la production de sidérophores sur un milieu liquide King B (Annexe 4). 10ml du milieu sont inoculés avec 100 µl d'une culture fraîche de la bactérie. Après 48h d'incubation à 28°C, les cultures sont centrifugées (4000 rpm/20min). 2 ml de milieu liquide Chrom Azurol S (CAS) (Annexe 7) (Schwyn et Neilands, 1987) sont ajoutés à 2 ml de surnageant et incubés 30 min à l'obscurité. Le développement d'une couleur orange indique la production des sidérophores. La DO est mesuré à 630 nm et les unités de sidérophores sont calculées comme suit:

$$\% \text{ sidérophore} = (A_r) - (A_s) / (A_r) \times 100$$

Où A_r est l'absorbance de la solution de CAS; A_s est l'absorbance des l'échantillon.

IV- Analyses statistiques

L'ensemble des résultats a été analysés à l'aide de deux programme statistique, IBM SPSS (Version 24 ; Edition 2016), et Microsoft office Excel (2007). Par l'utilisation du test d'Anova dont le seuil d'erreur alpha est $\leq 0,05$. Ces études ont été pour but de choisir les meilleures souches bactériennes pour les activités suivant :

- La solubilisation du phosphate sur un milieu liquide.
- La production de l'AIA.
- La production de sidérophores.

Résultats et Discussion

I- Résultats

I-1- Caractéristiques physico-chimiques du sol étudié

L'ensemble des résultats des analyses physico-chimiques est résumées dans le tableau suivant:

Tableau 04 : Paramètres physico-chimiques du sol étudié

Taux d'humidité	pH	deciSiemens (dS/m)	milliéquivalents/l (méq/l)						
		Conductivité électrique (CE)	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻	Cl ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺
4,67	8,2	8	2,4	180	1160	63,7	77,8	834,8	6,4

A la base des normes de salinité (Annexe 10), le sol étudié est considéré comme salin. Il est majoritairement dominé par les ions sodium (Na⁺), les ions chlorure (Cl⁻) les ions sulfate (SO₄⁻), mais carencé en ions potassium (K⁺) et en ions hydrogénocarbonate (HCO₃⁻). La concentration des cations divalents (Mg⁺⁺ et Ca⁺⁺) est modérée. De plus, il présente un caractère sec et alcalin.

I-2- Isolement des souches bactériennes

Un total de 30 bactéries cultivables montrant des différences macroscopiques (taille, pigmentation, contour, aspect...etc) ont été obtenues à partir de rhizoplan de l'orge. L'ensemble des isolats croissent en condition aérobie sur milieux TSA pendant 48 à 72h à une température d'incubation de 28°C.

I-3- Activités PGPR

I-3-1- Solubilisation du phosphate sur un milieu liquide

Les 30 souches bactériennes retenues ont été testées pour leur capacité de solubiliser le phosphate inorganique sur un milieu liquide NBRIP contenant le phosphate tricalcique Ca₃(PO₄)₂ comme seule source de phosphore. Après 10 jours d'incubation à 28°C, la lecture spectrophotométrique est réalisée à 660 nm contre un blanc. La quantité de phosphate solubilisée est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont représentés dans le (Tab : 06)

La majorité des souches semblent solubilisatrices du phosphate inorganique sur milieu liquide NBRIP. Les analyses de la variance révèlent un effet significatif à (P < 0.05) de la solubilisation (Tab : 05). La quantité de phosphate solubilisée par les souches varie de 0 à

513,75 µg/ml. Selon les résultats représentés dans la **Fig : 11** les souches sont divisées en 4 groupes (a, b, c ; d). Le premier groupe (a) regroupe sept souches SS26, SS27 SS20, SS18, SS12, SS23, SS24 (513,75 - 506,05 - 484,13 - 463,98 - 456,87 - 417,18 - 365,64 µg/ml, respectivement) elles semblent les meilleures solubilisatrices de phosphate. Elles solubilisent une grande quantité de phosphate tricalcique. Le deuxième groupe (b) regroupe aussi sept souches SS11 (313,50 µg/ml), SS19 (278,55 µg/ml), SS28 (252,48 µg/ml), SS10 (247,15 µg/ml), SS21 (230,56 µg/ml), SS25 (223,45 µg/ml), SS13 (216,93 µg/ml). Ces dernières solubilisent une quantité moyenne de phosphate suivie par les souches de groupe (c). Il s'agit de SS16 (186,12 µg/ml), SS29 (180,79 µg/ml), SS30 (178,42 µg/ml), SS17 (174,87 µg/ml), SS1 (163,02 µg/ml), SS14 (145,25 µg/ml), SS15 (117,40 µg/ml), SS8 (100,81 µg/ml), SS7 (93,70 µg/ml). Le dernier groupe (d) représente la solubilisation la plus faible chez les souches SS2 (24,39 µg/ml) ; SS3 (26,16 µg/ml) ; SS5 (40,79 µg/ml) ; SS4 (55,79 µg/ml), SS9 (57,56 µg/ml). Aucun solubilisation n'a été observé chez les deux souches SS6 et SS22.

Tableau 05 : Analyse de la variance de la solubilisation des phosphates par les souches

Source de variation	Degré de liberté	Carré moyen	Erreur standard de la moyenne	F	Sig
souches	29	610135,473	29,19353	50,645	0 ,0001

***significative à un niveau de 5% de probabilité (P < 0,05)

F : test Fischer

Tableau 06 : La quantité de phosphate solubilisée pour chaque souche bactérienne

Souches	Phosphate (µg/ml)
SS1	163,02
SS2	24,39
SS3	26,16
SS4	55,79
SS5	40,97
SS6	0,00
SS7	93,70
SS8	100,81
SS9	57,56
SS10	247,15
SS11	313,50
SS12	456,87
SS13	216,93
SS14	145,25
SS15	117,40
SS16	186,12
SS17	174,87
SS18	463,98
SS19	278,55
SS20	484,13
SS21	230,56
SS22	0,00
SS23	417,18
SS24	365,64
SS25	223,45
SS26	513,75
SS27	506,05
SS28	252,48
SS29	180,79
SS30	178,42

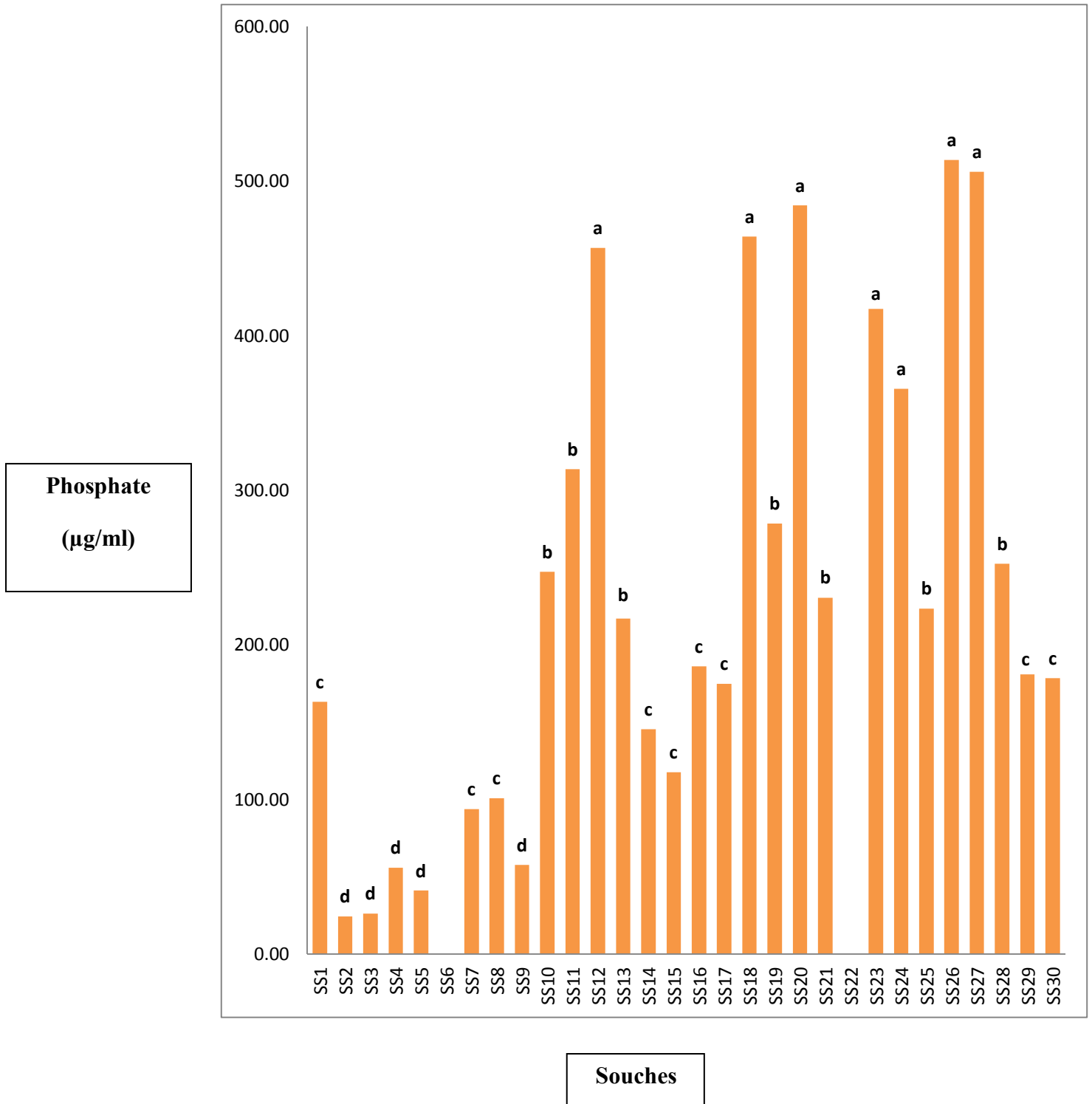


Figure 11 : Solubilisation des phosphates sur milieu liquide NBRIP par les souches bactériennes.

I-3-2- Production de l’AIA

Les 30 souches bactériennes retenues ont été testées pour leur capacité de produire l’AIA sur un milieu minimum MS. Après incubation à 28°C/48h, l’apparition d’une couleur rose indique la présence de l’AIA. La quantité de ce dernier est déterminée d’après la courbe d’étalonnage, par lecture de l’absorbance à 530 nm contre un témoin. Les résultats sont représentées dans le (Tab : 08).

Toutes les souches étudiées sont productrices de l’AIA sur milieu MS. Les analyses de la variance révèle un effet significatif à (P < 0.05) de la production de l’AIA (Tab : 07). Les souches produisent cette phytohormone à des taux très variables s’étendent de 28,70 µg/ml (SS7) à 61,03µg/ml (SS2). Selon les résultats représentés dans la (Fig :12) les souches sont classées dans à un seul groupe principal (a), l’ensemble de souches de ce groupe se caractérise par une forte production de l’AIA. Sept souches sur 30 ont présenté le taux maximal de l’AIA, il s’agit de SS2 (61,0 3 µg/ml), SS9 (60 ,33µg/ml), SS17 (58,63 µg/ml), SS25 (55,24µg/ml), SS4 (55,14 µg/ml), SS10 (54,64 µg/ml), SS28 (54,34 µg/ml).

Tableau 07 : Analyse de la variance de la production de l’AIA par les souches bactériennes

Source de variation	Degré de liberté	Carré moyen	Erreur standard de la moyenne	F	Sig
souches	29	10263,567	2,00536	96,612	0,0001

***significative à un niveau de 5% de probabilité (P < 0,05)

F : test Fischer

Tableau 08 : La quantité de l'AIA produite par chaque souche bactérienne

souches	AIA (µg/ml)
SS1	37,28
SS2	61,03
SS3	48,35
SS4	55,14
SS5	30,49
SS6	29,79
SS7	28,70
SS8	31,59
SS9	60,33
SS10	54,64
SS11	30,19
SS12	36,88
SS13	45,76
SS14	35,98
SS15	32,29
SS16	32,29
SS17	58,63
SS18	51,15
SS19	37,78
SS20	48,65
SS21	43,96
SS22	30,39
SS23	34,68
SS24	30,69
SS25	55,24
SS26	42,47
SS27	50,95
SS28	54,34
SS29	29,19
SS30	30,89

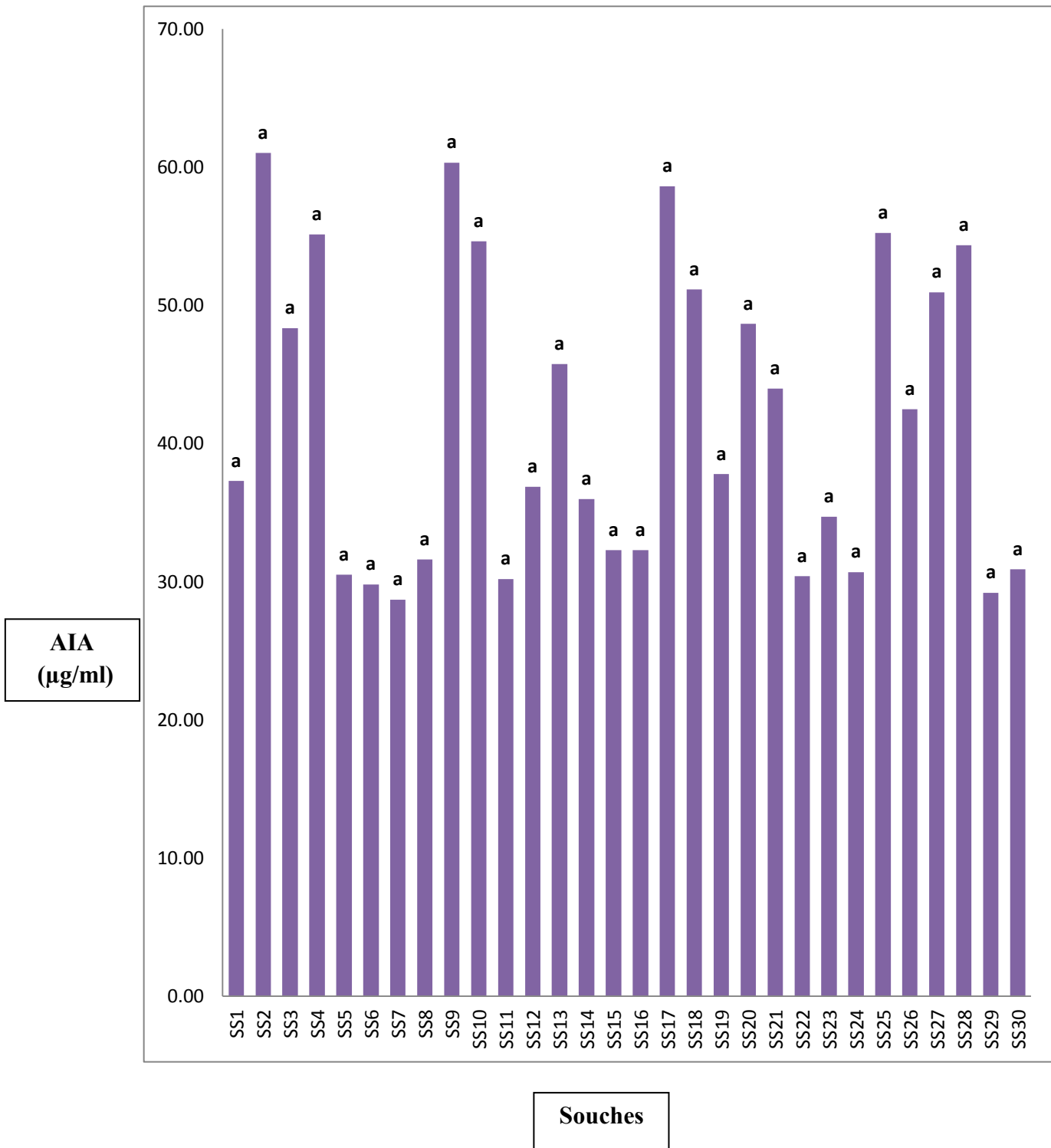


Figure 12 : Production d'AIA par les souches bactériennes sur milieu minimum MS.

I-3-3- Production de sidérophores

Les 30 souches bactériennes retenues ont été testées pour leur capacité de produire les sidérophores sur un milieu King B. Après incubation à 28°C/48h, l'apparition d'une couleur orange indique la présence de sidérophores. La DO est mesuré à 630 nm. Les résultats sont représentés dans le (Tab :10).Toute les souches semble productrices de sidérophores. L'estimation quantitative de la production des sidérophores par les souches bactériennes est significativement variable ($P < 0.05$) (Tab : 09). En effet, la production varie de 29% à 51%. Selon les résultats représentés dans la Fig : 13, les souches sont classées dans un seul groupe principal (a). L'ensemble de souches de ce groupe se caractérise par la production d'une grande quantité de sidérophores. La souche la plus performante est SS17, elle produit un taux proche de (51 %) de sidérophores, suivie par SS3, SS14, et SS2 proche (50%), SS21 (47,64%), SS12 (46.11%), SS16 (45.69%).

Tableau 09 : Analyse de la variance de la production de sidérophores par les souches bactériennes

Source de variation	Degré de liberté	Carré moyen	Erreur standard de la moyenne	F	Sig
Souches	29	9764,378	1,026%	167,317	0,0001

***significative à un niveau de 5% de probabilité ($P < 0,05$)

F : test Fischer

Tableau 10 : Le taux de sidérophores produit par chaque souche bactérienne

souches	Sidérophores (%production)
SS1	38,47%
SS2	49,58%
SS3	50,28%
SS4	41,81%
SS5	31,11%
SS6	29,17%
SS7	38,47%
SS8	40,83%
SS9	37,78%
SS10	43,61%
SS11	39,72%
SS12	46,11%
SS13	36,11%
SS14	50,14%
SS15	36,53%
SS16	45,69%
SS17	50,83%
SS18	38,89%
SS19	40,97%
SS20	44,17%
SS21	47,64%
SS22	42,36%
SS23	39,86%
SS24	37,78%
SS25	40,97%
SS26	38,47%
SS27	35,28%
SS28	43,89%
SS29	42,50%
SS30	31,39%

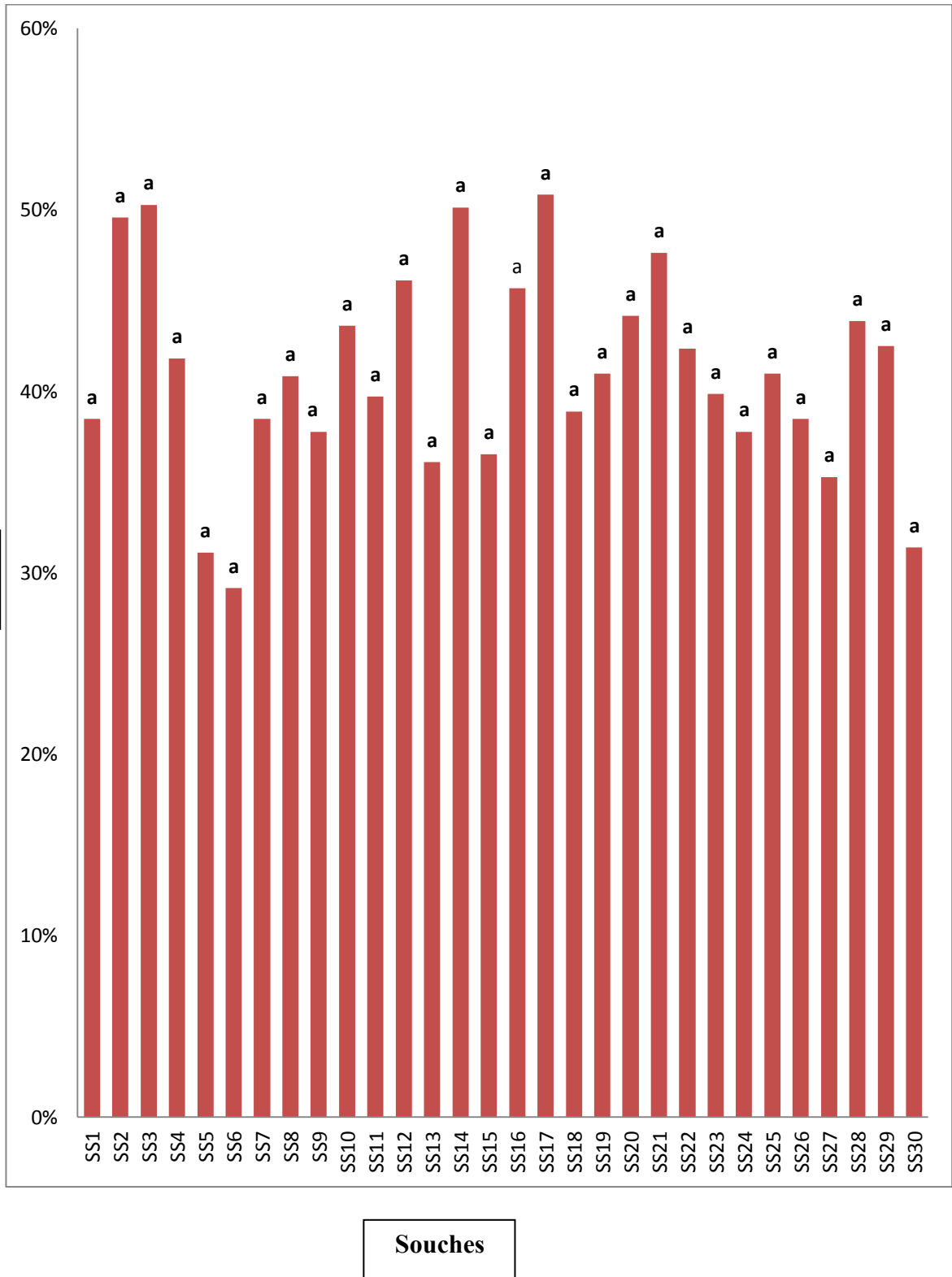


Figure 13: Production de sidérophores par les souches de bactériennes sur milieu King B

I-4- Analyse globale de l'effet de l'ensemble des souches bactériennes

La classification hiérarchique automatique (**Fig : 14**) a classé les souches bactériennes étudiées en deux groupes distincts à une distance euclidienne de similitude de 25. Le premier groupe contient sept souches (SS23, SS24, SS26, SS27, SS12, SS18 et SS20). Ces dernières sont caractérisées par la solubilisation de plus grande quantité de phosphate avec la production d'une grande quantité d'AIA et de sidérophores. Le deuxième groupe se divise en deux sous groupes distincts à une distance euclidienne de similitude confiné entre de 5 à 10. Le premier sous groupe regroupe sept souches (SS6, SS22, SS2, SS3, SS4, SS9 et SS5) qui sont caractérisées par la solubilisation d'une faible quantité de phosphate et la production d'une grande quantité de l'AIA et de sidérophores. Le deuxième sous groupe représente le reste des souches qui sont divisés e en deux branches distinctes à une distance euclidienne de similitude de 2,5. La première branche est constituée des souches (SS7, SS8, SS15, SS16, SS29, SS30, SS1, SS14 et SS17) qui sont solubilisatrices de faible quantité de phosphate et productrice d'une grande quantité de l'AIA et de sidérophores. En revanche la deuxième branche est constituée des souches (SS10, SS28, SS13, SS25, SS21, SS11 et SS19) qui sont caractérisées par la solubilisation de grande quantité de phosphate et la production d'une grande quantité de l'AIA et de sidérophores.

Tableau 11 : L'ensemble des variables utilisées pour la classification hiérarchique automatique des souches des sols salés vis à vis de leurs activités PGPR.

Souches	AIA ug/ml	Phosphates ug/ml	Sidérophores %
SS1	37,28	163,02	38
SS2	61,03	24,39	50
SS3	48,35	26,16	50
SS4	55,14	55,79	42
SS5	30,49	40,97	31
SS6	29,79	0,00	29
SS7	28,70	93,70	38
SS8	31,59	100,81	41
SS9	60,33	57,56	38
SS10	54,64	247,15	44
SS11	30,19	313,50	40
SS12	36,88	456,87	46
SS13	45,76	216,93	36
SS14	35,98	145,25	50
SS15	32,29	117,40	37
SS16	32,29	186,12	46
SS17	58,63	174,87	51
SS18	51,15	463,98	39
SS19	37,78	278,55	41
SS20	48,65	484,13	44
SS21	43,96	230,56	48
SS22	30,39	0,00	42
SS23	34,68	417,18	40
SS24	30,69	365,64	38
SS25	55,24	223,45	41
SS26	42,47	513,75	38
SS27	50,95	506,05	35
SS28	54,34	252,48	44
SS29	29,19	180,79	43
SS30	30,89	178,42	31

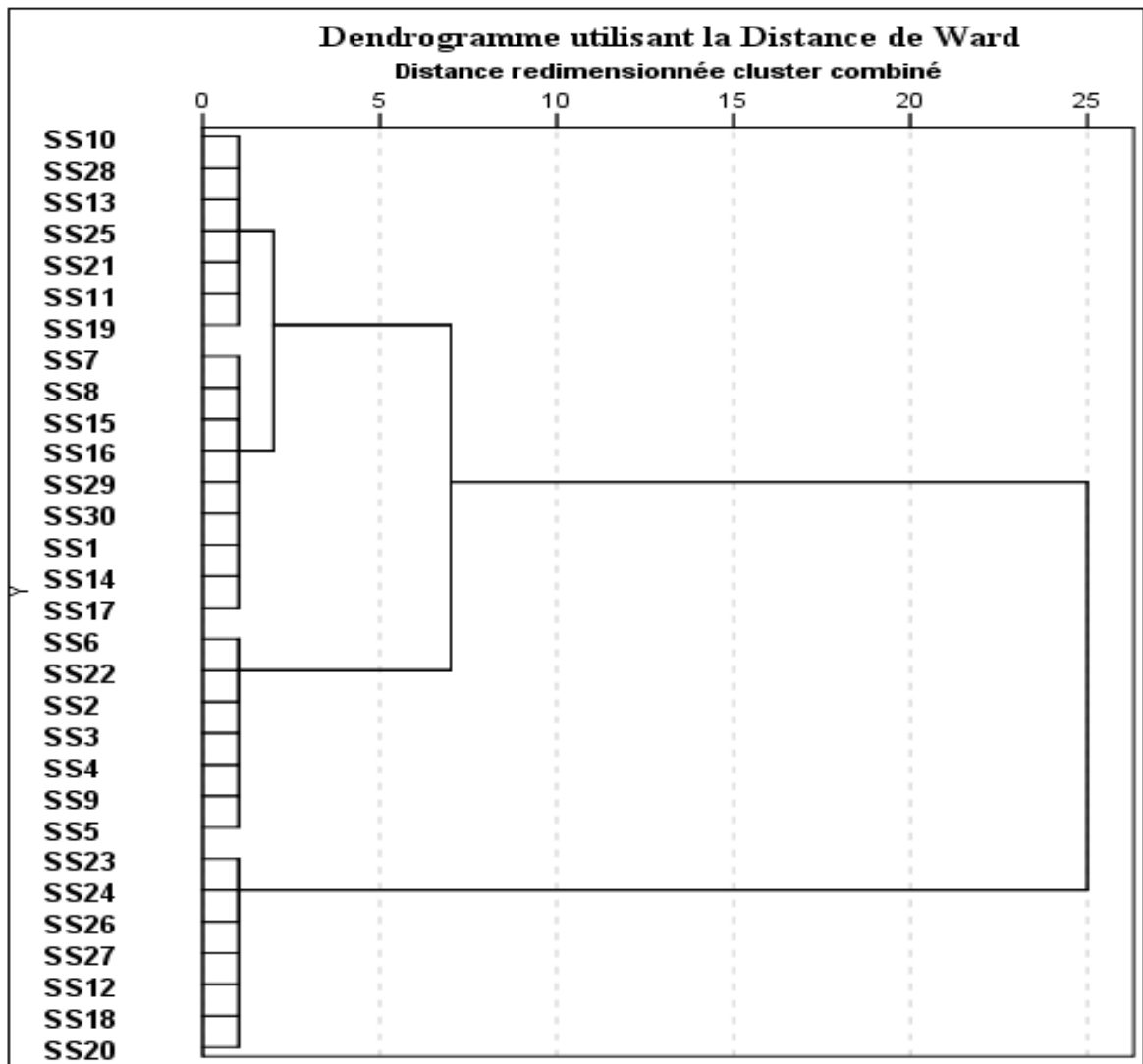


Figure 14 : Dendrogramme de la classification hiérarchique automatique des souches des sols salés vis-à-vis de leurs activités PGPR

II- Discussion

A la base des normes de salinité, le sol étudié est considéré comme salin. Sa conductivité électrique (8dS/m) est supérieure à 4dS/m, elle correspond à 96 mM (5,64g/l de NaCl). La concentration en Na^+ et en Cl^- dans ce sol atteint plusieurs milliéquivalents/l (un équivalent correspondant à une mole multipliée par la valence). Elle est nettement supérieure à celle des cations divalents (Mg^{2+} , Ca^{2+} , SO_4^{2-}). L'abondance des ions Na^+ et Cl^- dans ce sol pourrait revenir à la qualité médiocre de l'eau d'irrigation appliquée. En effet, la concentration en sel des eaux utilisées dans les zones arides et semi-arides est souvent importante du fait d'une faible pluviométrie conjuguée à une forte évaporation. La présence des quantités élevées de sels dans la solution du sol abaisse le potentiel hydrique et réduit fortement la disponibilité de l'eau, ceci signifie le faible taux d'humidité du sol étudié (4,67). Le pH de ce dernier est basique (8,2), il est compatible avec celui des milieux naturels salés (Loyer, 1991).

La salinité diminue la croissance des glycophytes en modifiant aussi l'équilibre hydrique et ionique au niveau des tissus (Greenway et Munns, 1980). Au niveau des feuilles, ce phénomène est associé à une baisse de la turgescence suite à une diminution du gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu (Levigneron *et al.*, 1995). Selon Glick *et al.* (1998), l'utilisation des PGPR comme inoculant de graines dans les sols salés améliore la hauteur des plantes, la longueur des racines, le rendement en grains ainsi que la teneur en chlorophylle et le rapport K^+ / Na^+ . Le rôle des bactéries PGPR dans la production de substances favorisant la croissance et la résistance des plantes aux stress abiotiques et biotiques doit être également pris en considération, elles sont aussi capable de produire des teneurs en AIA remarquables, cette auxine stimule principalement la croissance racinaire (Salisbury, 1994) permettant à la plante de puiser les nutriments nécessaires à partir du sol, améliorant les capacités de nutrition et la croissance végétale (Gutierrez Manero *et al.*, 1996; Abdel-Hameed, 2004). Les PGPR fixent l'azote moléculaire et possèdent des capacités considérables de solubilisation des phosphates et la production de sidérophores.

Les sols salins, formés dans des conditions d'aridité élevée et de hautes températures, sont souvent alcalins et peuvent présenter une disponibilité réduite en phosphore, fer, zinc et manganèse (Cacciari *et al.*, 2003). Le phosphate est l'un des facteurs nutritifs les plus limitant de la croissance des plantes où la majorité des sols agricoles sont pauvres en phosphate assimilable et soluble (Vessey, 2003). Ce dernier, une fois ajouté au sol, est très réactif avec les autres composants du sol et rapidement immobilisé, ajoutant à ça, l'apport excessif des engrais phosphatés cause sont accumulation sous formes minérales et organiques non utilisable par la plante (Richardson, 1994). En agriculture, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes telle que *Bacillus*,

Pseudomonas, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Rhizobium* (Przemieniecki *et al.*, 2015, Rodríguez, 1999). Selon Sundara (2002), l'utilisation des microorganismes solubilisateurs de phosphate pourrait diminuer l'apport des fertilisants phosphatés de 25%.

L'absence de phosphate soluble chez les souches SS6 et SS22 ou sa faible quantité obtenue chez les souches SS2 (24,39 µg/ml) ; SS3 (26,16 µg/ml) ; SS5 (40,79 µg/ml) ; SS4 (55,79 µg/ml) ; SS9 (57,56 µg/ml), en milieu liquide seraient s'expliquées par leur déficience enzymatique. En effet, la disponibilité de formes solubles du phosphate dans le milieu entraîne leur association avec les acides organiques libérés, en formant des composés organo-phosphatés. Ces derniers seraient difficiles à dégrader par les souches bactériennes (Chaiharm et Lymyong, 2009), en effet cette faible concentration du phosphate limite considérablement la croissance des racines, le processus de photosynthèse, la translocation des sucres et la fixation d'azote par les légumineuses (olivera *et al.*, 2004).

Les communautés bactériennes peuvent affecter directement la croissance des plantes par la production de molécules biologiquement actives, telles les substances de croissance (Glick, 1995). Environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire de l'AIA. L'acide-indole-acétique (AIA) est l'auxine la plus naturellement distribuée chez les plantes vasculaires, les mono et dicotylédones, les filicophyta et les gymnospermes (Srivastava, 2002). Est une hormone de nature acide faible commune, mais aussi, un produit du métabolisme du L-tryptophane (principale précurseur de la biosynthèse de l'AIA) (Sandhya *et al.*, 2009). des travaux antérieurs réalisés par Dastager *et al.*, (2010) et Patten *et al.*, (1996) ont démontré que les exsudats racinaires sont une source naturelle de L-Tryptophane. Une étude a démontré que, lorsque du tryptophane était ajouté dans le milieu de culture, il y avait une différence significative au niveau de la production d'AIA, la production étant en moyenne supérieure de 10 fois Yuan *et al.*, (2011). Cependant la présence de tryptophane n'influence pas la croissance des rhizobactéries, mais seulement leur production de l'AIA. Un autre groupe de chercheurs, travaillant avec des mutants tryptophanes auxotrophiques et le marquage aux isotopes, a établi que la synthèse d'AIA peut se produire via la voie de synthèse tryptophane-indépendante, mais les bactéries produisent une plus grande quantité d'AIA en présence de tryptophane (Shahab et Ahmed, 2011). Si la production d'AIA peut être augmentée par la présence de tryptophane, elle peut aussi être inhibée par l'antranilate (un précurseur du tryptophane) (Rahman *et al.*, 2010) et la biosynthèse d'AIA peut aussi être modulée par l'AIA et par ses intermédiaires (Spaepen *et al.*, 2007).

La production de cette hormone par les différentes souches bactériennes est bénéfique pour la croissance et le développement végétal. Elle joue un rôle très important dans la division

cellulaire, l'élongation des racines, la prolifération des poils absorbants et dans le mécanisme de tolérance de la plante (Marulanda *et al.*, 2009 in Sandhya *et al.*, 2010). Maintenir une croissance racinaire constitue un caractère adaptatif dans un environnement de faible disponibilité en eau tel le milieu salin et/ou aride.

La détection *in vitro* de l'IAA peut se faire de plusieurs façons. La détection peut se faire à l'aide de HPLC (High Performance Liquid Chromatography), de TLC (Thin Layer Chromatography), ou encore de façon colorimétrique avec le réactif de Salkowski. Le réactif de Salkowski permet de détecter la présence d'AIA dans le surnageant d'une culture, ce qui représente une méthode simple et rapide pour la détection de l'AIA. Le test avec le réactif de Salkowski est souvent utilisé comme premier test pour les rhizobactéries produisant de l'AIA. Lorsqu'une réaction positive se produit suite à l'ajout du réactif au surnageant, un changement de couleur a lieu (rose à rouge foncé). La couleur rosée est due à la formation d'un complexe (tris-(indole-3-acétate)-ferIII) (Kamnev *et al.* , 2001) entre le fer contenu dans le réactif et l'AIA produit par la bactérie. Cependant, le réactif n'est pas spécifique seulement à l'AIA, il réagit aussi avec l'indole-acide pyruvique et l'indole-acétamide (Glickmann et Dessaux ,1995), l'intensité de la couleur varie selon le taux d'AIA produite, Cette réaction positive explique l'aptitude de la bactérie à métaboliser le L-tryptophane en AIA ou en d'autres composés analogues (Atiqur *et al.*, 2010).

La plus forte quantité de l'AIA produite par certaines souches SS2 (61,03 µg/ml), SS9 (60,33µg/ml), SS17 (58,63 µg/ml), SS25 (55,24µg/ml), SS4 (55,14 µg/ml), SS10 (54,64 µg/ml), SS28 (54.34 µg/ml) serait liée à la présence de l'appareil génétique et physiologique de la biosynthèse.

La salinité du sol et de l'eau d'irrigation appliquée dans les régions arides et semi-arides augmentent la sensibilité des plantes aux attaques des agents pathogènes. Ces derniers tolèrent des salinités élevées et sporule abondamment dans un environnement salin (Besri, 1988). Plusieurs bactéries appartenant du genre *Pseudomonas* sont capables de protéger les plantes grâce à la production de sidérophores (Lemanceau, 1992) On connaît actuellement plus de 500 types de sidérophores différents, dont 270 ont été caractérisés structurellement (Schwyn et Neilands ,1987). Ces substances affectent la croissance des microorganismes phytopathogènes (*Gaeumannomyces graminis Fusarium oxysporum, cucumerinum, melonis, Pythium*) par une compétition pour le fer.

Les sidérophores peuvent être définis comme des petites molécules peptidiques contenant des chaînes latérales et des groupes fonctionnels pouvant fournir un ensemble de ligands à haute affinité pour coordonner les ions ferriques (Crosa et Walsh, 2002). Sur la base de leurs groupes fonctionnels de coordination du fer, de leurs caractéristiques structurelles et de leurs

types de ligands, les sidérophores bactériens ont été classés en trois familles principales en fonction du groupe fonctionnel caractéristique, à savoir les hydroxamates, les catécholates et les carboxylates (Crowley, 2006). Des centaines de sidérophores ont été identifiés et signalés pour des microorganismes cultivables, dont certains sont largement reconnus et utilisés par différents microorganismes, Il est possible pour les bactéries d'utiliser des sidérophores exogènes pour combler leur besoin en fer. Il est connu que *B. subtilis* est capable d'utiliser des sidérophores produits par d'autres bactéries, tandis que d'autres sont spécifiques à une espèce (Crowley, 2006 ; Sandy et Butler, 2009).

La production de sidérophores constatée chez les souches étudiées serait due à leur exigence en fer (Mazumdar *et al.*, 2007), ou au degré d'affinité du système d'assimilation du fer existant. Ce dernier peut-être de faible ou de haute affinité (Page *et al.*, 1982). La capacité de produire des sidérophores est une propriété PGPR et est aussi considérée comme une propriété de biocontrôle, car la chélation du fer permet de restreindre la quantité disponible aux pathogènes. Schwyn et Neilands ont développé un milieu permettant de tester la production de sidérophore par les bactéries. Ce milieu constitue une méthode ultrasensible pour la détection de la production de sidérophore due à la présence d'une solution colorante formée de fer et de chrome azurol S (Schwyn *et al.*,1987) .

Enfin, la production de sidérophores chez les souches la SS17 proche (51 %) suivent la SS3, SS14, la SS2 proche (50%), la SS21 (47,64%) la SS28 (43,89%) et SS20 (42,50 %) est plus performante, Celle-ci est modérée chez les autre souches.

La forte production de sidérophores est due à la présence d'équipement enzymatique nécessaire pour le transport et l'accumulation des osmoprotecteurs.

Conclusion

Conclusion

Cette étude relative au rôle des rhizobactéries dans la croissance et l'amélioration des espèces végétales constitue à l'heure actuelle un enjeu majeur. En effet, leur utilisation rentre dans le contexte de la fertilisation des sols salins et arides et la stimulation de la croissance et des défenses naturelles des plantes dont la finalité est de réduire l'application de produits phytosanitaires, d'atténuer les effets inhibiteurs du sel et de restaurer la productivité des cultures en zones arides.

Dans ce présent travail, 30 souches bactériennes sélectionnées promotrices de croissance sont isolées du sol salé. En Mars 2015 à partir d'un champ d'orge moissonné situé à Chott El Beïdha dans la région de Hammam Essoukhna, au Sud-Est de Sétif. Les échantillons du sol sont prélevés aseptiquement en plusieurs parcelles de champ (nb=6) distantes d'environ 100 m du lac principal sur une profondeur de 0 à 20 cm.

La majorité des souches se sont avérées des biofertilisantes. Elles ont la capacité de solubiliser les phosphates, de produire l'AIA et le sidérophores, à des taux très variables. Les meilleures concentrations d'AIA produites permettent de classer les souches comme phytostimulatrices. Certaines sont également performantes pour la production des sidérophores et la solubilisation du phosphate, l'omniprésence de ces activités sont signalées chez l'ensemble des souches isolées.

Les souches SS26, SS27, SS20, SS18, SS12, SS23, SS24 considèrent comme meilleures solubilisateurs de phosphate. Les souches SS17, SS3, SS14, SS2, SS21, SS12, SS16 produisent une quantité appréciable de sidérophores. Concernant l'AIA les souches les plus performantes sont SS2, SS9, SS17, SS25, SS4, SS10, SS28, SS6,

Comme dans tout travail de recherche, des questions subsistent et de nouvelles perspectives s'ouvrent afin de compléter les connaissances sur l'implication des rhizobactéries comme inoculant dans la composante microbienne d'un sol salin et aride. La capacité de survie et de colonisation racinaire des souches et la conservation de leurs activités PGP dans cet écosystème doivent être élucidées.

Des études approfondies doivent compléter ce modeste travail tel que :

- Connaître leur potentiel à promouvoir la tolérance des plantes cultivées au différents stress abiotiques.
- Déterminer leurs mécanismes d'actions directes (production des phytohormones assimilation et solubilisation des sels minéraux, production des sidérophores, induction de la résistance systémiques.) ou indirectes (compétition, Antibiose ;

Production de composés volatiles...) impliqués dans leur potentiel stimulateur et protecteur de la croissance végétale.

- Ce travail a abouti à la production d'un important soucier de rhizobactéries des régions arides et semi-arides. Certaines souches améliorent la croissance et la santé des plantes, d'autres sont capables de produire différents métabolites. Il serait intéressant de poursuivre la caractérisation de ces souches en réalisant d'autres tests physiologiques et métaboliques.
- L'association type de sol/plante semble ainsi influencer la sélectivité de la plante parmi les bactéries telluriques. C'est l'avancement de la compréhension de ces types de communication entre les acteurs de la rhizosphère qui apportera une compréhension nouvelle du fonctionnement du sol, mais aussi le développement d'engrais biologiques efficaces.

Résumé

Résumé

30 isolats bactériens ont été isolés à partir d'un champ d'orge moissonné situé à Chott El Beïdha dans la région de Hammam Essoukhna, au Sud-Est de Sétif. L'objectif de ce travail c'est l'évaluation de quelques activités PGP des isolats en s'appuyant sur leur capacité à solubiliser le phosphate, à produire l'auxine (AIA) et à produire les sidérophores. Tous les isolats ont la capacité de produire l'AIA et les sidérophores à des quantités variables. La souche la plus performante dans la production de l'auxine (AIA) sur un milieu minimum MS c'est SS2 avec une quantité de 61,03 µg/ml. La souche SS17 (51%) est performante pour la production de sidérophores sur le milieu King B. À l'exception des souches SS6 et SS22 toutes les souches ont la capacité de solubiliser le phosphate sur un milieu NBRIP selon la méthode décrite par Nautiyal (1999). La concentration maximale de phosphate tricalcique soluble est observée chez la souche SS26 avec 513,75 µg/ml. L'inoculation de ces souches performantes comme un biofertilisant est une approche prometteuse pour réduire l'utilisation des pesticides de synthèse en agriculture.

Mots clé : PGPR, AIA, sidérophores, phosphate.

Abstract

30 bacterial isolates were isolated from a harvested barley field located at Chott El Beïdha in the Hammam Essoukhna area, southeast of Sétif. The objective of this work is the evaluation of some PGP activities of isolates based on their ability to solubilize phosphate, produce auxin (AIA) and produce siderophores. All isolates have the ability to produce AIA and siderophores in varying amounts, the highest performing strain in the production of auxin (AIA) on a minimum medium MS is SS2 with a quantity of 61.03 µg / ml. The strain SS17 (51%) is efficient for the production of siderophores the medium King B. With the exception of the SS6 and SS22 strains, all the strains have the capacity to solubilize the phosphate on an NBRIP medium according to the method described by Nautiyal (1999). The maximum concentration of soluble tricalcium phosphate is observed in strain SS26 with 513.75 µg / ml. Inoculation of these successful strains as a biofertilizer is a promising approach to reduce the use of synthetic pesticides in agriculture.

Key words: PGPR, AIA, siderophores, phosphate.

الملخص

تم عزل 30 عزلة بكتيرية من حقل الشعير المحصول الواقع في شط البيض في منطقة حمام السخنة جنوب شرق سطيف. الهدف من هذا العمل هو تقييم بعض أنشطة PGP الخاصة بالعزلات بناءً على قدرتها على إذابة الفوسفات وإنتاج الأوكسين (AIA) وإنتاج ال siderophores. جميع العزلات لديها القدرة على إنتاج AIA و siderophores بكميات متفاوتة ، أعلى سلالة أداء في إنتاج أوكسين (AIA) على الحد الأدنى من MS هي SS2 بكمية 61.03 ميكروغرام / مل. السلالة SS17 فعالة لإنتاج siderophores. حيث تقدر كمية ال siderophores المنتجة من قبل هذه السلالة ب (51 %) باستثناء السلالتين SS6 و SS22، فإن جميع السلالات لديها القدرة على إذابة الفوسفات على وسط NBRIP وفقاً للطريقة الموضحة في (Nautiyal 1999). لوحظ الحد الأقصى لتركيز فوسفات الكالسيوم القابل للذوبان في سلالة SS26 حيث قدر ب 513.75 ميكروغرام / مل. يعد تلقح هذه السلالات الناجحة كسماد حيوي وهو طريقة واعدة للحد من استخدام المبيدات الاصطناعية في الزراعة.

الكلمات المفتاحية: PGPR ، AIA ، siderophores ، الفوسفات.

Références Bibliographiques

 Références

Abdel-Hameed, A.M., S.H. Sarhan, H.Z. Abdel-Salam. 2004. Evaluation of some organic acid as foliar application on growth, yield and some nutrient contents of wheat. *J. Agric. Sci. Mansoura Univ.*, 20: 2476-2481.

Abo El Enein, RA. 1991. Sainity in irrigated and rain fed areas of west Asia and north Africa . in : lcardia-lnia symposium: improvement and management of winter cereals under tempera ture , drought and salinity stresses . Corroded ministerio de agricultural pescay alimentacion: 33-48.

Agarwal, A.S., B.R. Singh, Y. Kanehiro .1980. Cultivation and soil biomasses soil Biol Bioch 12: 29-33

Ahemad, M., et Kibret, M. 2014. Mécanismes et applications des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes: perspective actuelle. *Journal de l'Université du roi Saoud - Science* 26.1-20

Alam , SM. 1994. Nutrient uptake by plants under stress condition in: pessarakli Med H and book of plant and corps stress New york Mar cel dekker inc page : 227-46

Ali Hamoud, A., H. Amir, D. Bounaga, M. Chami, N. Djelloli.1980. contribution à l'étude de l'activité microbiologique de quelque sols de la sebka de Boughzolul *physiol vég ;* 18 :19-33

Anonyme. 2004. Direction générale des Forêts. Atlas des zones humides d'importance internationale.

Arora, N.K., S. Tewari, S. Singh, N. Lal, D.K. Maheshwari. 2012. PGPR pour la protection de la santé des végétaux dans des conditions salines. Dans: Maheshwari DK (ed.) *Bactéries en agrobiologie: gestion du stress*, pp.239-258.

Arora, N.K., S. Tewari , R. Singh .2013. Les microbes à facettes multiples associés aux plantes et leurs mécanismes réduisent le concept de PGPR direct et indirect. In: Arora NK (ed.) *Symbiose microbienne végétale: principes de base et avancées*. Springer, pp 411-449.

Ashraf, M., S. Hasnain, O. Berge et T. Mahmood 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol. Fertil. Soils*, 40: 157-162

- Ashwathi, P.2016.** Rhizosphere: Origin and Effects.[En ligne].<http://www.biologydiscussion.com/soil-microbiology/rhizosphere-origin-and-effects-microbiology/66666>
[Consulté le : 01-03-2017].
- Atiqur, R., R. Irnayuli, T. Sui-Yan, H. Yasuyuki. 2010.** Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria Isolated from Wild *Dipterocarp* Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil. *Biosci.Biotechnol* 74(11): 2202-2208.
- Aurelie, levigneron et al. 1995.** les plants face au stress salin; 4: 263-73.
- Avis, T.J., V. Gravel, H.Antoun , RJ .Tweddell .2008 .** Effets bénéfiques multiformes des microorganismes de la rhizosphère sur la santé et la productivité des plantes. *Sol Biol Biochem* 40: 1733-1740.
- Badri ,D.V., T.L.Weir, D. van der Lelie. Et J.M. Vivanco . 2009.** Dialogues chimiques sur la rhizosphère: interactions plante-microbe. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20 : 642–650.
- Bahme, J.B., et Schroth M.N .1987.** Spatial temporal colonization patterns of rhizobacterium on underground organs of potato. *Phytopathology* 77 : 1093-1100.
- Bais, H.P.,T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy, J.M. Vivanco .2006.** Le rôle des exsudats de racines dans les interactions de la rhizosphère avec les plantes et d'autres organismes. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57 : 233–266.
- Bakker, P., R. van Peer et B. Schippers.1991.** Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent pseudomonads: mechanisms and prospects. Pages 217- 230 in A. R. B. Beemster, G. J. Bollen, M. Gerlagh, M. A. Ruissen, B. Schippers et A. Tempel (réds.), *Biotic interactions and soilborne diseases*. Elsevier, New York.
- Baldani, J.I., N.R. Krieg, V.L. Divan-Baldani, A. Hartmann et J. Döbereiner. 2005.**In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, vol. 2, Springer-Verlag, Garrity, New York, Berlin, Heidelberg, pp. 7–26.
- Barriuso, J., M. T. Pereyra, J. A.Lucas Garcia, M. Megias, F. J. Gutierrez Manero et B. Ramos .2005.** Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis *Lactarius deliciosus*- *Pinus* sp. *Microb. Ecol*, 50:82–89.

- Beauchamp , C.j.1993.** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74(1), 19–27.
- Belkhodja, M., et Bidai, Y. 2004.** Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. *Sécheresse*.15 : 331-335.
- Bell-Perkins, L. J., et J.M. Lynch. 2002.** Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. *In* G.
- Benchabane, M., D. Toua, et D.J. Ameer .2012.** Exploitation et varolisation des rhizobactéries En biotechnologie végétale : 2; 17-20.
- Bergey, D. H., R.S. Breed, E.G.D. Murray, et A.P. Hitchens .1939.** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 5th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Berggren, I., J.W.L. van Vuurde et A.M. Martensson.2001.** Factors influencing the effect of deleterious *Pseudomonas putida* rhizobacteria on initial infection opea roots by *Rhizobium leguminosarum* pv. *Viceae* *Appl. Soil Ecol.*17(2):97-106.
- Bertrand. H., C. Plassard, X .Pinochet, B. Toraine , P. Normand.2000.** Stimulation du système de transport ionique chez *Brassica napus* par une rhizobactérie favorisant la croissance des plantes.*Can J Microbiol*46: 229-236.
- Bitton.2009.** *Encyclopedia of environmental microbiology* A Wiley-Interscience Publication, Canada .pp 102.
- Bolt .G.H.1979.** *Soils chemistry*. Vol. 1 et II. Elsevier, Amsterdam.
- Bouaouina , S., E. Zid , et M. Hajji .2000.** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.) .*CIHEAM - Options Méditerranéennes*. pp. 239-2.
- Bouché , M.B.1977.** Écologie et para écologie : Peut-on apprécier le rôle de la faune dans les cycles biogéochimiques. *Ecological Bulletins* No. 25, *Soil Organisms as Components of Ecosystems* pp. 157-163.
- Bray, R.H., et L.T. Kurtz. 1945.** Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.

-
- Broadbent, P., K.F. Baker, N. Franks, J. Holland .1977.** Effect of *Bacillus* spp on increased growth of seedlings in steamed and in non-treated soil. *Phytopathology* 67, 1027-1034.
- Bruijn, I., M.J.D Kock, M. Yang, P. Waard, T.A. van Beek, J.M. Raaijmakers . 2007.** Découverte génomique, prédiction de structure et analyse fonctionnelle d'antibiotiques lipopeptidiques cycliques chez des espèces de *Pseudomonas*. *Mol Microbiol* ; 63 : 417–428.
- Buchanan, R. E., et Gibbons, N.E.1974.** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Cacciari, I., E. Dimattia, P. Quatrini, M.C. Moscatelli, S. Grego, D. Lippi, et M.R. De paolis. 2003.** Réponses adaptatives des isolats de *Rhizobium* aux stress, p. 231-248. *In* M. Grouzis, E. Le Floch, (ed.), *Un arbre ou désert, Acacia raddiana*. IRD Éditions. Paris.
- Chaiharm, M., et S. Lymyong. 2009.** Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25 : 305-314.
- Cheverry, C.I. 1974.** Contribution à l'étude pédologique des polders du lac Tchad. Dynamique des sels en milieu continental subaride dans les sédiments argileux et organiques. Th. Strasbourg. 275 p.
- Compant, S., B. Reiter, A. Sessitsch, J. Nowak, C. Clément . 2005.** Colonisation endophyte de *Vitis vinifera* L. par une bactérie favorisant la croissance des plantes *Burkholderia* sp. souche 45. *PsJN. Appl Environ Microbiol* 71: 1685-1693.
- Costa, B.M. 2007.** Manipulation of intracellular magnesium levels in *Saccharomyces cerevisiae* with deletion of magnesium transporters. *Appl Microbiol Biotechnol* 77(2) :411-25.
- Crosa, J.H., C.T. Walsh. 2002.** Génétique et enzymologie des chaînes de montage de la biosynthèse des sidérophores chez les bactéries. *Microbiol Mol Biol Rév*; 66 : 223–249.
- Crowley, D.E. 2006.** Sidérophores microbiens dans la rhizosphère de la plante. Dans: Barton LL, Abadía J, éditeurs. *Nutrition en fer chez les plantes et les microorganismes rhizosphériques*. Springer; Dordrecht: pp. 169–198.
- Dastager, S.G., C.K. Deepa, A. Pandey .2010.** Potential plant growth promoting activity of *Serratia nematophila* NII-0.928 on black papper (*piper nigrum* L.). *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 27 :295-265.

- Dellal, A., et A. Halitim. 1992.** Activités microbiologiques en conditions salines : cas de quelques sols salés de la région de Relizane (Algérie). Cahiers Agric. 1 : 335-340.
- DIAW ,D., M. Arama, Oubeidillah , Y. ALI , et T. Abdoulaye DIOP. 2018.** Int. J. Biol. Chem. Sci. 12(4): 1914-1919.
- Dickson, J.S., M. Koohamaraie .1989.** Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces. Appl Environ Microbiol 55: 832-836
- Dimkpa, C., T. Weinand, F. Asch. 2009.** Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant Cell Environ. 32: 1682-1694.
- Dobbelaere , S., J. Vanderleyden, Y. Okon .2003.** Effets des diazotrobes sur la croissance des plantes dans la rhizosphère. CRC Crit Rev Plant Sci.; 22 : 107–149.
- Dowling ,DN., et O’Gara, F .1994.** Metabolites of Pseudomonas involved in the biocontrol of plant disease. Trends Biotechnol 12: 133-140.
- Drogue, B., E. Combes-Meynet , Y. Mënne-Loccoz ,F. Wisniewski-Dyé ,C. Prigent-Combaret . 2013.** «Contrôle de la coopération entre les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes et les cultures au moyen de signaux de rhizosphère», dans Vol. 1 et 2 *Ecologie microbienne moléculaire de la rhizosphère* ed. de Bruijn FJ, éditeur. (NJ, États-Unis: John Wiley & Sons, Inc.) 10:281–294.
- Dubey, R.S et Singh, A.K. 1999.** Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar rmetabolising enzymes in riceplants, *Biol. Plant.* 42: 233–239.
- Duffy, B. 2003.** Autodéfense des agents pathogènes: mécanismes pour contrer l'antagonisme microbien. Annu Rev Phytopathol; 41 : 501–38.
- Edi, H . 2003.** Screening of soil bacteria for plant growth promoting activities *in vitro*. Indo. J. Agric. 4: 27-31.
- Epstein, E., J.D. Norlyn , D.W. Rush . 1980.** saline culture of corps : a genetic approach science ; 210: 399-404.
- Etesami, H.A., H.A. Alikhani , A. Akbari .2009.** Évaluation de la capacité de production d'hormones de croissance des plantes (IAA) par les souches rhizobiennes de sols iraniens et effets de l'application de souches supérieures sur les indices de croissance du blé. World ApplSci J 6: 1576-1584.

- Eynard, A., R. Lala , D.W. Keith.2006.** In Encyclopedia of Soil Science, (CRC Press) Chapter: 323- 1538.
- Feigin, A., 1985.** fertilization management of corps irrigated with saline water plant soil; 89:285-99.
- Fitzpatrick, E.A.1980.** Soils, their formation, classification and distribution. Longmar.
- Gaby, JC., D.H. Buckley.2012.** Une évaluation complète des amorces PCR pour amplifier le gène nifH de la nitrogénase.PLoS One 7: e42149.
- Gans,J., M. Wolinsky, J. Dunbar .2005.** Les améliorations informatiques révèlent une grande diversité bactérienne et une toxicité élevée des métaux dans le sol. *Science* 309 1387–1390.
- Garrity, G.M.2005.** Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, 2ndedn, vol. 2, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 1–1085. Genome Biol. 3, Reviews0003.
- Geddie, J.L., et I.W. Sutherland 1993.** Uptake of metals by bacterial polysaccharides. *J. Appl. Microbiol.*, 74: 467-472
- Ghassemi, F., A.J. Jakeman, et H.A. Nix .1995.** Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies. Center for resource and environmental studies, The Australian National University, Canberra, Australia. 125 pages.
- Glick, B.R .2005.** Modulation des taux d'éthylène dans les plantes par l'enzyme bactérienne ACC deaaminase.FEMS MicrobiolLett 251: 1-7.
- Glick, B.R., D.M. Penrose et L. Jiping .1998.** A model for the lowering plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190:63–68.
- Glickmann, E., et Dessaux, Y. 1995.** A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 793-796.
- Goldstein , A.H .1995.** Progrès récents dans la compréhension de la génétique moléculaire et de la biochimie de la solubilisation du phosphate de calcium par des bactéries à Gram négatif. *BiolAgriHort*12: 185-193.
- Gray, E. J., et D. L. Smith.2005.** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.*37:395 -412.

- Greenway, H., et R. Munns .1980.** Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 149–190.
- Gupta, G., S.S. Parihar, N.K. Ahirwar, S.K. Snehi, V. Singh .2015.** Promotion de la croissance des rhizobactéries (PGPR): perspectives actuelles et futures pour le développement d'une agriculture durable. *J Microb Biochem Technol* 7: 096-102. doi: 10.4172 / 1948-5948.1000188.
- Gupta, S. S. 2003.** Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants. *FEMS Microbiol. Ecol*, 45(3):219- 227.
- Gutiérrez Mañero, F.J., N. Acero , J.A. Lucas et A. Probanza .1996.** The influence of native rhizobacteria on European alder [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.] growth. II. Characterization of growth promoting and growth inhibiting strains. *Plant Soil*, 182: 67–74.
- Gyaneshwar, P., G.N. Kumar, L.J. Parekh, P.S. Poole .2002.** Rôle des microorganismes du sol dans l'amélioration de la nutrition des plantes par les plantes. *Développement dans les sciences de la plante et du sol*95: 133-143.
- Haas, D., et Défago, G. 2005.** Lutte biologique contre les agents pathogènes du sol par des pseudomonades fluorescentes. *Nat Rev Microbiol*; 3 : 307–319.
- Haas, D., C. Keel, J. Laville , M. Maurhofer, T. Oberhänsli , U. Schneider, C. Voisard , B. Wüthrich, G. Défago .1991.** Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 involved in the suppression of root diseases. In : *Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions* (H Hennecke, DPS Verma, eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1, 450-456.
- Han, H.S., et Lee , K.D .2006.** Effet de la co-inoculation avec des bactéries solubilisant le phosphate et le potassium sur l'absorption des minéraux et la croissance du poivron et du concombre. *Plante Sol Environ* 52: 130-136.
- Han, H.S., et K.D. Lee. 2005.** Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, 1: 210-215.
- Harma, SB., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi , T.A. Gobi .2013.** Microbes solubilisant le phosphate: approche durable pour la gestion de la carence en phosphore dans les sols agricoles. *Springerplus* 2: 587.

- Hayat, R., S. Ali , U.Amara , I. Ahmed .2010.** Bactéries bénéfiques pour le sol et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes: un aperçu. *Ann Microbiol* 60: 579-598.
- Heuer, B. A., Schaffer , A. Meiri .1994.** saline water irrigation and gypsum amendment effects on the quality of peanuts seeds *Eur J Agronomy*; 3:169-74.
- Hilal, R.S., et Singh, A.K.1999.** Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants, *Biol. Plant.* 42: 233–239.
- Howie ,W.J., R.J. Cook, D.M. Weller.1987.** Effects of soil matric potential and cell mobility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonads suppressive to take-all. *Phytopathology* 77: 286-292.
- Hugenholtz, P. (2002).** Exploring prokaryotic diversity in the genomic era.
- Hussain, G., A.A. Al-Jaloud, S.F. Al-Shammery, S. Karimulla .1995.** Effect of saline irrigation on the biomass yield, and the protein, nitrogen and phosphorus, and potassium composition of alfalfa in a pot experiment, *J. Plant Nutr.* 18 : 2289–2408.
- James, D.W., T.V. Suslow , K.E.Steinback.1985.** Relationship between rapid, firm adhesion and longterm colonization of roots by bacteria. *Appl Environ Microbiol* 50: 392-397.
- Jean-Olivier Job .1992.** introduction a la géochimie des sols salés. Chargé de recherche ORSTOM :page 4.
- Jofre, E.,A. Lagares, G. Mori .2004.** Disruption of dTDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense* FEMS *Microbiol. Lett.* 231(2):267-275.
- Joshi ,M., R. Shrivastava, A.K. Sharma , A. Prakash .2012.** Criblage de vérités résistantes et de *Fusarium oxysporum* antagonistes pour la lutte biologique contre la fusariose du piment. *Plant PatholMicrobiol* 3: 134.
- Kamnev, A. A., A.G. Shchelochkov , Y.D. Perfiliev, P.A. Tarantilis, M.G. Polissiou. 2001.** Spectroscopic investigation of indo'le-3-acetic acid interaction of iron (III) *J. Mol. Struct.*, 563- 564: 565-572.
- Kang, BG., W.T. Kim, H.S. Yun, S.C. Chang. .2010.** Utilisation de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes pour contrôler les réponses au stress des racines des plantes. *Plant Biotechnol Rep* 4: 179-183.

- Kerr, A., 1972.** Biological control of crown gall: seed inoculation. *J Appl Bacteriol* 35: 493-497.
- Khalid, A., M. Arshad, et Z. A. Zahir. 2004.** Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* **96**: 473-480.
- Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA (2010)** Promotion de la croissance des plantes par des champignons solubilisant les phosphates - perspective actuelle. *Arch Agron Soil Sci* 56: 73-98.
- Kloepper, J.W., J. Leong, M. Teintze, M.N. Schroth.1980.** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growthpromoting rhizobacteria, *Nature* 286:885–886.
- Kloepper, J.W., et C. J. Beauchamp. 1992.** Issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219-1232.
- Kloepper, J.W.1992.**Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: FB Metting Jr, ed, *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker Inc., New York, pp 255-274.
- Kuffner, M., M. Puschenreiter, G. Wieshammer, M. Gorfer, A. Sessitsch.2008.** La bactérie de la rhizosphère affecte la croissance et l'absorption des métaux par les saules qui s'accumulent dans les métaux lourds. *Sol de la plante* 304: 35- 44.
- Kumar, P., Dubey. RC .2012.** Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes pour la lutte biologique contre les phytopathogènes et amélioration du rendement de *Phaseolus vulgaris*. *J CurrPersApplMicrobiol* 1: 6-38.
- Kyselková, M., J. Kopecký, M. Frapolli, G. Défag , M. Ságová-Marečková , G.L.Grundmann .2009.** Comparaison de la composition de la communauté rhizobactérienne dans un sol suppressif ou propice à la pourriture noire du tabac. *ISME J.*2009.61.
- Lanteigne, C., V.J. Gadkar , T.Wallon , A. Novinscak , M. Fillion .2012.** Production de DAPG et de HCN par *Pseudomonas* sp. LBUM300 contribue au contrôle biologique du chancre bactérien de tomato.*Phytopathology* 102: 967-973.
- Latour X, Lemanceau P. 1997.** Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie, EDP Sciences*, 17 (9-10), pp.427-443.

- Laura, R.D.1974.** effect of neutral salt on carbon and nitrogen mineralization of organic matter in soil plant soil; 41: 113-27.
- Lemanceau, P. 1992.** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. *Agronomie*. 12: 413-437.
- Lemanceau, P., et C. Alabouvette .1993.** Suppression of fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol SciTechnol* 3, 219-234.
- Leong, J .1986.** Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 24:187-208.
- Levigneron, A., F. Lopez, G. Vansuyt, P. Berthomieu, P. Fourcroy, et F. Casse Delbart. 1995.** Les plantes face au stress salin. *Cahier Agric*. 4: 263-73.
- Levy, D., E. Fogelman , Y. Ytzok .1993.** influence of water and soil salinity on emergence and early development of potato cultivars and effect of physiological age of seed tubers. *Potato res*; 36: 33-40.
- Liu, D., B. Lian .B, Dong. H .2012.** Isolement de *Paenibacillus* sp. et l'évaluation de son potentiel pour améliorer la dégradation des minéraux. *Géomicrobiologie J* 29: 413-421.
- Loyer, J.Y.1991 .**classification des sols salés : les sols salic cah orston sér pédol 26 : 51-61.
- Lucas, P., A. Sarniguet , J.M. Collet , M. Lucas .1989.** Réceptivité des sols au piétin-échaudage(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) : influence de certaines techniques culturales. *Soil Biol Biochem* 21 : 1073-1078.
- Lugtenberg, B., Kamilova F. 2009.** Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes. *Annu Rev Microbiol*; 63: 541–55.
- Lynch, J.M., J.M. Whipps.1991.** Substrate flow in the rhizosphere, in : D.L. Klister, P.B. Gregan (Eds.), *The Rhizosphere and Plant Growth* , pp. 15–24.
- Lynch, J.M. 1990.** éditeur. *The Rhizosphere*.Chichester, Royaume-Uni: Wiley - Interscience.
- Ma, J.F .2005.** Réponses des racines des plantes à trois minéraux du sol abondants: le silicium, l'aluminium et le fer. *Crit Rev Plant Science* 24: 267-281.
- Mac Clung, G., WT JR. Frankenberger .1985 .** Soil nitrogène transformation au affecte by salinité soil sci, 139 : 405-11.

- Mac Cluny, G., WT JR. Frankenberger. 1987.** nitrogen mineralization rat in saline; 104: 13-21.
- Mac Cormick, RW., et Wolf DC.1980 .** Effect of sodium chloride on Co₂ evolution ammonification in a sassafras sondy loun , soil Biol Bioch; 12 :153-7.
- Maksimov, IV., R.R. Abizgil'dina, L.I. Pusenkova . 2011.** Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes comme alternative aux produits chimiques protecteurs contre les agents pathogènes (Revue) Appl Biochem Microbiol; 47 : 333–345.
- Marulanda, A., J.M. Barea, R. Azoen. 2009.** Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. J. Plant growth regul. Doi : 10.1007/s00344-009-9079-6.
- Mater , J.2015.** Environ. Sci. 6 (3) 840-851 Benidire et al.ISSN : 2028-2508.
- Mazumdar, T., C. Goswami., et N.C. Talukdar. 2007.** Characterisation and screening of beneficial bacteria obtained on King's B agar from tea rhizospher. Indian. J. Biotechnol. 6 : 490- 494.
- McInroy, J.A., J.W. Kloepper .1991.** Analysis of populations densities and identification of endophytic bacteria of maize and cotton in the field. In: Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects (C Keel, B Koller, G Defago, eds) IOBC/ WPRS, XIV/8, 328-331.
- Mehnaz, S .2013.** Métabolites secondaires de *Pseudomonas aurantiaca* et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes. In: Arora NK (ed.) Symbiose microbienne végétale: principes de base et avancées. Springer, Inde, pp. 373-394.
- Mizrahi, Y., et Pasternak D. 1985.** effect of salinity on quality of various agricultural corps plant soil; 89 : 310-7.
- Moore, E.R.B., B.J. Tindall, V.A.P. Martins Dos Santos, D.H. Pieper, J.L. Ramos, et N.J. Palleroni. 2006.** Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, Morgan PW, Drew MC .1997.. Ethylène et réactions des plantes au stress. *Physiol. Plante*. 100 : 620–630.

- Moulin, L., A. Munive, B. Dreyfus, et C.Boivin-Masson .2001.**Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria. *Nature*,411 :948–950.
- Munns , R. 1993.** physiological processes limiting plant growth in saline soil : some domagas and hypotheses plant cell environ;16: 15-24.
- Nadeem, S.M., M. Naveed , Z.A. Zahir , H.N.Asghar .2013.** Interactions plantes-microbes pour une agriculture durable: principes fondamentaux et avancées récentes. In: Arora NK (ed.) Symbiose microbienne végétale: principes de base et avancées. Springer, Inde, pp. 51-103.
- Nautiyal, C.S. 1999.** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilization microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* **170**: 265-270
- Naznin, H.A., M. Kimura , M. Miyazawa, M. Hyakumachi .2012.** Analyse des composés organiques volatils émis par les champignons, promoteurs de la croissance des plantes, *Phoma* sp. GS8-3 pour les effets de promotion de la croissance sur le tabac. *Microbe Environ* 28: 42 à 49 New York.
- Okon, Y .1985.** Azospirillum as a potential inoculant for agriculture. *Trends Biotechnol* 3: 223-228y.
- Olivera, M., N.Tejera, C. Iribarne , A. Ocana, C. Liuch .2004.** Growth,nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (*phaseolus vulgaris*) :effect of phosphorus. *Physiol. Plant.*121, 498-505.
- Ould Mohamdi, M., D Bouya , A. Ould Mohamed Salem . 2011.** Etude de l'effet du stress salin (NaCl) chez deux variétés de tomate (Campbell 33 et Mongal). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5(3): 860-900. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i4.30>.
- Page, W.J., et M. Von tigeewtrom.1982.** Iron- and molyWenum-repressible outer membrane proteins in competent *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.* 151: 273-242.
- Palleroni, NJ .1984** Gram-negative aerobic rods and cocci: family I Pseudomonadaceae. In : *Bergey's Manual of Bacteriology* (NR Krieg, JG Holt, eds), William & Wilkins, Baltimore, 1, 141-199.
- Pandey ,P., D.K. Maheshwari .2007.** Two sp. consortium microbien pour la promotion de la croissance de *CajanusCajan*. *CurrSci* 92: 1137-1142.

- Parida, A.K.A., et A.B. Das. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotox. Environ. Safety*. 60: 324-349.
- Parmar, P., et Sindhu S.S .2013.** solubilisation du potassium par les bactéries de la rhizosphère: influence des conditions nutritionnelles et environnementales. *J Microbiol Res* 3: 25-31.
- Patten, C.L., B.R.Glick.1996.**Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol*,42 :207-220.
- Piano, S., V. Neyrotti, Q.Migheli, M.L. Gullino.1997.** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3):131-140.
- Pierson, LS., V.D. Keppenne, D.W. Wood.1994.** Phenazine antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 is regulated by PhzR in response to cell density. *J Bacteriol* 176, 3966-3974.
- Pierson, L.S., et Wood D.W .1994.** A diffusible signal molecule regulates phenazine expression in *Pseudomonas aureofaciens*. *Phytopathology* 84, 1082.
- Pothier, JF., F. Wisniewski-Dyé , M. Weiss-Gayet ,Y. Mënne-Loccoz , C. Prigent-Combaret . (2007).** Identification par un piège à promoteurs de gènes induits par l'extrait de graine de blé dans la rhizobactérie favorisant la croissance des plantes *Azospirillum brasilense* Sp245. *Microbiologie* 153 : 3608–3622.
- Priest, FG., A.L. Sonenshein , J.A. Hoch , R. Losick. 1974.** *Bacillus subtilis* and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics. Washington D.C., American Society for Microbiology, 1993). Buchanan, R. E., and Gibbons, N. E. (eds.) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Przemieniecki, W. S., Kurowski, P. T., et Karwowska, A. 2015.** Plant growth promoting potential of *Pseudomonas* sp. SP0113 isolated from potable water from a closed water well. *Archives of Biological Sciences*, 67(2), 663-673.
- R Kundan, Pantaloni .G, N. Jadon et Agrawal. PK .2015.** Promotion de la croissance des rhizobactéries: Mécanisme et perspectives actuelles. *J Biofertil Biopestici* 6: 155.
- Rahman, A., I.R. Sitepu, S.Y.Tang, et Y. Hashidoko .2010.** Salkowski's reagent test as a primary screening index for functionalities of rhizobacteria isolated from wild dipterocarp

saplings growing naturally on medium-strongly acidic tropical peat soil. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72: 2202-2208.

Rebert, M., C. Chenu .1992. interaction between soil mineral and microorganism soil *Bioch ;7* :307-403.

Reed, S.C., C.C. Cleveland, A.R. Townsend .2011. Écologie fonctionnelle de la fixation de l'azote en liberté: une perspective contemporaine. *Annu Rev EcolEvolSyst* 42: 489-512

Richardson, A., 1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. *Soil Biota*,50, 35-39.

Roesch, LFW., F.A.O. Camargo, F.M. Bento, E.W.Triplett .2007. Biodiversité des bactéries diazotrophes dans le sol, les racines et les tiges de maïs cultivé en plein champ. *Sol de plante* 302 : 91–104.

Salisbury, F.B. 1994. The role of plant hormones. Marcel Dekker, (ed.). New York, USA.

Sandhya, V., S.K.Z. Ali, M. Grover, G. Reddy, et B. Venkateswarlu. 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biol. Fertil. Soils.* 46: 17-26.

Sandy M, Butler A. 2009. Acquisition de fer microbien: sidérophores marins et terrestres. *Chem Rev*; 109 : 4580-4595.

Sawada, H., L.D. Kuykendall et J.M. Young .2003. Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen fixing legume symbionts. *J. Gen. Applied Microbiol.*, 49: 155-179.

Scher, F.M., J.W. Kloepper, C. Singleton , I. Zaleska , M. Laliberte .1988. Colonization of soybean roots by *Pseudomonas* and *Serratia* species: relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time. *Phytopathology* 78, 1055-1059.

Scher, F.M., J.W. Kloepper, C.A. Singleton .1985. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* spp to soybeans seed exsudates in vitro and in soil. *Can J Microbiol* 31,: 570-574.

Schwyn, B., et J.B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Biochemistry.* 160: 47-56.

Seshadri, B., N.S.Bolan, R. Naidu .2015. rhizosphère-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation, Centre for Environmental Risk

Assessment and Remediation, University of South Australia, *M Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15(2): 524-548.

Shahab, S., et Ahmed, N. 2011. Growth Promotion Of Chick Pea By Native Phosphate Solubilizing And Auxin Producing Bacteria. *The Internet Journal of Microbiology* Volume 9 Number 1.

Sharma, A., et Johri, B.N. 2003. Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck), *Microbiol. Res.* 158: 77–81.

Sharma, A., B.N. Johri. , A.K. Sharma. et B.R. Glick .2003. bactérie favorisant la croissance des plantes, *Pseudomonas* sp. La souche GRP3 influence l'acquisition du fer chez le haricot mungo (*Vigna radiata* L. Wilzeck). *Sol Biol Biochem* 35: 887-894.

Shilev, S .2013. Rhizobactéries du sol régulant l'absorption d'éléments nutritifs et d'éléments indésirables par les plantes. In: Arora NK (ed.) *Symbiose microbienne végétale: principes de base et avancées*. Springer, Inde, page :147-50.

Shukla, K.P., S. Sharma , N.K. Singh , V. Singh , K.Tiwari , S. Singh . 2011. Nature et rôle des exsudats de racines: efficacité en bioremédiation. *Afr. J. Biotechnol.* 10 :9717–9724.

Siddiqui, Z.A., et I. Mahmood .1999. *Bioresource. Technology*, 69:167–179.

Sindhu, M.A ., A.H. Confied. 1967. Comparative effect of varying levels of chlorides and sulfates of sodium potassium calcium and magnesium on ammonification during incubation of soil; 27: 468-72.

Singh, BR., A.S. Agarwal, Y. Kameirche. 1969. effect chloride salt on ammonium nitrogen release in two Hawain soils; 35: 557-60.

Spaepen, S., J. Vanderleyden .2011. Interactions Auxine et plante-microbe. *HarbPerspect Biol* 3 de Cold Spring: a001438.

Spaepen, S., J. Vanderleyden, R. Remans. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425-448.

Srivastava, L.M. 2002. Chapter 6: Auxin in *Plant Grow/h and Development: Hormones and Environment*. CA: Academic Press.

- Sturz, AV., et B.R. Christie .2003.**Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil Till. Res.*, 72:107-123.
- Sundara, B., V. Natarajan, K. Hari . 2002.** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field crops research*, 77(1), 43-49.
- Suslow, T.V. 1982.** Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-222 *in* M.S. Mount et G.H. Lacy. (réds.), *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 1. Académie Press, New York.
- Tejera, N.A., E. Ortega, J. González-López et C. Lluch .2003.**Effect of some abiotic factors on the biological activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus*.*J. Appl. Microbiol.*, 95:528–535.
- Van Loosdrecht, M.C.M., J. Lykema, W. Norden , G. Schraa , A. Zehnder .1987.** The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl Environ Microbiol* 53: 1893-1897.
- Van Peer, H.L.M Punte , L.A. Weger, B. Schippers .1990.** Characterization of root surface and endorhizosphere pseudomonads in relation to their colonization of roots. *Appl Environ Microbiol* 56: 2462- 2470.
- Vessey, J. K. 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.
- Wang, W.X., B. Vinocur , O. Shoseyov , A. Altman . 2001.** Biotechnology of plantosmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Hort* 560: 285-292.
- WANG, Y.N. 2000.** Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylaseoxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J.Hortic. Sci. Biotechnol.* 75: 623-627.
- Weger , L.A., C.I.M.Van Vlugt, A.H.M. Wijfjes. , P.A.H.M. Bakker, B. Schippers , B. Lugtenberg .1987.** Flagella of a plant-growth-stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots. *J Bacteriol* 169, 2769-2773.
- Weger, LA., M.C.M. Van Loosdrecht , H.E. Klaasen , B.Lugtenberg .1989.** Mutational changes in physicochemical cell surface properties of plant growth stimulating *Pseudomonas* spp do not influence the attachment properties. *J Bacteriol* 171: 2756-2761.

Weller, D.M., W.J. Howie , R.J. Cook .1988. Relationships between in vitro inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take all wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 78, 1094-1100.

Weller, D.M., et Thomashow .L.S .1993. Microbial metabolites with biological activity against plant pathogens. In : *Pest Management: Biologically Based Technologies* (RD Lumsden, JL Vaughn, eds), Am Chem Soc, Washington, DC, 67-89.

Whipps, J.M. 2001. Interactions microbiennes et biocontrôle dans la rhizosphère. *J Exp Bot*; 52 : 487-511.

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

Zahran, H.H .2001. Rhizobia de légumineuses sauvages: diversité, taxonomie, écologie, fixation de l'azote et biotechnologie. *J Biotechnol* 91: 143-153.

Zaidi, A., M.S. Khan, M. Ahemad , M.Oves .2009. Promotion de la croissance des plantes par des bactéries solubilisant les phosphates. *ActaMicrobiolImmunol Hung* 56: 263-284.

Annexes

Annexe 1**Tampon phosphate saline**

K ₂ HPO ₄	5,62 g
KH ₂ PO ₄	2,13 g
Eau distillée	q.s.p 1000 ml
pH final :	7

Annexe 2**Milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's phosphate) (Nautiyal, 1999)**

Glucose	10 g
Ca 3(PO ₄)	25 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 g
KCl 0,2 g	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g
Agar agar	15g
Eau distillée	q.s.p 1000 ml

Annexe 3**Milieu MS (Minimal Salt medium) (Edi, 2003)**

K ₂ HPO ₄	1,36 g
Na ₂ HPO ₄	2,13g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2g
Eau distillée	q.s.p 1000 ml

Annexe 4**Milieu de King B (Flucka)**

Peptone de caséine	10g
Peptone de viande	10g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
Agar agar	12 g
Eau distillée	q.s.p 1000 ml

Annexe 5**Réactif d'extraction du phosphate soluble**

- Solution A : solution d'extraction du phosphate (0.025 N d'HCl et 0.03 N de NH₄F) (Bray et Kurtz, 1945)

- Solution B: molybdate d'ammonium [(NH₄)₆ MoO₂₄. 4H₂O)] (12 mM).

1ml de la solution diluée de chlorure d'étain SnCl₂ (5 mM) (1ml de la solution concentré dans 33ml d'eau distillé) est ajouté à 5 ml de la solution A et à 5ml de la solution B

Annexe 6**Réactif de Salkowski**

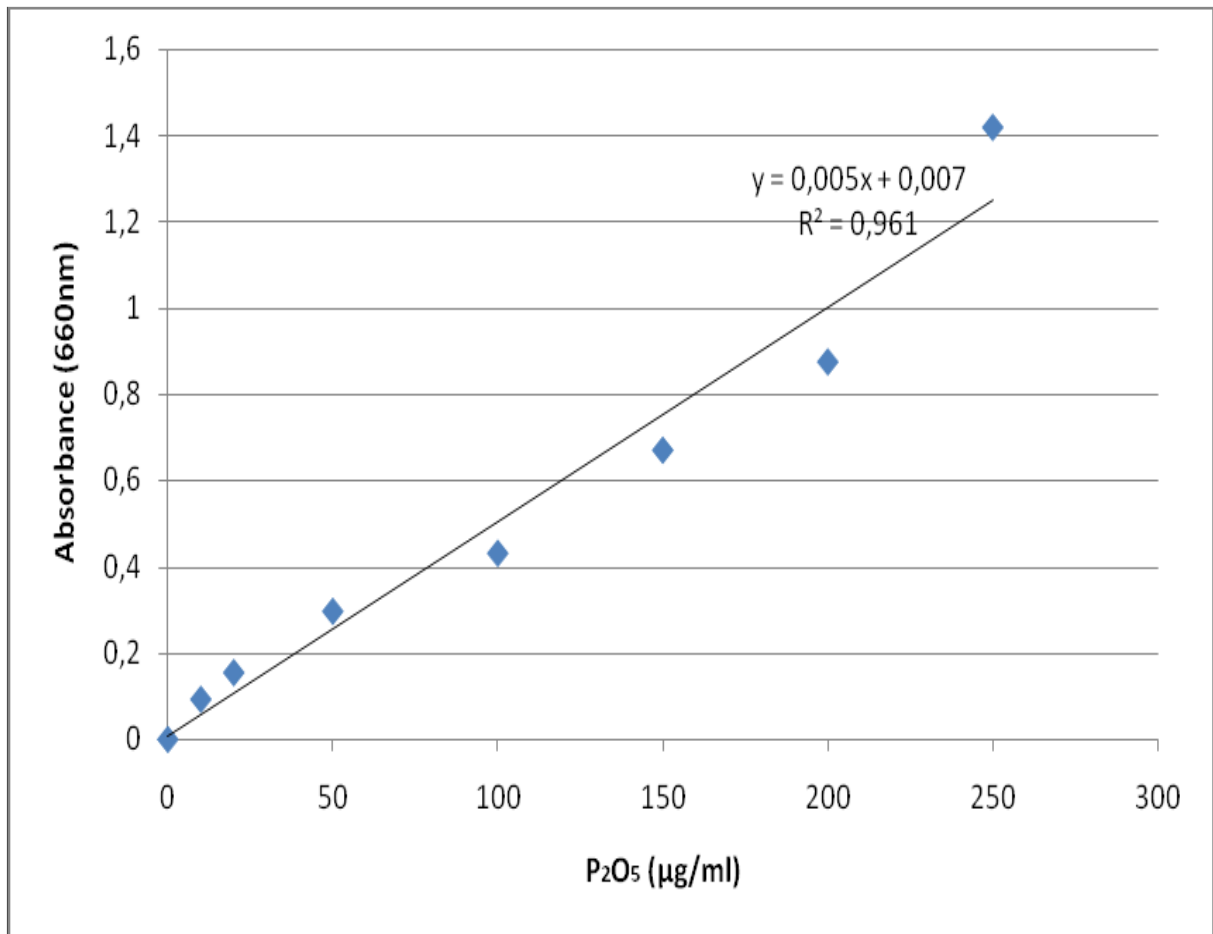
2% de FeCl₃ (0,5 M) dans une solution de 35% d'acide perchlorique.

Annexe 7**Milieu de CAS (Chrome Azurol S)**

Le milieu utilisé est décrit par Schwyn et Neilands (1987) et modifié par Mahmoud et Abd Alla (2001). Ce dernier est préparé en mélangeant 2,7 mg de FeCl₃.6H₂O dissous dans 10 ml de HCl 10 mM avec 1,21g/l de chrome Azurol S (CAS) dissous auparavant dans 50 ml d'eau distillée. Ce mélange, de couleur violette foncée, est ajouté très lentement sous agitation à 1,821g de HDTMA (Hexaméthylammoniumbromure) dissous dans 40 ml d'eau distillée. La solution bleu foncé obtenue est autoclavée à 121 °C/15 min. Un autre mélange est préparé en dissolvant 30,24 g du tampon de Pipes et 15 g d'agar dans 750 ml d'eau. Le pH de cette solution est ajusté au pKa de Pipes (6,8) en ajoutant le KOH 50% (w/v).

Annexe 8**La courbe d'étalonnage de P₂O₅**

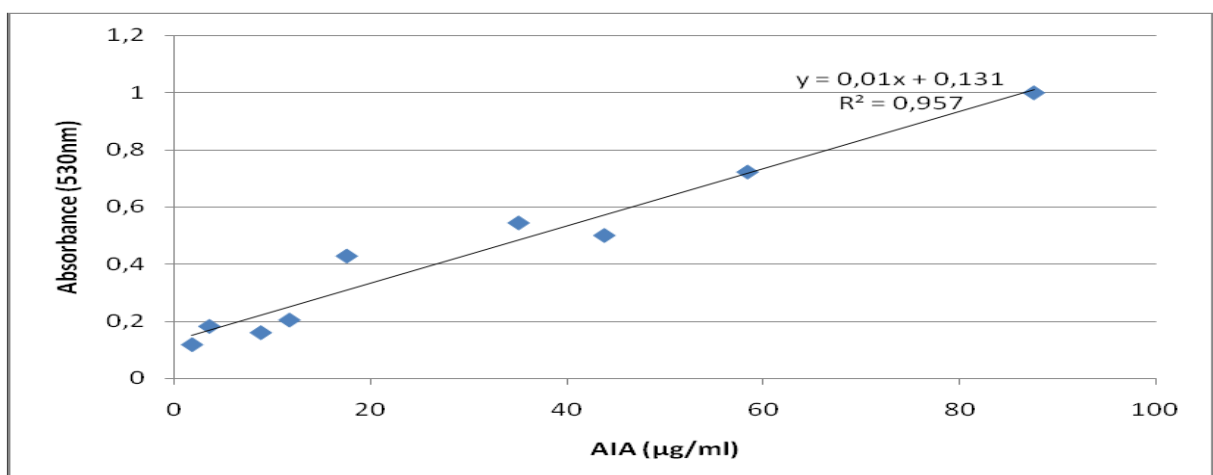
0,34g de KH₂PO₄ est dissout dans 250ml d'eau distillée. Cette solution contient 709,8 µg de P₂O₅/ml. Les dilutions (1,2- 1,5- 2-3-6- 15-30) de la solution standard du phosphore sont préparées dans des fioles de 25ml. 5ml de fluorure d'ammonium (NH₄F) + 5ml de molybdate d'ammonium [(NH₄)₆ MoO₂₄. 4H₂O)] + 1ml de chlorure d'étain (SnCl₂) (1/33) sont ajoutés à 9ml de chaque dilution. Le volume total est complété à 25ml avec de l'eau distillée. Après 5min, la concentration de P₂O₅ est mesurée par spectrophotométrie à 660nm.



Annexe 9

La courbe d'étalonnage de l'AIA

A partir d'une solution de l'AIA (10-3M), les dilutions 2- 3- 4- 5- 10- 15- 20- 50-100 sont effectuées . 1ml de chaque dilution préparée est mélangé à 2 ml de réactif de Salkowski. Après 30 min, la concentration de l'AIA est mesurée par spectrophotométrie à 530nm.



Annexe 10

Normes de la salinité en milliSiemens/cm selon la FAO (1984)

Conductivité électrique à 25°C : (CE)	Types du sol
CE= 4	Sols légèrement salins
4<CE< 8	Sols modérément salins
8<CE< 10	Sols salins
CE >10	Sols à salinité très élevée

Annexe 11

Tableau de comparaison des moyennes des groupes des souches bactériennes

	GROUPE							
	1,00		2,00		3,00		4,00	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
Sidé	41,85% _a	3,65%	41,65% _{oa}	6,38%	40,30% _{oa}	8,24%	40,08% _{oa}	3,77%
P	251,80 _b	34,19	148,93 _c	36,25	29,27 _d	23,76	458,23 _a	52,17
AIA	45,99 _a	9,59	35,20 _a	9,23	45,07 _a	14,50	42,21 _a	8,32