

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie

Réf :.....

Mémoire

Présenté par

BOUDAA Cylia & DEBBOU Baya
Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique
Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne
Thème

Le potentiel bénéfique des rhizobiums associés aux *Vicie*

Soutenu le : **1 juillet 2024**

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mme BOUREBABA Y	MCB	Présidente
M BELHADI D	MCA	Encadrant
M NOURI H	MCA	Examineur
M HAMMACHE A	Doctorant	Co-encadrant

Année Universitaire : 2024/2023

Remerciements

Avant de commencer nous remercions le bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la patience, le courage pour terminer ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent tout d'abord à notre promoteur Mr BELHADI Djellali qui nous a honorés de ces conseils, sa bienveillance, sa patience et sa gentillesse, Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons à remercier plus particulièrement Mr HAMACHE Amir qui nous a régulièrement suivis dans la réalisation pratique de ce travail. Sans oublier les Ingénieurs du laboratoire du département de Biotechnologie.

Enfin, nous tenons à remercier les membres de jury Mr. NOURI Hamid et Mme BOURBABA Yasmina pour nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail.

Baya et Cylia

Dédicace

Je dédie le fruit de mes études à tous ceux que j'ai de plus cher au monde, à vrais dire ni l'encre ni l'espace de cette feuille ne suffisent pour contenir mes remerciements.

À ma très chère maman, source inépuisable d'amour, en témoignage de ma reconnaissance de sa tendresse, sa patience et son soutien tout au long de mes études.

À mon très cher papa pour son sacrifice, sa confiance et sa présence auprès de moi. Toutes les phrases du monde ne sauraient exprimer mon profond amour et ma vive gratitude.

Que Dieu leur donne santé et longue vie.

À mon unique et très chère sœur DYHIA, pour l'encouragement permanent et son soutien moral qui m'ont permis de réaliser les études pour lesquelles je me destine et par conséquent ce mémoire.

À mes deux piliers que j'ai toujours trouvé à mes côtés, mes frères OKBA et HALIM.

Enfin, à mon très cher mari RIADH pour sa patience et son soutien, dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail. Tu as été et tu seras toujours mon soutien morale et source de joie et de bonheur.

CYLIA

Dédicace

Comme marque de reconnaissance, je dédie ce modeste travail à :

À mes très chers parents Khellaf et Hayette qui m'ont tant soutenu tout au long de mon parcours. Aucun

Remerciement ne pourrait être suffisant.

À mes frères : Sofiane ; Samir, Faical, Raouf et Oussama.

À mes belles sœurs : Saida, Nacira et Maud.

À mes nièces : Nada, Manel et Naélla.

À mon neveu Seif Eddine.

À tous mes chers ami(e)s

À toute la promotion « biotechnologie microbienne »

2023/2024

Baya

Liste des abréviations

ACC : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate

AIA : Acide indole acétique

COV : Composé Organique Volatile

CV : Cristal violet

DO : Densité optique

GLU : Glucose

MH : Milieu de Mueller-Hinton

NBRIP: *Nation Botanical Research Institute of Phosphate*

NFMM: *Nitrogen-Free- Mannitol-Medium*

NR1: Nitrite réductase1

NR2 : Nitrite réductase 2

PAC : Acide phénylacétique

PGP: *Plant growth promoting*

PGPB: *Plant growth promoting bacteria*

PGPR: *Plant growth promoting rhizobacteria*

PNPG: p-nitrophényl- β -D-galactopyranoside

PSB: *Phosphate solubilizing bacteria*

TSA: *trypticase soy agar*

TSB: *Trypticase soy broth*

YEM: *Yeast extract mannitol*

YMA: *Yeast mannitol agar*

YMB: *Yeast mannitol broth*

Liste des figures

Figure 1 : Structure de la rhizosphère.....	4
Figure 2 : Classification des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes.....	5
Figure 3 : Modes d'action des PGPRs.....	8
Figure 4 : Processus de séquestration du fer	11
Figure 5 : Illustration d'une galerie API20 NE.....	21
Figure 6 : Concentrations de phosphore solubilisé	26
Figure 7 : Mise en évidence de la production d'AIA par les souches étudiées.	27
Figure 8 : Représentation des concentrations d'AIA produites par les souches étudiées.....	27
Figure 9 : A) activité protéase, B) activité lécithinase, C) activité pectinolytique, D) activité amylolytique, E) activité hémolytique.....	29
Figure 10 : Mise en évidence de la production d'HCN.....	30
Figure 11 : Concentration minimale inhibitrice du zinc et du plomb pour les souches EC6 et MEK6.....	31
Figure 12 : Concentration minimale inhibitrice de cadmium pour les souches H10 et MEK6.....	31
Figure 13 : Résultat de la mise en évidence de la formation du biofilm.....	32
Figure 14 : Représentation des densités moyennes de biofilm produit par les souches étudiées.....	32
Figure 15 : Antibioigrammes de quelques souches testées	33
Figure 16 : Classification hiérarchique ascendante basée sur les caractères la galerie API 20 NE et des activités d'intérêt.....	37

Liste des tableaux

Tableau I : Matériel biologique utilisé.....	17
Tableau II : Nomenclature des antibiotiques, leurs abréviations et leur masse.....	23
Tableau III : Diamètres des zones d'inhibition.....	33
Tableau IV : Représentation de quelques capacités des souches étudiées.....	35
Tableau V : représentation des résultats des galeries API20NE.	36

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Généralités sur les légumineuses.....	3
II. La Rhizosphère.....	3
III. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGR).....	4
III.1. Les caractéristiques d'un PGPR idéal pour la bioinoculation.....	7
III.2. Modes d'action des rhizobactéries promices de la croissance des plantes.....	7
III.2.1. Mode direct	8
III.2.2. .Mode indirect (Biocontrôle)	12
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	17
I. Matériel biologique.....	17
II. Méthodes.....	17
II.1. Revivification des souches.....	17
II.2. Evaluation du potentiel PGPR.....	17
II.2.1. Fixation d'azote atmosphérique.....	18

II.2.2. Solubilisation du phosphore	18
II.2.3. Production des phytohormones : Acide Indole Acétique	19
II.2.4. Production du cyanure d'hydrogène.....	19
II.2.5. Recherche d'activités enzymatiques.....	19

III. Caractérisation du métabolisme bactérien par galerie API20NE

III.1. Préparation de l'inoculum.....	21
III.2. Inoculation de la galerie.....	21
III.3. Lecture des résultats.....	22
III.4. Test d'oxydase	22
III.5. Etude de l'effet des métaux lourds	22
III.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	22
III.7. Production de biofilm	23

CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION25

I. Evaluation de potentiel PGPR25

I.1. Fixation d'azote	25
I.2. Solubilisation de phosphore.....	25
I.3. Production d'Acide Indole Acétique... ..	26

II. Test d'activités enzymatiques d'intérêt28

III. Production d'HCN29

IV. Sensibilité aux métaux lourds30

V. Production de Biofilm31

VI. Sensibilité aux antibiotiques33

VII. Criblage des souches sur la base des propriétés PGPR	34
VIII. Caractérisation biochimique par galerie API20NE.....	35
CONCLUSION.....	38
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
ANNEXES	
RÉSUMÉ	

Introduction

Introduction

L'augmentation rapide de la population mondiale (au rythme de 1,05 % par an) a conduit à l'émergence de la malnutrition chez environ 2,4 milliards de personnes. Pour nourrir la population mondiale croissante, les produits agrochimiques sont utilisés pour augmenter la productivité des cultures dans un but d'agriculture intensive. Cependant, l'utilisation continue et excessive de produits agrochimiques entraîne des effets néfastes tels que l'affaiblissement des racines des plantes, le taux élevé d'incidence des maladies, l'acidification des sols et l'eutrophisation des nappes phréatiques et d'autres masses d'eau (**Babin et al. 2019 ; Daniel et al. 2022**). L'impact de ces produits chimiques n'affectera pas seulement les générations actuelles, mais aussi les générations futures. Il est donc nécessaire de rechercher des approches respectueuses de l'environnement telles que les biofertilisants, qui jouent un rôle majeur dans l'agriculture durable (**Kumar et al., 2018 ; Daniel et al., 2022**).

Les biofertilisants sont largement utilisés pour accélérer les activités microbiennes qui augmentent la disponibilité des nutriments que les plantes peuvent facilement absorber. Ils augmentent la fertilité du sol en fixant le N₂ atmosphérique et en solubilisant les phosphates insolubles dans le sol, ce qui produit des substances chimiques favorisant la croissance des plantes. Ces biofertilisants utilisent le système biologique naturellement disponible, ce qui améliore considérablement la fertilité du sol et, par conséquent, la productivité des cultures (**Aloo et al., 2022**).

Les biofertilisants sont des formulations microbiennes de souches PGPR qui peuvent être immobilisées ou piégées sur des supports inertes afin d'améliorer la croissance des plantes et la fertilité des sols (**Aloo et al., 2022**). L'application de biofertilisants permet d'augmenter le rendement de diverses cultures d'environ 25 % et de réduire l'utilisation d'engrais N et P inorganiques d'environ 25-50 %. Elle permet également d'augmenter la germination des graines, la vigueur des semis, la levée des graines, la croissance des racines et des pousses, la biomasse totale des plantes, le poids des graines et la floraison (**Korir et al., 2023**).

Les biofertilisants sont divisés en groupes en se basant sur leurs fonctions et leurs mécanismes d'action. Les plus couramment utilisés sont les fixateurs d'azote, les solubilisateurs de potassium, les solubilisateurs de phosphore et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (**Daniel et al., 2022**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette présente étude qui a pour objectifs :

-D'évaluer la capacité des souches retenues dans cette étude de fournir les éléments essentiels (N et P) à la croissance des plantes ;

-Rechercher la capacité de production d'agents de stimulation de la croissance des plantes ;

-Recherche de la capacité de ces souches à être utilisées comme agents de biocontrôle ;

Mettre en évidence la capacité de dépollution et de bioremédiation.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les légumineuses

La famille des légumineuses également appelée fabacées (Fabaceae) est la troisième plus grande famille d'Angiospermes (plantes à fleurs), après les céréales en termes d'importance agricole, sur la base de la production en surface totale récoltée. Elle appartient à l'ordre des Fabales et comprend environ 765 genres et 19500 espèces (**Lewis et al., 2005 ; Han, S et al 2020**).

Les légumineuses sont classées en six sous-familles : *Caesalpinioideae* DC., *Duparquetioideae* LPWG, *Cercidoideae* LPWG, *Detarioideae* LPWG, *Dialioideae* LPWG, et *Papilionoideae*. DC. (**LPWG, 2017**). Les *Papilionoideae* constituent l'une des plus grandes sous-familles, avec 28 tribus, 476 genres et 13 860 espèces, qui sont les plus diversifiées et les plus largement distribuées (**Gepts et al., 2005**).

Les légumineuses de la tribu des *Vicieae* (syn. *Fabeae*) appartiennent à la sous-famille des *Papilionoideae*, cette dernière regroupe diverses espèces de plantes herbacées annuelles, réparties en cinq genres : *Lathyrus* L. (gesse/pois doux), *Lens* L (lentilles), *Pisum* L.(pois), *Vicia* L. (vesces,) et le genre monotypique *Vavilovia* Fed. (**Smýkal et al., 2011 ; Han, S et al 2020**) .

Parmi les cinq genres, *Pisum* L compte 3 espèces à savoir le pois (*Pisum sativum*), une plante annuelle de la famille des Fabacées (*Fabaceae*) qui se présentent généralement sous la forme de pois cassés. Elle est considérée comme la deuxième légumineuse la plus cultivée au monde (**Agrios 1988 ; Sirwaiya 2015**).

Lens L compte 4 espèces, représenté par *Lens culinaris* comme espèce cultivée la plus connue comme produit principale alimentaire dans de nombreuses parties du monde (**Erskine et al., 2011**). *Lens culinaris* a été cultivée pour la première fois au Proche-Orient il y a plus de 8500 ans et s'est depuis propagée à la Méditerranée, certaines régions d'Asie et à ensuite a été introduit en Amérique du Nord dans les années 1900 (**Oplinger et al., 1990**). Elle est riche en tannins, la catéchine et les procyanidines ainsi que les flavonoïdes, tels que les glycosides de flavonols et les flavones, qui ont été identifiés dans le tégument de la graine (**Vidal-Valverde et al., 1994 ; Dueñas et al., 2002, 2003**).

Lathyrus L comprend 150 espèces selon **Kupicha (1983)** dont certaines ont une importance économique en tant que plantes vivrières, fourragères et ornementales (principalement *L. sativus*, *L. cicera* et *L. odoratus*, respectivement), *L. sativus* (pois à gazon) est l'espèce de *Lathyrus* cultivées la plus importante comme culture vivrière et a été centrale pour l'alimentation animale ou le fourrage depuis l'Antiquité (**Vaz Patto et al., 2014**).

Le genre *Vicia* regroupe environ 120 espèces réparties dans l'hémisphère Nord tempéré et l'Amérique du Sud, cultivé pour la première fois entre l'Afghanistan et l'Est méditerranéen, elle s'est ensuite développée en direction de l'Afrique du Nord, de l'Asie Centrale, de l'Europe Centrale et Occidentale (**Duc, 1997**).

Les légumineuses présentent de nombreuses fonctionnalités nutritionnelles et technologiques pour l'industrie agroalimentaire, elles jouent un triple rôle dans la protection des sols contre l'érosion, le contrôle des mauvaises herbes et ont également de nombreux avantages agro-environnementaux à travers l'amélioration et le maintien de la fertilité des sols grâce à leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les microorganismes du sol (**Akakpo et al., 2001 ; Ben Friha., 2021**). En produisant des semences et des aliments de haute qualité, la culture de légumineuses peut augmenter les revenus des exploitations agricoles en particulier la quantité d'engrais nécessaire ; elles se distinguent aussi par leur forte teneur en fibres alimentaires (*Pisum sativum*) (**Carsky et al., 2003**).

Les espèces des genres *Lathyrus* et *Vicia* occupent déjà des niches particulières dans les systèmes agricoles en raison de leur adaptation à l'environnement, un large éventail de conditions et de leur capacité à pousser là où d'autres légumineuses alimentaires et fourragères traditionnelles ne conviennent pas (**Izverscaia, 2020**).

II. La Rhizosphère

La rhizosphère, terme employé pour la première fois en 1904 par Hiltner, dérive d'un mot grec « rhizo » signifie racine et « sphère » signifie champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). La rhizosphère correspond à la zone du sol soumise à l'influence des racines (**Cregut, 2009**). Cette partie du sol est le siège des interactions mutuelles entre le sol, les micro-organismes et la plante (**Kirdi, 2011**). Elle peut être définie comme la partie du sol qui est adjacente au système racinaire d'une plante et qui est influencée par les exsudats racinaires (**Manoharachary et Mukerji, 2006**) où les racines libèrent une grande quantité de métabolites à partir des poils absorbants ou de système racinaire fibreux. La racine de la plante a un large

effet sur les caractéristiques du sol à savoir le pH, potentiel d'oxydoréduction et apportent de nombreux éléments via les exsudats racinaires (Alabouvette et al., 2018).

La rhizosphère comporte trois composantes distinctes (Figure 1) : l'endorhizosphère, le rhizoplan et l'ectorhizosphère (Gray et Smith., 2005).

L'endorhizosphère : représente les parties du cortex et l'endoderme dans lesquelles les microorganismes et les cations occupent l'espace libre entre les cellules.

Le rhizoplan : représente la zone médiane directement adjacente à la racine, y compris l'épiderme racinaire et le mucilage.

L'ectorhizosphère : représente la zone extérieure associée au rhizoplan (McNear, 2013).

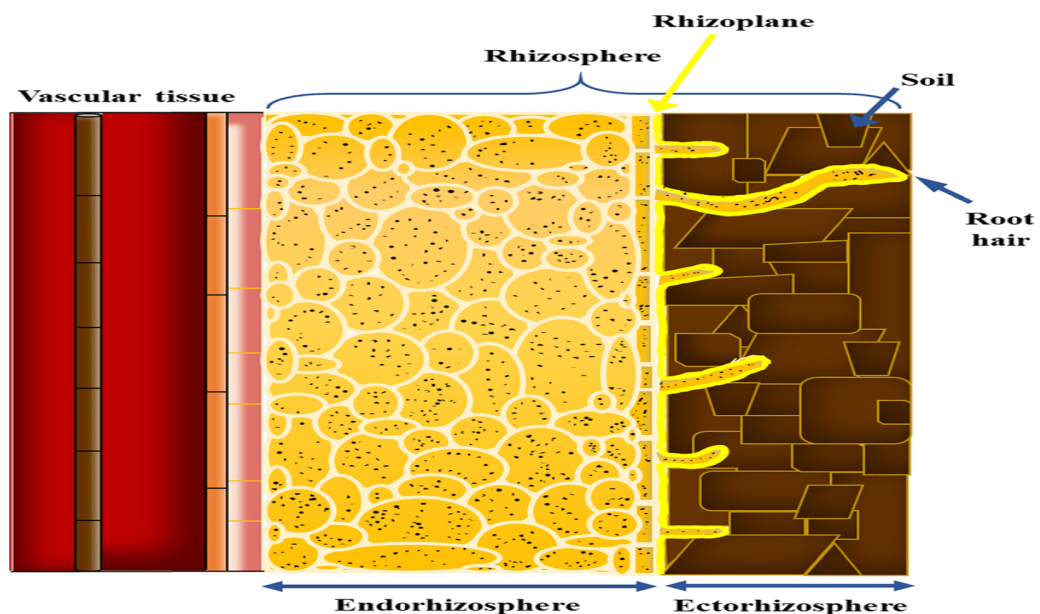


Figure 1 : Structure de la rhizosphère (McNear, 2013)

III. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) peuvent être classées de plusieurs manières (figure 2), Par exemple, sur la base de leur interaction avec les plantes, les PGPR peuvent être divisées en bactéries symbiotiques et en rhizobactéries libres. Leur classification est également influencée par leur lieu de résidence ; les PGPR intracellulaires (iPGPR), illustrées par *Rhizobia sp.* et *Frankia sp.* habitent les cellules des plantes, forment des nodules et sont localisées dans des structures spécialisées. Au contraire, les PGPR extracellulaires (ePGPR) habitent l'environnement externe des cellules végétales, ne forment pas de nodules

mais favorisent néanmoins activement la croissance de la plante. En outre, les PGPR sont classées selon leurs rôles fonctionnels en quatre catégories : biofertilisants (amélioration de la disponibilité des nutriments pour les plantes), phytostimulateurs (facilitation de la croissance des plantes, souvent par la production de phytohormones), rhizoremédiateurs (participation à la décomposition des polluants organiques) et biopesticides (aide à la lutte contre les maladies, principalement par la synthèse d'antibiotiques et de métabolites antifongiques) (**Ghosh et al., 2024**).

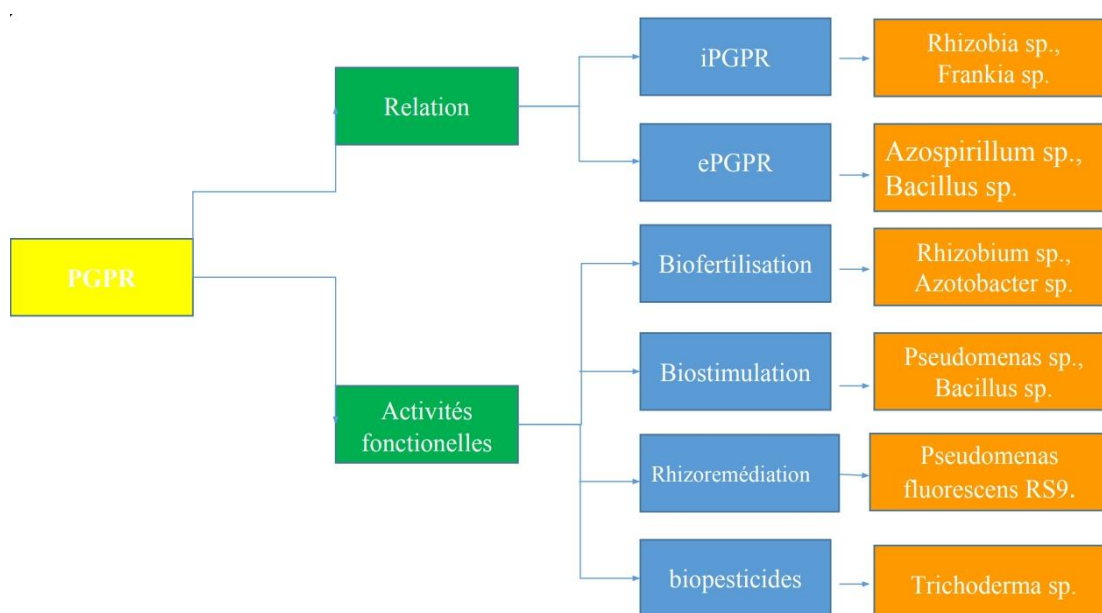


Figure 2 : Classification des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Ghosh et al., 2024)

Selon **Tilak et al. (2005)**, les souches de PGPR appartiennent généralement à cinq taxons principaux : *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes* et *Proteobacteria*. Il est rapporté que les PGPR les plus couramment étudiées de ces taxons sont *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, et *Serratia* (Bhattacharyya et Jha, 2012 ; Arora, 2015 ; Verma et al. 2019).

Selon **Gray et Smith. (2005)**, les PGPR sont divisées en quatre catégories en fonction de leur niveau d'association avec les racines des plantes : (i) celles qui vivent à proximité des racines, (ii) celles qui vivent à la surface des racines (bactéries colonisant le rhizoplan), (iii) celles qui résident dans les tissus racinaires (espaces entre les cellules corticales) et (iv) celles qui vivent à l'intérieur des cellules des structures racinaires spécialisées ou des nodules. Sur la

base de ces associations, les PGPR peuvent être divisées en deux groupes principaux : (i) extracellulaires (ePGPR) ou rhizosphériques et (ii) intracellulaires ou endophytiques (iPGPR) (Vessey 2003 ; Santoyo et al., 2016).

Les iPGPR existent à l'intérieur des cellules végétales, dans des structures nodulaires spécialisées. Les Rhizobia et les Frankia sont les membres les plus étudiés de ce groupe (Gopalakrishnan et al., 2015). Ces deux groupes de bactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique de manière symbiotique avec des plantes supérieures et sont largement étudiés en tant que promoteurs de la croissance des plantes symbiotiques (Ahemad et Kibret, 2014). Les rhizobia présentent diverses activités PGP, mais la fixation biologique de l'azote (BNF) est la plus importante (Arora et al., 2017). Les rhizobia sont connus comme symbiotes des légumineuses avec 238 espèces et 18 genres, appartenant à 3 classes différentes : α -protéobactéries (*Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Ensifer*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, *Shinella*, *Allorhizobium*, *Pararhizobium*, *Aminobacter*, *Blastobacter*, *Photorhizobium*), β -protéobactéries (*Burkholderia* et *Cupriavidus*), et γ -protéobactéries (*Pseudomonas*) (Berrada et Fikri-Benbrahim, 2014). Frankia forme des nodules racinaires chez 200 espèces de plantes ligneuses non légumineuses (24 genres d'angiospermes dans 8 familles différentes) (Franche et al., 2011 ; Verma et al. 2019).

Les ePGPR améliorent la croissance des plantes par divers mécanismes et sont connues pour être des producteurs efficaces de divers métabolites secondaires qui agissent comme de puissants agents PGP (Gray et Smith, 2005). Ces rhizobactéries qui vivent en liberté, Sont essentiellement, *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Serratia* et *Xanthobacter*, ont une grande importance pour l'agriculture (Bhattacharyya et Jha, 2012 ; Verma et al., 2019).

III.1. Les caractéristiques d'un PGPR idéal pour la bioinoculation

Selon Vejan et al. (2016), pour introduire un PGPRs dans la fabrication des inoculant, elle doit répondre à certains critères à savoir :

- Hautement rhizosphère-compétent et respectueux de l'environnement.
- La colonisation les racines des plantes en nombre significatif lors de l'inoculation.

- Le pouvoir de favoriser la croissance des plantes.
- Avoir un large éventail d'actions.
- Être compatible avec d'autres bactéries de la rhizosphère.
- Être tolérant aux facteurs physico-chimiques comme la chaleur, la dessiccation, les radiations et les oxydants.
- Démonstration de meilleures compétences concurrentielles par rapport aux communautés rhizobactériennes existantes.

III.2. Modes d'action des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

Les mécanismes par lesquels les bactéries peuvent influencer la croissance des plantes diffèrent selon les espèces et les souches, les PGPR affectent la croissance des plantes de deux manières différentes, indirectement ou directement (figure 3). La promotion directe de la croissance des plantes par les PGPR consiste à fournir à la plante les ressources qui lui font défaut. Cela permet d'augmenter le rendement de la plante. Les moyens biologiques de fournir des nutriments tels que l'azote et le phosphore sont idéaux par rapport aux sources chimiques qui sont coûteuses et entraînent des risques pour l'environnement, ou par le biais de composés synthétisés par la bactérie, par exemple les phytohormones. Indirectement, les bactéries peuvent exercer une influence positive sur la croissance des plantes en atténuant certains effets délétères d'un organisme pathogène par la production de substances antagonistes (Jeyanthi et Kanimozhi, 2018).

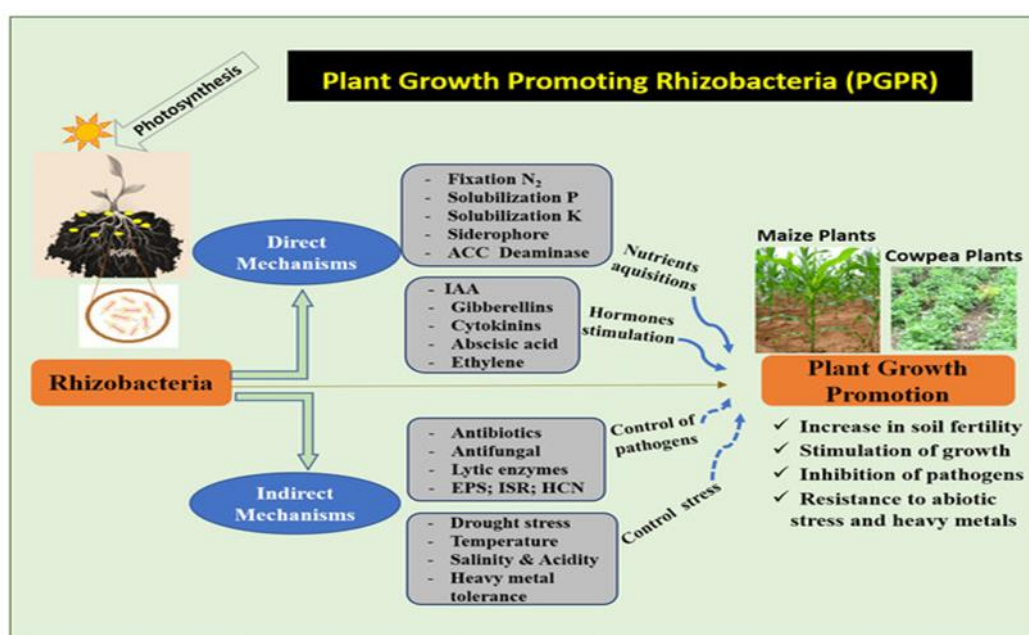


Figure 3 : Modes d'action des PGPRs (Agbodjato et al., 2024)

III.2.1. Mode direct

- **Fixation d'azote**

L'azote, qui est un facteur limitant primaire dans l'agriculture, est déficient en raison de divers facteurs environnementaux. 65% de l'azote utilisé en agriculture est obtenu par fixation biologique de l'azote atmosphérique. Les souches de PGPR jouent un rôle majeur dans la ce phénomène en rendant l'azote assimilable par les plantes. Les PGPR suivent deux mécanismes de fixation de l'azote. Dans le cas de la fixation symbiotique de l'azote, les cultures de légumineuses subissent une fixation biologique de l'azote par le biais d'une association symbiotique avec des bactéries et répondent à leurs propres besoins sans dépendre de sources externes (**Bhattacharyya et Jha, 2012**). Les bactéries symbiotiques qui agissent en tant que PGPR sont *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* avec les plantes légumineuses, *Frankia* avec les arbres et arbustes non légumineux. Les fixateurs d'azote à vie libre, qui sont non symbiotiques survivent près des racines sans pénétration, l'azote fixé qui est acquis par l'absorption contribuent au compte d'azote des plantes (**Goswami et al., 2016**). Les bactéries rhizosphériques fixatrices d'azote non symbiotiques appartiennent à des genres tels que *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* et les cyanobactéries, *Anabaena*, *Nostoc* (**Jeyanthi et Kanimozhi, 2018**).

- **Solubilisation de phosphore**

Le phosphore est un autre nutriment essentiel et les plantes en besoin en quantité adéquate pour une croissance optimale. Cependant, il est présent principalement sous des formes insolubles et n'est donc pas en mesure de soutenir les plantes. Ainsi, tant chez les PGPB que chez les champignons favorisant la croissance des plantes, tels que les mycorhizes, la solubilisation et la minéralisation du phosphore sont des caractéristiques importantes. Inversement, la synthèse d'une variété de phosphores, catalysant l'hydrolyse des esters phosphoriques, provoque la minéralisation du phosphore organique. Il est important de noter que la solubilisation et la minéralisation du phosphate peuvent coexister dans la même souche bactérienne (**Tao et al., 2008**).

Kundan et al. (2015) la solubilisation des phosphates insolubles par les micro-organismes est associée au détachement d'acides organiques qui sont souvent combinés à d'autres métabolites, comme ils l'ont constaté in vitro, que le potentiel de solubilisation du phosphate par les micro-organismes est directement lié à la production de sidérophores, d'enzymes lytiques et de phytohormones.

Les bactéries solubilisatrices de phosphate sont des bactéries bénéfiques capables d'hydrolyser le phosphore inorganique en phosphore organique soluble qui est absorbé sous forme de phosphore organique soluble qui est absorbé comme nutriment par les plantes. Les PSB les plus efficaces appartiennent aux genres *Bacillus*, *Rhizobium* et *Pseudomonas* (**Kundan et al., 2015**).

- **Solubilisation de potassium**

Le potassium est parmi les trois éléments nutritifs essentiels pour la plante. Étant donné que plus de 90% existe déjà sous forme de roches insolubles et de silicates minéraux, la teneur en potassium soluble du sol est souvent assez faible (**Hasan A et al., 2024**). De nombreux microorganismes peuvent solubiliser le potassium (K) dans le sol et interagir étroitement avec les plantes, en particulier les espèces bactériennes et fongiques (**Setiawati et al., 2016**). *Acidotherobacillus* sp, *Bacillus edaphicus*, *Ferrooxidans* sp, *Bacillus mucilaginosus*, *Pseudomonas* sp. et *Burkholderia* sont parmi les PGPR qui peuvent dissoudre le potassium (**Prajapati et al., 2013**).

Selon des recherches sur les effets des PGPR solubilisant le K produisent des acides organiques qui rendent le potassium plus disponible, ce qui aide les plantes à croître, en augmentant l'acidité de la rhizosphère du sol par la production d'acides organiques tels que l'oxalate, du citrate acide, de l'acétate, de l'acide férulique et de l'acide coumarique. Cela accélère la vitesse à laquelle les minéraux se dissolvent et génèrent des protons, entraînant la solubilisation du potassium (**Hasan et al., 2024**). Par conséquent, les scientifiques ont conclu que le PGPM, comme le PSB, pourrait être un engrais organique efficace, améliorant l'accessibilité des nutriments végétaux et permettant une utilisation moindre des engrais artificiels (**Khan et al., 2019**).

- **Production des sidérophores**

Le fer est un nutriment essentiel pour les plantes. Il agit comme cofacteur dans un certain nombre d'enzymes essentielles pour des processus physiologiques importants tels que la respiration, la photosynthèse et la fixation de l'azote (**Goswami et al., 2016**). Dans le milieu aérobie, le fer se présente principalement sous forme de Fe^{3+} et est susceptible de former des hydroxydes insolubles et des oxyhydroxydes, ce qui le rend généralement inaccessible aux plantes et aux microorganismes (**Rajkumar et al., 2010**).

Selon **Goswami et al. (2016)**, certaines espèces bactériennes favorisant la croissance des plantes (PGPB) acquièrent le fer par sécrétion de chélateurs de fer à faible poids

moléculaire, généralement inférieurs à 1 kDa, appelés sidérophores, et qui contiennent des groupes chimiques fonctionnels, capables de lier le fer de manière réversible (figure 4). Les groupes fonctionnels les plus fréquents sont l'hydroxamates et les catéchols.

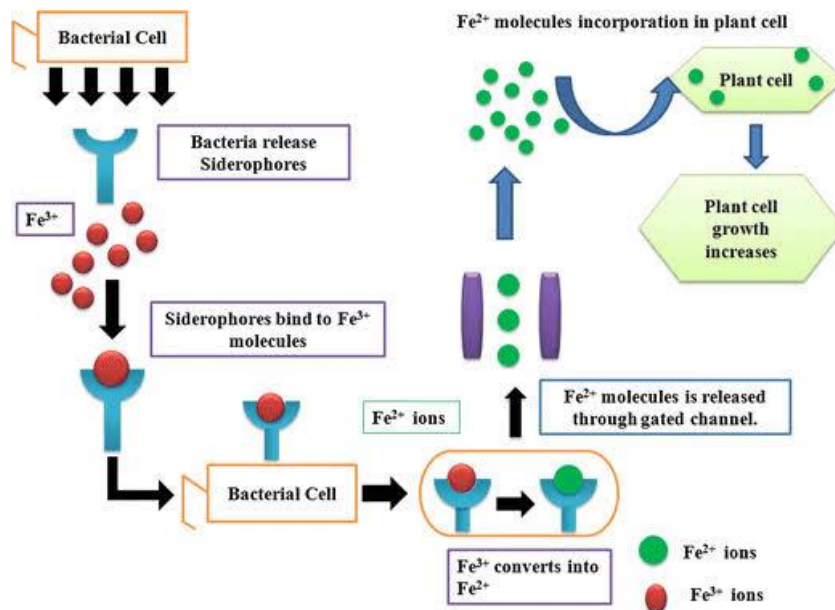


Figure 4 : Processus de séquestration du fer (Jia Du et al., 2020)

Les principales espèces bactériennes à Gram-négatif possédant des sidérophores appartiennent à *Enterobacter* et *Pseudomonas*. En revanche, seulement 2 % des espèces à Gram positif, comme *Bacillus* et *Rhodococcus* peuvent faire de même (Czames et al., 2020).

Les rhizobactéries productrices de sidérophore améliorent la santé des plantes à divers niveaux: ils améliorent la nutrition en fer, inhibent la croissance des pathogènes en limitant le fer disponible et généralement des champignons, qui sont incapables d'absorber le complexe fer-sidérophore (Shen et al., 2013). Par conséquent, la production de sidérophores est un mécanisme de contrôle biologique important, car elle concurrence les phytopathogènes nocifs pour les ressources en fer, en les empêchant d'y accéder (Khoshru et al., 2020).

- **Production des phytohormones**

Les PGPR produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène qui peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2017).

Les PGPR jouent un rôle crucial en influençant la croissance des plantes par la sécrétion de phytohormones. Parmi celles-ci, l'auxine, l'éthylène, la cytokinine, les gibbérellines et l'acide abscissique sont notables (**Ghitri, 2018**). Ces phytohormones peuvent servir de médiateurs aux processus, y compris à l'élargissement, la division et l'extension des cellules dans les racines symbiotiques et non symbiotiques (**Glick, 2014**).

L'acide indole acétique (AIA) est l'auxine prédominant dans le développement végétal, stimulant particulièrement l'élongation racinaire et augmentant le flux des exsudats racinaires (**Grobelak, 2015 ; Luo, 2018**). Elle est une phytohormone importante ; produite par plusieurs souches de PGPR et elle est bien connue pour le traitement de la croissance des plantes (**Vessey, 2003 ; Kaymak, 2011 ; Amara, Khalid et Hayat, 2015**).

III.2.2. .Mode indirect (Biocontrôle)

- **L'antibiose**

L'antibiose consiste en une inhibition directe de la croissance d'un pathogène par la production des antibiotiques ou des métabolites ayant des propriétés antimicrobiennes (**Dong et al., 2002**). Les PGPR jouent un rôle crucial dans la prévention de la propagation de bactéries pathogènes. L'une des capacités les plus prometteuses étudiées en sciences végétales au cours des 20 dernières années a été la production d'antibiotiques par PGPR pour repousser de nombreux agents pathogènes d'origine végétale (**Ulloa Ogaz et al., 2015**).

Les espèces de *Pseudomonas* produisent une large gamme d'antibiotiques tels que l'oomycine A, le cépaciamide A, les écomycines et la viscosine, la pyrrolnitrine, le 2,4-diacétylphloroglucinol, les rhamnolipides et la pyolutéorine. Tandis que, les espèces de *Bacillus* produisent un certain nombre d'antibiotiques lipopeptidiques tels que, la surfactine et la bacillomycine. La production des antibiotiques est un critère très important de compétitivité des microorganismes contre les autres populations microbiennes (**Compant et al., 2005**).

- **Induction de la résistance systémique (RSI)**

L'interaction de certaines rhizobactéries avec les racines des plantes peut entraîner une résistance des plantes contre certaines bactéries pathogènes, champignons et virus. Ce phénomène est appelé résistance systémique induite (RSI) (**Lugtenberg et Kamilova, 2009**). Selon **Conrath et al. (2015)**, la résistance systémique induite par les PGPR désigne la capacité défensive des plantes en réponse à divers agents pathogènes

L'induction des systèmes de résistance chez les plantes a été démontrée pour la première fois par **Kempe et Sequira (1983)**, qui a remarqué un effet protecteur anti *P. solanacearum* du prétraitement des tubercules de pomme de terre avec des bactéries.

La résistance systémique induite se manifeste par différents mécanismes de défense, tels qu'une augmentation de l'activité de la β -1,3 glucanase, de la chitinase et de la peroxydase, ainsi que l'accumulation de substances antimicrobiennes de faible poids moléculaire telles que les phytoalexines et la formation de biopolymères protecteurs tels que la lignine, la callose et les glycoprotéines (**Archana et al., 2011**). **Toral et al. (2020)** ont rapporté que certaines PGPR, tels que *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* sp induisent une résistance systémique induite en produisant des peptides antimicrobiens qui contrôlent l'infection par des phytopathogènes (par exemple, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Alternaria*, *Ralstonia*, *Phytophthora* et *Botrytis*).

- **Effet phytoprotecteur des sidérophores : compétition pour le fer**

L'utilisation de la production de sidérophores par les PGPR contre les phytopathogènes est étudiée depuis longtemps et a une portée considérable dans les pratiques agricoles durables (**Tatung et Deb, 2023**).

Les sidérophores sécrétés par les PGPR par rapport à ceux produits par les champignons ou la plante sont considérés comme ayant une affinité beaucoup plus élevée pour séquestrer le fer (**Shah et al., 2021**). La compétition pour le Fer est l'un des modes d'action par lequel *Pseudomonas fluorescens* limite la croissance des champignons pathogènes et réduit l'incidence et la gravité des maladies, Dans des conditions de carence en fer, elle produit des sidérophores (*pyoverdine/pseudobactine*), qui présentent une affinité plus élevée pour le fer que les sidérophores fongiques (**Sayyed et al., 2012**).

- **Production d'enzymes hydrolytiques**

Les enzymes extracellulaires revêtent une importance capitale dans le cycle des nutriments, assurant ainsi l'approvisionnement en éléments nutritifs pour les plantes (**Dahdah et al., 2022**). Selon **Sharma et al. (2020)**, ces enzymes jouent un rôle majeur dans le contrôle écologique des pathogènes du sol, agissant comme un mécanisme clé de protection des plantes contre les champignons invasifs à savoir *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* et *Phytophthora* sp.

Certains PGPR produisent des enzymes telles que des chitinases, des protéases, des lipases, des phosphatases, des cellulases, des β -glucanases ainsi que d'autres enzymes capables

de lyser les parois cellulaires de nombreux champignons pathogènes de plantes (**Shah et al., 2021**). Des espèces bactériennes telles que *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* et *Serratia marcescens* peuvent sécréter des enzymes hydrolytiques pour contrôler les pathogènes des plantes (**Jadhav et Sayyed, 2016**).

D'autre part, lorsque les plantes sont soumises à différents types de stress, elles produisent des espèces réactives de l'oxygène (ROS), liées aux dommages cellulaires oxydatifs. Par conséquent, certains microorganismes peuvent produire un système de défense antioxydant pour les plantes ; comme la production d'enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la peroxyde dismutase (POD) produites par certains genres de PGPR (**Himabindu et al., 2016 ; Khan et al., 2019**).

- **Production des cyanures d'hydrogène**

Les rhizobactéries peuvent produire des substances organiques volatiles qui inhibent la croissance des agents phytopathogènes telluriques tels que les champignons (**Wheatley, 2002**). Le cyanure d'hydrogène (HCN) est un métabolite secondaire qui fait partie des cyanides. Il peut être produit directement à partir de la glycine ou des glycosides cyanogènes (**Bakker et Schippers., 1987**), il assure également un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines (**Defago et Haas, 1990**). Il est reconnu comme agent de biocontrôle en raison de sa toxicité envers les agents pathogènes des plantes, parmi les genres bactériens pouvant produire du HCN, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Rhizobium* et *Pseudomonas* sont les plus fréquents (**Alemu, 2016**).

- **L'activité de L'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC)**

L'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) est le précurseur de la phytohormone éthylène, qui est produite naturellement chez les plantes (**Etesami et al., 2015**), mais le niveau endogène d'éthylène fortement augmenté à cause de stress abiotique comme la salinité, la sécheresse, l'engorgement, les métaux lourds et la pathogénicité, peut nuire à la croissance globale des plantes et réduire leur rendement (**Saleem et al., 2007 ; Bhattachar-yya et Jha, 2012**). Ces teneurs élevées en éthylène peuvent même entraîner la mort des plantes (**Duraivadivel et Sharma, 2018**).

Il a été largement rapporté que l'ACC désaminase se trouve dans de nombreuses espèces microbiennes de genre *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* et

Rhizobium (Gamalero et Glick, 2015). Ces rhizobactéries absorbent le précurseur de l'éthylène, l'ACC, et ils le convertissent en 2-oxobutanoate et en NH₃ (Arshad et al, 2007).

- **Résistance aux métaux lourds**

De point de vue biologique, on distingue deux types de métaux lourds : les métaux essentiels et les métaux toxiques, ils influencent négativement sur les microorganismes en affectant leurs croissances, leurs morphologies et leurs activités ainsi que la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (Gusmao-Lima et al., 2005). Ainsi, ils réduisent la taille des populations des rhizobiums et affectent irréversiblement leur croissance et leur performance symbiotique (Koomen et al., 1990).

Les PGPRs peuvent neutraliser la toxicité de ces métaux grâce à des groupes fonctionnels chargés négativement présents dans leur paroi cellulaire. Ces groupes fonctionnels permettent des interactions avec des ions métalliques positifs, un phénomène connu sous le nom de biosorption des métaux (Syed et Chinthala, 2015) ont rapporté dans leur étude que les souches de *Bacillus* présentaient un niveau significatif de biosorption du plomb. De même, Wani et Khan (2014) ont montré que le *Bradyrhizobium* peut être utilisé pour favoriser la croissance des plantes, ainsi que pour la détoxification des métaux lourds dans les sols pollués par ces métaux.

- **Production de biofilm**

Les biofilms sont des structures complexes des cellules microbiennes fixées à une surface et entourées d'une matrice de polymères extracellulaires appelés exopolysaccharides (Souza et al., 2015), possédant le pouvoir de fournir une protection importante contre les agressions extérieures et stress, car ils agissent comme une barrière protectrice qui empêche la pénétration d'agents pathogènes, en libérant un large éventail d'enzymes et par la réduction de la compétition microbienne (Kasim et al., 2016).

Les PGPRs ont une forte capacité à se fixer aux systèmes racinaires des plantes lorsqu'ils forment un biofilm (Gupta et al., 2017). Selon Pandin et al. (2017), les PGPR organisés en biofilm produisent des quantités remarquablement plus élevées de composés antimicrobiens que les PGPR planctoniques, ce qui entraîne la suppression des phytopathogènes.

- **Gestion de stress abiotique**

Le stress causé par la salinité et les températures élevées est le facteur majeur qui entrave la croissance et la productivité des plantes et cause plus de 30 % de perte de récolte (**Vejan et al., 2016**). Des études antérieures ont rapporté que les produits agricoles des cultures les plus économiques, comme le riz, le maïs, le blé et l'orge, sont réduits de 70 % en raison du stress salin (**Etesami et Beattie, 2018**).

Dans le contexte d'optimisation de la croissance des plantes dans des conditions de stress, l'utilisation de microorganismes bénéfiques attire l'attention des chercheurs du monde entier pour promouvoir une agriculture durable (**Agbodjato et al., 2022 ; Yadav et Sarkar, 2019**). Grâce à leurs mécanismes d'action, les PGPR peuvent améliorer les rendements des cultures dans des conditions stressantes et non stressantes (**Kálmán et al., 2023 ; Noumavo et al., 2016**).

Il existe plusieurs espèces de HT-PGPR, notamment *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arhrobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Microbacterium*, *Ochromobacte*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Streptomyces*, qui améliorent la production agricole et atténuent le stress salin chez les plantes cultivées (**Arora et al., 2020**).

Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

I. Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude (Tableau I) proviennent de la collection du Laboratoire d'Ecologie Microbienne. Elles ont été isolées à partir des nodules de différentes espèces appartenant aux genres *Vicia*, *Lathyrus* et *Pisum*.

Tableau I : Matériel biologique utilisé

Souches	Codes	Plante d'origine
BT2	1	<i>Vicia sp.</i>
HG1	2	<i>Vicia sp.</i>
RLV	3	<i>Pisum sativum</i>
K9	4	<i>Vicia sp.</i>
BV2	5	<i>Vicia sp.</i>
H10	6	<i>Vicia sp.</i>
MEK6	7	<i>Vicia faba</i>
JR1	8	<i>Vicia sp.</i>
EC6	9	<i>Vicia faba</i>
LV1	10	<i>Vicia sp.</i>
SV1	11	<i>Vicia sp.</i>

II. Méthodes

II.1. Revivification des souches

Les souches bactériennes retenues dans cette étude ont fait l'objet de revivification par repiquage sur gélose YMA inclinée suivi d'une incubation à 28°C pendant 72h. Après vérification de la croissance, des précultures sur bouillon nutritif ont été préparées.

II.2. Evaluation du potentiel PGPR

Afin d'évaluer le pouvoir promoteur de la croissance des plantes, les souches ont subi une série de tests d'activités d'intérêt à savoir la fixation d'azote, la solubilisation du phosphore, la production de phytohormones et la production de composés organiques volatiles (COV).

II.2.1. Fixation d'azote atmosphérique

Le test de fixation d'azote atmosphérique est réalisé sur le milieu NFMM (Nitrogen Free Malate Mannitol Medium) exempt de source d'azote combiné et additionné du bleu de bromothymol (Annexe I). Les boîtes de Pétri contenant le milieu NFMM ont été inoculées en spots de 10µl de chaque suspension bactérienne puis incubées pendant 72h à 28°C. La capacité de fixation de l'azote atmosphérique se manifeste par l'apparition d'un virage de couleur de l'indicateur utilisé (**Herman et al., 1994**).

II.2.2. Solubilisation du phosphore

La capacité des souches à solubiliser le phosphore a été évaluée par les deux tests décrits ci-dessous :

- Mise en évidence de la solubilisation (Test qualitatif)

La solubilisation du phosphate a été réalisée sur le milieu Pikovskaya (PVK) (Annexe I) contenant 0.5% de phosphate tricalcique (Ca_3PO_4) comme source de phosphate insoluble (Kumar et al., 2005). Le milieu PVK a étéensemencé en spot et à raison de 10µl à partir des précultures obtenues sur bouillon YMB (Annexe I) et dont la densité optique à 600nm a été ajustée 0.1. Après incubation à 28°C pendant 14jours, la solubilisation du phosphore se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

- Dosage du phosphore solubilisé (test quantitatif)

Les souches présentant un indice de solubilisation important (avec $\text{IS} \geq 2$) ont été retenues pour l'évaluation quantitative du pouvoir solubilisant par la méthode colorimétrique sur milieu liquide NBRIP (*National Biotechnologies Research Institute of Phosphate growth medium*) (Annexe I). Ainsi, 9ml de milieu liquide NBRIP sont inoculés avec 500µl d'une suspension bactérienne d'une densité optique de 0.1 à 600nm. Après incubation pendant 7jours à 28°C sous agitation modérée de 180 rpm, le contenu des tubes a été centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 min (**Dipak et al., 2016**). Le surnageant a ensuite été récupéré dans des tubes à essai, dans lesquels sont ajoutés 800µl d'un mélange réactionnel (acide ascorbique à 10% et tartrate de potassium et d'antimoine à 26,6%), 1 ml de molybdate d'ammonium (0,96%) et 1 ml d'acide sulfurique (4M) (Annexe II). Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 min, la quantification du phosphate solubilisé a été réalisée par colorimétrie à 890 nm par soustraction de la quantité de phosphate d'un milieu témoin de la quantité contenu dans un milieu inoculé en se référant à une courbe d'étalonnage établie en

utilisant du phosphate assimilable (K_2HPO_4) à différentes concentrations (**Harwood et al., 1969**).

II.2.3. Production des phytohormones : Acide Indole Acétique

La mise en évidence de la production d'acide indole acétique (AIA) a été réalisée par la méthode de Salkowski (**Gordon et weber, 1951**) qui consiste à inoculer des tubes de bouillon YEM (Annexe I) additionné de L-Tryptophane (500µg/ml) avec les suspensions bactériennes ; après incubation à 28°C pendant 72H, les cultures ont été centrifugées à 4000tr/min pendant 20 min. Le surnageant a été récupéré et mélangé avec le réactif de Salkowski avec un ratio de 1:4 (v/v) (Annexe II), les mélanges ont ensuite été incubés à l'obscurité pendant 20 minutes et la DO a été mesurée à 535 nm.

Afin de quantifier la concentration d'AIA produite, une courbe d'étalonnage a été établie en préparant des concentrations connues d'AIA (0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 25 ; 30 ; 35 ; 40 ; 45 et 50 µg/ml) dans un bouillon YEM et mélangé avec du réactif de Salkowski avec un ratio de 1:4 (v/v) (**Madhuri, 2011**).

II.2.4. Production du cyanure d'hydrogène

Chacune des 11 souches a été cultivée sur des boîtes de milieu TSA (Annexe I) additionné de 4.4g/l de glycine. Un papier filtre imbibé d'une solution d'acide picrique (0.5% d'acide picrique et 2% de carbonate de sodium) a été mis sous le couvercle des boîtes. Après incubation à 28°C pendant 4jours, le changement de couleur sur le papier filtre (couleur brune) implique une production d'HCN (**Sheng Jun Xu et Byung Sup Kim, 2014**).

II.2.5. Recherche d'activités enzymatiques

Ce test consiste à mettre en évidence quelques activités enzymatiques à savoir la cellulase, protéase, pectinase, estérase, lipase, lécithinase, amylase, hémolysine par la méthode des spots.

- Test de production de cellulase

Le milieu de culture YMA (Annexe I) où le mannitol a été substitué par la cellulose a été ensemencé en spot et à raison de 10µl à partir d'une préculture dont la DO_{600nm} a été ajustée à 0.1, puis incubé à 28°C pendant 72heures. Après incubation, les boîtes ont été inondées avec une solution de Lugol pendant 15 min. L'apparition d'un halo clair autour des colonies est considérée comme une activité cellulase positive (**Teather RM et al., 1982**).

- Production de protéase

La production de protéases a été mise en évidence sur le milieu YMA (Annexe I) additionné de 2 ml de lait écrémé stérile. Après ensemencement en spot et à raison de 10µl à partir d'une préculture dont la DO_{600nm} a été ajustée à 0.1 suivi d'une incubation à 28°C pendant 72 heures, l'apparition d'un halo clair autour des colonies indique la présence d'une activité protéolytique (**Kumar RS et al., 2005**).

- Production de pectinase

La mise en évidence de l'activité pectinolytique a été effectuée sur le milieu YMA où le mannitol a été substitué par la pectine. Après ensemencement et incubation dans les mêmes conditions décrites dans les tests précédents les boîtes ont été inondées d'une solution d'HCl 2M. L'apparition d'un halo clair autour des spots représente une activité pectinase positive (**Cattelan et al., 1999**).

- Production de l'estérase

La recherche de l'estérase a été réalisée sur des boîtes contenant le milieu nutritif solide de Sierra additionné de Tween 80 (Annexe I). L'apparition d'un halo opaque autour des spots après incubation pendant 5 jours à 28 °C, indique la présence d'une estérase (**Sierra, 1957**).

- Production de lipase

La mise en évidence de l'activité lipolytique a été réalisée sur la gélose trypticase soja additionnée de Tween 80. Après ensemencement en spot à raison de 10µl à partir d'une préculture dont la DO_{600nm} a été ajustée à 0.1 et incubation à 28°C pendant 3 jours, l'apparition des zones opaques entourant les colonies indique une activité lipolytique positive (**Lanyi et al. 1987**).

- Production de lécithinase

L'activité lécithinase a été mise en évidence dans des boîtes de Pétri contenant le milieu basal additionné de jaune d'œuf (à 20%) (Annexe I). Après ensemencement en spot comme décrit précédemment, les boîtes ont été incubées à 28 °C pendant 48h, l'apparition de zone opaque autour des colonies indique une activité lécithinase positive (**Djuric et al., 2011**).

- Activité amylolytique

La recherche de l'activité amylolytique a été effectuée sur une gélose à base d'amidon (Annexe I). Les boîtes de Pétri ensemencées en spot et incubées à 28°C pendant 5 jours ont été inondées par une solution de Lugol et la lecture a été faite après 15 minutes ; la présence de

l'amidon dans le milieu donne une couleur bleue noirâtre dans laquelle se contrastent les halos clairs des souches à activité amylolytique (Vinoth et al., 2009).

- Test d'hémolyse

Le test d'hémolyse a été réalisé sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Columbia additionnée de 5% de sang de mouton (Annexe I). Les boîtes ont ensuite été incubées à 28 °C pendant 48h ; Une réaction β -hémolytique implique une lyse complète des globules rouges, provoquant une zone claire sur la gélose entourant la colonie et on parle d'hémolyse vraie. D'autre part, une réaction α -hémolytique se produit lorsque l'hémoglobine des globules rouges est réduite en méthémoglobine, provoquant une coloration verdâtre sur la gélose entourant les colonies. Enfin, l'absence d'hémolyse ou de décoloration est appelée γ -hémolyse (Buxton, 2005).

III. Caractérisation du métabolisme bactérien par galerie API20NE

La caractérisation des souches a été effectuée en utilisant le système standardisé API20 NE pour l'identification des bacilles à gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux et comportant 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés.

III.1. Préparation de l'inoculum

La préparation a été faite par mise en suspension des colonies bactériennes d'une culture jeune dans de l'eau physiologique stérile livrée dans le kit commercialisé de la galerie API 20 NE (Figure 5).



Figure 5 : Illustration d'une galerie API20 NE

III.2. Inoculation de la galerie

Toutes les alvéoles de fond de la galerie ont été remplies avec de l'eau distillée stérile pour éviter la déshydratation, les galeries ont étéensemencées à l'aide d'une micropipette en mettant l'embout sur le côté de la cupule pendant le remplissage pour éviter la formation de bulles d'air dans les tubes.

Pour les tubes des tests d'activité nitrate réductase(NO_3) à β -galactosidase (PNPG), seuls les tubes sont remplis, par contre les tubes des tests d'assimilation du Glucose (GLU) à l'acide phénylacétique (PAC), les tubes et cupules sont remplis. Pour les tests de fermentation du glucose(GLU) et des activités uréase (URE) et arginine dihydrolase (ADH) les cupules ont été remplis avec de l'huile de paraffine pour garantir l'anaérobiose, la galerie est ensuite fermée et incubée à 28 °C pendant 24 h /48h.

III.3. Lecture des résultats

La lecture des tests se fait soit directement sans ajout de réactifs (cas des tests d'assimilation des sucres), soit indirectement par l'ajout des réactifs spécifiques (cas des tests du nitrate réductase et de tryptophane désaminase auxquels ont été ajoutés les réactifs NR1 et NR2 et le réactif de Kovacs respectivement) ; les résultats observés sont interprétés en se basant sur un tableau standard indiqué sur la fiche technique de la galerie API 20 NE.

III.4. Test d'oxydase

Ce test a été lancé en supplément de l'ensemble des tests de la galerie ; Sur un couvercle d'une boîte de Pétri stérile, des disques d'oxydase ont été déposés et imbibés de la suspension de chaque souche avec addition d'un témoin négatif (avec de l'eau distillée). L'apparition de tâches de couleur violette sur les disques indique une activité oxydase positive.

III.5. Etude de l'effet des métaux lourds

Afin de tester la sensibilité des souches aux métaux lourds, le milieu de culture YEM a été préparé avec différentes concentrations de cadmium (2, 4, 6, 8 et 10 $\mu\text{g/ml}$), de zinc (5, 10, 15, 20, 25 et 30 $\mu\text{g/ml}$) et de plomb (25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 et 600 $\mu\text{g/ml}$) et répartis dans des boîtes de pétri. Les suspensions bactériennes des souches à tester ont été déposées par spots de 10 μl à raison de trois répétitions. Un témoin négatif a été inclus dans le test (YEM ordinaire). Au terme de l'incubation à 28°C pendant 48h ; les boîtes ont été observées quant à la présence d'une croissance, indiquant la résistance aux métaux lourds testés.

III.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des souches *vis-à-vis* des antibiotiques cités ci-dessous a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) (Tableau II.)

Tableau II : Nomenclature des antibiotiques, leurs abréviations et leur masse.

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)
Amikacine	AK	30
Cefalotine	CF	30
Pifloline	PF	5
Mozlociline	MZ	75
Enythromucine	E	15
Fosfomycine	FO	200
Nitrofarantion	NIT	300
Sulfamides	SF	200
NalidixicAcide	NA	30
Amoxiline	AX	25
Ciproflanin	CIP	5
Lincomycine	L	15
Mecilliname	MEC	10

Les cultures bactériennes ont été préparées dans du bouillon nutritif puis incubées à 28°C pendant 24h, les suspensions sont ensuite ajustées à une DO_{600nm} de 0.1 puisensemencées par écouvillonnage sur gélose MH. Une fois les stries effectuées soient suffisamment sèches, les disques d'antibiotiques ont été déposés sur le milieu, les boîtes ont ensuite été incubées à 28°C pendant 24h. Au terme de l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition de chaque antibiotique ont été mesurés.

III.7. Production de biofilm

La production de biofilm a été évaluée par la technique de coloration au cristal violet (O'Toole et al., 1999). Les précultures des souches ont été préparées à partir de cultures jeunes en utilisant de l'eau physiologique, les suspensions ont ensuite été ajustées à une densité optique de 0.2 ($DO_{600} = 0.2$) et réparties dans des puits sur microplaque, contenant 150µl de TSB par puits, à raison de 50µl. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche.

Après incubation à 28 °C pendant 96 heures, le contenu des puits a été aspiré avec une micropipette. Après deux lavages pendant une minute avec l'eau physiologique, une fixation avec 200µl d'alcool absolu pendant une minute a été réalisée. Un volume de 100 µl de cristal violet à 0.1% (Annexe II) a été réparti dans chaque puits, puis la microplaque a ensuite été mise sous agitation douce pendant 20 minutes. Les puits ont ensuite été vidés et lavés avec de l'eau physiologique puis remplis de 200 µl d'éthanol à 96%. La DO a finalement été mesuré à une longueur d'onde de 495nm, et les moyennes calculées ont permis d'évaluer la capacité de chaque souche à produire un biofilm.

Résultats et discussion

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

I. Evaluation de potentiel PGPR

I.1. Fixation d'azote

La présence de la croissance sur le milieu de culture "NFMM" dépourvu d'azote indique que sept souches (BT2, RLV, K9, MeK6, JR1, EC6, et LV1) ont la capacité de fixation de l'azote atmosphérique à l'état libre tandis que les autres souches (HG1, BV2, SV1 et H10) n'ont pas cette capacité et par conséquent aucune croissance n'a été observée (tableau VI, annexe III). Ce constat est en accord avec celui rapporté par **Rodge et al. (2016)**, qui ont constaté que la majorité des souches bactériennes rhizosphériques ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique. La capacité de fixation de l'azote chez rhizobiums est principalement assurée par les gènes *nif* (gènes codant pour les composants de la nitrogénase), *fix* (gènes de fixation symbiotique de l'azote) et *nod* (gènes de nodulation) par la conversion de l'azote atmosphérique N₂ en ammoniac sous l'action de l'enzyme nitrogénase (**Laslo et Mara, 2019 ; Lindström et Mousavi, 2020**).

Parmi les bactéries vivant librement dans la rhizosphère et fournissant de l'azote disponible à de nombreuses plantes, favorisant ainsi leur croissance, il y a les genres *Azotobacter*, *Bacillus*, *Anabaena*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Paenibacillus* et *Rhodobacter* (**Grobelak Napora et Kacprzak, 2015**). De nombreuses bactéries symbiotiques ont été signalées, parmi lesquelles sont identifiés les genres *Frankia* spp, associés à certaines espèces dicotylédones, *Rhizobium* spp, associés aux légumineuses et d'autres *Azospirillum* spp associés aux graminées (**Pankiewicz et al., 2019**).

I.2. Solubilisation de phosphore

La recherche du pouvoir solubilisateur du phosphate montre que les souches BT2, RLV, K9, BV2, H10, EC6 et SV1 sont capables de solubiliser le phosphate tricalcique. Ces souches ont été retenues pour l'évaluation quantitative de leur capacité de solubilisation du phosphate par la méthode colorimétrique de Harwood.

L'histogramme de la (Figure 6) montre que les sept souches présentent une variabilité dans les quantités de phosphore solubilisé allant de 1199,81 µg/ml à 1406,17 µg/ml. La souche BT2 présente la meilleure solubilisation avec une concentration de 1406,17 µg/ml suivie par les souches H10, EC6 et BV2 avec une solubilisation de 1373,37 µg/ml, 1333,9 µg/ml et 1321,33 µg/ml respectivement. Les souches K9 et SV1 présentent une solubilisation moyenne

de phosphore avec les concentrations de 1259,4 µg/ml et 1255,1 µg/ml respectivement. En revanche la souche RLV montre le plus faible pouvoir de solubilisation avec une concentration de 1199,81µg/ml.

Otieno et al. (2015) ont rapporté que les PGPR appartenant aux genres *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium* *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus* et *Serratia* sont des solubilisateurs de phosphate, cependant, les plus performants sont les genres *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia* et *Pseudomonas* (**Podile et al., 2006**).

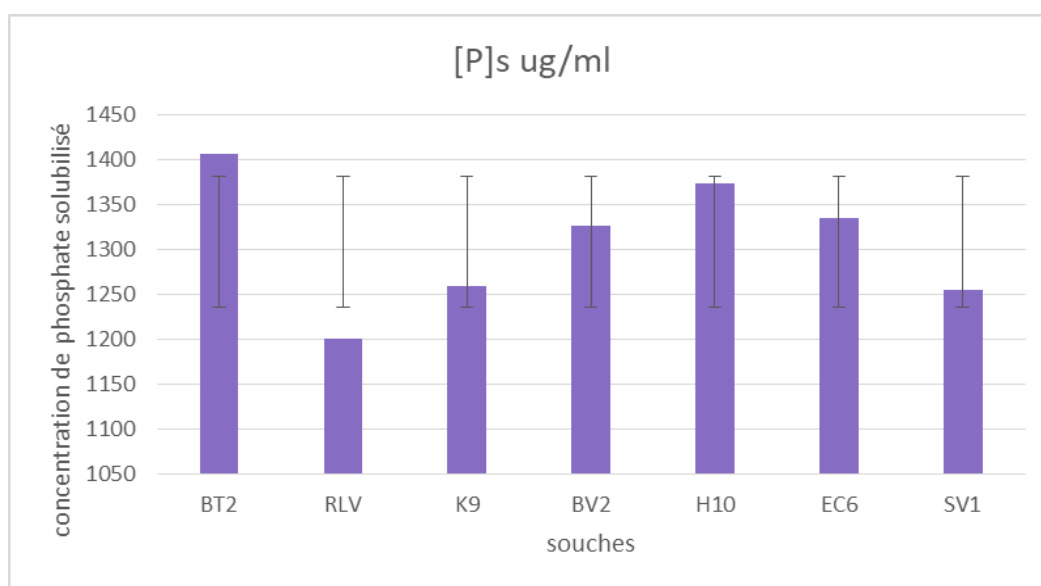


Figure 6 : Concentrations de phosphore solubilisé

I.3. Production d'Acide Indole Acétique

La production d'AIA par les souches testées se traduit par l'apparition d'une couleur rose orangée (Figure 7) résultant de la réaction avec le réactif de Salkowski. La figure ci-dessous illustre une différence de l'intensité de la coloration entre les différentes souches.



Figure 7 : Mise en évidence de la production d'AIA par les souches étudiées.

Les résultats présentés dans l'histogramme (Figure 8) montrent que la production de l'AIA est variable d'une souche à une autre, la quantité d'AIA produite varie entre 164 $\mu\text{g/ml}$ et 2534,66 $\mu\text{g/ml}$. La souche JR1 présente la meilleure production avec une concentration de 2534,66 $\mu\text{g/ml}$. En revanche, les souches MEK6, BT2, K9, LV1 et BV2 présentent une production faible d'AIA avec les valeurs de 164, 185.66, 193, 190 et 187 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

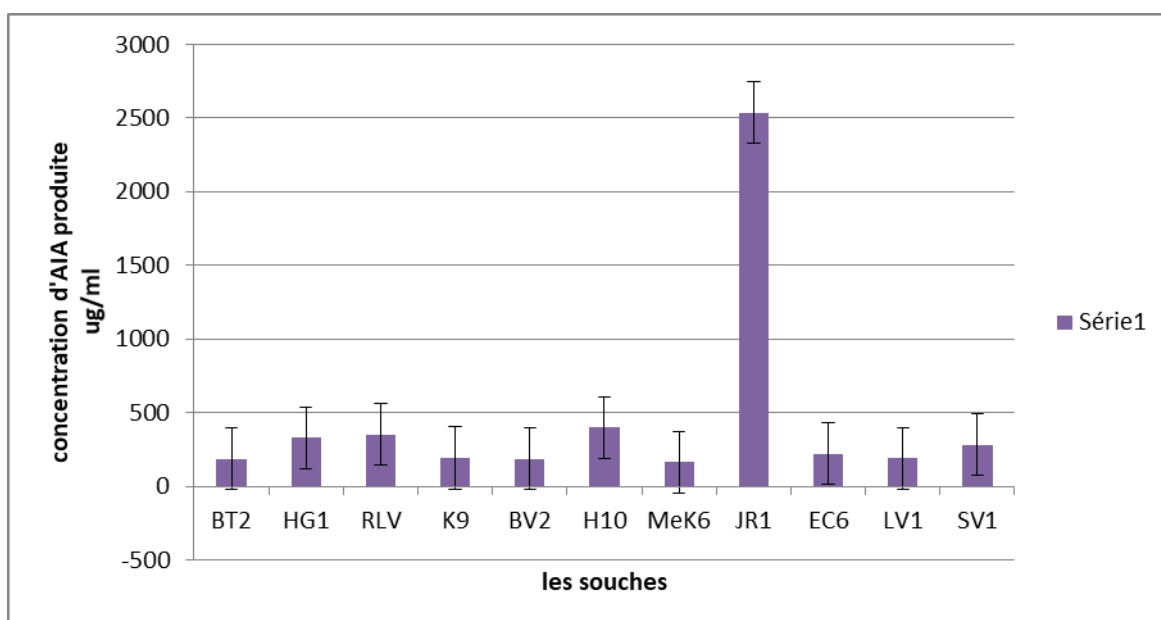


Figure 8 : Représentation des concentrations d'AIA produites par les souches étudiées.

Il est bien connu que les PGPR jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la physiologie, de la différenciation, de l'expansion et de la division cellulaire des plantes grâce à

leur capacité à produire des auxines et, en particulier, de l'acide indole acétique (IAA) (**Olenska et al., 2020**). Il a été observé que la post-inoculation par PGPR a améliorée la nutrition des plantes et les échanges avec le sol (**Goswami et al., 2016**).

Selon **Swarnalakshmi et al. (2020)**, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Rhizobium* et *Enterobacter* sont parmi les meilleurs producteurs d'AIA en présence de L-tryptophane comme précurseur. Cependant, la culture pure de *Pseudomonas* sp. Produit de l'IAA en présence et en absence de tryptophane (**Grobelak, Napora et Kacprzak, 2015 ; Luo, Zhou et Zhang, 2018 ; Poveda et al., 2021**). Dans leur étude, **Bashan, Holguin et De-Bashan (2004)** ont montré que la production d'AIA par *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* et *Erwinia* augmente les poils racinaires, la longueur des racines, la ramification et la surface des racines.

II. Test d'activités enzymatiques d'intérêt

Les enzymes hydrolytiques servent d'agents de prévention des maladies des plantes en induisant la lyse des microbes pathogènes à proximité de la plante car elles sécrètent des niveaux accrus d'enzymes lytiques de la paroi cellulaire (protéases, lipases, amylases, cellulases et chitinases) (**Tsegaye et al., 2019**).

Dans cette étude, sur 11 souches bactériennes, 45.45% (5 souches) étaient positives pour la production de protéase, 72.72% (8 souches) pour la production de lipase et d'estérase respectivement, 81.8% (9 souches) pour la production d'amylase, 36.36 % pour la production de cellulase et d'hémolysine, 54.54 % pour la production de pectinase et 63.63% (7 souches) pour la production de lécithinase (figure 9).

Nous constatons que les pourcentages de souches ayant l'activité protéolytique et cellulolytique (45.45 et 36.36 % respectivement) sont inférieurs à ceux rapportés par **Rasool et al. (2021)** (69 et 85%) par contre, ils sont supérieurs à ceux rapportés par **Tsegaye et al. (2019)** chez des isolats appartenant aux genres *Pseudomonas* et *Bacillus*. Les pourcentages de souches ayant l'activité amylolytique (81,81%) sont supérieurs (46%) à ceux rapportés par **Rasool et al. (2021)** et **Tsegaye et al. (2019)** (4%).

Il a été constaté que les PGPR, qui synthétisent une ou plusieurs de ces enzymes lytiques, ont une capacité de Biocontrôle contre une variété de champignons et de bactéries phytopathogènes et améliorent le rendement des cultures. Les phytopathogènes présents dans le sol sont responsables des principales maladies des plantes qui entraînent une perte de

productivité et affectent en fin de compte les valeurs économiques. L'utilisation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) pour lutter contre les phytopathogènes constitue une excellente approche de biocontrôle naturel ; le biocontrôle peut contribuer à contrôler la croissance des phytopathogènes et à réduire l'utilisation de fongicides chimiques, qui sont l'un des principaux facteurs d'infertilité des sols (Tsegaye et al., 2019 ; Rasool et al., 2021).

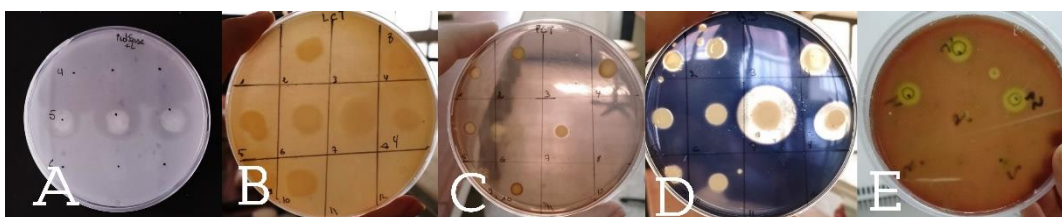


Figure 9 : A) activité protéase, B) activité lécithinase, C) activité pectinolytique, D) activité amylolytique, E) activité hémolytique.

Les enzymes hydrolytiques entraînent la suppression de la croissance et des activités des agents pathogènes en dégradant leur paroi cellulaire (Wani et al., 2019). L'activité pectinolytique est généralement liée aux bactéries phytopathogènes. Cependant, certaines espèces de *Rhizobium* non pathogènes se sont également avérées dégrader la pectine (Hayat et al., 2010).

Les microorganismes libèrent des enzymes lytiques, généralement dans le milieu extracellulaires, qui ont pour rôle initial de dégrader les polymères de haute densité moléculaire, ce qui peut également entraîner la suppression directe des champignons phytopathogènes (Agbodjato et al., 2018).

Selon Villa-Rodriguez et al. (2019), les microorganismes possédant un gamma hémolyse ne provoquent aucune altération des érythrocytes, ce qui indique que ces microorganismes ne sont pas pathogènes pour l'Homme ni pour les animaux ; cependant, les souches qui présentent une (α - ou β -hémolyse) présentent des risques potentiels pour la santé en dégradant les érythrocytes (totalement ou partiellement).

III. Production d'HCN

La production du cyanure d'hydrogène a été mise en évidence chez 81.81% des souches (9/11 souches). En prenant en considération l'intensité de la couleur brune apparue sur le papier Wattman (Figure 10), on constate que les souches BT2, K9, JR1 et EC6 ont montré une

meilleure production d'HCN. En revanche, une production moyenne est observée pour les souches BV2, RLV et MEK6 et faible pour les souches HG1, LV1 et SV1.

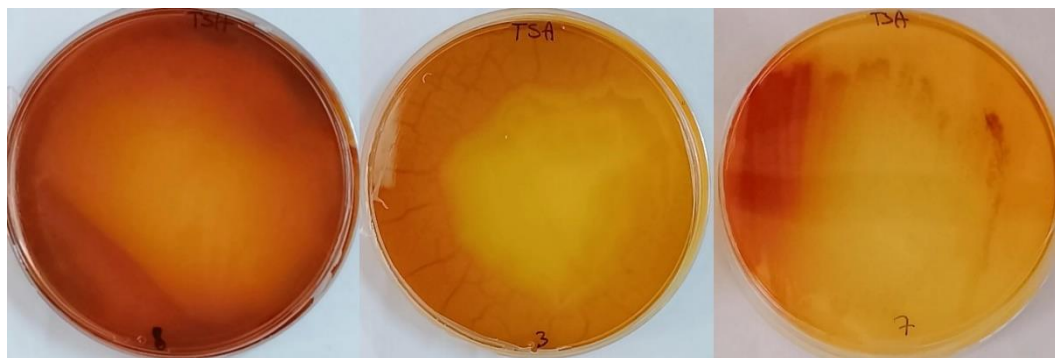


Figure 10 : Mise en évidence de la production d'HCN

Selon **Kumar et Dubey (2012)**, de nombreux genres bactériens ont montré une capacité de cyanogénèse, à savoir *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium*. Le cyanure produit par la souche *Pseudomonas fluorescens* a des effets écologiques, car il représente des capacités du contrôle biologique qui inhibe les maladies fongiques des racines des plantes.

IV. Sensibilité aux métaux lourds

La plupart des souches étudiées, ont montré une forte tolérance à l'égard du zinc et du plomb, étant donné qu'elles ont parfaitement poussé sur toutes les concentrations. La souche EC6 a montré une sensibilité à une concentration de 25µg de zinc, 600 µg de plomb et la souche MEK6 est apparue sensible à une concentration de 600 µg de plomb (Figure 11).

Dans le cas du cadmium, 8 souches ont montrés une forte tolérance à toutes les concentrations. Les deux souches H10 et MEK6 sont avérées résistantes jusqu'à des concentrations de 6 µg et 8 µg respectivement, quant à la souche BT2 aucune croissance n'est apparue (figure 12).

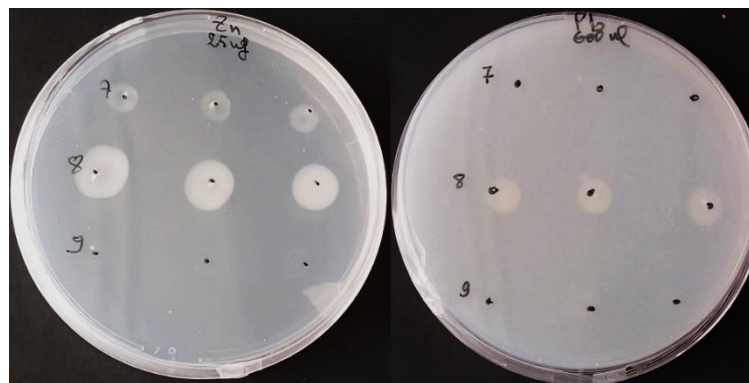


Figure 11 : Concentration minimale inhibitrice du zinc et du plomb pour les souches EC6 et MEK6

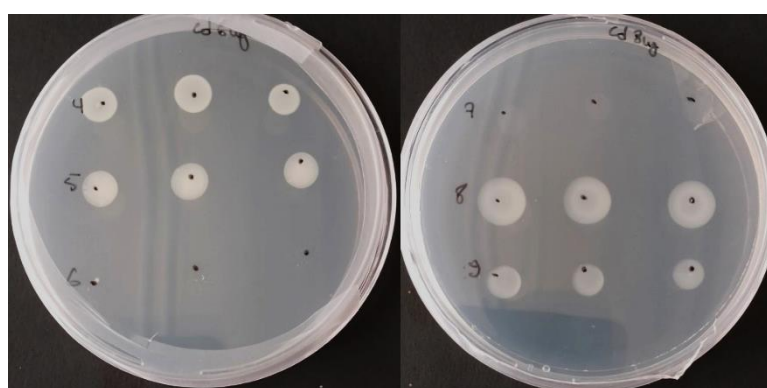


Figure 12 : Concentration minimale inhibitrice de cadmium pour les souches H10 et MEK6

Les PGPR ont développé de nombreuses stratégies grâce auxquelles ils peuvent immobiliser, mobiliser ou transformer les métaux, réduisant ainsi leur toxicité pour tolérer l'absorption des ions métalliques (**Ahemad, 2014**). Ces mécanismes comprennent la biosorption, la biotransformation, la complexation, l'oxydation-réduction et les capacités de précipitation ou de bioaccumulation à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule microbienne. L'inoculation avec des PGPR réduit aussi l'effet nocif des métaux toxiques et augmente leur absorption et leur accumulation dans les organes des plantes pour améliorer l'efficacité de phytoremédiation de leur hôte (**Kamran et al., 2016 ; Ma et al., 2011**).

V. Production de Biofilm

Les résultats du test de production de biofilm sont permis de mettre en évidence la capacité de toutes les souches isolées à former des biofilms (Figure 13).

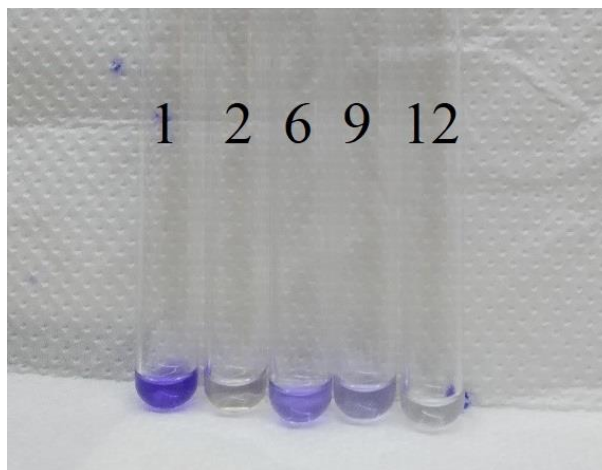


Figure 13 : Résultat de la mise en évidence de la formation du biofilm

En se basant sur les moyennes de densités optiques mesurées (Figure 14), les souches BT2 et LV1 sont caractérisées par une forte production de biofilm.

Selon **Rolli et al.(2015)**, la production d'exo polysaccharides par les PGPR est un élément crucial qui contribue à améliorer le développement des plantes, ces EPS permettent la formation de biofilms hydrophiles autour des racines des plantes, les protégeant des facteurs desséchants présents dans le sol en période de sécheresse .Certains PGPR qui produisent des EPS, comme *Rhizobium leguminosarum*, *Azotobacter*, *Bacillusdrentensis*, *Agrobacterium* sp, *Xanthomonas* sp, et *Rhizobium* sp, rendent le sol plus fertile et facilitent l'agriculture (**Hasan, 2024**)

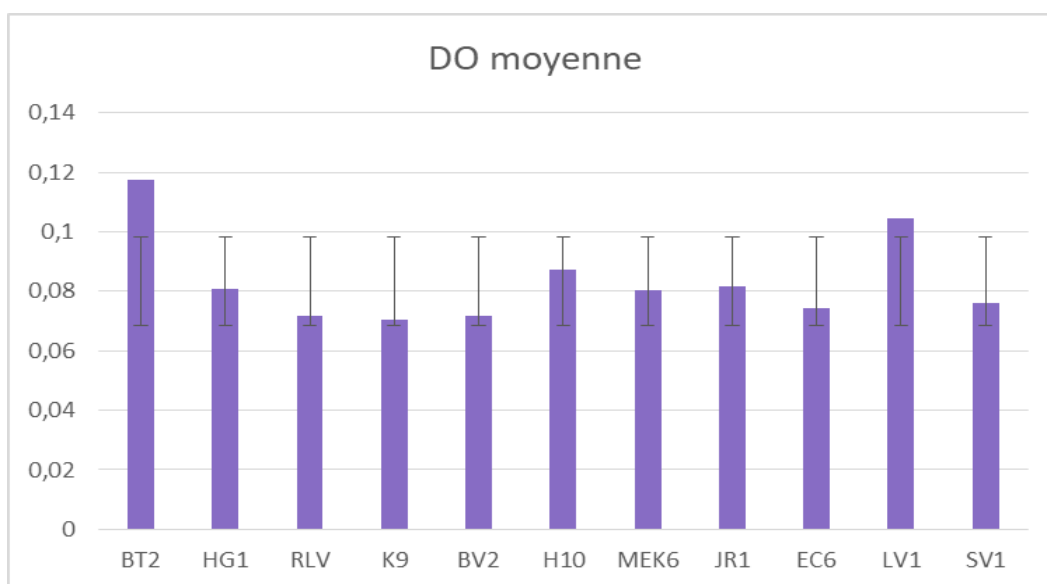


Figure 14 : Représentation des densités moyennes de biofilm produit par les souches étudiées

VI. Sensibilité aux antibiotiques

Le profil de sensibilité des souches aux 13 antibiotiques testés, révèle une variabilité de résultats (Figure 15). De manière générale, les isolats ont exhibé une grande résistance à la majorité des antibiotiques testés.

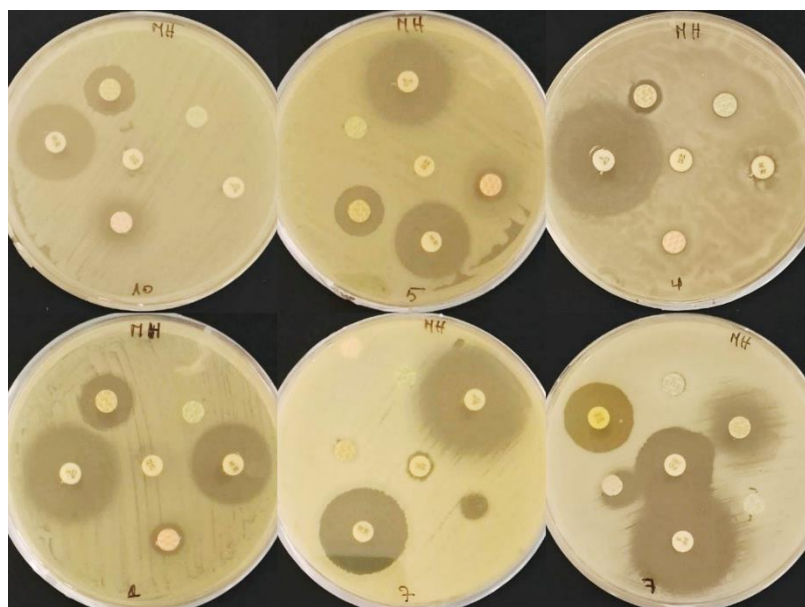


Figure 15 : Antibiogrammes de quelques souches testées

La sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques est déterminée en se basant sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition résumés dans le tableau III.

Tableau III : Diamètres des zones d'inhibition

ATB	Cip	E	AK	CF	PB	AX	Nit	MZ	SSS	PF5	L	Fo	Mec
Souches													
BT2	I	R	I	R	16	R	R	R	30	31	R	17	R
HG1	I	R	I	R	17	R	R	R	37	38	R	19	R
K9	S	R	R	R	10	R	R	R	15	25	R	15	R
BV2	R	R	I	R	15	R	R	R	35	40	R	22	R
H10	I	R	I	R	10	R	R	R	R	23	R	10	R
MEK6	I	R	I	R	R	R	20	R	18	31	R	23	R
JR1	R	R	R	R	R	R	20	R	18	26	R	R	R
EC6	S	R	I	R	12	R	R	R	16	25	R	25	R
LV1	R	R	I	R	15	R	R	R	31	40	R	20	R

Il ressort des résultats obtenus (Tableau III) que la plupart des souches testées soient résistantes *vis-à-vis* de Ciprofloxanine, Enythromucine, l'amikacine, Cefalotine, Amoxiline, Nitrofarantion, Mozlociline, Lincomycine et Mecilliname.

Les souches ont montrées une résistance intermédiaire *vis-à-vis* l'erythromycine, l'amoxillin et la fosfomycine à l'exception des souches H10 pour l'erythrocyne, BT2, H10, Mek6, EC6 et LV1 pour l'amoxillin et la souche JR1 pour la fosfomycine.

Cependant une sensibilité a été enregistrée pour les souches *vis-à-vis* du mecillinam, mezlociline, nitrofurantoin (à l'exception de MeK6 et JR1), cefalotine (à l'exception de K9 et BV2 qui sont faiblement résistantes) et lincomycine (à l'exception de JR1 avec une faible résistance).

Graham et al. (1992) ont rapporté que l'effet inhibiteur d'un antibiotique dépend de sa nature et de sa concentration dans le milieu. La résistance aux antibiotiques augmente les chances de survie des Rhizobia dans la rhizosphère (**Anand et al., 2015**). Plusieurs études ont rapporté une bonne résistance des rhizobia aux antibiotiques (**Bhargava et al., 2016 ; Khalid et al., 2020**).

VII. Criblage des souches sur la base des propriétés PGPR

Le criblage des souches sur la base des propriétés PGPR permet de constater que toutes les souches produisent de l'acide indole acétique et du cyanure d'hydrogène et possèdent la capacité de former des biofilms (Tableau IV).

Tableau IV : Représentation de quelques capacités des souches étudiées

Propriétés	Fixation	Solubilisation	Production	Production	Production
Souches	d'azote	de phosphate	d'AIA	d'HCN	de biofilm
BT2	+	+	+	+++	+++
HG1	-	-	+	++	++
RLV	+	+	+	++	+
K9	+	+	+	+++	+
BV2	-	+	+	++	+
H10	-	++	+	+	++
MEK6	+	-	+	++	++
JR1	+	-	+++	+++	++
EC6	+	+	+	+++	++
LV1	+	-	+	+	+++
SV1	-	+	+	+	++

En se basant sur la capacité de fixer l'azote à l'état libre et de solubiliser le phosphore, on peut distinguer trois importantes classes. La première classe correspond aux souches ayant la capacité de fixer l'azote atmosphérique à l'état libre mais elles ne solubilisent pas le phosphore (MEK6, JR1 et LV1). La deuxième catégorie correspond aux souches qui solubilisent le phosphore mais ne fixent pas l'azote atmosphérique à l'état libre (BV2, H10 et SV1). La troisième classe et la plus importante renferme les souches capables à la fois de fixer l'azote à l'état libre et solubiliser le phosphore (BT2, RLV, K9 et EC6). La sélection de souches PGPR en vue d'une application au champ doit prendre en considération le besoin spécifique des plantes en éléments nutritifs mais aussi, la teneur du sol en ces éléments. Ainsi, les souches de la troisième classe peuvent être utilisées individuellement tandis que, si les besoins de la plante s'étendent à l'azote et au phosphore au même temps, les souches des deux premières classes ne peuvent être utilisées que sous forme de consortium.

VIII. Caractérisation biochimique par galerie API20NE

D'après les résultats des galeries biochimiques, toutes les souches sont décelées dénitrifiâtes (Tableau V). Dans le cas de l'assimilation des sucres, on constate qu'il y a une large variabilité entre les souches. La souche H10 est la seule à avoir assimilé la totalité des sucres.

Tableau V : Représentation des résultats des galeries API20NE.

	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNP	GLU	ARA	MAN	MNE	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CTT	PAC	OX
BT2	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
HG1	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
RLV	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
K9	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BV2	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
H10	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MeK 6	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+
JR1	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
EC6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LV1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
SV1	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+

La classification hiérarchique ascendante basée sur les résultats de la caractérisation par la galerie API20 NE montre, à un seuil de 70% que les souches sont réparties dans 7 clusters distincts (Annexe III)

La classification hiérarchique ascendante basée sur l'ensemble des résultats de la caractérisation par la galerie API20 NE et des activités d'intérêt montre, à un seuil de 70% que

les souches sont réparties dans mêmes clusters qu'avec la galerie API 20 NE avec un remaniement à l'intérieur du premier cluster (figure 16).

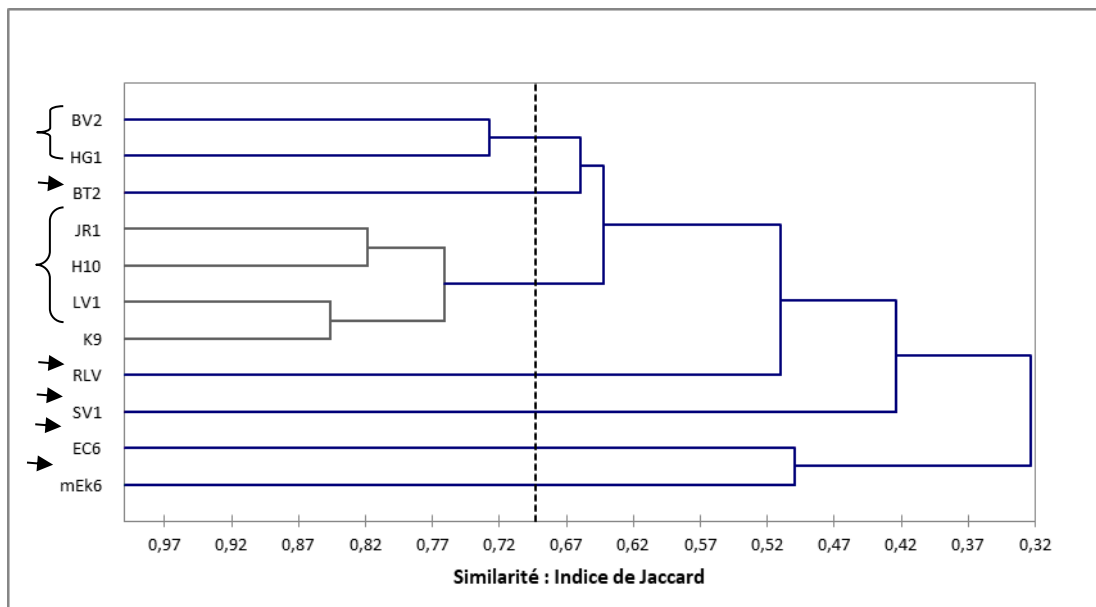


Figure 16 : Classification hiérarchique ascendante basée sur les caractères la galerie API 20 NE et des activités d'intérêt

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude du potentiel bénéfique de quelques rhizobactéries provenant de la rhizosphère des espèces appartenant aux genres *Vicia* et *Lathyrus* et *Pisum* en vue de leur incorporation comme inoculum dans les schémas d'amélioration de la fertilité des sols mais aussi, de l'amélioration de la croissance et des rendements chez plantes.

La collection des 11 souches retenues a fait objet de certains tests permettant de vérifier leur capacité de promouvoir la croissance des plantes.

Le test de fixation d'azote a permis de mettre en évidence la capacité de fixation de l'azote atmosphérique à l'état libre chez 63.63 % des souches. Le même taux a été observé dans le cas de la solubilisation du phosphate tricalcique. La quantification du phosphate solubilisé par les souches retenues permet de distinguer des taux de solubilisation de $\mu\text{g/ml}$ obtenus avec 1406,17 1373,37 1333,9 1321,33 BT2, H10, EC6 et BV2 respectivement. En prenant en considération l'aspect qualitatif de ces deux principaux éléments indispensables pour la croissance des plantes ainsi que les teneurs en phosphate solubilisé les souches BT2 et EC6 seraient les meilleures candidates pour une éventuelle application comme biofertilisant.

A l'issue du test de production et de quantification de l'acide indole acétique, nous constatons que la souche JR1 présente la meilleure production avec une concentration de 2534,66 $\mu\text{g/ml}$. Elle est par conséquent la meilleure candidate pour être utilisée comme agent de stimulation de la croissance des plantes.

La recherche des activités enzymatiques d'intérêt permet de constater la présence d'un potentiel important chez les souches testées. En effet, les différentes activités hydrolytiques recherchées ont été retrouvées chez la majorité des souches. La présence de ces activités permet d'utiliser ces souches comme agents de prévention des maladies des plantes. Cette application est renforcée par la capacité de ces souches à produire du cyanure d'hydrogène ce qui permet leur utilisation dans le contrôle biologique des maladies fongiques des racines des plantes.

La plupart des souches étudiées ont montré une forte tolérance à l'égard du zinc, du plomb et du cadmium ce qui serait dû à leur capacité d'immobiliser, mobiliser ou transformer les métaux, réduisant ainsi leur toxicité. Cette caractéristique permet l'utilisation de ces souches dans la bioremédiation des sols pollués.

La capacité des souches testées de produire des exopolysaccharides et de former des biofilms permet l'utilisation de ces souches aussi bien dans la protection des plantes contre le stress abiotique que dans l'amélioration de la fertilité des sols.

Les résultats obtenus au cours de cette étude restent préliminaires, il serait intéressant de les compléter par :

Tests l'activité antibactérienne et antifongique de ces souches ;

Recherche d'autres activités enzymatiques d'intérêts ;

Testes d'effet PGPR de ces souches sur les plantes ;

Formulations d'inocula et une application au champ.

Vérification de la tolérance des souches aux facteurs physico-chimiques comme la chaleur, la dessiccation, les radiations et les oxydants.

Démonstration de meilleures compétences concurrentielles par rapport aux communautés rhizobactériennes existantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Agbodjato NA, Amogou O, Noumavo PA, Dagbénonbakin G, Salami HA, Karimou R, Alladé A-M, Adebayo O, Baba-Moussa F & Adjanohoun A. (2018). Biofertilisation, phytostimulation and biocontrol potentials of maize plant growth promoting rhizobacteria isolated in central and northern Benin. *African Journal of Microbiology Research* 12(28): 664-672.
- Agbodjato, NA et Babalola, OO (2024). Promouvoir une agriculture durable en exploitant les rhizobactéries motrices de croissance des plantes (PGPR) pour améliorer les cultures de maïs et de niébé. *PeerJ*, 12, e16836. .
- Aloo, B. N., Tripathi, V., Makumba, B. A., & Mbega, E. R. (2022). Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future. **Frontiers in Plant Science**, 13, 1002448.
- Akakpo, C., & Carsky, R. J. (1999). Intégration du Mucuna dans les systèmes culturaux du Sud Bénin. In R. J. Carsky, A. C. Etèka, J. D. H. Keatinge, & V. M. Manyong (Eds.), **Cover Crops for Natural Resource Management in West Africa**. 26-29 October 1999 Cotonou (Bénin) : IITA et CIEPCA, pp. 263-274.
- Agrios, G. N. (1988). **Plant Pathology**, 3rd ed. Academic Press, Inc.: New York. 803.2. Amara, U., Khalid, R., & Hayat, R. (2015). Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. In D. K. Maheshwari (Ed.), **Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem** (pp. 87–103). Cham: Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_5.
- Archana, S., Prabakar, K., Raguchander, T., Hubballi, M., Valarmathi, P., & Prakasam, V. (2011). Defense responses of grapevine to **Plasmopara viticola** induced by azoxystrobin and **Pseudomonas fluorescens**. **International Journal of Agricultural Sustainability**, 3, 30-38.
- Arshad, M., Saleem, M., & Hussain, S. (2007). Perspectives de la désaminase ACC bactérienne dans la phytoremédiation. **TRENDS in Biotechnology**, 25(8), 356-362.
- Alabouvette, C., & Cordier, C. (2018). Fertilité biologique des sols : des microorganismes utiles à la croissance des plantes. **Innovations Agronomiques**, 69.
- Arora, N. K., Fatima, T., Mishra, J., Mishra, I., Verma, S., Verma, R., & Bharti, C. (2020). Croissance de plantes tolérantes au halo favorisant les rhizobactéries pour améliorer la productivité et l'assainissement des sols salins. **Journal de recherche avancée**, 26, 69-82.
- Arora, N. K., Verma, M., & Mishra, J. (2017). Rhizobial bioformulation: Past, present and future. In S. Mehnaz (Ed.), **Rhizotrophs: Plant growth promotion to bioremediation** (pp. 69–99). Singapore: Springer.
- Ahemad M & Kibret M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26(1): 1-20.
- Amara, U., Khalid, R., and Hayat, R. (2015). “Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. K. Maheshwari (Cham: Springer International Publishing), 87–103.
- Alemu F. (2016). Isolation of *Pseudomonas fluorescens* from the rhizosphere of faba bean and screening of their hydrogen cyanide production under in vitro study, Ethiopia. *American Journal of Life Sciences* 4(2): 13-19.

Anand A, Jaiswal SK, Dhar B & Vaishampayan A. (2012). Surviving and thriving in terms of symbiotic performance of antibiotic and phage-resistant mutants of Bradyrhizobium of soybean [Glycine max (L.) Merrill]. *Current microbiology* 65: 390-397.

Bhargava Y, Murthy JSR, Kumar TR & Rao MN. (2016). Phenotypic, stress tolerance and plant growth promoting characteristics of rhizobial isolates from selected wild legumes of semiarid region, Tirupati, India. *Advances in Microbiology* 6(1): 1-12.

Bhattacharyya, P. et D. Jha. (2012). Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) : émergence en agriculture. *Journal mondial de microbiologie et de biotechnologie* 28 (4) : 1327–50. doi : 10.1007/s11274-011-0979-9.

Bashan Y, Holguin G & De-Bashan LE. (2004). Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003). *Canadian Journal of Microbiology* 50(8): 521-577.

Babin, D., Deubel, A., Jacquiod, S., Sørensen, S. J., Geistlinger, J., Grosch, R., & Smalla, K. (2019). Impact des pratiques de gestion agricole à long terme sur les communautés procaryotes du sol. **Biologie et biochimie du sol**, 129, 17-28.

BENFRIHA, Hadjer (2021). Caractérisation agronomique et moléculaire de populations algériennes de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) et de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb) .

Berrada, H., & Fikri-Benbrahim, K. (2014). Taxonomy of the rhizobia: Current perspectives. **British Microbiology Research Journal**, 4, 616–639.

Buxton (2005) Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols. American Society for Microbiology, 1-9.

Cattlan AJ, Hartel PG, Fuhrmann JJ. (1999). Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Science Society of America journal.*, 63 (6): 1670-168.

Carsky, R. J., Douthwaite, B., Manyong, V. M., Sanginga, N., Schulz, S., Vanlauwe, B., & Keatinge, J. D. H. (2003). Amélioration de la gestion des sols par l'introduction des légumineuses dans les systèmes céréaliers des savanes africaines. **Cahiers Agricultures**, 12(4), 227-233.

Cregut, M., Piutti, S., Vong, P. C., Slezack-Deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E. (2009). Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(4), 704-710.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. et Barka, EA (2005). Utilisation de bactéries favorisant la croissance des plantes pour le biocontrôle des maladies des plantes : principes, mécanismes d'action et perspectives d'avenir. *Microbiologie appliquée et environnementale* , 71 (9), 4951-4959.

conrath U , Beckers GJ , Langenbach CJ , Jaskiewicz MR . (2015). Amorçage pour une défense renforcée. *Revue annuelle de phytopathologie* 53 (1):97-119.

Czarnes S, Mercier P, Lemoine DG, Hamzaoui J & Legendre L. (2020). Impact of soil water content on maize responses to plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum lipoferum* CRT1. *J. Agron. Crop Sci.* 206: 505-516.

Dahdah, K., Charchar, N., Bouchaala, L., Nourine, H., Belkabila, N., Melo, J., & Nabti, E. H. (2022). Isolement, évaluation in vitro et construction de consortiums microbiens polyvalents. **Biologie cellulaire et moléculaire**, 68(8), 173-181.

Daniel, A. I., Fadaka, A. O., Gokul, A., Bakare, O. O., Aina, O., Fisher, S., Burt, A. F., Mavumengwana, V., Keyster, M., & Klein, A. (2022). Biofertilizer: The Future of Food Security and Food Safety. **Microorganisms**, 10, 1220.

Defago, G., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., & Wüthrich, B. (1990). Suppression de la pourriture noire des racines du tabac et d'autres maladies des racines par des souches de **Pseudomonas fluorescens**: applications et mécanismes potentiels. **Lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes transmis par le sol**, 93-108.

Dong, Y. H., Gusti, A. R., Zhang, Q., Xu, J. L., & Zhang, L. H. (2002). Identification of quorum-quenching N-acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. **Applied and environmental microbiology**, 68(4), 1754–1759.

Dipak P, Sankar NS. (2016). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India. *Annals of agrarian science*, 1, 7.

Duc G., (1997):Faba bean (*Vicia faba* L.).Field Crops Research. Volume 53, Number 1, July. Elsevier. pp. 99-109(11).

Du, Jia & Xu, Shaodan & Zhou, Qingwei & Li, Huan & Fu, Li & Tang, Junhong & Wang, Yangyang & Peng, Xu & Xu, Yuting & Du, Xinpeng. (2020). A review of microplastics in the aquatic environment: distribution, transport, ecotoxicology, and toxicological mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*. 27. 10.1007/s11356-020-08104-9.

Dueñas M., Hernández T. et Estrella I. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *European Food Research and Technology*. 219 : 116-123.

Dueñas M., Hernández T. et Estrella I. 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry*. 98 : 95-103.

Egamberdieva D, Renella G, Wirth S & Islam R. (2011). Activités enzymatiques dans la rhizosphère des plantes. In : *Enzymologie du sol*. Cham : Springer. 149-166.

Erskine W., Sarker A. et Kumar S. 2011. Les cultures qui nourrissent le monde 3. Investir dans l'amélioration de la lentille vers un monde en sécurité alimentaire. *Alimentation Sec*. 3 : 127-139.

Etesami, H., Alikhani, H. A., & Mirseyed Hosseini, H. (2015). Acide indole-3-acétique et 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase: traits bactériens requis dans la rhizosphère, le rhizoplan et/ou la compétence endophytique par les bactéries bénéfiques. **Métabolites bactériens dans un agroécosystème durable**, 183-258.

Etesami, H., & Beattie, G. A. (2018). Exploitation d'halophytes pour les bactéries halotolérantes favorisant la croissance des plantes afin d'améliorer la tolérance à la salinité des cultures non halophytes. **Microbiol avant**, 9:148. 1 à 20.

Frache, C., Bogusz, D., Perotto, S., & Baluska, F. (2011). Signaling and communication in actinorhizal symbiosis, *Signalling and communication in plant symbiosis* (pp. 73–92). Berlin: Springer.

Gamalero, E. et Glick, BR (2015). Modulation bactérienne des niveaux d'éthylène des plantes. *Physiologie végétale*, 169 (1), 13-22.

Graham PH. (1992). Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 38(6): 475-484.

Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, RK, Gowda, CL et Krishnamurthy, L. (2015). Croissance des plantes favorisant les rhizobiums : défis et opportunités. *3 Biotechnologie* , 5 , 355-377.

Goswami, D., Thakker, JN et Dhandhukia, PC (2016). Représenter la mécanique de la croissance des plantes favorisant les rhizobactéries (PGPR) : une revue. *Alimentation et agriculture convaincantes* , 2 (1), 1127500.

Grobelak A, Napora A & Kacprzak M. (2015). Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering* 84(6): 22-28.

Gamalero, E., & Glick, B. R. (2015). Modulation bactérienne des niveaux d'éthylène des plantes. **Physiologie végétale**, 169(1), 13-22. .

Gepts, P., Beavis, W. D., Brummer, E. C., Shoemaker, R. C., Stalker, H. T., Weeden, N. F., & Young, N. D. (2005). Les légumineuses comme famille de plantes modèles. Rapport sur les avancées croisées entre légumineuses et la conférence sur la génomique pour l'alimentation humaine et animale.

Ghitri, I. (2018). Caractérisation du potentiel PGP de la flore **Bacillus cereus** isolée du sol (Master dissertation, Université de Tlemcen).

Glick, B. R. (2014). Les bactéries avec ACC désaminase peuvent favoriser la croissance des plantes et aider à nourrir la planète. **Recherche microbiologique**, 169(1), 30-39.

Guang-Can, T. A., Shu-Jun, T. I. A. N., Miao-Ying, C. A. I., & Guang-Hui, X. I. E. (2008). Capacités de solubilisation et de minéralisation du phosphate des bactéries isolées des sols. **Pedosphere**, 18(4), 515-523.

Gusmão Lima, Figueira, E. M. D. A. P., A. I., & Pereira, S. I. A. (2005). Plasticité de tolérance au cadmium chez **Rhizobium leguminosarum** bv. **viciae**: glutathion comme agent détoxifiant. **Revue canadienne de microbiologie**, 51(1), 7-14.

Ghosh, A., Acharya, R., Shaw, S., & Gangopadhyay, D. (2024). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Potential Alternative Tool for Sustainable Agriculture.

Gordon, S., & Weber, R. (1951). Estimation colorimétrique de l'acide indoleacétique. **Physiol végétal**, 26:192–195.

Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biol. Biochem.**, 37, 395–412.

P. Gupta, A. Sarkar, P. Sandhu, A. Daware, MC Das, Y. Akhter, S. Bhattacharjee, Potentialisation de l'antibiotique contre le biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* : une étude avec la plumbagine et la gentamicine, *Journal of Applied Microbiology* , Volume 123, Numéro 1, 1er juillet 2017, pages 246 à 261 .

Harwood J.E, Van Steenderen and R.A, Kuhn A.L. (1969). A rapid method for orthophosphate analysis at high concentrations in water. *Water Research Pergamon Press*, 3, 417-423.

Hasan A, Tabassum B, Hashim M & Khan N. (2024). Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Plant Growth Stimulator for Sustainable Agriculture: A Review. *Bacteria* 3(2): 59-75.

Han, S., Sebastin, R., Lee, K. J., Wang, X., Shin, M. J., Kim, S. H., Lee, S., Lee, J. R., Cho, G. T., Hyun, D. Y., & Chung, J. W. (2021). Interspecific variation of seed morphological and micro-morphological traits in the genus **Vicia** (Fabaceae). **Microscopy research and technique**, 84(2), 337–357.

Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010). Bactéries bénéfiques du sol et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes: une revue. **Annals of Microbiology**, 60(4), 579–98.

Herman, R. P., Provencio, K., Torrez, R., & Seager, G. M. (1994). Seasonal and spatial population dynamics of the nitrogen-efficient guild in a desert bajada grassland. **Applied and Environmental Microbiology**, 60(4), 1160-1165.

Himabindu, Y., Chakradhar, T., Reddy, M. C., Kanygin, A., Redding, K. E., & Chandrasekhar, T. (2016). Les gènes tolérants au sel des halophytes sont des acteurs clés potentiels de la tolérance au sel chez les glycophytes. **Environmental and Experimental Botany**, 124, 39-63.

Izverscaia, T., 2020. Familia Fabaceae. Flora Basarabiei, vol. III, “Universel” Publishing House, Chişinău: 388-592.

Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: a review. *J Pure Appl Microbiol*, 12(2), 733-749.

Jadhav, H. P., & Sayyed, R. Z. (2016). Enzymes hydrolytiques des microbes rhizosphériques en protection des cultures. **MOJ Cell Science & Rapport**, 3:135-136.

Kálmán CD , Nagy Z , Berényi A , Kiss E , Posta K . (2023). Étude des bactéries PGPR pour leur compétence à protéger le maïs hybride du stress dû à la sécheresse. *Communications sur la recherche céréalière* 2023 :1-22.

Kamran MA, Eqani SAMAS, Bibi S, Xu RK, Monis MFH, Katsoyiannis A, Bokhari H & Chaudhary HJ. (2016). Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under nickel stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 126: 256-263.

Karthika S, Midhun SJ & Jisha M. (2020). A potential antifungal and growth-promoting bacterium *Bacillus* sp. KTMA4 from tomato rhizosphere. *Microbial Pathogenesis* 142(3): 104049.

Kempe, J. and L. Sequeira. (1983). Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant Dis* 67:499–503.

Khalid R, Zhang XX, Hayat R & Ahmed M. (2020). Molecular characteristics of rhizobia isolated from *Arachis hypogaea* grown under stress environment. *Sustainability* 12(15): 6259.

Khoshru, B., Mitra, D., Khoshmanzar, E., Myo, EM, Uniyal, N., Mahakur, B., ... et Rani, A. (2020). Scénario actuel et perspectives ; avenir des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes : une ressource économique précieuse pour la relance de l’agriculture dans des conditions de stress. *Journal de nutrition végétale* , 43 (20), 3062-3092. .

Kaymak, H. C. (2011). Potentiel des PGPR dans les innovations agricoles. **Croissance des plantes et bactéries favorisant la santé**, 45-79.

Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticules: Propriétés, applications et toxicités. **Journal arabe de chimie**, 12(7), 908-931.

Kasim, W. A., Gaafar, R. M., Abou-Ali, R. M., Omar, M. N., & Hewait, H. M. (2016). Effet de la croissance des plantes formant un biofilm favorisant les rhizobactéries sur la tolérance à la salinité de l’orge. **Annales des sciences agricoles**, 61(2), 217-227.

Khalid, R., Zhang, X. X., Hayat, R., & Ahmed, M. (2020). Molecular characteristics of rhizobia isolated from *Arachis hypogaea* grown under stress environment. **Sustainability**, 12(15), 6259.

KIRDI, B., (2011). Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les parasites phanérogames (Thèse de doctorat).

Koomen, I., McGram, S. P., & Giller, K. E. (1990). L'infection mycorhizienne du trèfle est retardée dans les sols contaminés par des métaux lourds provenant d'épandages antérieurs de boues d'épuration. **Biologie des sols et biochimie**, 22(6), 871-873.

Kumar, S., Reddy, C., Phogat, M., & Korav, S (2018). Role of bio-fertilizers towards sustainable agricultural development: A review. **J. Pharm. Phytochem.**, , 7, 1915–1921.

Kumar P, Dubey RC & Maheshwari DK. (2012). Bacillus strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiological Research* 167(8): 493-499.

Kumar RS, Ayyadurai N, Pandiaraja P, Reddy AV, Venkateswarlu Y, Prakash O, Sakthivel N. (2005). Caractérisation du métabolite antifongique produit par une nouvelle souche *Pseudomonas aeruginosa* PUPa3 qui présente une activité antifongique à large spectre et des traits biofertilisants. *J Appl Microbiol.*; 98: 145-154.

Kundan R, Pant G, Jadon N, Agrawal PK (2015) Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Mechanism and Current Prospective. *J FertilPestic*6: 155.

Kupicha, FK (1983). La structure infragénérique de *Lathyrus*.

Lanyi B. (1987). Classical and rapid identification methods for medically important bacteria. In: Colwell R , and Gligorov R. (Eds.) *Methods in microbiology - Current methods for classification and identification of microorganisms*, Academic Press, 19: 37-38.

Laslo É & Mara G. (2019). Le PGPR est-il une alternative aux engrais NPK dans l'agriculture durable In : Singh DP, Gupta VK & Prabha R (ed.) *Interventions microbiennes en agriculture et environnement*. Singapour : Springer. 51-62.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. **Annu. Rev. Microbiol.**, 63, 541–556.

Lindström K & Mousavi SA. (2020). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microb. Biotechnol.* 13: 1314-1335.

Luo J, Zhou J-J & Zhang J-Z. (2018). Aux/IAA Gene Family in Plants: Molecular Structure, Regulation, and Function. *International Journal of Molecular Sciences* 19(1): 259.

Lewis G, Schrire B, Mackinder B, Lock M, eds.(2005). *Legumes of the world*. London: Royal Botanic Gardens Kew

Madhuri, M. (2011). Screening of rhizobia for indole acetic acid production. *Annals of Biological Research*, 2 (4): 460-468.

Malik JA. (2021). Manuel de recherche sur l'assainissement microbien et la biotechnologie microbienne pour un sol durable. In : *Avancées en génie de l'environnement et technologies vertes*. Pennsylvanie : IGI Global.

Ma Y, Prasad MNV, Rajkumar M & Freitas HJB. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances* 29(2): 248-258.

Manoharachary, C., & Mukerji, K. G. (2006). Biologie de la rhizosphère – un aperçu. *Activité microbienne dans la rhizosphère*, 1-15.

McNear Jr, D. H. (2013). Les racines-rhizosphère. Le sol et tout ce qui s'y trouve.

Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J. (2005). Coûts biologiques et avantages des interactions plantes-microbes dans la rhizosphère. *Journal de botanique expérimentale*, 56(417), 1729-1739.

Noumavo, P. A., Agbodjato, N. A., Baba-Moussa, F., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2016). Croissance des plantes favorisant les rhizobactéries: effets bénéfiques pour une agriculture saine et durable. *Journal Africain de Biotechnologie*, 15(27), 1452-1463.

Olenska E, Malek W, Wójcik M, Swieciska I, Thijs S & Vangronsveld J. (2020). Caractéristiques bénéfiques des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes pour améliorer la croissance et la santé des plantes dans des conditions difficiles : une revue méthodique. Sci. Total. Environ. 743: 140682.

Oplinger E.S., Hardman L.L., Kaminski A.R., Kelling K.A. et Doll J.D. (1990). Cultures alternatives manuelles: lentilles. Récupérée 21,08 .08

O'Toole, G. A., Pratt, L. A., Watnick, P. I., Newman, D. K., Weaver, V. B., & Kolter, R. (1999). Genetic approaches to study of biofilms. *Methods in enzymology*, 310, 91–109.

Otieno, Nicholas & Lally, Richard & Kiwanuka, Samuel & Lloyd, Andrew & Ryan, David & Germaine, Kieran & Dowling, David. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*.

Pankievicz V, Irving TB, Maia LG & Ané J-M. (2019). Are we there yet? The long march towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non-leguminous crops. *BMC Biology* 17(1): 1-17.

Pandin, C., Le Coq, D., Canette, A., Aymerich, S., & Briandet, R. (2017). Le mode de vie du biofilm doit-il être pris en compte pour les agents de biocontrôle microbien? *Biotechnologie microbienne*, 10(4), 719-734.

Poveda, J., Eugui, D., Abril-Uriás, P., & Velasco, P. (2021). Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. *Symbiosis*, 85, 1-19.

Podile AR & Kishore GK. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria. In : Gnanamanickam SS (ed.) *Plant-Associated Bacteria: Rhizosphere Bacteria*. Dordrecht : Springer. 195-230.

Prajapati K, Sharma MC & Modi HA. (2013). Growth promoting effect of potassium solubilizing microorganisms on *Abelmoschus esculantus*. *Int J Agric Sci* 3: 181–188.

Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, MNV et Freitas, H. (2010). Potentiel des bactéries productrices de sidérophores pour améliorer la phytoextraction des métaux lourds. *Tendances en biotechnologie*, 28 (3), 142-149.

Rasool A, Mir MI, Zulfajri M, Hanafiah MM, Unnisa SA & Mahboob M. (2021). Plant growth promoting and antifungal asset of indigenous rhizobacteria secluded from saffron (*Crocus sativus* L.) rhizosphere. *Microbial Pathogenesis* 150: 104734.

Rodge, S. P., Sable, S. K., Salve, S. K., Sawant, S. A., & Patil, N. P. (2016). Isolation and characterization of PGPR from roots of **Ficus religiosa** growing on concrete walls and its effect on plant growth under drought condition. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 5(9), 583-593.

Ryu, S. W., Lee, S. J., Park, M. Y., Jun, J. I., Jung, Y. K., & Kim, E. (2003). Le facteur 1 associé à Fas, FAF1, est un membre du complexe de signalisation induisant la mort de Fas. **Journal de chimie biologique**, 278(26), 24003-24010.

Rfaki A, Nassiri L, Ibijbijen J. (2015). Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Faba Bean (*Vicia faba* L.) in Meknes Region, Morocco. *British Microbiology Research Journal*, 6(5), 247-254.

Rolli E, Marasco R, Vigani G, Ettoumi B, Mapelli F, Deangelis ML, Gandolfi C, Casati E, Previtali F & Gerbino R. (2015). Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology* 17(2): 316-331.

Roy, S., Das, I., Munjal, M., Karthink, L., Kumar, G., Kumar, S. et Rao, R.V.B. (2014). Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anterobactéria and its application in the removal of phenol from aqueous environment. *Front. Biol.* 9(4): 306-316.

Sajad S, Reshi ZA & Mohiddin FA. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): approche écologique pour une agriculture durable. In : Pirzadah TB, Malik B & Hakeem KR (ed.) *Dynamique plante-microbe : progrès récents pour une agriculture durable*, 1ère éd. Boca Raton : CRC Press. 185-200.

Sierra, G. (1957). A Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek* 23: 15-22.

Schippers, B., Bakker, A. W., & Bakker, P. A. H. M. (1987). Interactions entre micro-organismes nuisibles et bénéfiques de la rhizosphère et effet des pratiques culturales. **Revue annuelle de phytopathologie**, 25(1), 339-358.

Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., & Smith, D. L. (2021). PGPR en agriculture: une approche durable pour accroître la résilience au changement climatique. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 5, 667546. .

Sharma, V., Kaur, J., & Sharma, S. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria: potential for sustainable agriculture. **Biotechnología Vegetal**, 20(3), 157-166.

Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., & Bhatti, A. S. (2007). Perspective des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) contenant l'ACC désaminase en agriculture de stress. **Journal de microbiologie industrielle et biotechnologie**, 34(10), 635-648.

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, BR (2016). Endophytes bactériens favorisant la croissance des plantes. *Recherche microbiologique* , 183 , 92-99.

Sayyed, R. Z., Chincholkar, S. B., Reddy, M. S., Gangurde, N. S., & Patel, P. R. (2012). Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. In D. Maheshwari (Ed.), **Bacteria in Agrobiology: Disease Management**. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp. 449-471.

Souza, RD, Ambrosini, A. et Passaglia, LM (2015). Bactéries favorisant la croissance des plantes comme inoculants dans les sols agricoles. *Génétique et biologie moléculaire* , 38 , 401-419.

Syed, S., & Chinthala, P. (2015). Détoxification des métaux lourds par différentes espèces de **Bacillus** isolées des salines solaires. **Scientifique**, 2015, 1-8.

Shen, C., Xiong, J., Zhang, H., Feng, Y., Lin, X., Li, X., et al. (2013). Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. **Soil Biol. Biochem.**, 57, 204–211. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.07.013

Smýkal, P., Kenicer, G., Flavell, A. J., Corander, J., Kosterin, O., Redden, R. J., & Ellis, N. T. (2011). Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources*, 9(1), 4-18.

Swarnalakshmi K, Yadav V, Tyagi D, Dhar DW, Kannepalli A & Kumar S. (2020). Importance de la croissance des plantes favorisant les rhizobactéries dans les légumineuses à grains : promotion de la croissance et production végétale. *Plantes* 9: 1596.

Tang, A.; Haruna, A.O.; Majid, N.M.A.; Jalloh, M.B. (2020). Potential PGPR Properties of Cellulolytic, Nitrogen-Fixing, Phosphate-Solubilizing Bacteria in Rehabilitated Tropical Forest Soil. *Microorganisms*, 8, 442.

Teather RM, Wood PJ. (1982). Utilisation des interactions rouge Congo-polysaccharide dans le dénombrement et la caractérisation des bactéries cellulolytiques du rumen bovin. *Application Environ Microbiol.*; 43: 777-780.

The Legume Phylogeny and Classification Project (LPCP): 2017 Update

Tatung, M., & Deb, C. R. (2023). Isolement, caractérisation et enquête sur la croissance potentielle de plantes multi-caractères favorisant la rhizobactérie à partir du sol rhizosphérique du bananier sauvage (*Musa itinerans*). *J. Application pure. Microbiol.*, 17(3), 1578-1590.

Tsegaye Z, Gizaw B, Tefera G, Feleke A, Chaniyalew S, Alemu T & Assefa F. (2019). Isolation and biochemical characterization of Plant Growth Promoting (PGP) bacteria colonizing the rhizosphere of Tef crop during the seedling stage. *Journal of Plant Science and Phytopathology* 3(1): 013-027.

Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K. K., De, R., Saxena, A. K., Nautiyal, C. S., & Johri, B. N. (2005). Diversité des bactéries favorisant la croissance des plantes et la santé du sol. *Current Science*, 136-150.

Tiwari, D., Duraivadivel, P., Sharma, S., & P, H. (2018). Les rhizobactéries bénéfiques produisant de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique désaminase améliorent les caractères de biomasse de *Panicum maximum* Jacq. en atténuant la sécheresse et le stress salin. *Scientific Reports*, 8(1), 17513.

Toral, L., Rodríguez, M., Béjar, V., & Sampedro, I. (2020). Protection des cultures contre *Botrytis cinerea* par l'agent de lutte biologique rhizosphérique *Bacillus velezensis* XT1. *Microorganismes*, 8 (7), 992.

Ulloa-Ogaz, A. L., Muñoz-Castellanos, L. N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). Lutte biologique contre les phytopathogènes: la production d'antibiotiques comme mécanisme de contrôle. *La lutte contre les pathogènes microbiens: science fondamentale, avancées technologiques et programmes éducatifs*, 1, 305-309.

Vaz Patto, M. C., & Rubiales, D. (2014). Lathyrus diversity: available resources with relevance to crop improvement--*L. sativus* and *L. cicera* as case studies. *Annals of botany*, 113(6), 895–908.

Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255 (2):571–86.

Verma, M., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: diversity and applications. *Environmental biotechnology: for sustainable future*, 129-173.

Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Rôle des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes dans la durabilité agricole – une revue. *Molecules*, 21(5), 573.

- Vaz Patto, M. C., & Rubiales, D. (2014). Lathyrus diversity: available resources with relevance to crop improvement--*L. sativus* and *L. cicera* as case studies. *Annals of Botany*, 113(6), 895–908.
- Vidal-Valverde C., Frias J., Estrella I., Gorospe M.J. Ruiz, R. et Bacon, J. 1994. Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. J Agric Food Chem. 42 : 2291-5.
- Villa-Rodríguez E, Parra-Cota FI, Castro-Longoria E, López-Cervantes J & de los Santos-Villalobos S. (2019). *Bacillus subtilis* TE3: a promising biological control agent against *Bipolaris sorokiniana*, the causal agent of spot blotch in wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). Biological Control 132: 135–143.
- Vinoth, R. S., Kanikkai, R. A., Babu, V. A., Manoj, G., Tyagi, Naman, H., Amala, N.A., Santhosh, B. et Sathiyaseelan, K. (2009). Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. Recent Research in Science and Technology 1(1): 008–013.
- Wani SP & Gopalakrishnan S. (2019). Microbes favorisant la croissance des plantes pour une agriculture durable. In : Sayyed RZ, Reddy MS & Antonius S (dir.) Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Perspectives pour une agriculture durable. Singapour : Springer. 19-45. 38.
- Wani, P. A., & Khan, M. S. (2014). Criblage de plusieurs isolats résistants aux métaux et aux antibiotiques et de leur activité favorisant la croissance des plantes. *Journal pakistanais des sciences biologiques*: PJBS 17(2), 206-212.
- Wheatley, R. E. (2002). The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie Leeuwenhoek*, 81, 357–364.
- Xu SJ, Kim BS. (2014). Biocontrol of fusarium crown and root rot and promotion of growth of tomato by *paenibacillus* strains isolated from soil. Mycobiology. Jun; 42(2): 158-66.
- Yadav, K. K., & Sarkar, S. (2019). Biofertilisants, impact sur la fertilité des sols et la productivité des cultures dans le cadre d'une agriculture durable. *Environnement et Ecologie*, 37, 89-93.

Annexes

Annexes

Annexe I : Composition des milieux de culture

- Milieu YMA :

Mannitol.....10g/l
KH₂PO₄.....0,5g/l
MgSO₄; 7H₂O.....0,2g/l
NaCl.....0,1g/l
Extrait de levure.....0,4g/l
Eau distillé.....qsp1000ml
pH.....6,8

- Milieu YEM :

Mannitol.....10g/l
K₂HPO₄.....0,5g/l
MgSO₄ ; 7H₂O..... 0,2g/l
NaCl.....0,1g/l
Extrait de levure.....0,4g/l
Eau distillé.....qsp1000ml
pH.....6,8

- Milieu PVK solide :

Extrait de levure0,5g /l
Glucose.....10g /l
MgSO₄.7H₂O.....0,1g /l
(NH₄)₂SO₄0,5g /l
NaCl0,2g /l
KCl0,2g /l
MnSO₄;2H₂O.....0,002g /l
FeSO₄;7H₂O.....0,002g /l
Agar.....15g/l
pH7

- Milieu NBRIP liquide :

Glucose.....10g/l
CaPO₄.....12,5g/l
MgCl₂ ; 6H₂O.....5g/l
MgSO₄ ; 7H₂O.....0,25g/l
KCl.....0,2g/l
NH₄.....0,1g/l
Agar.....15g/l
Eau distillé.....qsp1000ml
Ph.....7

- Milieu TSA :

TSA.....40g/l
Glycine.....1,4g/l
Eau distillé.....qsp1000ml
PH.....7

- Milieu NFMM :

KH₂PO₄.....0,4g/l

K₂HPO₄.....0,1g/l
 MgSO₄ ; 7H₂O.....0,2g/l
 NaCl.....0,1g/l
 CaCl₂0,02g/l
 FeCl₃.....0,01g/l
 MoO₄Na ; 2H₂O.....0,002g/l
 Malate de odium.....5g/l
 Bleue de bromothymol.....5 ml/0,5
 Agar.....20g/l
 Eau distillé.....qsp1000ml
 pH7

- Milieu Muller Hinton

Muller Hinton.....38g/l
 Eau distillé.....qsp1000ml
 pH.....7

- Gélose nutritive

GN.....13g/l
 Eau distillé.....qsp s1000ml
 pH7

- Milieu TSB

TSB..... 33g/l
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Ph.....7

- Milieu Columbia

Peptone..... 23g/l
 Amidon.....1g/l
 Chlorure de sodium.....5g/l
 Extrait de levure.....5g/l
 Agar.....10g/l
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Sang du mouton5
 pH7

- Milieu basal à base de jaune d'œuf

Tryptone.....5g/l
 Extrait de levure.....2,5g/l
 Glucose.....1g/l
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Agar.....15g/l
 Jaune d'œuf.....20%
 pH.....7

- Gélose nutritive de Sierra

Peptone.....10g/l
 CaCl₂.....0,1g/l
 NaCl.....5g/l
 Tween 20.....10ml
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Agar.....15g/l
 pH7

- Milieu à base de lait écrémé :

Agar.....15g/l
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Lait écrémé.....2ml
 pH.....7

- Gélose nutritive à base d'amidon

Amidon soluble.....10g/l
 Extrait de viande.....1g/l
 Extrait de levure.....2,5g/l
 Peptone.....5g/l
 NaCl.....5g/l
 Eau distillé.....qsp 1000ml
 Agar.....15g/l
 pH7,2

Annexe II : la composition des réactifs utilisés

- Réactif de Salkowski 0,1%

Cristal violet.....0,1g
 Eau distillé.....qsp 100ml
 Solution d'acide picrique
 Acide picrique.....0, 5g
 Eau distillé.....qsp 100ml
 Carbonate de sodium.....2g
 Eau distillé.....qsp 100ml

- Solution d'HCl à 2 M

HCl pure.....16,43ml
 Eau distillé.....qsp 100ml
 Solution de cristal violet à 1%
 FeCl₃.....4,06g
 Acide perchlorique.....75ml
 Eau distillé.....qsp 75ml

- Solution de rouge de Congo

Rouge de Congo.....0,1%
 Eau distillé.....qsp 100ml

- Solution de molybdate d'ammonium :

(NH₄)₂MoO₄..... 0,96 g
 Eau distillé.....qsp 100 ml

- Solution d'acide ascorbique

C₆H₈O₆.....5g
 Eau distillé..... qsp 25 ml
 Solution de tartrate de potassium et d'antimoine :
 K₂Sb₂(C₈H₄O₁₂)•3H₂O..... 0,066 g
 Eau distillé.....qsp 25ml
 Solution d'acide sulfurique :
 H₂SO₄.....5.6 ml
 Eau distillé.....qsp 50ml

Annexe III : Résultats et Discussions

Tableau VI : les résultats de potentiel PGPR

	Fixation d'azote	Solubilisation de phosphate	Production d'AIA
BT2	+	+	+
HG1	+	-	+
RLV	-	+	+
K9	+	+	+
BV2	+	+	+
H10	+	-	+
MeK6	+	-	+
JR1	+	-	+++
EC6	+	+	+
LV1	+	+	+
SV1	-	-	+

Tableau VII : Evaluation des activités enzymatiques des souches.

	cellulase	amylase	pectinase	protéase	lipase	estérase	lécithinase	hémolysine
BT2	-	+	+	++	+	+	-	+
HG1	-	+	+	+++	+	+	-	-
RLV	+	-	-	+	-	-	-	+
K9	+	+	+	-	+	-	+	+
BV2	+	+	+	+++	+	+	+	+
H10	-	+	-	-	+	-	+	+
MeK6	-	+++	+	-	-	+	++	-
JR1	-	++	-	-	+	+	++	+
EC6	+	+	-	-	-	-	+	-
LV1	+	+	+	+++	+	+	+	+
SV1	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau VIII : évaluation de la croissance des souches en présence du zinc.

	5 µg	10 µg	15 µg	20 µg	25 µg	30 µg
BT2	++	++	++	++	++	++
HG1	++	++	++	+	+	+
RLV	++	++	++	++	++	+
K9	++	++	++	++	++	++
BV2	++	++	++	++	++	+
H10	++	++	++	++	++	++
MeK6	++	++	++	++	++	+
JR1	++	++	++	++	++	++
EC6	++	++	++	+	+	-
LV1	++	++	++	+	+	+
SV1	++	++	++	++	++	+

Tableau IX : Evaluation de la croissance des souches en présence du plomb.

	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	300 µg	400 µg	500 µg	600 µg
BT2	++	++	++	++	++	++	++	+
HG1	++	++	++	++	++	++	+	+
RLV	++	++	++	++	++	+	+	+
K9	++	++	++	++	++	++	++	++
BV2	++	++	++	++	++	++	++	++
H10	++	++	++	++	++	++	++	++
MeK6	+	+	+	+	+	+	+	-
JR1	++	++	++	++	++	++	++	++
EC6	++	++	++	+	+	+	+	-
LV1	++	++	++	++	++	++	++	++
SV1	++	++	++	++	++	+	+	-

Tableau X : Evaluation de la croissance des souches en présence de cadmium.

	2 µg	4 µg	6 µg	8 µg	10 µg
BT2	-	-	-	-	-
HG1	++	++	++	++	++
RLV	++	++	++	++	++
K9	++	++	++	++	++
BV2	++	++	++	++	++
H10	++	+	-	-	-
MeK6	+	+	+	-	-
JR1	++	++	++	++	++
EC6	++	++	++	++	+
LV1	++	++	++	++	+
SV1	++	++	++	++	+

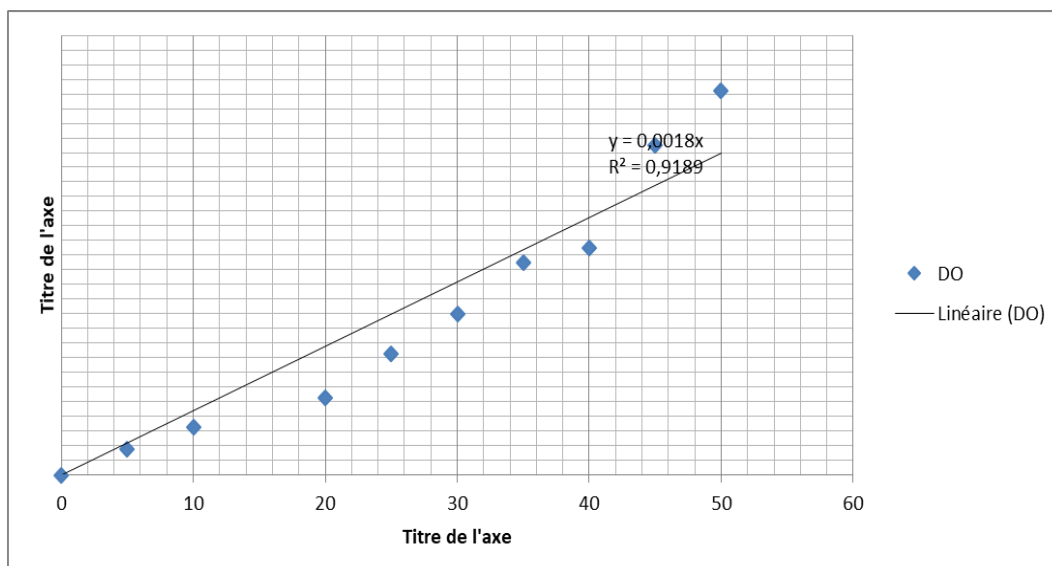


Figure 17 : courbe d'étalonnage d'AIA.

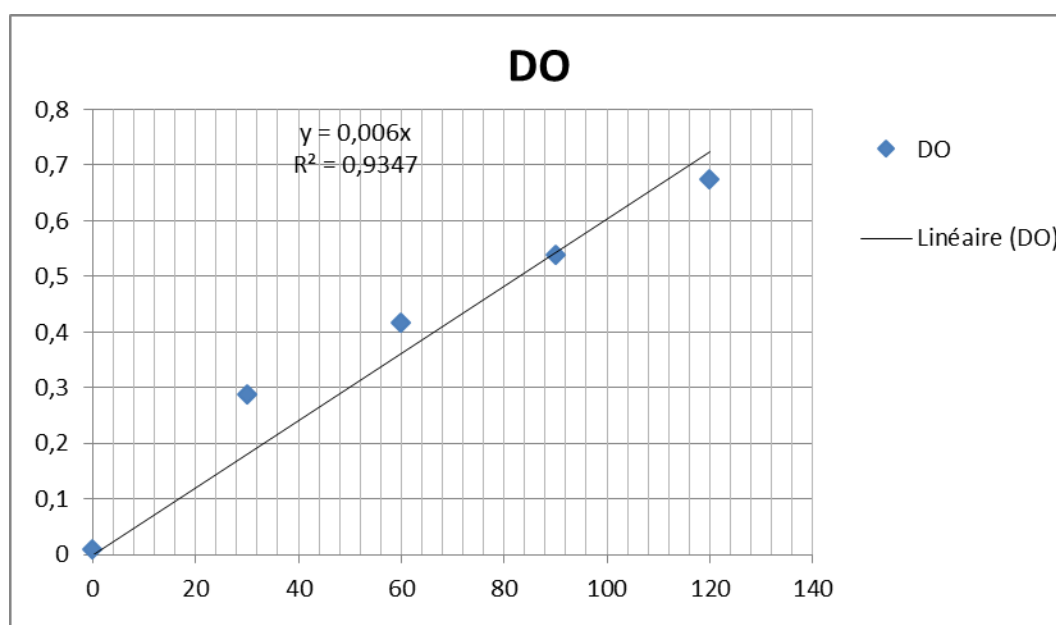


Figure 18 : courbe d'étalonnage de phosphore.



Figure 19 : Illustration de quelques galeries des souches étudiées.

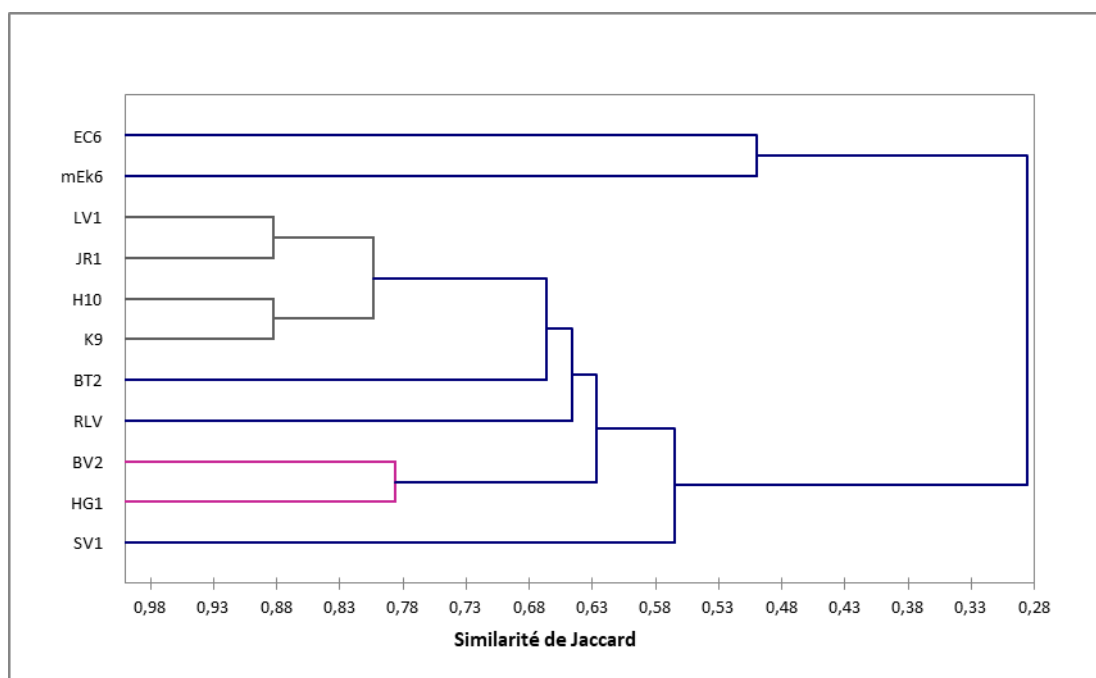


Figure 20 : Classification hiérarchique ascendante basée sur les caractères La galerie API 20 NE

Résumé

L'objectif de ce travail est de sélectionner des rhizobactéries qui possèdent des effets promoteurs de croissance des plantes (PGPR). Une collection de 11 souches de rhizobactéries ont été testées pour leur capacité à fixer l'azote, solubiliser le phosphore, produire des enzymes lytiques, des phytohormones (AIA), des cyanures d'hydrogène (HCN) et à former des biofilms, les souches ont également subi des tests de sensibilité aux antibiotiques et aux métaux lourds, ainsi qu'une caractérisation du métabolisme bactérien par galerie API 20 NE. Les résultats ont montré que (7/11) des souches peuvent fixer l'azote et solubiliser le phosphore, (9/11) produisent de l'HCN, (11/11) produisent de l'AIA à des concentrations variables et forment des biofilms, ainsi qu'une résistance de la majorité des souches à la plus part des antibiotiques et aux différentes concentrations des métaux lourds testés. À l'égard des activités enzymatiques d'intérêt, elles ont été retrouvées dans la plus part des souches. Les résultats significatifs obtenus montrent que, au moins 3 souches parmi la collection font une approche prometteuse pour la création d'un consortium au profit de l'agriculture et de l'environnement.

Mots clés : légumineuse, *vicia*, rhizosphère, PGPR, rhizobium, agriculture durable.

Abstract

The aim of this work is to select rhizobacteria with plant growth-promoting effects (PGPR). A collection of 11 strains of rhizobacteria were tested for their ability to fix nitrogen, solubilize phosphorus, produce lytic enzymes, phytohormones (AIA), hydrogen cyanides (HCN) and form biofilms. The strains were also tested for sensitivity to antibiotics and heavy metals, and characterized for bacterial metabolism by API 20 NE gallery. Results showed that (7/11) strains can fix nitrogen and solubilize phosphorus, (9/11) produce HCN, (11/11) produce IAA at variable concentrations and form biofilms, as well as resistance of the majority of strains to most antibiotics and to the various concentrations of heavy metals tested. Enzyme activities of interest were found in most strains. The significant results obtained show that at least 3 strains from the collection represent a promising approach for the creation of a consortium for the benefit of agriculture and the environment.

Key words: legume, *Vicia*, rhizosphere, PGPR, rhizobium, sustainable agriculture.

