

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département microbiologie
Filière : Science biologique
Option : Ecologie microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Effet de la physicochimie des sols sur la diversité phénotypique et fonctionnelle des bactéries telluriques et l'interaction Bactérie-Blé dur.

Présenté par :

AGUENIOU Fatiha
ZEGGAGH Hachemi

Soutenu le : 19 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme. BOUDERIES Samiha	MAA	Présidente
Mr. Nabti El Hafid	Professeur	Encadreur
Mr. RAI Abdelwahab	Doctorant	Co-encadreur
Mme. DJINNI Ibtissam	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département microbiologie
Filière : Science biologique
Option : Ecologie microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Effet de la physicochimie des sols sur la diversité phénotypique et fonctionnelle des bactéries telluriques et l'interaction Bactérie-Blé dur.

Présenté par :

AGUENIOU Fatiha
ZEGGAGH Hachemi

Soutenu le : 19 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme. BOUDERIES Samiha	MAA	Présidente
Mr. Nabti El Hafid	Professeur	Encadreur
Mr. RAI Abdelwahab	Doctorant	Co-encadreur
Mme. DJINNI Ibtissam	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Remerciements :

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers les personnes qui ont contribué directement ou indirectement à ce travail.

Nous remercions particulièrement notre promoteur, Monsieur NABTI El-Hafid, merci pour votre patience, vos encouragements et votre confiance. Merci pour votre accueil chaleureux au laboratoire et vos directives irremplaçables, mais aussi pour votre rigueur scientifique et vos conseils pertinents qui nous ont aidés à bien mener notre travail.

Nous remercions Monsieur RAI Abdelwahab pour son suivi, son aide, et sa disponibilité tout au long de la réalisation de notre travail.

Nous avons l'honneur de formuler notre vive gratitude et profonde reconnaissance à l'égard du madame BOUDERIES Samiha d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nous sommes également reconnaissants à Mademoiselle DJINNI Ibtissam d'avoir manifesté de l'intérêt pour ce travail en nous faisant l'honneur de juger et d'examiner ce manuscrit.

Nous tenons également à remercier tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail. Merci à nos enseignants durant les cinq ans de notre formation, sans oublier les membres de l'équipe Biomasse et Environnement (Laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables).

Dédicaces

Dédicace :

*A mes chers parents : Mahmoud et OUIHENIA Ourida
pour leur amour et leur soutien continu.*

A mes frères : Tahar et Smaïl

A mes sœurs : Dahouia, Djamila, Nadia.

A mes amis et toutes les personnes qui me connaissent ...

Fatíha.

Dédicace :

*A la mémoire de mon père, ce travail aurait pu le rendre
fière de moi.*

*A ma mère ZOÛRA, merci pour tout ce que tu as fait pour
moi, merci pour l'amour et le soutien continu, merci d'être
à mes côtés.*

A mon frère : NADIR

A Mes sœurs : Samia, Sonia, Dalila, Nawel et Kahina.

*A mes neveux : Melissa, Yanis, Anyes, Inasse, Aksyl,
Nour El Houda et alyan.*

*A mon oncle Bachir, sa femme Hassina et leurs fille
Myassa.*

*A mon ami Abdoulam et toutes les personnes qui me
connaissent ...*

Hachemi.

Sommaire

Sommaire :

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Sol et Rhizosphère 3	3
1. Le sol entre biologie et Physicochimie 3	3
2. Définition de la Rhizosphère..... 3	3
3. Rhizosphère et interaction plante-bactérie 3	3
II. Bactéries Stimulatrices de la croissance des plante (PGPB) 3	3
1. Définition PGPR 4	4
2. Mécanisme de stimulation de la croissance des plantes..... 5	5
2.1. La fixation biologique de l'azote atmosphérique..... 5	5
2.2. Production d'enzymes lytiques 5	5
2.3. Solubilisation du phosphate insoluble 6	6
2.4. Sidérophores bactériens 7	7
2.5. Les phytohormones 7	7
2.5.1 Les auxines..... 8	8
2.5.2 Les gibbérellines 8	8
2.5.3 Les cytokinines 9	9
2.5.4 Ethylène 9	9
2.6. ACC désaminase d'origine bactérienne 10	10

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. Echantillonnage 11	11
1. Echantillonnage du sol pour l'isolement de bactéries rhizosphériques 11	11
2. Echantillonnage du sol pour l'étude <i>in vivo</i> 12	12

3.	Propriétés physicochimiques des échantillons du sol	12
3.1.	pH	12
3.2.	Conductivité électrique	12
3.3.	Contenu humide gravimétrique	13
3.4.	Matière organique totale	13
4.	Procédure d'isolement	14
II.	Effect <i>in vivo</i> des isolats sélectionnés sur la croissance du blé	15
1.	Origine des graines	15
2.	Préparation des inocula bactériens	16
3.	Désinfection et bactérisation des graines	16
4.	Protocole expérimental	17
III.	Caractérisation phénotypiques et fonctionnelle des isolats sélectionnés	17
1.	Mobilité bactérienne et coloration de Gram	17
2.	Solubilisation du phosphate tricalcique	17
3.	Production d'Acide 3-Indole Acétique (AIA)	17
4.	Fixation de l'azote atmosphérique	18
IV.	Analyse statistique	18

Chapitre III : Résultats

I.	Propriétés physicochimiques	20
II.	Caractères phénotypiques et fonctionnels des isolats	20
1.	Caractères phénotypiques	20
2.	Production d'Acide 3- Indole Acétique	22
3.	Solubilisation de phosphate tricalcique	23
4.	Fixation de l'azote atmosphérique	24
III.	Résultats de l'étude <i>in vivo</i>	25
1.	Effet des souches sur la germination des graines	26
2.	Effet des souches sur taille et les poids frais/sec	27
IV.	Analyse des composantes principales (ACP)	31
1.	Tableau utilisé pour l'ACP	31
2.	Etudes des corrélations entre les différents variables	31

3. Matrice des corrélations	32
Chapitre IV : Discussion	
Discussion générale	36
Conclusion	43
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : échantillons du sol rhizosphérique utilisé pour l'isolement des bactéries.	11
Figure 2 : échantillonnage du sol pour l'étude in vivo (originale).	12
Figure 3 : sol agricole utilisé pour l'étude in vivo (originale)	15
Figure 4 : Graines de Triticum durum variété BOUSSALEM (originale).	15
Figure 5 : Coloration de gram des deux isolats 1-B et 3-E	22
Figure 6 : Solubilisation du phosphate tricalcique par les 3 isolats 2-G, 3-I et 1-F sur le milieu de Pikovskaya.	24
Figure 7 : Pourcentage final de germination des graines sous l'effet des 40 souches.	26
Figure 8 : effet des souches de l'échantillon 1 sur la taille des racines, des tiges, le poids frais et le poids sec, des plantules de blé après 15 jours de croissance	27
Figure 9 : effet des souches de l'échantillon 2 sur la taille des racines, des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules de blé après 15 jours de croissance.	28
Figure 10 : effet des souches de l'échantillon 3 sur la taille des racines, des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules de blé après 15 jours de croissance	29
Figure 11 : effet des souches de l'échantillon 4 sur la taille des racines, des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules de blé après 15 jours de croissance.	30
Figure 12 : un scree plot	32
Figure 13 : ACP et corrélation entre les caractères physicochimiques des échantillons.....	34
Figure 14 : distribution des quatre échantillons de sol selon la diversité des composantes (variables) qui leurs sont attribuées.	35

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : code et localisation géographique des échantillons utilisés pour l'isolement. 11

Tableau II : propriétés physicochimiques des échantillons du sol. 20

Tableau III : résultats des caractères phénotypiques des isolats..... 21

Tableau IV : résultats de la production de l'AIA 22

Tableau V : résultat de solubilisation de phosphate tricalcique..... 23

Tableau VI : résultat de la fixation d'azote atmosphérique 24

Tableau VII : l'ensemble des variables utilisées pour l'ACP 31

Tableau VIII : matrice de corrélation selon la méthode de Pearson. 33

Introduction

Introduction

Au cours du siècle dernier, la croissance rapide de la population humaine, ajoutée au réchauffement climatique, ont créé une pénurie mondiale des ressources en eau ce qui a augmenté la salinisation des sols, la dégradation biodiversité trophique et de l'environnement ce qui a accentué les besoins nutritionnelles au niveau mondial (Shahbaz et Ashraf, 2013).

L'agriculture constitue la source principale de nutrition pour l'humanité. Le sol est le support principal de la plupart des produits issus de l'agriculture. Il constitue également le support de vie d'une très grande variété d'organismes vivants en interactions continues (plantes, vers de terre, nématodes, acariens, protozoaires, algues, champignons, eubactéries, archaea, etc.) (Scow, 2004).

Les microorganismes du sol peuvent être bénéfiques en affectant positivement la qualité du sol et la croissance des plantes, ou pathogènes et responsables de maladies à effets dévastateurs (Bonkowski *et al.*, 2009). La diversité des communautés bactériennes rhizosphériques est influencée à la fois par le sol, sa composition, ses caractères physicochimiques, ainsi que par les exsudats racinaires produites par les plantes (Marschner *et al.*, 2001). Parmi cette grande diversité bactérienne, un groupe de bactéries communément appelé PGPR, de l'anglais « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* », est capable de coloniser les racines des plantes et d'apporter un effet positif à leur croissance (Kang *et al.*, 2012).

Les PGPR améliorent la disponibilité de certains nutriments par la fixation de l'azote atmosphérique ou à travers la solubilisation du phosphate. Ils synthétisent des phytohormones (AIA, cytokinines ...) modulent le développement des plantes à travers la production d'enzymes et facilitent la mise en place ou le fonctionnement des symbioses mutualistes entre les racines et les bactéries fixatrices d'azote et l'antagonisme avec les pathogènes (Kennedy *et al.*, 2006 ; Baca et Elmerich, 2007 ; Ficher *et al.*, 2007 ; Sharma, 2011 ; Kang *et al.*, 2012).

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans la plupart des pays du monde, particulièrement dans les pays en voie de développement (Kellou, 2008). Le blé est l'un des céréales les plus importantes en Algérie. Sa production nationale ne répond pas aux besoins de la population et son rendement est influencé par une multitude de facteurs biotiques (les phytopathogènes, organismes symbiotiques) et abiotiques (salinité, matière

organique, pH, Humidité etc.). Ces derniers n'affectent pas uniquement les plantes, mais également la communauté microbienne entourant ses racines.

Dans cette optique, notre travail s'est intéressé à l'étude de la diversité phénotypique et fonctionnelle de certaines bactéries isolées de la rhizosphère de quelques plantes, ainsi que leur effet sur la croissance du blé. L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet des propriétés physicochimiques des échantillons du sol sur la distribution de quelques caractères phénotypiques et fonctionnelles des bactéries isolées.

Ce travail a été réalisé durant une période de 5 mois (Février-Juin) au niveau du laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables (LMER)-Equipe de Biomasse et Environnement de l'université Abderrahmane MIRA de Béjaïa. Il est divisé en deux parties : La première partie consiste à isoler des bactéries du sol à partir de 4 échantillons prélevés de zones rhizosphériques appartenant à quatre plantes différentes et à étudier l'effet des bactéries isolées sur la germination et la croissance du blé. La deuxième partie du travail s'intéresse à l'étude de l'effet des propriétés physicochimiques des échantillons du sol sur la diversité métabolique et phénotypique des isolats, ainsi que l'interaction de l'ensemble de ces paramètres (caractères physicochimiques des échantillons et propriétés des isolats) avec les résultats obtenus avec les plantules de blé (étude de corrélation) et leur effet sur la croissance du blé.

Synthèse bibliographique

I. Sol et Rhizosphère

1. Le sol entre la biologie et la physicochimie

Selon Osman, (2013), le sol est défini comme étant une entité naturelle vivante et dynamique sur la surface de la terre, il est composé de solides (organique et minérale), liquides et gazes, présentant au moins l'un des deux caractères suivants : (1) Composé de couches qui se différencient par leurs matières premières suite à des ajouts, des pertes ou des transformations de matière et d'énergie. (2) Capacité à supporter les plantes enracinées dans un environnement naturel.

Le sol constitue le support de vie d'une très grande variété d'organismes vivants en interactions continues (plantes, vers, nématodes, acariens, protozoaires, algues, champignons, eubactéries, archaea, etc.) (Lahmar, 2001 ; Scow, 2004).

2. Définition de la rhizosphère

Étymologiquement, le terme rhizosphère est issu de : *rhiza* "racine" et *sphera* "ce qui entoure". La rhizosphère, volume de sol soumis à l'influence des racines, est définie aussi comme la couche de sol qui adhère fermement aux racines des plantes (Beattie, 2007). La rhizosphère est une zone très riche en nutriments, constituant une niche écologique stimulatrice de diverses activités microbiennes (Bravin, 2008).

3. Rhizosphère et interaction plante-bactéries

Certaines bactéries du sol sont phytopathogènes. Elles sont responsables de pertes économiques considérables liées à leur pouvoir pathogène vis-à-vis des plantes. Cependant, une grande partie des bactéries telluriques est capable d'améliorer la croissance des plantes en établissant des interactions symbiotiques ou non symbiotiques avec leur plante hôte. D'un autre côté, les racines des plantes libèrent une large variété de substances (divers alcools, éthylène, sucres, acides aminés, acides organiques, vitamines, nucléotides, polysaccharides et enzymes). Ces molécules influencent considérablement les microorganismes environnants, constituant un écosystème rhizosphérique très favorable à leur croissance (Prescott, 2002).

La plupart des bactéries de la rhizosphère aident à leur tour, par mutualisme, les plantes par la fixation de l'azote atmosphérique, la dégradation de la matière organique, ainsi que par la stimulation de la croissance et la protection des végétaux (Schmitt-Kopplin *et al.*, 2007). D'un autre côté, le sol exerce un effet sur les communautés microbiennes au niveau de la rhizosphère

en maintenant des pH, des aérations et des caractéristiques physico-chimiques différentes (Marschner *et al.*, 2001).

Ils existent des mécanismes d'associations très spécifiques et complexes entre les plantes et les microorganismes. Ces associations peuvent être responsable de l'induction de la résistance et/ou de la tolérance des plantes à divers stressés biotiques et abiotiques. Les communautés bactériennes du sol peuvent affecter directement la croissance des plantes par la production de molécules biologiquement actives, ou indirectement en affectant l'environnement qui les entourent à travers la dégradation de la matière organique et l'élimination des phytopathogènes (Boukerma, 2012).

II. Bactéries stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR)

L'utilisation des bactéries afin d'améliorer la disponibilité des nutriments et protéger les plantes constitue actuellement l'une des pratiques les plus utilisées en agriculture. Les résultats de cette démarche sont prometteurs et incitent à continuer les travaux dans cette approche (Figueiredo *et al.*, 2010).

1. Définition PGPR

Le terme PGPR, de l'anglais « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* », désigne les rhizobactéries colonisant les racines tout en contribuant à l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes (Kloepper *et al.*, 1980). La plupart des PGPR sont associées à la croissance des plantes indirectement, via des altérations de la structure du sol et/ou de la rhizosphère (Nautiyal, 2008).

Certains PGPR comme celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum* et *Bacillus* ont la faculté de produire ou de changer la concentration des régulateurs de croissance, de sécréter des enzymes lytiques et de produire une large gamme de molécules d'intérêt agricole, participant à la stimulation de la croissance des plantes, l'élimination des phytopathogènes et la restauration de la qualité des terrains agricoles (Arshad, 1991 ; Ahmed, 2005 ; Arkhipova, 2005 ; Khakipour, 2008; Berge, 2011).

2. Mécanisme de stimulation de la croissance de la plante

2.1. Fixation de l'azote atmosphérique

L'azote constitue 78% du volume total de l'atmosphère. C'est l'un des principaux nutriments des plantes et un facteur limitant dans les écosystèmes agricoles. L'azote moléculaire est un composé chimiquement stable. Il n'est pas assimilé par les plantes ou la majorité des microorganismes (Golubyatnikov *et al.*, 2013). Le recyclage de l'azote repose sur sa transformation de la forme atmosphérique (N₂) à la forme organique qui retourne à son tour vers l'atmosphère. L'interconversion de ses différentes formes azotées (fixation de l'azote, minéralisation, nitrification, dénitrification ...) représente le cycle biogéochimique de l'azote, principalement constitué de processus biologiques dans lesquels les microorganismes jouent un rôle prédominant. Métaboliquement, les microorganismes absorbent préférentiellement l'ammonium tandis que les plantes et certains microorganismes assimilent préférentiellement le nitrate (Bertrand *et al.*, 2015).

La fixation de l'azote dans le sol est un mécanisme important, principalement assuré par des microorganismes menant une vie libres (*Azoarcus*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Acetobacter*) ou des microorganismes vivant en symbiose avec des plantes (*Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium* et *Sinorhizobium*). La fixation de l'azote est réalisée par une enzyme hautement conservée et énergétiquement coûteuse (16 ATP) appelée nitrogénase (Reddy, 2014).

Tous les genres susmentionnés ont déjà été décrits comme PGPR, assurant la fixation de l'azote atmosphérique et favorisant la croissance et le rendement des plantes (Zhang *et al.*, 1996; Cocking 2003; Tilak *et al.*, 2006; Ashraf *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2011; Santi *et al.*, 2013; Verma *et al.* 2013; Miao *et al.*, 2014, Sivasakthi *et al.*, 2014, Gupta *et al.*, 2015).

2.2. Production d'enzymes lytiques

Certaines bactéries produisent des enzymes mycolytiques, à savoir la chitinase, la 1,3-glucanase et la 1,4-glucanase. Ces enzymes dégradent la paroi cellulaire fongique (Kumar, Dubey *et al.* 2012). De telles enzymes sont également impliquées dans la dégradation de la matière organique. L'activité cellulasique (exoglucanase et la cellobiase) contribue à

l'enrichissement du sol par des nutriments et au renouvellement de la matière organique. D'autres activités enzymatiques (phosphatase, protéase, lipase, amylase, uréase etc.) jouent également un rôle non négligeable dans la dégradation de la matière organique et la restauration des sols agricoles (Kandeler *et al.*, 2002 ; Otajevwo et Aluyi, 2011).

2.3. Solubilisation du phosphate insoluble

Après l'azote, le phosphate le macronutriment le plus important pour la plupart des processus biologiques chez les plantes (division cellulaire, transport d'énergie, signal transduction, biosynthèse des macromoléculaire, photosynthèse, respiration etc.) et, par conséquent, pour le développement de la vie sur terre. Il est présent à des concentrations de 400-1200 mg/kg de sol. Cependant, seulement 1 mg de cette grande quantité est sous une forme soluble, tandis que le reste est rapidement immobilisé, devenant inassimilable par les plantes (Ahemad, 2014). Son cycle dans la biosphère peut être décrit comme «sédimentaire», car il n'y a pas d'échange avec l'atmosphère (Rodríguez et Fraga 1999 ; Khan *et al.*, 2014). Dans les sols, le phosphore se présente sous des formes minérales (apatite, hydroxyapatite et oxyapatite ...) ou des formes organiques telles que le phosphate d'inositol (phytate du sol), les phosphomonoesters, les phosphodiesters et les phosphotries (Ahemad, 2014).

Il est important de mentionner qu'une grande partie du phosphore fournie aux terres agricoles comme engrais est rapidement immobilisée (Oteino *et al.*, 2015). En outre, le processus de production traditionnelle d'engrais de phosphore est indésirable pour l'environnement en raison de la libération de contaminants dans le produit principal, les sous-produits toxiques et l'accumulation des métaux lourds dans le sol et les cultures en raison de l'utilisation répétitive d'engrais phosphoreux impures (Song *et al.*, 2008 ; Sharma *et al.*, 2013 ; Ahemad, 2015).

Pour éviter ces problèmes, Certaines bactéries jouent un rôle central dans tous les processus de transformation du phosphate dans le sol. Grâce à leurs activités, des formes insolubles et inaccessibles de phosphate sont hydrolysées en formes solubles par des procédés de solubilisation (phosphate inorganique) et de minéralisation (phosphate organique). L'immobilisation est la réaction inverse de la minéralisation, au cours de laquelle, les microorganismes convertissent les formes inorganiques en phosphate organique (Chen *et al.*, 2006 ; Khan *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2013 ; Khan *et al.*, 2014).

La solubilisation du phosphate est l'un des traits les plus ciblés pour sélectionner un PGPR efficace. Sashidhar et Podile ont signalé dans leur article revue publié en 2010 que, parmi d'autres, des bactéries comme *Achromobacter xylosoxidans*, *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas putida*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter mysorens*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Enterobacter aerogens*, *Gluconobacter diazotrophicus*, *Rhizobium meliloti* et *Pantoea agglomerans* sont connus pour être des solubilisatrices de phosphate (Sashidhar et Podile, 2010 ; Sharma, 2011 ; Krishnaraj et Dahale, 2014).

2.4. Sidérophores bactériens

Les sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire (500 à 1500 Daltons), dont le rôle est d'extraire, solubiliser et de chélater le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques, le rendant accessible aux microorganismes (Neilands, 1995). Ils sont synthétisés et sécrétés, en réponse à des conditions de carence en fer, pour la chélation et la solubilisation d'ions ferriques. Ces molécules sont synthétisées par une large gamme d'organismes tels que les bactéries, certains champignons mais aussi des organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) (Ratledge et Dover, 2000; Hider et Kong 2009).

Plusieurs études sur l'utilisation du fer par les plantes ont permis aux scientifiques de distinguer deux stratégies utilisées pour l'acquisition du fer à partir du sol (Hider et Kong 2009). Dans le premier mécanisme, les chélateurs de fer sécrétés par les plantes forment un complexe Siderophore-Fe³⁺ est immédiatement absorbé par le lemme du plasma. Dans le second, le complexe formé aide à maintenir les ions ferriques en solution, puis les expose ensuite à la surface de la racine où ils sont réduits en ions ferreux (Fe²⁺) et immédiatement absorbés (Neilands, 1995 ; Vessey, 2003). En plus de ces deux stratégies, les plantes peuvent prendre bénéfice des sidérophores microbiens (champignons et bactéries). Ces derniers sont synthétisés pour chélater des traces d'ions ferriques présents dans l'environnement et les transporter à l'intérieur des cellules grâce à des récepteurs membranaires spécifiques (Guerinot, 1994 ; Das *et al.* 2007 ; Meyer, 2007 ; Krewulak et Vogel, 2008).

2.5. Les phytohormones

Les phytohormones «hormones de croissance des plantes» sont des substances organiques naturelles qui exercent, à faibles concentrations, une influence majeure sur pratiquement tous les aspects physiologique de la croissance des plantes. L'histoire étonnante des phytohormones

a commencé lorsque Charles Darwin et son fils Francis (1880) ont décrit pour la première fois leur rôle. Le nom Auxin a été donné à la phytohormone découverte pour la première fois en se référant au mot grec αυξειν «croître ou augmenter» (Kende et Zeevaart, 1997 ; Arora, 2013). L'auxine est restée le seul synonyme de phytohormone jusqu'en 1937, lorsque Went et Thimann (1937) ont publié leur livre classique "Phytohormones". Depuis, les gibbérellines, l'éthylène, les cytokinines et l'acide abscissique forment, ensembles «les cinq phytohormones classiques» (Tran et Pal, 2014). Les phytohormones ne sont pas seulement produites par les plantes, une grande variété de microorganismes (champignons, bactéries) et même les algues peuvent les synthétiser (Tarakhovskaya *et al.*, 2007 ; Narayanasamy, 2013). Ainsi, la biosynthèse des phytohormones par les bactéries du sol constitue un outil clé par lequel elles améliorent la croissance des plantes et régulent leurs processus physiologiques.

2.5.1. Les auxines

L'acide Indole Acétique (AIA) est l'auxine naturelle la plus courante dans le monde végétal. Elle a un effet positif sur la croissance des racines, la prolifération cellulaire et l'absorption des minéraux et des nutriments du sol par la plante (Miransari *et al.*, 2014). Cette phytohormone augmente le taux de développement du xylème et des racines, contrôle les processus de croissance végétative, initie la formation latérale et l'adventice de la racine, affecte la photosynthèse, la formation des pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance aux conditions stressantes (Spaepen *et al.*, 2007 ; Vessey, 2003).

Le tryptophane (TRP) est un acide aminé couramment retrouvé dans les exsudats racinaires. La biosynthèse de l'AIA par les bactéries implique cinq voies dépendantes du TRP : voie de l'indole-3-acétamide, voie de l'acide indole-3-pyruvique, voie de la tryptamine, voie de l'indole-3-acétonitrile et voie de l'oxydase de la chaîne latérale TRP ; et une voie indépendante de TRP. (Spaepen *et al.*, 2007 ; Etesami *et al.*, 2009 ; Khan *et al.*, 2014 ; Di *et al.*, 2016).

2.5.2. Les gibbérellines

L'histoire des gibbérellines a commencé en 1962 avec le champignon *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi* sous sa forme sexuelle) lorsque Kurosawa (Japon) a décrit l'existence de composés bioactifs dans le milieu de culture de ce champignon. En 1983, deux autres japonais (Yakutat et Sumiki) ont isolé ces principes actifs sous forme de cristaux du milieu de culture et les ont nommés gibbérellines A et B (Takahashi *et al.*, 1991).

Actuellement, les gibbérellines comprennent une large gamme d'acides diterpéniques tétracycliques qui régulent, en combinaison avec d'autres phytohormones, divers processus de croissance des plantes impliquant la germination, l'allongement de la tige, la floraison, la fructification, la promotion de la croissance des racines. Les gibbérellines sont également impliqués dans la régulation de la dormance des bourgeons végétatifs et reproductifs et le retard de la sénescence dans de nombreux organes (MacMillan et Suter, 1958 ; Takahashi *et al.*, 1991 ; Bottini *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2012; Niranjana et Hariprasad, 2014; Cassán *et al.*, 2014). En outre, le premier rapport de gibbérellines bactériennes était en 1988 avec la bactérie *Rhizobium meliloti* (Maheshwari *et al.*, 2015).

2.5.3. Les cytokinines

Les cytokinines sont soit des aminopurines N6-substituées, des composés d'adénine avec un isoprène ou un isoprène modifié, du zéatine ou de la trans-zéatine. Ces molécules ont la capacité d'influencer les processus physiologiques et de développement des plantes. Les cytokinines sont impliquées dans le contrôle de la division cellulaire, du cycle cellulaire, la sénescence foliaire, la mobilisation des éléments nutritifs, la domination apicale, la formation et l'activité des méristèmes apicaux, le développement floral, la rupture de la dormance des bourgeons et la germination des graines etc. (Niranjana et Hariprasad, 2014, Maheshwari *et al.*, 2015, Wong *et al.*, 2015). A part leur libération par les racines des plantes, les cytokinines peuvent également être produites par les microalgues, les bactéries, les champignons mycorhiziens et les nématodes dans la rhizosphère (Reddy, 2014).

Pendant longtemps, les cytokinines sont considérées comme un caractère important pour la sélection des PGPR. Par conséquent, plusieurs travaux ont évoqué le rôle des cytokinines produites par des bactéries comme *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* dans la régulation de la croissance des plantes (Akiyoshi *et al.*, 1987 ; Taller et Wong, 1989 ; Cornad *et al.*, 1992 ; Timmusk *et al.*, 1999 ; Donderski et Głuchowska 2000 ; Kämpfer *et al.*, 2005 ; Ortíz-Castro *et al.*, 2008).

2.5.4. Éthylène

L'éthylène est une hormone gazeuse produite par environ toutes les plantes, mais aussi par des microorganismes (bactéries, champignons). Elle joue un rôle important dans divers

processus de développement végétal, tels que la sénescence des feuilles, l'abscission des feuilles, et la maturation des fruits etc... (Primrose et Dilworth, 1976 ; Considine *et al.*, 1977 ; Vogel *et al.*, 1998 ; Gray et Smith, 2005).

Au début, l'éthylène était considéré comme une hormone du stress. Dans des conditions inadéquates (salinité, sécheresse, stress dû aux métaux lourds et aux pathogènes), les plantes synthétisent des quantités élevées d'éthylène, entraînant une altération de leurs performances physiologiques et développementales. Plus tard, d'autres fonctions vitales ont été attribuées à l'éthylène (germination des graines, développement des poils absorbantes, formation de racines secondaires, nodulation, abscission des feuilles et des fruits, sénescence des fleurs et des feuilles etc.) (Shaharoon *et al.*, 2012 ; Ahemad et Kibret 2014 ; Bakshi *et al.*, 2015 ; Shrivastava et Kumar 2015).

2.6. ACC désaminase d'origine bactérienne

L'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase, synthétisée par une large gamme de bactéries rhizosphériques, contribue à diminuer les quantités d'éthylène délétères dans les tissus végétaux stressés. En présence de bactéries productrices d'ACC désaminases, une partie de l'ACC de la plante est confisquée et dégradée en α -kétobutyrate et en ammoniac pour fournir de l'azote et de l'énergie, contribuant à la réduction des niveaux d'éthylène dans la plante. (Penrose et Glick 2003 ; Glick *et al.*, 2007). De nombreux stress biotiques (virus, bactéries, champignons et insectes phytopathogènes) et abiotiques (salinité, métaux lourds, sécheresse etc.) pourraient être soulagés par des bactéries productrices de l'ACC désaminase (Shaharoon *et al.*, 2012; Lugtenberg et Kamilova 2009). Récemment, la production de cette enzyme est de plus en plus considérée comme un caractère utile dans la sélection de PGPR. Parmi les microorganismes, les bactéries du sol appartenant aux genres *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Sinorhizobium*, *Kluyvera*, *Variovorax* et *Paradoxus* sont largement étudiées et appliquées comme bactéries productrices de l'ACC désaminase (Saleem *et al.*, 2007, Arshad et Frankenberger, 2002).

Matériel et Méthodes

I. Echantillonnage

Cinq échantillons du sol sont prélevés au mois de Février 2017. Ils ont été aseptiquement prélevés et immédiatement transportés au laboratoire afin de déterminer leurs propriétés physicochimiques et l'isolement des bactéries.

1. Echantillonnage du sol pour l'isolement de bactéries rhizosphériques

Quatre échantillons de sols rhizosphériques (1, 2, 3 et 4) ont été prélevés au niveau de la wilaya de Bejaïa. Le tableau ci-dessous précise la localisation géographique, le type de la rhizosphère (plante d'origine) et le code de chaque échantillon.

Tableau I : Code et localisation géographique des échantillons utilisés pour l'isolement.

Code de l'échantillon	Localisation géographique	Plante	Site
1	36°35'32.1"N 5°20'04.4"E	Fève	Darguina
2	36°35'31.4"N 5°20'07.2"E	Laitue	Darguina
3	36°35'32.3"N 5°20'04.0"E	Poireau	Darguina
4	36°45'00.9"N 5°02'06.9"E	Medicago	Université de Bejaia



Figure 1 : Echantillons des sols rhizosphérique utilisés pour l'isolement des bactéries. De gauche à droite : (1) Fève, (2) Laitue, (3) Poireau, (4) Medicago (originale).

2. Echantillonnage du sol pour l'étude *in vivo*

Le sol utilisé pour l'étude *in vivo* de l'effet des isolats bactériens sur la croissance du blé est un sol agricole de la Wilaya de Bejaïa Commune de Darguina : (36°35'31.2"N 5°20'06.6"E). Il a été recueilli dans des sacs en plastique et immédiatement utilisé dans l'expérience.



Figure 2 : Echantillonnage du sol pour l'étude *in vivo* (originale).

3. Propriétés physicochimiques des échantillons de sol

3.1. pH

L'acidité d'un sol est déterminée par sa teneur en ions H^+ . Les valeurs pH-eau (acidité effective) des échantillons de sol ont été déterminées selon le protocole suivant : Vingt-cinq mL d'eau distillée ont été ajoutés à 10g de sol préalablement tamisé (<2mm) et séché à 40°C dans un Bécher. L'ensemble est agité pendant une heure. L'électrode d'un pH-mètre (Hanna Instrument-HI 2210) est plongée dans la solution pour la lecture des valeurs de pH (Rouiller *et al.*, 1994).

3.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique d'un sol est considérée comme un indicateur de sa salinité ; plus un sol est salin, plus il est conductible. Pour la détermination de la conductivité électrique de chaque échantillon, 10g de sol ont été ajoutés à 50 mL d'eau distillée. Le mélange est agité pendant 30 minutes puis laisser décanter. La conductivité électrique (EC) est mesurée par un conductimètre (Hanna Instruments-HI 98129) à partir du surnageant (Hardie et Doyle, 2012).

3.3. Le contenu humide gravimétrique

L'humidité d'un sol est souvent reportée comme le contenu humide gravimétrique «*gravimetric moisture content* : Θ_g » qui, comme son nom l'indique, constitue le rapport entre la masse d'un sol humide et la masse unitaire de ce même sol à l'état sec. Pour ceux-ci, une masse initialement connue de chaque échantillon a été séchée dans une étuve à une température entre 165 et 175 °C. Elle est ensuite pesée à plusieurs reprises jusqu'à ce que son poids final se stabilise. La valeur du contenu humide gravimétrique est donnée par la formule suivante (Pepper et Gerba, 2004).

$\Theta_g = (m-d)/d$. Où :

- Θ_g : contenu humide gravimétrique,
- m : la masse initiale d'un sol (à l'état humide),
- d : la masse de ce même sol après séchage (à l'état sec).

3.4. Matière organique totale

Un gramme de chaque échantillon a été pesé dans un bécher de 250 mL et ajouté à 10 mL d'eau distillée et 10 mL de H₂O₂ 30%. Le bécher est par la suite couvert avec du papier aluminium. Si la réaction n'est pas trop vigoureuse, le bécher est placé sur un bain de vapeur et suivi jusqu'à ce que la réaction s'arrête (formation plus de bulles). La digestion se termine habituellement dans une heure. Le contenu du bécher est manuellement mélangé durant la réaction afin d'amener les particules les plus légères de la matière organique en contact avec la solution. A la fin de la digestion, l'échantillon est séché à 105°C puis pesée à plusieurs reprises jusqu'à ce que son poids se stabilise (Huang *et al.*, 2009).

La proportion de la matière organique présente dans l'échantillon de sol est déterminée par la formule suivante :

$MOT(\%) = P_{sec} / P_{original}$. Où :

- MOT : Matière Organique Totale,
- P_{sec} : la masse de l'échantillon avant traitement,
- $P_{original}$: la masse de l'échantillon après traitement et séchage.

4. Procédure d'isolement

L'isolement des bactéries a été effectué par la méthode des suspensions-dilutions selon le protocole suivant.

4.1. Préparation des dilutions

10 g de chaque échantillon de sol ont été additionnés à 90 mL d'eau distillée stérile et agités pendant quelques minutes à une température ambiante ;

Des tubes à essais contenant 9 mL d'eau distillée stérile ont été préparés ;

À l'aide d'une micropipette, 1 mL de la suspension mère (10^{-1}) a été stérilement prélevé puis ajouté au premier tube à essai, constituant la première dilution (10^{-2}) ;

Des dilutions décimales successives (jusqu'à 10^{-6}) ont été préparées de la même façon.

4.2. Ensemencement et incubation des boîtes

Le milieu de culture Luria Bertani (LB) agar (10 g Tryptone, 5 g NaCl, 5 g extraits de levure, 18 g Agar, pH 7.2) a été utilisé pour l'isolement des bactéries à partir des dilutions préparées.

A partir de chaque dilution, un volume de 1 mL a été étalé à l'aide d'un écouvillon stérile sur une boîte de Pétri contenant le milieu LB agar.

Les boîtes ont été incubées dans une étuve à une température de 30°C pendant 24 à 48 h. A la fin de la période d'incubation, les colonies isolées à aspect différent ont été repiquées sur le même milieu de culture, codifiées de A à J puis conservées pour une utilisation ultérieure.

II. Effet des isolats sélectionnés sur la croissance du blé

Dans cette expérience, l'effet des isolats obtenus a été testé sur la germination et la croissance des graines de blé. Pour cela, le sol récolté pour l'étude *in vivo* a été tamisé, stérilisé à l'autoclave (120°C pendant 20 minutes), mélangé avec de la tourbe stérile (50/50 : volume/volume) puis physico-chimiquement caractérisé. Enfin, la mixture obtenue a été équitablement répartie sur 210 pots (10 cm x 5cm) (**Figure 3**).



Figure 3 : sol agricole utilisé pour l'étude *in vivo* (originale).

1. Origine des graines :

Les graines de blé dur, *Triticum durum*, variété BOUSSALEM, récolte de la saison (annexe I), ont été fournies par l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales-Union des Coopératives Agricoles, Béjaïa-Algérie (**Figure 4**).



Figure 4 : Graines de *Triticum durum* variété BOUSSALEM (originale).

2. Préparation des inocula bactériens

Les isolats obtenus ont été repiqués sur le milieu de culture LB liquide, incubés pendant 24 h à 30°C, puis lavés 3 fois avec de l'eau physiologique stérile. Le lavage a été réalisé comme suit :

- Les cultures obtenues ont été centrifugées à 3000 rpm pendant 10 min ;
- Les surnageant de chaque culture a été stérilement écarté et remplacé avec un même volume d'eau physiologique stérile ;
- Le contenu de chaque tube a été vortexé puis centrifugé dans les mêmes conditions ;
- Le surnageant a été éliminé à nouveau et l'opération du lavage a été répétée en triplicata.

3. Désinfection et bactérisation des graines

Les graines ont été stérilisées par la méthode de Götz *et al.* (2006) selon les trois étapes suivantes :

- Les graines ont été mises dans une solution d'éthanol 70% pendant une minute sous une légère agitation manuelle ;
- Juste après, les graines ont été resuspendus dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau javel) 12% pendant 15 minutes ;
- Les graines ont été lavées avec l'eau distille stérile a six reprises afin de se débarrasser des résidus de chlore ;
- Enfin, les graines désinfectées ont été plongées dans les suspensions bactériennes à raison de 15 graine/souches, puis laissé sous agitation légère pendant 30 min.

4. Protocol expérimental

Les graines obtenues ont été semées dans les pots remplis du mélange sol/vermiculite à raison de 3 graines par pot et 5 pots par souche. Les pots ont été placés sur paille à une température ambiante et une photopériode naturelle.

Les pots ont été régulièrement irrigués avec le même volume d'eau de robinet (5mL/pot) afin d'éviter la déshydratation.

Le nombre de graines germées dans chaque pot a été déterminé chaque deux jours à partir du jour 4 et poursuivi jusqu'au 8^{ème} jour.

A la fin de la deuxième semaine, les plantules de blé obtenues ont été soigneusement arrachées et débarrassées de l'excès du sol sur leurs racines.

La taille de la tige, de la racine, le poids frais et le poids sec de chaque plantule ont été déterminés. Le poids sec des plantules est mesuré après séchages des plantules récolté à 40°C pendant 3 jours à une semaine.

III. Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des isolats sélectionnés

Les isolats ont été testés pour leur mobilité, leur Gram et leur capacité à solubiliser le phosphate tricalcique, à produire de l'AIA et à fixer l'azote atmosphérique.

1. Mobilité bactérienne et coloration de Gram

Les deux tests mobilité bactérienne et coloration de Gram ont été réalisés selon le protocole de Prescott (2002).

2. Solubilisation du phosphate tricalcique

Les isolats ont été testés pour leur capacité à solubiliser le phosphate tricalcique $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$. La méthode des disques d'agar a été importée sur le milieu de Pikovskaya (PKV) (annexe II). La capacité d'un isolat à solubiliser le phosphate inorganique est indiquée par l'apparition un halo clair autour du disque d'agar et cela après incubation à 27°C pendant 7 jours (Sagervanshi *et al.*, 2012).

3. Production de l'Acide 3-Indole Acétique (AIA)

La production d'AIA par les isolats a été testée en utilisant le milieu LB liquide additionné de 1% de tryptophane. Le milieu est ensemencé par 100 μL d'une culture jeune de l'isolat à tester puis incubé à 30°C pendant 24h.

Après incubation, 1,5 mL de chaque culture a été transféré dans des microtubes et centrifuger à température ambiante (9500 \times g) pendant 2 min. 1 mL du surnageant a été transféré dans des tubes, ensemble avec 1 mL du réactif de Salkowski (1 ml de 0,5 mol/L FeCl_3 et 49 ml de HClO_4 à 35%). Une demi-heure plus tard, l'absorbance à 350 nm a été mesurée. Les valeurs

d'AIA produite par chaque souche sont calculées par extrapolation sur une courbe standard préparée de la même façon avec de l'AIA pure (Sigma-Aldrich ®) (Bric *et al.* 1991).

Le développement d'une couleur rose après l'addition du réactif de Salkowski indique la production d'AIA par l'isolat.

4. Fixation de l'azote atmosphérique

Afin d'étudier la capacité des isolats à fixer l'azote atmosphérique, 100 µL de la culture ont été ensemencés dans des tubes à essais contenant le milieu minimum de Dworkin et Foster (*DF minimal salt medium*) dépourvu de toute source d'azote (annexe II).

Le milieu DF est préparé en mélangeant le volume total de la première solution minérale avec 0.1mL de la solution d'oligo-éléments 1 et 0.1 mL de la solution d'oligo-éléments. Le milieu est distribué dans des tubes à essais à raison de 5 mL/tube avant autoclavage.

Après ensemencement, les tubes ont été incubés sous agitation 120 rpm pendant 4 à 5 jours. La capacité d'un isolat à fixer de l'azote atmosphérique se traduit par l'apparition d'un trouble dans le tube. Ce test a été répété en duplicata.

IV. Analyse statistique

1. Tests et logiciels utilisés

Les résultats de l'étude *in vivo* ont été analysés en utilisant le test One-way ANOVA sur le logiciel GraphPad Prism (V. 06).

L'étude des corrélations entre les propriétés physicochimiques des échantillons du sol, les caractères fonctionnels/phénotypiques des isolats bactériens à partir desquels ils sont issus et leur effet sur la croissance du blé a été menée par analyse des composantes principales (ACP). Le test a été réalisé en utilisant le logiciel XLSTAT.

2. Détermination des variables pour l'ACP

- La mobilité bactérienne de chaque isolat a été visuellement déterminée et exprimée par un score variant de 0 (immobile) à 3 (très mobile). La mobilité bactérienne dans un échantillon est déterminée par la somme des scores obtenus pour tous les isolats au sein de cet échantillon.
- Le nombre total des bactéries Gram (+) au sein d'un même échantillon a également constitué une autre variable à intégrer dans l'ACP.

• La capacité d'un isolat à fixer de l'azote atmosphérique a été exprimée par un score déterminé selon la densité optique obtenue à la fin de l'incubation sur un milieu exempt d'azote :

- Score = 0 (DO = 0 : absence de culture) ;
- Score = 1 ($0 < DO < 0.2$: une culture à densité faible) ;
- Score = 2 ($0.2 < DO < 0.6$: une culture à densité moyenne) ;
- Score = 3 ($DO > 0.6$: une culture à densité forte).

La fixation bactérienne de l'azote atmosphérique dans un échantillon est déterminée par la somme des scores obtenus pour tous les isolats au sein de cet échantillon.

• La production moyenne d'AIA au sein d'un même échantillon est déterminée par la moyenne totale des quantités obtenues pour chaque souche au sein d'un même échantillon.

• La solubilisation du phosphate tricalcique de chaque isolat a été déterminée par son indice de solubilisation. Pour chaque échantillon, l'activité phosphatase totale a été déterminée par la moyenne des indices obtenus pour chaque isolat, multipliée par un coefficient représentant le pourcentage des isolats ayant donné un résultat positif pour ce test.

• L'effet global de l'ensemble des isolats issus d'un même échantillon sur la germination, le poids frais/sec et la taille tige/racine a été déterminé par la moyenne des effets séparés de chaque isolat issu de ce même échantillon.

• Les propriétés physicochimiques des échantillons du sol ont constitué les autres variables incluses dans l'ACP.

Résultats

I. Propriétés physicochimiques du sol

Le pH des échantillons utilisés pour l'isolement, ainsi que celui du sol utilisé pour l'étude *in vivo* sont légèrement alcalins. Les valeurs des pH obtenues varient de 7,19 pour l'échantillon 2 à 7,80 pour l'échantillon 4. D'autre part, les mesures de la conductivité électrique des 4 échantillons ont démontré que seul le sol 2 est salin (conductivité électrique supérieure à 4 ds/m³). Les échantillons 1, 3 et 4 sont caractérisés par des valeurs de conductivité électrique de 3,63 ; 3,36 et 2,46 respectivement.

La mesure de la matière organique totale dans les échantillons a montré que le contenu en matière organique de l'échantillon 4 est le plus élevé (82%), les autres échantillons ont présenté des proportions de matière organique qui varient de 69 (échantillon 1) à 73% (échantillon III). En outre, l'échantillon 1 semble être le plus humide avec un Θ_g de 0.49. Tandis que, l'échantillon 4 a donné le plus faible contenu humide gravimétrique avec un $\Theta_g = 0,22$.

Les résultats des propriétés physicochimiques des échantillons de sol utilisés pour l'isolement, ainsi que celui utilisé pour l'étude *in vivo* sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : Propriétés physicochimiques des échantillons de sol.

Echantillon	pH	MOT (%)	CHG (Θ_g)	CE (ds/m ³)
1	7.66±0.056	69	0.49	3.63±0.090
2	7.19±0.049	71	0.43	4.89±0.007
3	7.60±0.014	73	0.43	3.36±0.035
4	7.80±0.330	82	0.22	2.46±0.120
Sol pour l'étude <i>in vivo</i>	7.90±0.028	79	0.23	3.58±0.049

MOT (matière organique total), CHG (contenu humide gravimétrique), CE (conductivité électrique).

II. Caractères phénotypiques et fonctionnels des isolats

Dix isolats bactériens à aspects différents ont été purifiés de chaque échantillon de sol.

1. Caractères phénotypiques

Sept sur un total de dix souches isolées de l'échantillon 1 (70%) sont Gram + et 5/10 (50%) des souches obtenus des 3 échantillons 2, 3 et 4 sont Gram +. Toutefois 70, 60, 40 et

50% des isolats issues des échantillons de sol 1, 2, 3 et 4 respectivement sont mobiles. Concernant la forme des cellules, la forme bacillaire caractérise 70, 90, 100 et 90% des isolats issus des échantillons 1, 2, 3 et 4, respectivement (tableau III).

Tableau III : résultats des caractères phénotypiques des isolats.

Caractères phénotypiques							
Souche	Gram	Forme	Mobilité	Souche	Gram	Forme	Mobilité
1-A	-	Cocci	++	3-A	-	Bacille	++
1-B	+	Bacille	-	3-B	+	Bacille	+++
1-C	-	Bacille	-	3-C	-	Bacille	++
1-D	-	Bacille	++	3-D	+	Bacille	-
1-E	+	Bacille	+	3-E	-	Bacille	-
1-F	+	Bacille	+	3-F	-	Bacille	-
1-G	+	Bacille	+++	3-G	-	Bacille	-
1-H	+	Cocci	+	3-H	+	Bacille	-
1-I	+	Cocci	+	3-I	+	Bacille	++
1-J	+	Bacille	-	3-J	+	Bacille	-
2-A	-	Bacille	+++	4-A	+	Bacille	-
2-B	+	Bacille	+++	4-B	-	Bacille	-
2-C	-	Bacille	+++	4-C	-	Bacille	+++
2-D	-	Bacille	++	4-D	+	Bacille	+
2-E	+	Cocci	-	4-E	-	Cocci	-
2-F	-	Bacille	+++	4-F	-	Bacille	+++
2-G	+	Bacille	-	4-G	+	Bacille	-
2-H	+	Bacille	+++	4-H	-	Bacille	-
2-I	-	Bacille	-	4-I	+	Bacille	+
2-J	+	Bacille	-	4-J	+	Bacille	++

(-) : immobile, (+) faiblement mobile, (++) moyennement mobile, (+++) très mobile.

Les bactéries Gram + ont une couleur violet et les bactéries Gram - ont une couleur rose. (Figure 5).

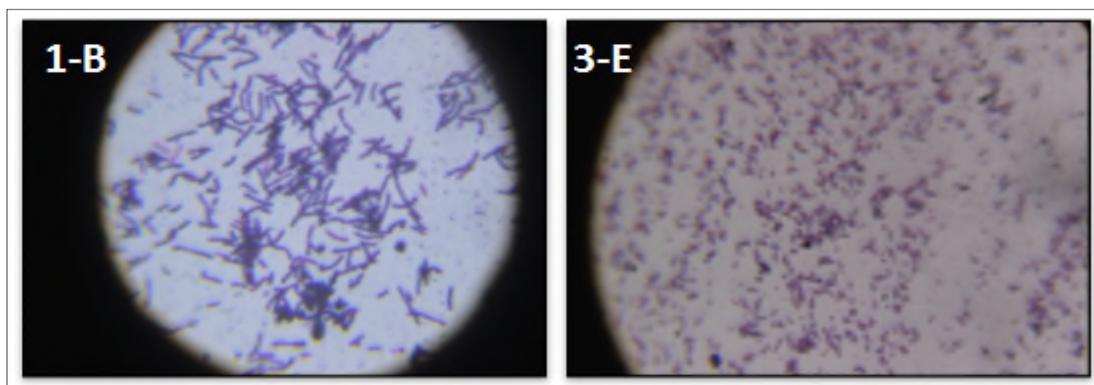


Figure 5 : Coloration de Gram des deux isolats 1-B (Bacille Gram +) et 3-E (Bacille Gram -).

2. Production d'Acide 3-Indole Acétique (AIA)

La phytohormone AIA a été produite par toutes les souches testées, les concentrations détectées varient de 4,63 pour l'isolat 1-I à 13,28 $\mu\text{g/mL}$ pour l'isolat 3-B. Les concentrations d'AIA au sein des isolats de l'échantillon 1 varient de 4.63 pour la souche 1-I à 12.24 $\mu\text{g/mL}$ pour la souche 1-G. Parmi les isolats de l'échantillon 2, la souche 2-H a produit le plus d'AIA (8,22 $\mu\text{g/mL}$). En outre, la production moyenne d'AIA par l'ensemble des isolats issus de chaque échantillon est de 6,78 ; 5,48 ; 7,95 et 7,95 $\mu\text{g/mL}$ pour les échantillons 1, 2, 3 et 4, respectivement (Tableau IV).

Tableau IV : Résultats de la production de l'AIA

Isolat	AIA ($\mu\text{g/ml}$)						
1-A	5.25 \pm 0.53	2-A	5.02 \pm 0.50	3-A	7.39 \pm 0.74	4-A	6.02 \pm 0.60
1-B	5.27 \pm 0.52	2-B	5.22 \pm 0.52	3-B	13.28 \pm 1.33	4-B	5.70 \pm 0.57
1-C	11.68 \pm 1.16	2-C	5.34 \pm 0.53	3-C	6.66 \pm 0.66	4-C	9.98 \pm 0.99
1-D	6.68 \pm 0.67	2-D	6.20 \pm 0.62	3-D	5.62 \pm 0.56	4-D	7.75 \pm 0.77
1-E	5.09 \pm 0.51	2-E	4.80 \pm 0.48	3-E	13.0 \pm 1.30	4-E	10.04 \pm 1.00
1-F	5.60 \pm 0.56	2-F	5.02 \pm 0.50	3-F	10.46 \pm 1.05	4-F	5.67 \pm 0.57
1-G	12.24 \pm 1.22	2-G	4.82 \pm 0.48	3-G	6.34 \pm 0.63	4-G	9.45 \pm 0.95
1-H	6.01 \pm 0.60	2-H	8.22 \pm 0.82	3-H	5.24 \pm 0.52	4-H	6.45 \pm 0.65
1-I	4.63 \pm 0.46	2-I	5.08 \pm 0.51	3-I	6.24 \pm 0.62	4-I	9.26 \pm 0.93
1-J	5.33 \pm 0.53	2-J	5.05 \pm 0.51	3-J	5.22 \pm 0.52	4-J	9.12 \pm 0.91

3. Solubilisation du phosphate tricalcique :

Les résultats de solubilisation du phosphate tricalcique ont été exprimés par l'index de solubilisation (Pi index). Ce dernier a été mesuré selon l'équation suivante : $Pi\ index = [(diamètre\ colonie + diamètre\ de\ la\ zone) / diamètre\ colonie]$. Dix souches parmi les bactéries isolées ont montré une zone claire autour de leurs colonies une fois repiquées sur le milieu de Pikovskaya. Ainsi, les valeurs de Pi index varient de 1,35 pour l'isolat 3-I à 1,65 pour l'isolat 4-H. Egalement, l'isolat 1-F est le seul isolat de l'échantillon 1 ayant révélé un pouvoir solubilisateur de phosphate avec un Pi index = 1,41. Trois isolats de l'échantillon 2 (B, E et G), trois de l'échantillon 3 (B, E et I) et trois de l'échantillon 4 (B, C et H) ont montré une capacité à solubiliser le phosphate tricalcique (**Tableau V ; Figure 6**).

Tableau V : Résultat du test de solubilisation de phosphate tricalcique.

Souche	Moyenne
1-F	1.41 ± 0
2-B	1.37 ± 0.1
2-E	1.44 ± 0.2
2-G	1.5 ± 0.08
3-B	1.5 ± 0
3-E	1.38 ± 0.06
3-I	1.35 ± 0.07
4-B	1.41 ± 0.1
4-C	1.37 ± 0.2
4-H	1.65 ± 0.1



Figure 6 : Solubilisation du phosphate tricalcique par les 3 isolats 2-G, 3-I et 1-F sur le milieu Pikovskaya.

4. Fixation de l'azote atmosphérique :

Sur un total de 40 isolats testés, 22 sont capables de fixer l'azote atmosphérique sur le milieu Dworkin et Foster (*DF minimal salt medium*). En outre, 40% des isolats de l'échantillon 1 ont donné des cultures positives à la fin du test. 60% des isolats issus des échantillons 2 et 3 sont des fixateurs d'azote. Remarquablement, tous les isolats de l'échantillon 4 sont capables de croître sur le milieu DF exempte de toute source d'azote. Les résultats détaillés du test de la fixation d'azote sont affichés dans le **tableau VI**.

Tableau VI : résultat de la fixation d'azote atmosphérique

Souche	Fixation de l'azote	Score	Souche	Fixation de l'azote	Score
1-A	++	2	3-A	+	1
1-B	+	1	3-B	++	2
1-C	-	0	3-C	+	1
1-D	+++	3	3-D	-	0
1-E	-	0	3-E	-	0
1-F	+	1	3-F	-	0
1-G	-	0	3-G	+	1
1-H	-	0	3-H	-	0
1-I	-	0	3-I	+++	3
1-J	-	0	3-J	+	1
2-A	-	0	4-A	+++	3
2-B	+++	3	4-B	++	2
2-C	+++	3	4-C	+++	3
2-D	++	2	4-D	++	2
2-E	+++	3	4-E	+	1
2-F	++	2	4-F	++	2
2-G	-	0	4-G	++	2
2-H	+	1	4-H	+	1
2-I	-	0	4-I	+++	3
2-J	-	0	4-J	+	1

(-) : Score = 0 (DO = 0 : absence de culture) ; (+) Score = 1 (0 < DO < 0.2 : une culture à densité faible) ; (++) Score = 2 (0.2 < DO < 0.6 : une culture à densité moyenne) ; (+++) Score = 3 (DO > 0.6 : une culture à densité forte).

III. Résultats de l'étude *in vivo*

1. Effet des souches sur la germination des graines

Pour les isolats de l'échantillon 1, la souche 1-B a permis d'améliorer le pourcentage de germination de 46,33 % témoin non inoculé à 93,33 %. La souche 1-D a également amélioré le pourcentage de germination à 80 %. Cependant, la souche 1-J a provoqué une réduction non significative du pourcentage de germination avec un succès de germination de seulement 33,33% du nombre totale des graines inoculées. En outre, les souches 1-E, 1-F et 1-G ont stimulé le pourcentage de germination à 73.33, 66.66 et 73.33 %, respectivement.

Concernant les isolats de l'échantillon 2, les souches 2-C et 2-D ont augmenté le pourcentage de germination à 86,66 %. Par ailleurs, les souches 2-B, 2-H n'ont montré aucune amélioration du pourcentage de germination par rapport au témoin non inoculé (46,66%). Les autres isolats issus de cet échantillon n'ont apporté aucun effet remarquable par rapport au témoin non inoculé.

La souche 3-B isolée de l'échantillon 3 semble avoir le meilleur effet sur la stimulation de la germination des graines de blé. Ainsi, les pots inoculés avec cette bactérie ont présenté le pourcentage de germination le plus élevé (93,33 %). D'autre part, certaines souches comme la souche 3-F ont provoqué une amélioration légère du taux de germination (53,33 %). Cependant, une réduction remarquable du taux de germination a été remarquée dans les pots inoculés avec l'isolat 3-H (seulement 6,66% des graines ont germé).

La souche 4-B issue de l'échantillon 4 a permis d'améliorer le pourcentage de germination à 66,66 %. Cependant, les deux souches 4-G et 4-E issues de ce même échantillon ont provoqués une diminution du pourcentage de germination à 40 et 13,33 %, respectivement. Les résultats détaillés de l'effet des quarante souches sur la germination des graines de blé sont affichés dans la figure 7.

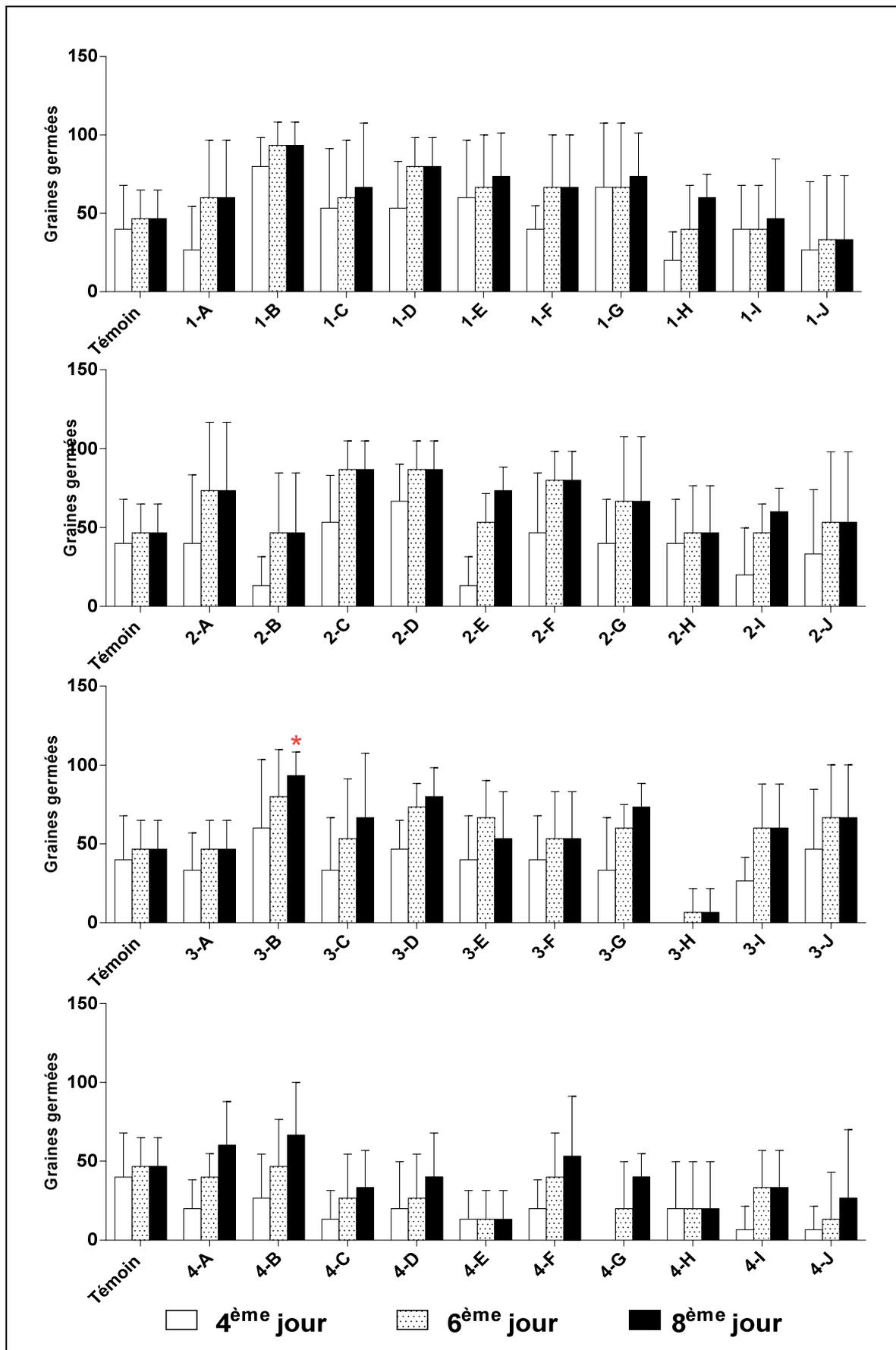


Figure 7 : Pourcentage final de germination des graines en présence des 40 souches. * : différence significatif (p<0.05).

2. Effet des souches sur la taille et les poids frais/sec des plantules

2.1. Effet des souches de l'échantillon 1

La taille moyenne des racines des plantules de blé a été légèrement améliorée sous l'effet de la souche 1-I (11.5 cm par rapport au témoin : 10.08 cm). Cependant, la souche 1-C a provoqué une diminution légère de la taille des racines (8.28 cm). Concernant la taille de la tige, la souche 1-F semble avoir le meilleur effet (avec une valeur de 24.21 cm par rapport au témoin : 22.07 cm).

Par ailleurs, la souche 1-F a permis d'augmenter le poids frais des plantules jusqu'à 0.4 g en moyenne (témoin non inoculé : 0.33 g). Cependant, la souche 1-J a provoqué une diminution du poids frais des plantules à 0.24 g. En outre, la souche 1-D a permis d'améliorer significativement le poids sec des plantules avec une valeur de 0.038 g par rapport au témoin : 0.028 g. Toutefois, la souche 1-G a provoqué une diminution du poids sec des plantules à 0.024g (**figure 8**).

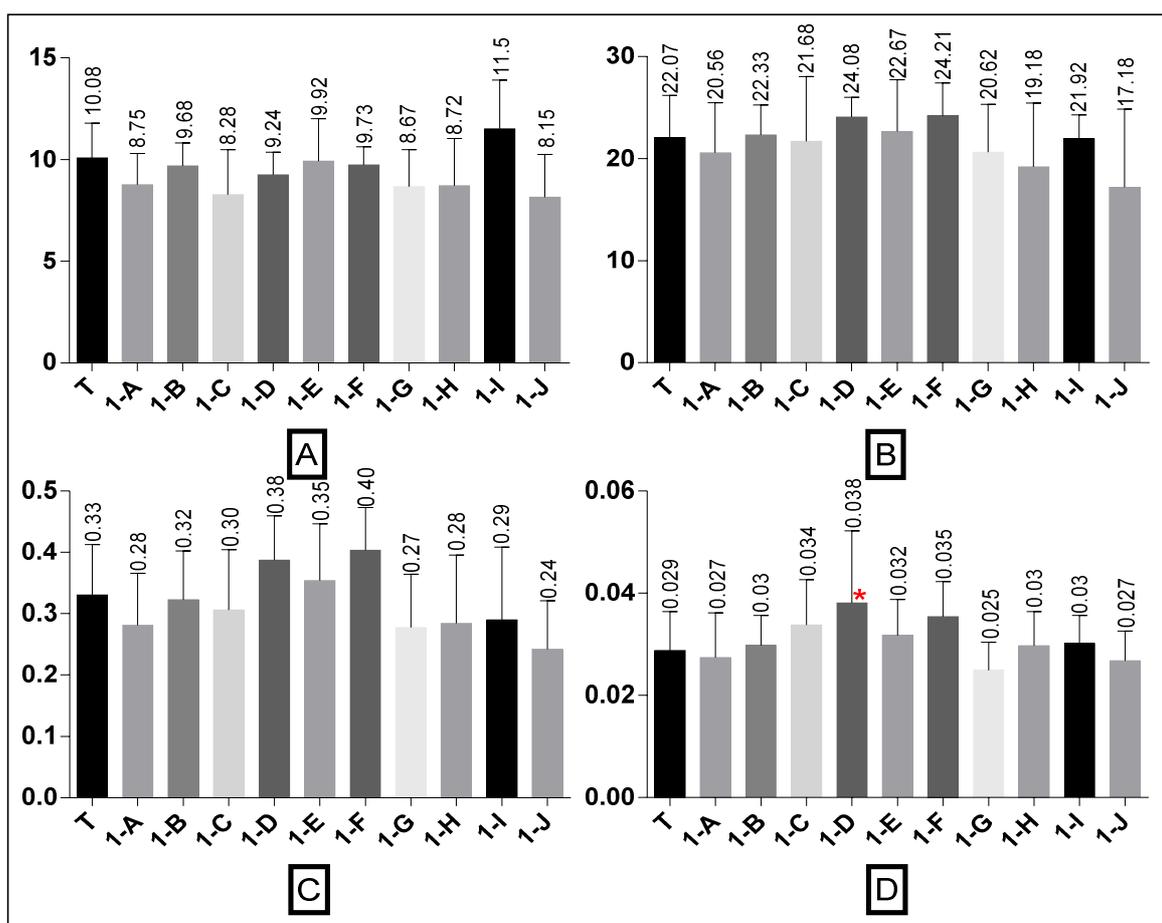


Figure 8 : Effet des souches de l'échantillon 1 sur la taille des racines (A : cm), des tiges (B : cm), le poids frais (C : g) et le poids sec (D : g) des plantules de blé après 15 jours de croissance. T : témoin. * : différence significative ($p < 0.05$).

2.2. Effet des souches de l'échantillon 2

Les deux souches 2-D et 2-F ont significativement amélioré la taille des racines de 10.08cm (témoin non inoculé) à 13.06 et 12.27 cm, respectivement. Cependant, la souche 2-B a provoqué une diminution significative de la taille des tiges à 7.35 cm en moyenne. De plus, la souche 2-F a légèrement amélioré la taille des tiges de 22.07 cm (témoin non inoculé) à 23.53 cm en moyenne.

La souche 2-D a augmenté le poids frais des plantules de 0.33 g (témoin) à 0.41 g, alors que l'inoculation par la souche 2-I a diminué le poids frais des plantules à 0.24g. Concernant le poids sec, la souche 2-E a augmenté le poids sec des plantules de 0.029 g (témoin) à 0.036 g. Cependant, la souche 2-J a légèrement diminué le poids sec des plantules à 0.026 g. Les résultats détaillés de l'effet des souches isolées de l'échantillon 2 sur les différents paramètres de croissance du blé sont résumés dans la figure 9.

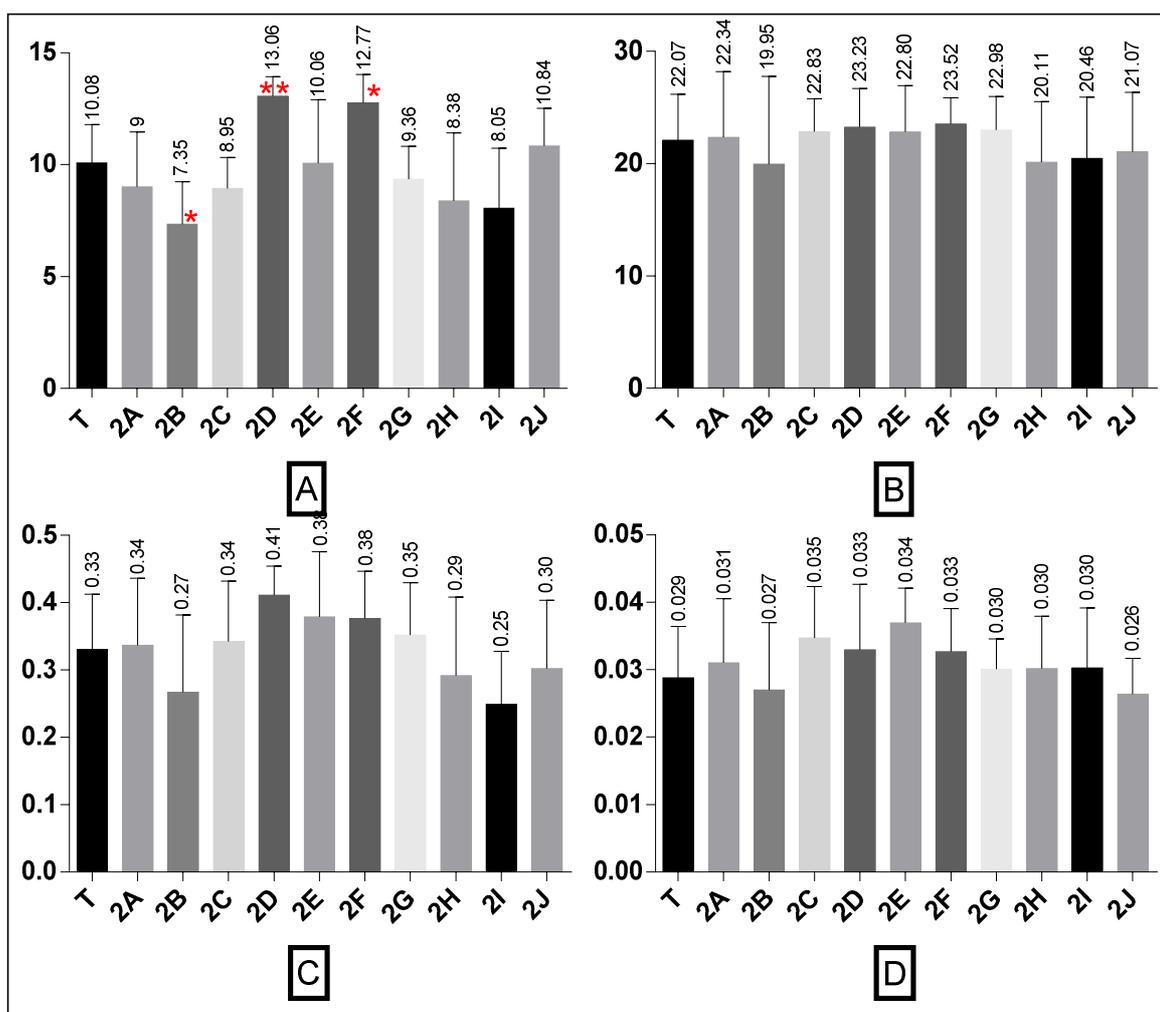


Figure 9 : Effet des souches de l'échantillon 2 sur la taille des racines (A : cm), des tiges (B : cm), le poids frais (C : g) et le poids sec (D : g) des plantules de blé après 15 jours de croissance. T : témoin. * : différence significative ($p < 0.05$), ** : différence significative ($p < 0.005$).

2.3. Effet des souches de l'échantillon 3

Aucun effet significatif sur les paramètres de croissance de blé n'a été observé avec les isolats de l'échantillon 4. Cependant, L'isolat 3-G a légèrement amélioré la taille des racines de 10.08 (témoin non inoculé) à 11.13 cm. Contrairement à ça, l'inoculation des graines par la souche 3-H a provoqué une diminution remarquable de la taille des racines à 6 cm en moyenne. En outre, toutes les souches ont légèrement amélioré la taille des racines (effet statistiquement non significatif).

Les deux souches 3-A et 3-B ont légèrement augmenté le poids frais des plantules de 0.33 g (témoin) à 0.4 g/plante. De plus les mêmes souches ont permis d'augmenter le poids sec des plantules de 0.029g/plante (témoin) à 0.037 g/plante en moyenne. Néanmoins, l'inoculation par la souche 3-H a provoqué une diminution du poids sec des plantules à 0.025 g/plant en moyenne (**figure 10**).

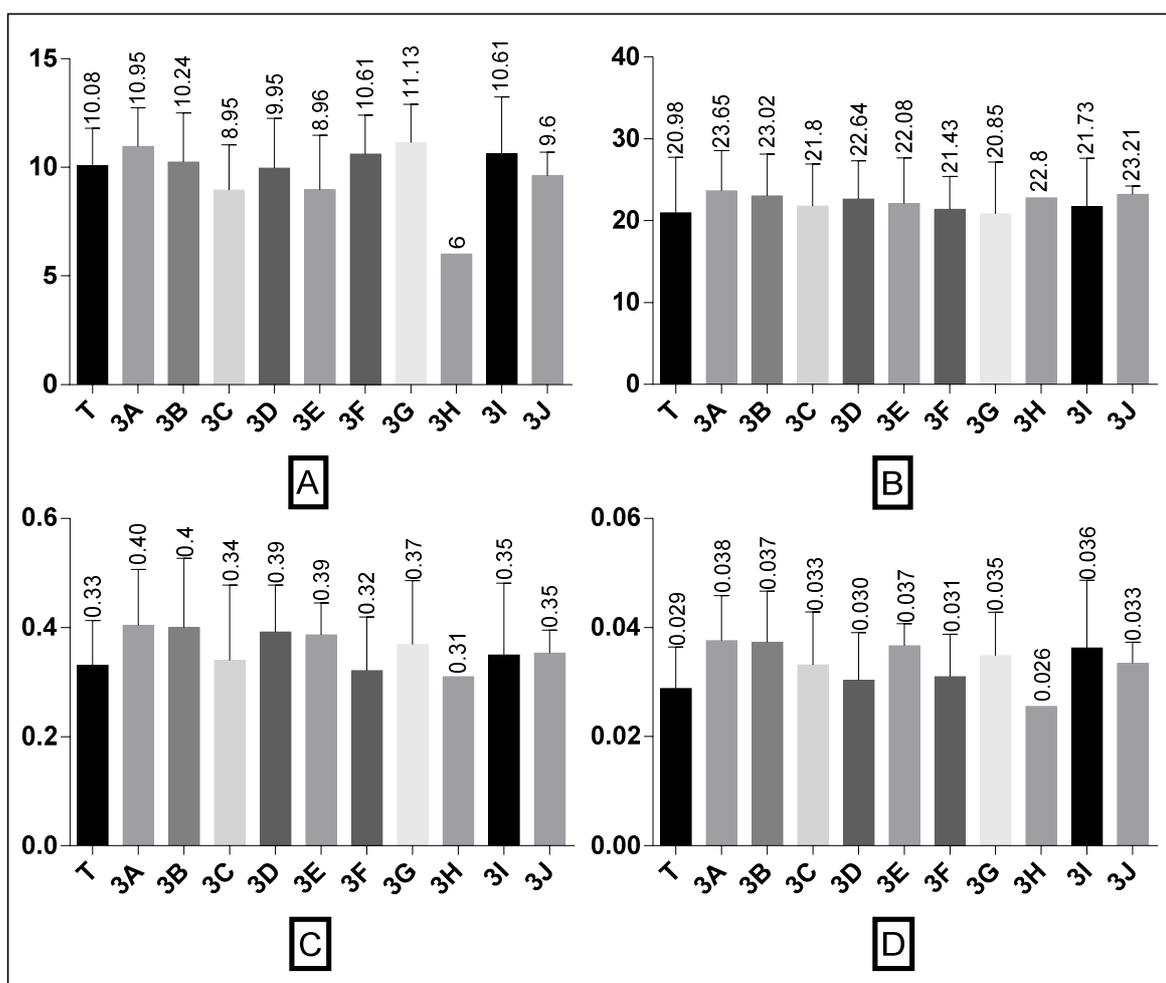


Figure 10 : Effet des souches de l'échantillon 3 sur la taille des racines (A : cm), des tiges (B : cm), le poids frais (C : g) et le poids sec (D : g) des plantules de blé après 15 jours de croissance. T : témoin.

2.4. Effet des souches de l'échantillon 4

La plupart des souches isolées de l'échantillon 4 ont légèrement amélioré la taille des racines des plantules de blé (4-B, 4-D, 4-F, 4-G). Cependant, La souche 4-C a significativement contribué à l'amélioration de la taille des racines de 10.08 cm en moyenne (témoin) à 14.42 cm par plantule. D'autre part, la souche 4-E a légèrement amélioré la taille des tiges de 20.98 cm (témoin) à 26.15 cm. Contrairement, la souche 4-J qui a provoqué une diminution de la taille des racines à 17.31 cm en moyenne.

Toutes les souches ont augmentées le poids frais des plantules de façon non significatives à l'exception de l'isolat 4-H. Cette dernière a significativement contribué à l'amélioration du poids frais des plantules de 0.33 g (témoin) à 0.53 g/plante en moyenne. La souche 4-H a contribué remarquablement à augmentation de poids sec des plantules de 29 mg en moyenne (témoin) à 45 mg/plantule (**figure 11**).

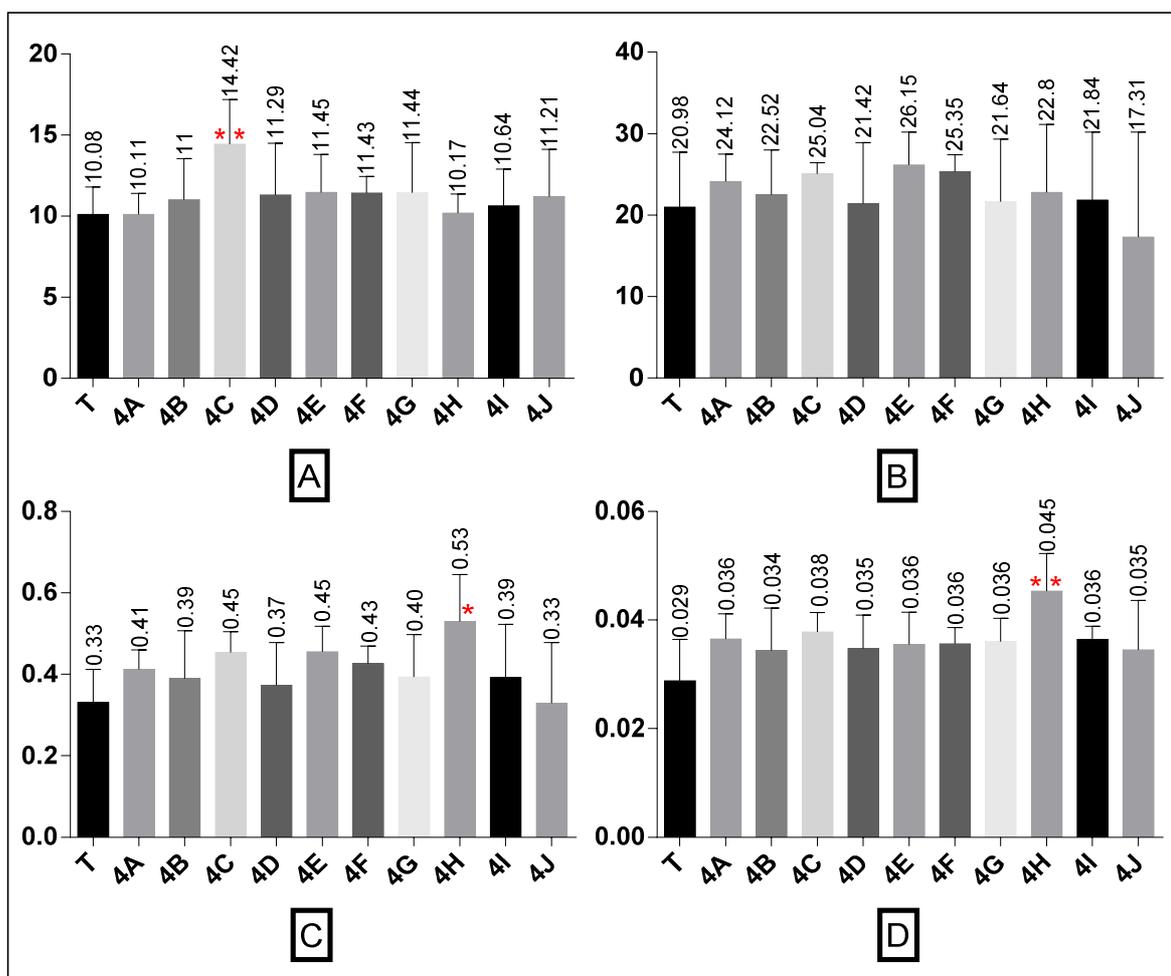


Figure 11 : Effet des souches de l'échantillon 4 sur la taille des racines (A : cm), des tiges (B : cm), le poids frais (C : g) et le poids sec (D : g) des plantules de blé après 15 jours de croissance. T : témoin. * : différence significative ($p < 0.05$), ** : différence significative ($p < 0.005$).

IV. Analyse des composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode d'analyse descriptive dont l'objectif est de représenter sous forme graphique l'essentiel de l'information contenue dans un tableau de données quantitatif. Ainsi, dans un tableau à plusieurs variables (j) les observations auxquelles les variables sont attribuées sont représentées dans un espace multidimensionnel (j dimensions). L'ACP permet donc de représenter ces résultats dans un espace bidimensionnel appelé (plan principal) tout en minimisant les déformations liées à cette projection. Les deux plans sont donc choisis d'une façon à garder (en deux dimensions) le maximum d'informations contenues dans le tableau principal.

1. Tableau utilisé pour l'ACP

Un tableau constitué de 4 observations (les quatre échantillons du sol) et de 14 variables regroupant les paramètres de croissance étudiés, les propriétés physicochimiques des échantillons du sol et les caractères fonctionnels et phénotypique des 40 isolats (**Tableau VII**). L'analyse avait pour objectif la détection d'éventuelles corrélations entre les propriétés physicochimiques des échantillons du sol, l'effet des bactéries à partir desquels elles sont issues et les propriétés phénotypique et métaboliques de ces dernières.

Tableau VII : l'ensemble des variables utilisées pour l'analyse de l'ACP.

	TT	TR	PF	PS	GER	PH	MO	EC	HU	IAA	PHOS	AZ	MOB	G
E1	9,26	21,44	0,31	0,030	65,33	7,66	0,69	3,635	0,48	6,78	0,14	7	7,7	7
E2	9,78	21,93	0,33	0,031	67,33	7,195	0,71	4,895	0,43	5,48	0,43	14	10,2	5
E3	9,70	22,32	0,36	0,033	59,99	7,6	0,73	3,365	0,43	7,95	0,42	9	3,6	5
E4	11,31	22,82	0,41	0,036	39,39	7,875	0,82	2,46	0,22	7,95	0,44	20	5	5

(E1-E4) : les quatre échantillons du sol (observations) ; TT : taille tige, TR :taille racine, PF :poids frais, PS :poids sec, GER :germination, MO :matière organique, EC :conductivité électrique, HU :humidité, IAA : acide indole acétique, PHOS :solubilisation du phosphate, AZ :fixation d'azote atmosphérique, MOB :mobilité, G :Gram.

2. Etudes des corrélations entre les différentes variables :

L'objectif de l'ACP dans notre étude est de chercher d'éventuelles corrélations entre les paramètres physicochimiques des échantillons de sol utilisé pour l'isolement des bactéries, les propriétés phénotypiques et fonctionnelles de ces bactéries et leurs effets sur

la croissance du blé dur (germination, taille des tiges/racines et poids frais/sec). La façon dont ces paramètres ont été déterminés est expliquée dans la partie « matériel et méthodes ».

Les deux axes F1 et F2 (variables théoriques) à partir desquels les graphes bidimensionnels ont été obtenus et ont représenté 71.01 et 20.47% de la variance. Ils permettent de représenter le maximum de résultats dans le tableau (91.8% de la variance est décrite). Ce pourcentage est largement suffisant pour une ACP à interprétation significative (**Figure 12**).

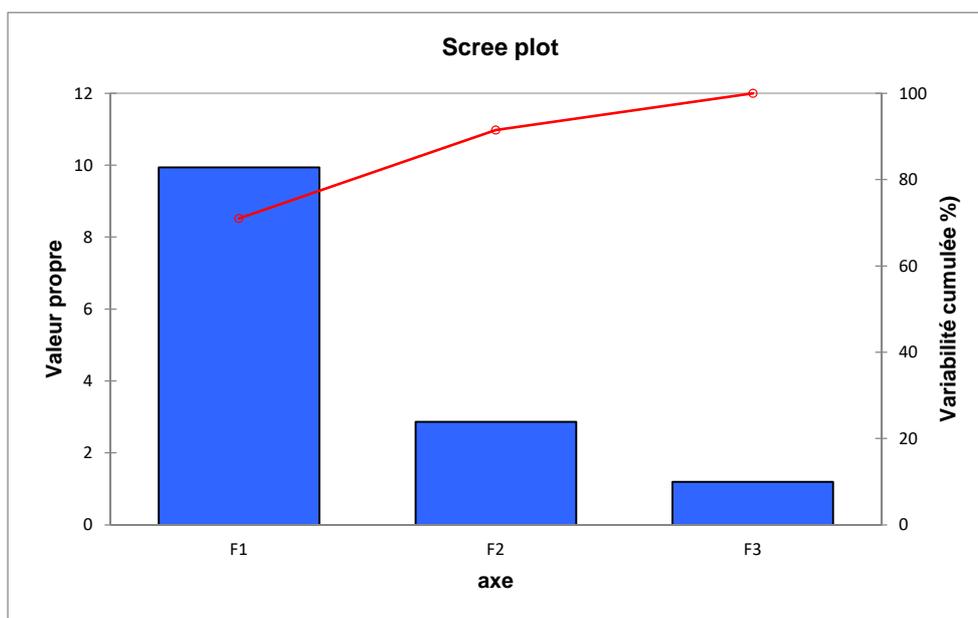


Figure 12 : Un scree plot montrant les valeurs propres relatives pour les composants principaux générés pour les variables mesurées. La figure montre les contributions plus élevées des deux premiers facteurs à la variabilité des observations (les axes F1, F2 et F3).

3. Matrice des corrélations

Les valeurs de corrélation (Pearson) entre les différentes variables de notre étude sont déterminées dans le **tableau VIII** et les **figures 13, 14**. Des valeurs de corrélations positives élevées (>0.90) sont constatées entre les paramètres de croissance des plantules de blé (TT, TR, PF, PS). Cependant, le pourcentage final de germination des graines est négativement corrélé aux autres paramètres de croissance (des valeurs de corrélation inférieures à -0.86).

Des valeurs de corrélations positives faibles ($0.46 < r < 0.69$) sont observées entre les valeurs de pH des échantillons de sols et les paramètres de croissance obtenus sous l'effet des bactéries à partir desquels elles sont issues. Néanmoins, une corrélation négative moyenne (-0.78) a été observée entre les valeurs de pH et la germinabilité des graines.

Les valeurs de la matière organique dans les échantillons du sol sont positivement corrélées aux paramètres de croissance TT, TR, PF et PS ($n > 0.9$), mais négativement corrélées au pourcentage des graines germées. D'un autre côté, les proportions de la matière organique des échantillons de sol sont légèrement corrélées à leurs valeurs respectives de pH.

Selon les résultats de l'ACP, la conductivité électrique des échantillons de sol est négativement corrélée ($-0.6 < n < -0.8$) aux paramètres de croissance (TT, TR, PF et PS) de blé sous l'effet des isolats testés à partir de chaque échantillon respectif. Cependant, elle est positivement corrélée à l'effet des isolats sur la germination des graines ($n = 0.85$) et négativement corrélée aux valeurs des pH et aux contenus en matière organique de ces mêmes échantillons ($n = -0.97$ et -0.75 , respectivement).

On constate également que le contenu humide gravimétrique de chaque échantillon est négativement corrélé aux paramètres de croissance TT, TR, PF et PS ($n < -0.87$). D'autre part, l'humidité d'un échantillon est positivement corrélée à l'effet de ses isolats sur la germination des graines de blé, mais négativement corrélée à son contenu en matière organique ($n = -0.97$) et positivement corrélée à sa conductivité électrique ($n = 0.67$).

Tableau VIII : matrice de corrélation selon la méthode de Pearson.

	TT	TR	PF	PS	GER	PH	MO	EC	HU	IAA	PHOS	AZ	MOB	G
TT	1	0,890	0,938	0,916	-0,945	0,532	0,983	-0,642	-0,998	0,459	0,605	0,938	-0,356	-0,559
TR	0,890	1	0,971	0,955	-0,862	0,460	0,930	-0,632	-0,878	0,625	0,805	0,784	-0,614	-0,782
PF	0,938	0,971	1	0,996	-0,957	0,637	0,982	-0,773	-0,937	0,702	0,648	0,790	-0,644	-0,616
PS	0,916	0,955	0,996	1	-0,963	0,695	0,972	-0,822	-0,918	0,759	0,596	0,741	-0,697	-0,564
GER	-0,945	-0,862	-0,957	-0,963	1	-0,775	-0,978	0,857	0,956	-0,698	-0,424	-0,776	0,582	0,381
PH	0,532	0,460	0,637	0,695	-0,775	1	0,633	-0,976	-0,567	0,864	-0,151	0,227	-0,733	0,181
MO	0,983	0,930	0,982	0,972	-0,978	0,633	1	-0,748	-0,985	0,608	0,593	0,866	-0,517	-0,551
EC	-0,642	-0,632	-0,773	-0,822	0,857	-0,976	-0,748	1	0,669	-0,924	-0,059	-0,341	0,818	0,030
HU	-0,998	-0,878	-0,937	-0,918	0,956	-0,567	-0,985	0,669	1	-0,477	-0,567	-0,926	0,366	0,521
IAA	0,459	0,625	0,702	0,759	-0,698	0,864	0,608	-0,924	-0,477	1	0,153	0,132	-0,975	-0,146
PHOS	0,605	0,805	0,648	0,596	-0,424	-0,151	0,593	-0,059	-0,567	0,153	1	0,677	-0,239	-0,998
AZ	0,938	0,784	0,790	0,741	-0,776	0,227	0,866	-0,341	-0,926	0,132	0,677	1	-0,042	-0,631
MOB	-0,356	-0,614	-0,644	-0,697	0,582	-0,733	-0,517	0,818	0,366	-0,975	-0,239	-0,042	1	0,244
G	-0,559	-0,782	-0,616	-0,564	0,381	0,181	-0,551	0,0306	0,521	-0,146	-0,998	-0,631	0,244	1

Les valeurs dans le tableau correspondent aux coefficients de corrélation Pearson (n) entre les 14 variables.

Les propriétés fonctionnelles de chaque groupe de bactéries issu d'un même échantillon (IAA, PHOS, AZ) et les paramètres de croissance de blé (TT, TR, PF et PS) sous l'effet de ces mêmes bactéries sont positivement corrélées. Egalement, la production d'AIA par un groupe de bactérie issu d'un même échantillon est positivement corrélée au pH de cet

échantillon (n=0.86), mais négativement corrélée à sa conductivité électrique. D'un autre côté, le contenu en matière organique d'un échantillon de sol est positivement corrélé à la capacité des isolats à partir duquel sont issus à fixer de l'azote atmosphérique (n=0.86). Cette dernière caractéristique (fixation d'azote) est négativement corrélée au contenu humide de l'échantillon.

La mobilité bactérienne au sein d'un groupe de bactéries issues d'un échantillon du sol est négativement corrélée à leur capacité à produire de l'AIA (n= -0.97), négativement corrélée au pH de l'échantillon (n= -0.73) et positivement corrélée à la conductivité électrique du sol (n= 0.81), indiquant dans notre cas d'étude que le nombre de bactérie mobile dans un échantillon de sol est favorisé par la salinité de ce dernier.

Une légère corrélation négative est observée entre le pourcentage des bactéries Gram positif dans un échantillon de sol et leur capacité à stimuler les paramètres de croissance de blé (TT, TR, PF et PS). Indiquant que le nombre de bactéries Gram négative dans un échantillon va dans le même sens que la capacité de ces bactéries à stimuler la croissance du blé.

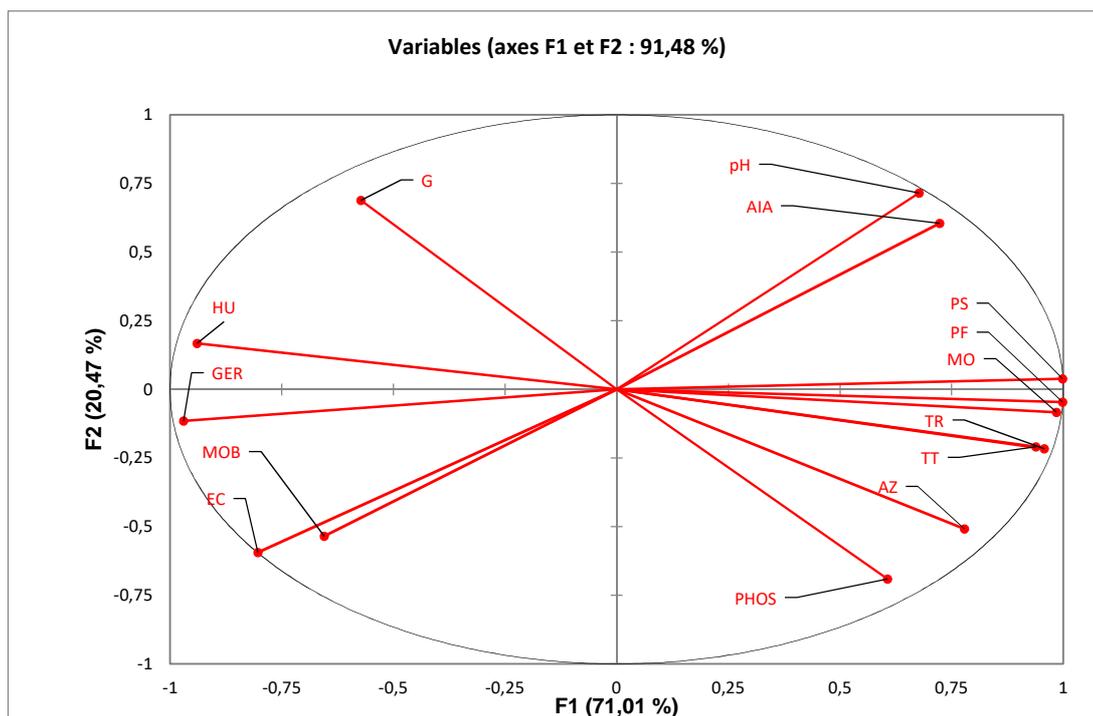


Figure 13 : ACP et corrélation entre les caractères physicochimiques des échantillons, l'effet combiné des bactéries à partir desquels elles sont issues sur la croissance du blé et leurs caractères phénotypiques et fonctionnels. TT : taille tige, TR :taille racine, PF :poids frais, PS :poids sec, GER :germination, MO :matière organique, EC :conductivité électrique, HU :humidité, AIA : acide indole acétique, PHOS :solubilisation du phosphate, AZ :fixation d'azote atmosphérique, MOB :mobilité, G :Gram (les axes F1et F2).

Les caractères physicochimiques des 4 échantillons sont différents (**Figure 14**)

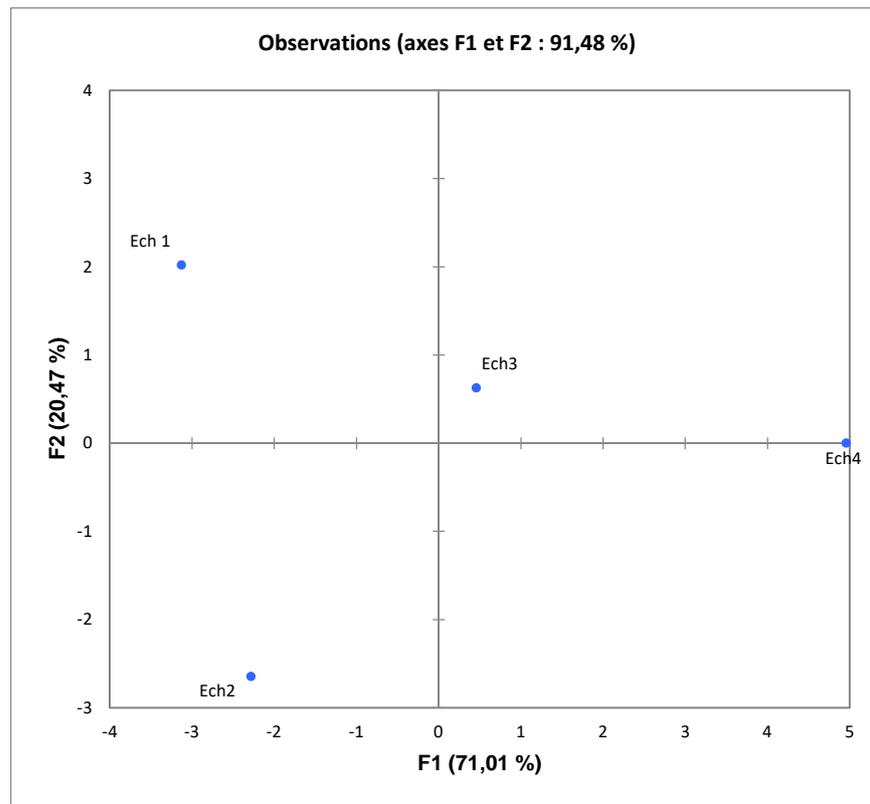


Figure 14 : Distribution des quatre échantillons de sol selon la diversité des composantes (variables) qui leur sont attribués.

Discussion

Discussion :

Dans ce travail, 40 bactéries ont été isolées à partir de 4 échantillons de sol rhizosphériques. Les caractères physicochimiques (pH, conductivité électrique, contenu humide gravimétrique et contenu en matière organique) des 4 échantillons ont été mesurés. Afin d'étudier l'effet des isolats sélectionnés sur la croissance du blé dur (variété Boussalem), un test d'inoculation (*in vivo*) a été réalisé dans la deuxième partie du travail. Depuis, la production de quelques métabolites d'intérêt agricole (AIA, solubilisation de phosphate tricalcique, fixations d'azote) et quelques caractères phénotypiques (mobilité et Gram) ont été étudiés. Cette dernière partie avait pour objectif la détermination d'éventuelles corrélations entre les différents caractères (fonctionnels/phénotypiques) des isolats choisis, leurs effets sur la croissance du blé et les propriétés physicochimiques des échantillons à partir desquels ils sont issus. Pour ceci, un test d'ACP (analyse des composantes principale) a été réalisé.

Un travail similaire a été réalisé par Rai *et al.* (2017), dans lequel les interactions entre les différents paramètres physicochimiques de 8 échantillons de sol et leurs effets sur la production d'enzymes bactériennes impliquées dans la dégradation de la matière organique ont été étudiées. Leur travail conclut que, l'intensité de l'activité enzymatique des isolats sélectionnés à partir de chaque échantillon de sol est positivement corrélée aux valeurs de pH des échantillons de sol respectivement. D'un autre côté, les conductivités électriques des sols non salins sont positivement corrélées aux scores totaux des activités enzymatiques assurées par leurs isolats correspondants. Le travail a également signalé la présence d'une corrélation négative entre les valeurs de la conductivité électrique (EC) des échantillons de sol et à la fois leurs contenus humides gravimétriques (θ_g) et leurs contenus en matière organique (SOM %) correspondants. Les sols salins sont caractérisés par une conductivité électrique supérieure à 4 dS/m (Aubert, 1975). Le stress hydrique intense provoqué par la salinité induit l'inhibition des activités enzymatiques et exerce un effet dépressif sur l'absorption, l'accumulation racinaire et le transport ionique dans les parties aériennes. Cet effet se manifeste surtout au niveau des feuilles, affectant particulièrement les chloroplastes. (Brugnoli et Björkman, 1992 ; Bernstein *et al.*, 1993 ; Munns *et al.*, 2006).

Le stress salin affecte également le fonctionnement des PGPR dans le sol. L'augmentation de l'osmolarité perturbe l'activité des protéines et inhibe de nombreux processus microbiens (Nabti *et al.*, 2010). Eivazi et Tabatabai (1988), García *et al.* (1994) et Batra et Manna (1997) ont montré que les activités des enzymes du sol sont sérieusement réduites par la salinité,

affectant le recyclage des nutriments et leur utilisation par les plantes. Le stress salin affecte également l'activité des phytohormones provoquant un effet négatif sur le poids sec et la taille des plantules. (Ayaz *et al.*, 2000 ; Cicek et Cakirlar, 2002). De plus, les processus de germination sont également inhibés par le stress salin, ce qui est principalement, dû à la déshydratation de l'embryon à l'intérieur de la graine sous l'effet des concentrations élevées en sel (Sarin et Narayanan, 1968 ; Fogle et Munns, 1973). En outre, Le stress salin se manifeste, entre autres, par la réduction de nombreux paramètres de croissance de la plante en réduisant la longueur et le poids sec des racines et de la tige (Gunes *et al.*, 1996). Ces données peuvent expliquer, en grande partie, la corrélation négative constatée dans le cadre de ce travail entre la conductivité électrique d'un échantillon de sol et l'effet des isolats à partir duquel ils sont isolées sur les paramètres de croissance du blé.

Un document publié en janvier 1998 par le service de conservation des ressources naturelles aux Etats Unis (NRCS : *Natural resources conservation service*) indique que les sols caractérisés par des pH allant de 6.6 à 7.3 sont considérés comme neutres. Les sols dont le pH varie de 7.4 à 7.8 sont légèrement alcalins, tandis que ceux ayant des valeurs de pH comprises entre 7.9 et 8.4 sont considérés comme Modérément alcalins. Ceci situe nos échantillons de sol dans les deux catégories neutres et légèrement alcalins. Le pH affecte considérablement les autres paramètres physiques et chimiques dans le sol. Il influence également ses processus biologiques tel que la fixation de l'azote atmosphérique et la dégradation de la matière organique. Par conséquent, la croissance des cultures agricoles et leur rendement est limitée à des valeurs de pH non convenables (Rouiller *et al.*, 1994 ; Niklinska *et al.*, 2005 ; Lapinskas et Motuzienė 2006 ; Rousk *et al.*, 2009).

La teneur en humidité d'un sol est généralement rapportée comme le contenu humide gravimétrique (θ_g). Comme son nom l'indique, θ_g représente la masse d'eau par unité de masse du sol sec (Pepper et Gerba, 2004). L'humidité d'un sol affecte considérablement sa structure, sa porosité et ses autres paramètres physicochimiques. Elle influence également la croissance des plantes et la biomasse microbienne qui l'entoure (Hagan, 1955). D'autre part, le contenu d'un sol en matière organique assure la disponibilité conséquente des éléments minéraux nécessaires pour la croissance végétale et le développement de la biomasse tellurique, constituant un indice majeur de sa qualité (Reeves, 1997). La matière organique d'un sol interagit continuellement avec ses autres propriétés physicochimiques telles que le pH, la salinité et son contenu en eau. Le taux de la matière organique augmente généralement avec l'augmentation de l'humidité d'un sol en raison de la mauvaise aération engendrée par la

saturation en eau. Par ailleurs, La salinité élevée et les pH extrêmes réduisent les taux de dégradation de l'humus et, par conséquence, diminuent les apports en matière organique dans le sol (Bot et Benites, 2005).

La teneur en eau d'un sol constitue un paramètre important pour de nombreuses raisons. En effet, l'humidité d'un sol contrôle la quantité d'espace poreux occupée par l'eau et l'air à un moment donné, ce qui détermine le degré d'aération d'un sol et la diversité de sa communauté microbienne (Pepper et Gerba, 2004). De plus, la teneur en eau des sols agricoles influence la croissance des semis. Ainsi, une pénurie d'eau entraîne une germination tardive des graines, une croissance lente des plantules et une émergence inégale des plantes (Wu, 2012). Alami et al. (2000) ont constaté que l'inoculation des plantules de tournesol avec une bactérie productrice d'exopolysaccharides appartenant au genre *Rhizobium* a provoqué une augmentation de la masse sèche des racines et a permis de modifier la structure du sol autour du système racinaire. De telles bactéries contribuent également au maintien du film d'eau nécessaire à l'activité photosynthétique et à la croissance des plantes en condition de stress hydrique dans le sol, permettent de limiter/retarder la dessiccation du milieu (Heulin et Achouak, 2012).

La digestion de la matière organique par le peroxyde d'hydrogène est une méthode rapide et facile pour déterminer sa quantité dans le sol. Cependant, l'oxydation de la matière organique peut être incomplète. Cette méthode n'est pas appropriée pour quantifier la matière organique dans les sols, mais c'est un moyen très utile pour comparer la matière facilement oxydable dans différents échantillons de sols (Nelson et Sommers, 1996 ; Huang *et al.*, 2009). Durant la croissance de la plante, les racines produisent de nombreux composés organiques qui peuvent être libérés dans le sol (Lynch et Whipps, 1990). La dégradation bactérienne de la matière organique stimule l'activité catabolique dans le sol, engendrant la production de métabolites microbiens tels que les acides organiques responsables, dans certains cas, de la diminution du pH du sol, (Rodriguez et Fraga 1999 ; Nautiyal *et al.*, 2000).

De nombreux travaux ont évoqué le rôle des bactéries Gram négatifs mobiles comme bactéries promotrices de la croissance du blé : *Azospirillum* (Bashan *et al.*, 2004), *Pseudomonas* (Solans, 2013), *Rhizobium* (Akhtar et Siddiqui, 2009), *Burkholderia* (Pandey, 2006), *Agrobacterium tumefaciens* (Christie, 2000). Relativement aux bactéries Gram négatifs, rares sont les PGPR Gram positif décrite comme stimulatrices de la croissance du blé : *Bacillus* (Probanza, 2002), Actinomycète : *Frankia* (Anwar, 2016). Cette capacité inhérente à ces bactéries de stimuler la croissance des plantes est souvent liée à leurs aptitudes à solubiliser le

phosphate insoluble, produire de l'AIA et à fixer de l'azote atmosphérique (Charest, 2005 ; Sivasakthi, 2014 ; Glick, 1997).

Le phosphate est l'un des facteurs nutritifs les plus limitants de la croissance des plantes où la majorité des sols agricoles sont pauvres en phosphate assimilable et soluble (Vessey, 2003). Ce dernier, une fois ajouté au sol, est très réactif avec les autres composants du sol et rapidement immobilisé. Ajoutant à ça, l'apport excessif des engrais phosphatés cause son accumulation sous formes minérales et organiques non utilisable par la plante (Richardson, 1994).

En vue de libérer l'agriculture de différentes contraintes liées aux apports phosphatés, d'importantes recherches ont été menées afin de bénéficier de ces grandes réserves de phosphate, d'où l'importance de s'intéresser aux microorganismes du sol et qui sont capables de solubiliser le phosphate inorganique. En agriculture, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes telle que *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Rhizobium* (Przemieniecki *et al.*, 2015, Rodríguez, 1999). Selon Sundara (2002), l'utilisation des microorganismes solubilisateurs de phosphate pourrait diminuer l'apport des fertilisants phosphatés de 25%.

Kaur et Reddy (2015) ont constaté que l'inoculation du maïs et du blé avec les deux bactéries solubilisatrices de phosphate *Pantoea cyripedii* (PSB-3) et *Pseudomonas plecoglossicida* (PSB-5), associée à la fertilisation par le phosphate de roche insoluble, augmentait la taille des plantules, la biomasse sèche, le rendement en graines et l'absorption du phosphate par les plantes. L'application d'une bactérie solubilisatrice du phosphate appartenant au genre *Azotobacter*, seule ou conjointement avec des engrais chimiques, a amélioré le rendement et la biomasse racinaire de trois variétés de blé en croissance sous serre (Kumar *et al.*, 2001). Une expérience *in vitro* a été menée par Panhwar *et al.* (2012) afin d'étudier l'influence de deux *Bacillus* solubilisateurs du phosphate (PSB9 et PSB16), ainsi que du phosphate de roche insoluble sur la croissance du riz. Les résultats ont montré que le couple "bactéries-phosphate insoluble" a augmenté l'absorption du phosphate par la plante et sa croissance ainsi que la quantité du phosphate soluble dans le sol. Les deux bactéries solubilisatrices du phosphate PSB 12 identifiées comme *Gluconacetobacter* sp. (MTCC 8368) et PSB 73 identifiées comme *Burkholderia* sp. (MTCC 8369) ont été examinées pour leur capacité potentielle à améliorer la croissance du riz. Les deux bactéries ont révélé une capacité

importante de promotion de la croissance des plantes dans des essais de culture en pots (Stephen *et al.*, 2015). En outre, Halder (1993), Chabot (1996), Panhwar *et al.* (2011), Vahed *et al.* (2012) et Mahbouba (2017) ont également discuté le rôle de certaines bactéries solubilisatrices du phosphate dans la promotion de la croissance des plantes et comme substituant efficaces des apports chimiques en phosphate du sol.

D'après Zakharova *et al.* (1999), environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire la phytohormone Acide Indole Acétique (AIA). Sa production est influencée par les conditions de culture, le stade de croissance et par la disponibilité du substrat dans le milieu. Les effets de l'AIA sont divers et dépendants de sa concentration, des organes qu'il affecte et du statut physiologique de la plante (Baca et Elmerich, 2007). L'AIA stimule la division et l'élargissement des cellules et des tissus, l'expansion des feuilles et aussi jouent un rôle majeur dans l'élongation racinaire (Egamberdieva, 2008 ; Maleki *et al.*, 2010 ; Martínez -Viveros *et al.*, 2010).

La production d'AIA par *Azospirillum brasilense* est directement liée aux conditions de l'environnement telles que la concentration en oxygène et la quantité de carbone et d'azote présent dans le sol (Reynders et Vlassak, 1979 ; Ona *et al.*, 2005). Perrig *et al.* (2007) ont constaté que la production d'AIA par une souche d'*Azospirillum brasilense* est liée à plusieurs facteurs dans le milieu de culture. Cette souche est capable de stimuler la croissance des plantes en stade finale de germination. Son optimum de croissance et de production d'AIA est de 1,72 mM NaCl.

Les graines de blé contiennent des lectines ; des protéines ayant une affinité avec les auxines. Dans les conditions de stress, la production des auxines est élevée et cela inhibe le développement racinaire. Cependant, l'AIA produite par des bactéries telles que *Xanthomonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Acetobacter* et *Agrobacterium* inhibe l'activité spécifique des lectines des lectines, réduisant ses effets délétères sous condition de stress (Zimmer et Bothe, 1988 ; Barbier and Galli, 1993 ; Kannova *et al.*, 1994 ; Asghar *et al.*, 2002).

Les souches bactériennes (*Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* et *Azospirillum lipoferum*) ont été utilisées par Sharma *et al.* (2014) pour améliorer la croissance du riz. Les trois bactéries ont montré une capacité élevée à produire de l'IAA et ont aidé les plantes inoculées à exprimer une capacité photosynthétique et une teneur en chlorophylle plus élevées. Les trois inocula ont significativement amélioré la masse sèche des racines/tiges par rapport

aux plantes non inoculées. Une autre souche de *Pseudomonas putida* (BHUY23) productrice d'IAA s'est montrée utile pour la promotion de la production de riz et comme agent antagoniste contre les phytopathogènes (Lavakush *et al.*, 2012). Hasan *et al.* (2014) ont confirmé les effets bénéfiques de la coinoculation du riz avec deux bactéries productrices d'IAA appartenant aux genres *Rhizobium* et *Azospirillum*. Les deux souches ensemble ont abouti à une augmentation suffisante de la longueur des plantules et du poids frais et sec des plantes. Les bactéries appartenant aux genres *Bacillus* et *Citrobacter* ont montré une amélioration significative de la croissance des racines et des plantules du blé inoculés. Les résultats ont été attribués à la production d'IAA par les isolats étudiés (Yadav *et al.*, 2011; Habib *et al.*, 2015). Egalement, Torres-Rubio *et al.* (2000), Tsavkelova *et al.* (2006), Jha et Kumar (2009), Soltani *et al.* (2010) et Kumar *et al.* (2014) ont rapporté que des bactéries appartenant aux genres *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* et *Azotobacter* peuvent produire de grandes quantités d'IAA, favorisant la croissance du blé.

L'application exagérée des engrais chimiques afin de supplémer le sol en azote, accompagnée de l'émission excessive de l'oxyde nitreux dans l'atmosphère dû à d'autres activités humaines ont provoqué un déséquilibre du cycle globale de l'azote (Lassaletta *et al.*, 2014). Afin d'éviter une telle application des fertilisants chimiques azotés et sur la base que l'un des mécanismes à travers lesquels les rhizobactéries améliorent la croissance des plantes est la fixation d'azote (James *et al.*, 1994 ; Glick, 1997 ; Vessey, 2003), Les bactéries telles que *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Rhizobium*, *Enterobacter* et *Klebsiella* ont prouvé leur place comme substituants écologiques non négligeables pour la promotion de la croissance des plantes. (Rao *et al.*, 1987; Hartmann, 1996 ; Malik *et al.*, 1997; Iniguez *et al.*, 2004 ; Santa *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005 ; Mirza *et al.*, 2006 ; Shabaev et Voronina, 2007; Nabti *et al.*, 2010; Brusamarello-Santos *et al.*, 2012 ; Milošević *et al.*, 2012 ; Habibi *et al.*, 2014 ; Volpiano *et al.*, 2014).

De nombreuses études ont fait l'objet du rôle des microorganismes fixateurs d'azote (*Enterobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, etc.) dans la promotion de la croissance d'une large gamme de plantes (Belimov, 1995 ; Rai *et al.*, 2017). Dans ce contexte, des études d'inoculation des diverses graminées par des bactéries fixatrices d'azote ont été faites. Les résultats obtenus consistent principalement à la promotion du développement racinaire (développement des poils absorbants, amélioration du poids frais/sec des racines etc.) du poids de la matière sèche des parties aériennes et du rendement finale des plantes (blé, maïs, soja, etc.) (Lin *et al.*, 1983 ; Jain, 1984 ; Lindberg *et al.*, 1985 ;

Bahshan, 1986). Similairement, Shields et Mangum (1953) ont rapporté que la fixation non-symbiotique de l'azote par *Azotobacter* et *Clostridium* permet d'augmenter la teneur en azote du blé et par conséquent, la promotion des autres paramètres de croissance de la plante. Selon Walker (2010), la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique par les bactéries phytostimulatrices appartenant au genre *Azospirillum* est impliquée dans la promotion de croissance des plantes, non seulement à travers la fixation d'azote, mais également via la synthèse des phytohormones et des flavonoïdes nécessaires pour l'activation des gènes nif.

De tout cela, il est important de mentionner que la diversité biologique des microorganismes du sol a été exprimée en utilisant une large gamme d'index et de modèles mathématiques (Tokeshi, 1993 ; Bulla, 1994 ; Kennedey et Smith, 1995). Pourtant, aucun modèle général n'est accepté pour décrire la relation entre l'abondance, la richesse et la dominance des espèces. Il est donc raisonnable que les facteurs gérant cette diversité sont étudiés séparément afin de les maîtriser (Ekschmitt et Griffiths, 1998). Notre travail constitue une bonne initiative visant à étudier simultanément l'effet de plusieurs facteurs sur le comportement et la diversité métabolique et fonctionnelle de quelques bactéries du sol. Comparée aux eucaryotes, l'étude de la diversité bactérienne d'un point de vue taxonomique, fonctionnel et génétique est plus compliquée dû au grand nombre des espèces bactériennes présentes dans l'environnement (Torsvik *et al.*, 1990).

Parmi cette diversité microbienne dans le sol, il est admis que seulement 2 à 5% des rhizobactéries sont des PGPR (Antoun et Prévost, 2005). Certaines d'entre elles ont été commercialement produites comme inoculant en agriculture. Cependant il est primordial de mentionner que l'inoculation de tels organismes dans les sols peut être responsable d'un désordre de la communauté microbienne allochtone. Ces changements doivent être profondément étudiés car ils sont reliés à l'efficacité de ces biofertilisants une fois appliqués aux sols agricoles (Van Overbeek et Van Elsas, 1997 ; Ramos *et al.*, 2003 ; Lucas García *et al.*, 2004). Contrairement à ça, plusieurs études se sont intéressées à l'étude de l'efficacité des PGPR sous différentes conditions physicochimiques et biologiques, observant que ces bactéries ne sont efficaces que sous des conditions déterminées (Enebak *et al.*, 1997 ; Bashan et Holguin, 1998).

Une meilleure compréhension de la structure physicochimique de la rhizosphère et son effet sur la diversité taxonomique et fonctionnelle des bactéries du sol, mais aussi la maîtrise des autres processus au sein du système tels que la complexité, la sélection naturelle, les

interactions entre les microorganismes (symbiose, parasitisme, mutualisme et compétence) constituent, ensemble, la clé pour une utilisation plus correcte des PGPR en agriculture et en biotechnologie (Van Overbeek et Van Elsas, 1997).

Conclusion

Conclusion :

Certaines bactéries du sol ont la capacité de favoriser le développement des cultures agricoles en stimulant leur croissance à travers la production de métabolites impliqués directement dans leur fonctionnement ou en réduisant les dommages causés par les agents pathogènes. Les bactéries peuvent également influencer la symbiose entre les plantes et d'autres microorganismes co-environnants, stimulant indirectement leur croissance. Cependant, le plus grand problème rencontré dans le domaine de la sélection des bactéries promotrices de la croissance des plantes est la non reproductibilité des résultats obtenus dans l'espace et dans le temps. Ainsi, les résultats obtenus « *in vitro* » ne sont pas toujours reproductibles « *in vivo* » en raison de la complexité des interactions entre la plante, les microorganismes et les facteurs environnementaux tels que la fertilité et la composition du sol, humidité, la photopériode et l'intensité lumineuse, la salinité, le pH et la température. (Babalola, 2010). Ainsi, un travail fondamental est encore nécessaire pour rendre les inocules bactériennes efficaces. (Kloepper *et al.*, 1989).

Dans cette étude, quarante isolats bactériens purifiés à partir de quatre échantillons de sol ont été testés pour leur capacité à stimuler la croissance du blé dur (*Triticum durum*) variété Boussalem. Parmi les 40 bactéries testées, les isolats 3B, 1-D, 2-B, 2-D et 2-F ont significativement amélioré les paramètres de croissance du blé. Ces isolats peuvent donc être plus en profondeur étudiés et valorisés afin d'être utilisés en agriculture et en biotechnologie.

La réponse d'une plante à l'inoculation par des PGPR varie selon la compétence écologique de la bactérie, le stade de croissance de la plante, son interaction avec l'inoculum et les conditions biotiques et abiotiques de l'environnement. Ainsi, une identification moléculaire et des études plus prolongées sous serre et en champ sur les isolats ayant donné un résultat positif sur le blé seront d'une grande utilité pour une meilleure valorisation des résultats obtenus.

La complexité des interactions constatées entre les différents propriétés physicochimiques des échantillons du sol (pH, conductivité électrique, humidité, matière organique) et les propriétés fonctionnelles des isolats révèle l'importance de chaque facteur environnemental dans la détermination de la diversité métabolique et fonctionnel d'une bactérie. Cette diversité métabolique n'est pas le seul facteur déterminant de la compétence bactérienne à stimuler la croissance d'une plante. Ainsi, des études à grande échelle, avec

un nombre d'échantillons et d'isolats plus important, peuvent apporter une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction plante-sol-bactérie.

La compréhension des facteurs responsables de la compétence rhizosphérique des isolats demeure par contre très complexe. Toutefois, quelle que soit la diversité des métabolites synthétisés et l'intensité de cette synthèse, en dépit de nombreuses lacunes, on constate que les progrès, évoqués précédemment, permettent dès maintenant d'améliorer l'efficacité et la reproductibilité des augmentations de rendement des cultures par l'inoculation avec des bactéries stimulatrices de la croissance des plantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Ahemad, M., et Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1), 1-20.

Ahmad, F., Ahmad, I., et Khan, M. S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of Azotobacter and fluorescent Pseudomonas in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29(1), 29-34.

Akhtar, M., et Siddiqui, Z. (2009). Effects of phosphate solubilizing microorganisms and Rhizobium sp. on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. *African Journal of Biotechnology*, 8(15).

Akiyoshi, D. E., Regier, D. A., et Gordon, M. P. (1987). Cytokinin production by Agrobacterium and Pseudomonas spp. *Journal of bacteriology*, 169(9), 4242-4248.

Alami, Y., Achouak, W., Marol, C., et Heulin, T. (2000). Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. Strain isolated from sunflower roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3393-3398.

Antoun, H., et Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria *PGPR: Biocontrol and biofertilization* (pp. 1-38): Springer.

Anwar, S., Ali, B., et Sajid, I. (2016). Screening of rhizospheric actinomycetes for various in-vitro and in-vivo plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds. *Frontiers in Microbiology*, 7.

Arkipova, T., Veselov, S., Melentiev, A., Martynenko, E., et Kudoyarova, G. (2005). Ability of bacterium Bacillus subtilis to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272(1-2), 201-209.

Arora, N. K., Tewari, S., et Singh, R. (2013). Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 411-449): Springer.

Arshad, M., et Frankenberger, W. (1991). Microbial production of plant hormones. *Plant and Soil*, 133(1), 1-8.

Asghar, H., Zahir, Z., Arshad, M., et Khaliq, A. (2002). Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 231-237.

Ashraf, M., Ahmad, M. S. A., Öztürk, M., et Aksoy, A. (2012). Crop improvement through different means: challenges and prospects *Crop Production for Agricultural Improvement* (pp. 1-15): Springer.

Ayaz, F., Kadioglu, A., et Turgut, R. (2000). Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(2), 373-378.

Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology letters*, 32(11), 1559-1570.

Baca, B., et Elmerich, C. (2007). Microbial production of plant hormones *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations* (pp. 113-143): Springer.

Bakshi, A., Shemansky, J. M., Chang, C., et Binder, B. M. (2015). History of research on the plant hormone ethylene. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(4), 809-827.

Barbieri, P., et Galli, E. (1993). Effect on wheat root development of inoculation with an *Azospirillum brasilense* mutant with altered indole-3-acetic acid production. *Research in Microbiology*, 144(1), 69-75.

Bashan, Y. (1986). Enhancement of wheat root colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd. following temporary depression of rhizosphere microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(5), 1067-1071.

Bashan, Y., et Holguin, G. (1998). Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(8), 1225-1228.

Bashan, Y., Holguin, G., et De-Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, 50(8), 521-577.

Batra, L., et Manna, M. (1997). Dehydrogenase activity and microbial biomass carbon in salt-affected soils of semiarid and arid regions. *Arid Land Research and Management*, 11(3), 295-303.

Beattie, G. A. (2007). Plant-associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances *Plant-associated bacteria* (pp. 1-56): Springer.

Belimov, A., Kojemiakov, A., et Chuvarliyeva, C. n. (1995). Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 173(1), 29-37.

Berge, O. (2011). Écologie des populations bactériennes associées aux eucaryotes photosynthétiques: de la rhizosphère à la phycosphère. (Habilitation à diriger des recherches, Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques), Montpellier, FRA). <http://prodinra.inra.fr/record/43720>

Bernstein, N., Lauchli, A., et Silk, W. K. (1993). Kinematics and dynamics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) leaf development at various Na/Ca salinities (I. Elongation growth). *Plant Physiology*, 103(4), 1107-1114.

Bertrand, J.-C., Bonin, P., Caumette, P., Gattuso, J.-P., Grégori, G., Guyoneaud, R., Poly, F. (2015). Biogeochemical Cycles *Environmental microbiology: fundamentals and applications* (pp. 511-617): Springer.

Bonkowski, M., Villenave, C., et Griffiths, B. (2009). Rhizosphere fauna: the functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant and Soil*, 321(1-2), 213-233.

Bot, A., et Benites, J. (2005). *The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production*: Food & Agriculture Org. Soils Bulletin 80. FAO, Rome.

Bottini, R., Cassán, F., et Piccoli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(5), 497-503.

Boukerma, L. (2012). Effet des pgpr (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire. [Thèse de Magister.] Saad Dahleb University, Algeria.

Bradbury, J. F. (1986). *Guide to plant pathogenic bacteria*: CAB international.

Bravin, M. (2008). Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. *Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques, Montpellier Sup Agro*.

Bric, J. M., Bostock, R. M., et Silverstone, S. E. (1991). Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2), 535-538.

Brouillet, L., Coursol, F., et Favreau, M. (2006). VASCAN. The database of Canadian vascular plants. *Herbier Marie-Victorin, Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal*.

Brugnoli, E., et Björkman, O. (1992). Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*, 187(3), 335-347.

Brusamarello-Santos, L., Pacheco, F., Aljanabi, S., Monteiro, R., Cruz, L., Baura, V., et Wassem, R. (2012). Differential gene expression of rice roots inoculated with the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. *Plant and Soil*, 356(1-2), 113-125.

Bulla, L. (1994). An index of evenness and its associated diversity measure. *Oikos*, 167-171.

Cassán, F., Vanderleyden, J., et Spaepen, S. (2014). Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(2), 440-459.

Chabot, R., Antoun, H., Kloepper, J. W., et Beauchamp, C. J. (1996). Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 2767-2772.

Charest, M.-H., Beauchamp, C. J., et Antoun, H. (2005). Effects of the humic substances of de-inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS microbiology ecology*, 52(2), 219-227.

Chen, J.-H. (2006). *The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility*. Paper presented at the International workshop

on sustained management of the soil-rhizosphere system for efficient crop production and fertilizer use.

Christie, P. J. (2000). Agrobacterium and plant cell transformation. *Encyclopedia of Microbiology*, 1, 86.

Cicek, N., et Cakirlar, H. (2002). The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulg. J. plant physiol*, 28(1-2), 66-74.

Cocking, E. C. (2003). Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*, 252(1), 169-175.

Conrad, K., Bettin, B., et Neumann, S. (1992). *The cytokinin production of Azospirillum and Klebsiella possible ecological effects*. Paper presented at the Physiology and biochemistry of cytokinins in plants. Symposium Liblice, República de Checoslovaquia.

Considine, P., Flynn, N., et Patching, J. (1977). Ethylene production by soil microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(4), 977-979.

Dalla Santa, O. R., Hernández, R. F., Alvarez, G. L. M., Ronzelli Junior, P., & Soccol, C. R. (2004). Azospirillum sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. *Brazilian Archives of Biology and technology*, 47(6), 843-850.

Das, A., Prasad, R., Srivastava, A., Giang, P. H., Bhatnagar, K., & Varma, A. (2007). Fungal siderophores: structure, functions and regulation *Microbial siderophores* (pp. 1-42): Springer.

Di, D. W., Zhang, C., Luo, P., An, C. W., et Guo, G. Q. (2016). The biosynthesis of auxin: how many paths truly lead to IAA? *Plant Growth Regul.* 78, 275–285.

Donderski, W., et Gluchowska, M. (2000). Production of cytokinin-like substances by planktonic bacteria isolated from Lake Jeziorak. *Polish Journal of Environmental Studies*, 9(5), 369-376.

Egamberdieva, D. (2008). Plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from wheat and pea grown in loamy sand soil. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 9-15.

Egamberdieva, D., Kamilova, F., Validov, S., Gafurova, L., Kucharova, Z., et Lugtenberg, B. (2008). High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with

the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environmental Microbiology*, 10(1), 1-9.

Eivazi, F., et Tabatabai, M. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(5), 601-606.

Enebak, S., Wei, G., et Kloepper, J. (1998). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. *Forest Science*, 44(1), 139-144.

Etesami, H., Alikhani, H. A., et Akbari, A. A. (2009). Evaluation of plant growth hormones production (IAA) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes. *World Appl Sci J*, 6(11), 1576-1584.

Figueiredo, M. d. V. B., Seldin, L., de Araujo, F. F., et Mariano, R. d. L. R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 21-43): Springer.

Fischer, S. E., Fischer, S. I., Magris, S., et Mori, G. B. (2007). Isolation and characterization of bacteria from the rhizosphere of wheat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(7), 895-903.

Fogle, V., et Munns, D. (1973). Effect of salinity on the time course of wheat seedling growth. *Plant Physiology*, 51(5), 987.

Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F., et Ceccanti, B. (1994). Biochemical parameters in soils regenerated by the addition of organic wastes. *Waste Management & Research*, 12(6), 457-466.

Glick, B. R., Ghosh, S., Liu, C., et Dumbroff, E. B. (1997). Effects of a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium (*Pseudomonas putida* GR12-2) on the Early Growth of Canola Seedlings *Biology of Root Formation and Development* (pp. 253-257): Springer.

Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., et McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6), 227-242.

Golubyatnikov, L., Mokhov, I., et Eliseev, A. (2013). Nitrogen cycle in the Earth climatic system and its modeling. *Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics*, 49(3), 229-243.

Götz, M., Nirenberg, H., Krause, S., Wolters, H., Draeger, S., Buchner, A., et Smalla, K. (2006). Fungal endophytes in potato roots studied by traditional isolation and cultivation-independent DNA-based methods. *FEMS microbiology ecology*, 58(3), 404-413.

Gray, E., et Smith, D. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395-412.

Guerinot, M. L. (1994). Microbial iron transport. *Annual Reviews in Microbiology*, 48(1), 743-772.

Günes, A., Inal, A., et Alpaslan, M. (1996). Effect of salinity on stomatal resistance, proline, and mineral composition of pepper. *Journal of Plant Nutrition*, 19(2), 389-396.

Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., et Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.

Habib, S., Saud, H., Ismail, M., et Kausar, H. (2016). Molecular characterization of stress tolerant plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for growth enhancement of rice. *International Journal of Agriculture and Biology*, 18(1), 184-191.

Habibi, S., Djedidi, S., Prongjunthuek, K., Mortuza, M. F., Ohkama-Ohtsu, N., Sekimoto, H., et Yokoyoma, T. (2014). Physiological and genetic characterization of rice nitrogen fixer PGPR isolated from rhizosphere soils of different crops. *Plant and Soil*, 379(1-2), 51-66.

Hagan, R. M. (1955). *Factors affecting soil moisture-plant growth relations*. Paper presented at the Report of the XIV International Horticultural Congress, Scheveningen, Netherlands.

Halder, A., et Chakrabartty, P. (1993). Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiologica*, 38(4), 325-330.

Hardie, M., et Doyle, R. (2012). Measuring soil salinity. *Plant Salt Tolerance: Methods and Protocols*, 415-425.

Hartmann, A. (1996). Biotechnological aspects of diazotrophic bacteria associated with rice *Biological Nitrogen Fixation Associated with Rice Production* (pp. 211-223): Springer.

Hasan, M., Bano, A., Hassan, S. G., Iqbal, J., Awan, U., Rong-ji, D., et Khan, K. A. (2014). Enhancement of rice growth and production of growth-promoting phytohormones by inoculation with *Rhizobium* and other rhizobacteria. *WASJ*, 31, 1734-1743.

HEULIN, T., et ACHOUAK, W. Les rhizobactéries. *La Grande Muraille Verte*, 371.

Hider, R. C., et Kong, X. (2010). Chemistry and biology of siderophores. *Natural product reports*, 27(5), 637-657.

Huang, P.-T., Patel, M., Santagata, M. C., et Bobet, A. (2009). Classification of organic soils. Publication FHWA/IN/JTRP-2008/02, Joint Transportation Research Program, Indiana Department of Transportation and Purdue University, West Lafayette, Indiana.

Iniguez, A. L., Dong, Y., et Triplett, E. W. (2004). Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(10), 1078-1085.

Jain, D. K., et Patriquin, D. G. (1984). Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(6), 1208-1213.

James, E., Reis, V., Olivares, F., Baldani, J., et Döbereiner, J. (1994). Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal of Experimental Botany*, 45(6), 757-766.

Jha, P., et Kumar, A. (2009). Characterization of novel plant growth promoting endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* from wheat plant. *Microbial ecology*, 58(1), 179-188.

Kämpfer, P., Ruppel, S., et Remus, R. (2005). *Enterobacter radicincitans* sp. nov., a plant growth promoting species of the family Enterobacteriaceae. *Systematic and applied microbiology*, 28(3), 213-221.

Kandeler, E., Marschner, P., Tschirko, D., Singh Gahoonia, T., et Nielsen, N. E. (2002). Microbial community composition and functional diversity in the rhizosphere of maize. *Plant and Soil*, 238(2), 301-312.

Kang, S.-M., Khan, A. L., Hamayun, M., Hussain, J., Joo, G.-J., You, Y.-H., et Lee, I.-J. (2012). Gibberellin-producing *Promicromonospora* sp. SE188 improves *Solanum*

lycopersicum plant growth and influences endogenous plant hormones. *Journal of Microbiology*, 50(6), 902-909.

Kellou, R. (2008). *Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pôle de compétitivité Quali-Méditerranée: le cas des coopératives Sud Céréales, Groupe coopératif occitan et Audecoop*: CIHEAM-IAM Montpellier.

Kende, H., et Zeevaart, J. (1997). The Five " Classical " Plant Hormones. *The plant cell*, 9(7), 1197.

Kennedy, A. C., et Smith, K. (1995). Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils *The significance and regulation of soil biodiversity* (pp. 75-86): Springer.

Kennedy, P. G., et Peay, K. G. (2007). Different soil moisture conditions change the outcome of the ectomycorrhizal symbiosis between *Rhizopogon* species and *Pinus muricata*. *Plant and Soil*, 291(1-2), 155.

Khakipour, N., Khavazi, K., Mojallali, H., Pazira, E., et Asadirahmani, H. (2008). Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 4(6), 687-692.

Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., et Jung, H.-Y. (2014). Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, 52(8), 689-695.

Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., et Wani, P. A. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi—current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(1), 73-98.

Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., et Schroth, M. N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286(5776), 885-886.

Kloepper, J. W., Lifshitz, R., et Zablutowicz, R. M. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology*, 7(2), 39-44.

Krewulak, K. D., et Vogel, H. J. (2008). Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1778(9), 1781-1804.

Krishnaraj, P., et Dahale, S. (2014). *Mineral phosphate solubilization: concepts and prospects in sustainable agriculture*. Paper presented at the Proc Indian Natn Sci Acad.

Kumar, A., Kumar, K., Kumar, P., Maurya, R., Prasad, S., et Singh, S. K. (2014). Production of indole acetic acid by *Azotobacter* strains associated with mungbean. *Plant Archives*, 14(1), 41-42.

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

Kumar, V., Behl, R. K., et Narula, N. (2001). Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiological Research*, 156(1), 87-93.

Kurosawa, E. (1926). Experimental studies on the secretion of *Fusarium heterosporum* on rice plants. *Trans. Nat. Hist. Soc. Formosa*, 16, 213-227.

Lahmar, R., et Ribaut, J.-P. (2001). *Sols et sociétés, regards pluriculturels* (Vol. 116): ECLM.

Lapinskas, E., et Piaulokaitė-Motuzienė, L. (2006). The influence of soil acidity on symbiotic and non-symbiotic nitrogen fixation. *Žemdirbystė Agriculture*, 93(4), 210-220.

Lassaletta, L., Billen, G., Grizzetti, B., Garnier, J., Leach, A. M., et Galloway, J. N. (2014). Food and feed trade as a driver in the global nitrogen cycle: 50-year trends. *Biogeochemistry*, 118(1-3), 225-241.

Lavakush, J. Y., et Verma, J. P. (2012). Isolation and characterization of effective plant growth promoting rhizobacteria from rice rhizosphere of Indian soil. *Asian J Biol Sci*, 5, 294-303.

Lin, W., Okon, Y., et Hardy, R. W. (1983). Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(6), 1775-1779.

Lindberg, T., Granhall, U., et Tomenius, K. (1985). Infectivity and acetylene reduction of diazotrophic rhizosphere bacteria in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under gnotobiotic conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 1(3), 123-129.

Lugtenberg, B., et Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541-556.

Lumsden, R., Carter, J., Whipps, J., et Lynch, J. (1990). Comparison of biomass and viable propagule measurements in the antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Pythium ultimum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(2), 187-194.

MacMillan, J., et Suter, P. (1958). The occurrence of gibberellin A 1 in higher plants: isolation from the seed of runner bean (*Phaseolus multiflorus*). *Naturwissenschaften*, 45(2), 46-46.

Mahbouba, B. (2017). PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse de doctorat de l'université de Constantine.

Maheshwari, D. K., Dheeman, S., et Agarwal, M. (2015). Phytohormone-producing PGPR for sustainable agriculture *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem* (pp. 159-182): Springer.

Maleki, M., Mostafae, S., Mokhtarnejad, L., et Farzaneh, M. (2010). Characterization of *Pseudomonas fluorescens*' Strain CV6 Isolated from Cucumber Rhizosphere in Varamin as a Potential Biocontrol Agent. *Australian journal of crop science*, 4(9), 676.

Malik, K., Bilal, R., Mehnaz, S., Rasul, G., Mirza, M., et Ali, S. (1997). Association of nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice *Opportunities for Biological Nitrogen Fixation in Rice and Other Non-Legumes* (pp. 37-44): Springer.

Marschner, P., Yang, C.-H., Lieberei, R., et Crowley, D. (2001). Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(11), 1437-1445.

Marschner, P., Yang, C.-H., Lieberei, R., et Crowley, D. (2001). Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(11), 1437-1445.

Martínez-Viveros, O., Jorquera, M., Crowley, D., Gajardo, G., et Mora, M. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.

Meyer, J.-M. (2007). Siderotyping and bacterial taxonomy: a siderophore bank for a rapid identification at the species level of fluorescent and non-fluorescent *Pseudomonas*. *Microbial Siderophores* (pp. 43-65): Springer.

Miao, G., ZHOU, J.-j., WANG, E.-t., Qian, C., Jing, X., et SUN, J.-g. (2015). Multiphasic characterization of a plant growth promoting bacterial strain, *Burkholderia* sp. 7016 and its effect on tomato growth in the field. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(9), 1855-1863.

Milošević, N., Tintor, B., et Cvijanović, G. (2012). *Effect of inoculation with Azotobacter chroococcum on wheat yield and seed quality*. Paper presented at the International Conference: Conventional and molecular breeding of field and vegetable crops, Novi Sad, Serbia.

Miransari, M., et Smith, D. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110-121.

Mirza, M. S., Mehnaz, S., Normand, P., Prigent-Combaret, C., Moënne-Loccoz, Y., Bally, R., et Malik, K. A. (2006). Molecular characterization and PCR detection of a nitrogen-fixing *Pseudomonas* strain promoting rice growth. *Biology and Fertility of Soils*, 43(2), 163-170.

Munns, R., James, R. A., et Läuchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1025-1043.

Nabti, E., Sahnoune, M., Ghoul, M., Fischer, D., Hofmann, A., Rothballer, M., et Hartmann, A. (2010). Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(1), 6-22.

Narayanasamy, P. (2013). Detection and Identification of Bacterial Biological Control Agents *Biological Management of Diseases of Crops* (pp. 201-293): Springer.

Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., et Verma, D. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*, 182(2), 291-296.

Nautiyal, C. S., et Dion, P. (2008). *Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence*: Springer.

Neilands, J. (1995). Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723-26726.

Nelson, D. W., et Sommers, L. E. (1996). Total carbon, organic carbon, and organic matter. *Methods of soil analysis part 3—chemical methods* (methodsofsoilan3), 961-1010.

Niklińska, M., Chodak, M., et Laskowski, R. (2005). Characterization of the forest humus microbial community in a heavy metal polluted area. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(12), 2185-2194.

Niranjana, S. R., et Hariprasad, P. (2014). Understanding the Mechanism Involved in PGPR-Mediated Growth Promotion and Suppression of Biotic and Abiotic Stress in Plants *Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens* (pp. 59-108): Springer.

NRCS, U. (1998). Soil quality concerns, pesticides, National Soil Survey Center in cooperation with the Soil Quality Institute, NRCS, USDA and the National Soil Tilth Laboratory. *Agricultural Research Service (USDA)*.

Ona, O., Impe, J., Prinsen, E., et Vanderleyden, J. (2005). Growth and indole-3-acetic acid biosynthesis of *Azospirillum brasilense* Sp245 is environmentally controlled. *FEMS Microbiology Letters*, 246(1), 125-132.

Ortíz-Castro, R., Valencia-Cantero, E., et López-Bucio, J. (2008). Plant growth promotion by *Bacillus megaterium* involves cytokinin signaling. *Plant signaling & behavior*, 3(4), 263-265.

Osman, K. T. (2013). Forest soils *Soils* (pp. 229-251): Springer. Science+Business Media, Dordrecht, pp 1-7.

Otajewwo, F., et Aluyi, H. (2011). Cultural conditions necessary for optimal cellulase yield by cellulolytic bacterial organisms as they relate to residual sugars released in broth medium. *Modern Applied Science*, 5(3), 141.

Otieno, N., Lally, R. D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K. J., et Dowling, D. N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6, 745.

Pandey, P., et Maheshwari, D. (2007). Bioformulation of Burkholderia sp. MSSP with a multispecies consortium for growth promotion of *Cajanus cajan*. *Canadian journal of microbiology*, 53(2), 213-222.

Panhwar, Q. A., Othman, R., Rahman, Z. A., Meon, S., et Ismail, M. R. (2012). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2711-2719.

Panhwar, Q., Radziah, O., Zaharah, A. R., Sariah, M., et Razi, I. M. (2011). Role of phosphate solubilizing bacteria on rock phosphate solubility and growth of aerobic rice. *J. Environ. Biol.* 32(5), 607-12

Park, M., Kim, C., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S., et Sa, T. (2005). Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, 160(2), 127-133.

Penrose, D. M., et Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia plantarum*, 118(1), 10-15.

Pepper, I. L. et Gerba, C. P. 2004. Environmental Microbiology, a Laboratory Manual, 2nd edition. *Elsevier Academic Press*, USA.

Perrig, D., Boiero, M., Masciarelli, O., Penna, C., Ruiz, O., Cassán, F., et Luna, M. (2007). Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(5), 1143-1150.

Prescott, L. M. (2002). Microbiology, 5th edition. The McGraw–Hill Companies, New York, USA, p 675.

Primrose, S., et Dilworth, M. (1976). Ethylene production by bacteria. *Microbiology*, 93(1), 177-181.

Probanza, A., Garcia, J. L., Palomino, M. R., Ramos, B., et Mañero, F. G. (2002). *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*, 20(2), 75-84.

Przemieniecki, W. S., Kurowski, P. T., et Karwowska, A. (2015). Plant growth promoting potential of *Pseudomonas* sp. SP0113 isolated from potable water from a closed water well. *Archives of Biological Sciences*, 67(2), 663-673.

Rai, A., Cherif, A. Cristina, C. et Nabti, E. (2017). Extracts from *Opuntia ficus-indica* and marine macro-algae enhance PGPR Potential as promoters of wheat salt tolerance. *Pedosphere*. doi:10.1016/S1002-0160(17)60333-3

Ramos, B., García, J. A. L., Probanza, A. n., Barrientos, M. L., et Mañero, F. J. G. (2003). Alterations in the rhizobacterial community associated with European alder growth when inoculated with PGPR strain *Bacillus licheniformis*. *Environmental and Experimental Botany*, 49(1), 61-68.

Rao, V. R., Jena, P., et Adhya, T. (1987). Inoculation of rice with nitrogen-fixing bacteria-problems and perspectives. *Biology and Fertility of Soils*, 4(1), 21-26.

Ratledge, C., et Dover, L. G. (2000). Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 881-941.

Reddy, P. P. (2014). Potential role of PGPR in agriculture *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection* (pp. 17-34): Springer.

Reeves, D. (1997). The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 43(1-2), 131-167.

Reynders, L., et Vlassak, K. (1979). Conversion of tryptophan to Indoleacetic acid by *Azospirillum brasilense*. *Soil Biology and Biochemistry*, 11(5), 547-548.

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

Rodríguez, H., et Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4), 319-339.

Rouiller, J., Souchier, B., Bruckert, S., Feller, C., Toutain, E., et Vedy, J. (1994). *Pédologie: 2. Constituants et propriétés du sol*. Masson. Paris. pp. 619-654.

Rousk, J., Brookes, P. C., et Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589-1596.

Sagervanshi, A., Kumari, P., Nagee, A., et Kumar, A. (2012). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from anand agriculture soil. *International journal of life science and pharma research*, 2(3), 256-266.

Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., et Bhatti, A. S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 34(10), 635-648.

Santi, C., Bogusz, D., et Franche, C. (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*, 111(5), 743-767.

Sashidhar, B., et Podile, A. R. (2010). Mineral phosphate solubilization by rhizosphere bacteria and scope for manipulation of the direct oxidation pathway involving glucose dehydrogenase. *Journal of applied microbiology*, 109(1), 1-12.

Schmitt-Kopplin, P., Hertkorn, N., Frommberger, M., Lucio, M., Englmann, M., Fekete, A., et Gebefugi, I. (2007). Ion Cyclotron Resonance Fourier Transform Mass Spectrometry for Non-Targeted Metabolomics of Molecular Interactions in the Rhizosphere *Advanced Techniques in Soil Microbiology* (pp. 281-293): Springer.

Shabaev, V., et Voronina, L. (2007). Grain yield and quality of winter wheat inoculated with a mixed culture of Pseudomonas bacteria against the background of increasing nitrogen fertilizer rates. *Russian Agricultural Sciences*, 33(5), 311-313.

Shaharoon, B., Arshad, M., Waqas, R., et Khalid, A. (2012). Role of ethylene and plant growth-promoting rhizobacteria in stressed crop plants *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies* (pp. 429-446): Springer.

Shahbaz, M., et Ashraf, M. (2013). Improving salinity tolerance in cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(4), 237-249.

Sharma, A., Shankhdhar, D., et Shankhdhar, S. (2014). Growth promotion of the rice genotypes by pgprs isolated from rice rhizosphere. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14(2), 505-517.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., et Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), 587.

Sharma, S., Kumar, V., et Tripathi, R. B. (2011). Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(2), 90-95.

Shields, L. M. (1953). Nitrogen sources of seed plants and environmental influences affecting the nitrogen supply. *The Botanical Review*, 19(6), 321-376.

Shrivastava, P., et Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 123-131.

Sivasakthi, S., Usharani, G., et Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 9(16), 1265-1277.

Solans, M., et Vobis, G. (2013). Biology of actinomycetes in the rhizosphere of nitrogen-fixing plants. *Actinobacteria. Application in bioremediation and production of industrial enzymes*. CRC Press, Boca Raton, 1-25.

Soltani, A.-A., Khavazi, K., Asadi-Rahmani, H., Omidvari, M., Dahaji, P. A., et Mirhoseyni, H. (2010). Plant growth promoting characteristics in some *Flavobacterium* spp. isolated from soils of Iran. *Journal of Agricultural Science (Toronto)*, 2(4), 106-115.

Song, O.-R., Lee, S.-J., Lee, Y.-S., Lee, S.-C., Kim, K.-K., et Choi, Y.-L. (2008). Solubilization of insoluble inorganic phosphate by *Burkholderia cepacia* DA23 isolated from cultivated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(1), 151-156.

Spaepen, S., Vanderleyden, J., et Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425-448.

Stephen, J., Shabanamol, S., Rishad, K., et Jisha, M. (2015). Growth enhancement of rice (*Oryza sativa*) by phosphate solubilizing *Gluconacetobacter* sp. (MTCC 8368) and *Burkholderia* sp. (MTCC 8369) under greenhouse conditions. *3 Biotech*, 5(5), 831-837.

Sundara, B., Natarajan, V., et Hari, K. (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field crops research*, 77(1), 43-49.

Takahashi, N., et Kobayashi, M. (1991). Organ-specific gibberellins in rice: roles and biosynthesis *Gibberellins* (pp. 9-21): Springer.

Taller, B. J., et Wong, T.-Y. (1989). Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* culture medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(1), 266-267.

Tarakhovskaya, E., Maslov, Y. I., et Shishova, M. (2007). Phytohormones in algae. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(2), 163-170.

Tilak, K., Ranganayaki, N., et Manoharachari, C. (2006). Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). *European Journal of Soil Science*, 57(1), 67-71.

Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., et Tillberg, E. (1999). Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(13), 1847-1852.

TOKESHI, M. (1993). On the evolution of commensalism in the Chironomidae. *Freshwater Biology*, 29(3), 481-489.

Torres-Rubio, M. G., Valencia-Plata, S. A., Bernal-Castillo, J., et Martínez-Nieto, P. (2000). Isolation of *Enterobacteria*, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., producers of indole-3-acetic acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. *Revista latinoamericana de microbiología*, 42(4), 171-176.

Torsvik, V., Goksøyr, J., et Daae, F. L. (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(3), 782-787.

Tran, L.-S. P., et Pal, S. (2014). *Phytohormones: a window to metabolism, signaling and biotechnological applications*: Springer. Science+Business Media New York.

Tsavkelova, E., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T., et Netrusov, A. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied biochemistry and microbiology*, 42(2), 117-126.

Vahed, H., Shahinrokhsar, P., et Heydarnezhad, F. (2012). Performance of phosphate solubilizing bacteria for improving growth and yield of rice (*Oryza Sativa* L.) in the presence of phosphorus fertilizer. *Int J Agric Crop Sci*, 4(17), 1228-1232.

Van Overbeek, L., et van Elsas, J. (1997). Adaptation of bacteria an extended extraction procedure. *Chemosphere*, 39, 665-682.

Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari, K. N., et Kumar, A. (2013). Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake

of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. *Ecological Engineering*, 51, 282-286.

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.

Volpiano, C. G., Estevam, A., Saatkamp, K., Furlan, F., Vendruscolo, E. C. G., et Dos Santos, M. F. (2014). *Physiological responses of the co-cultivation of PGPR with two wheat cultivars in vitro under stress conditions*. Paper presented at the BMC Proceedings.

Walker, V. (2010). *Impact de l'inoculation de micro-organismes phyto-bénéfiques sur le métabolisme secondaire de Zea mays L.* Université Claude Bernard-Lyon I.

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., et Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens 1. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348.

Went, F. W., et Thimann, K. V. (1937). Phytohormones. *Phytohormones*. The Macmillan Company, New York

Wong, W., Tan, S., Ge, L., Chen, X., et Yong, J. (2015). The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem* (pp. 105-158): Springer.

Wu, X., Gao, Z., Zha, Y., Li, Y., Lu, M., et Cai, D. (2012). The influence of different seed dressing treatments on wheat seedlings growth under water stress conditions. *Energy Procedia*, 16, 1930-1934.

Yadav, J., Verma, J. P., et Tiwari, K. N. (2011). Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4(3), 291-299.

Zakharova, E. A., Shcherbakov, A. A., Brudnik, V. V., Skripko, N. G., Bulkhin, N. S., et Ignatov, V. V. (1999). Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. *European journal of biochemistry*, 259(3), 572-576.

ZHANG, F., Dashti, N., Hynes, R., et SMITH, D. L. (1996). Plant growth promoting rhizobacteria and soybean [*Glycine max* (L.) Merr]. Nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. *Annals of Botany*, 77(5), 453-460.

Zimmer, W., Roeben, K., et Bhote, H. (1988). The interactions between the N₂-fixing bacterium *Azospirillum* and wheat. *Nitrogen fixation: Hundred Years After.*(Bothe, H. and Newton, W., Eds.). *Proc. 7th Int. Congr. on Nitrogen Fixation.* Fischer, Stuttgart, New York, 776.

Annexes

Annexe I : systématique de blé dur (*Triticum durum*), selon Brouillet *et al.* (2006).

Règne	<i>plantea (végétale)</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Ordre	<i>Cyperales</i>
Famille	<i>Poaceae</i>
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i>

Annexe 2:

Composition des milieux de cultures utilisés

Milieu Dworkin et Foster (*DF minimal salt medium*)

- **Solution minérale** (dans 1 litre d'eau distillée) :
KH₂PO₄ (4g); NaHPO₄ (6g); MgSO₄ 7H₂O (0.2g); Glucose (2g) ; Acide gluconique (2g) ; Acide citrique (2g).
- **Solution d'oligo-éléments 1** :
10 mg H₃BO₃ ; 11.19 mg MnSO₄ H₂O ; 124.6 mg ZnSO₄ 7H₂O ; 78.22 mg CuSO₄ 5H₂O ; 10 mg MoO₃ dans 100 mL d'eau distillé stérile.
- **Solutions d'oligo-élément 2** :
100 mg FeSO₄ 7H₂O dans 10 mL d'eau distillé stérile.

Composition de de Pikovskaya (PKV)

100 mg FeSO₄ 7H₂O dans 10 mL d'eau distillé stérile.
glucose (10 g) ; Ca₃ (PO₄)₂ (5 g) ; (NH₄)₂SO₄ (0,5 g) ; (0,2 g) de NaCl ; MgSO₄.7H₂O (0,1 g) ; KCl (0,2 g) ; extrait de levure (0,5 g) ; MnSO₄.H₂O (0,002 g) ; FeSO₄.7H₂O (0,002 g) ; agar (15 g). La capacité d'un isolat à solubiliser le phosphate inorganique est indiquée par l'apparition un halo clair autour du disque agar (Sagervanshi *et al.*, 2012).

Résumé :

La physicochimie d'un sol affecte considérablement la diversité fonctionnelle des bactéries et leurs interactions avec les plantes. Ce travail a pour objectif l'étude de l'effet des propriétés physicochimiques des sols sur la répartition de quelques caractères bactériens et leur implication dans la stimulation de la croissance du blé. Pour ceci, 40 isolats bactériens ont été purifiés à partir de 4 échantillons de sol rhizosphériques. Après caractérisation physicochimique des échantillons, un teste *in vivo* a été réalisé afin de vérifier la stimulation de la croissance du blé par les souches isolés. Une caractérisation fonctionnelle (production de l'AIA, solubilisation de phosphate et fixation d'Azote) et phénotypique (Gram, mobilité) des 40 isolats a été effectuée. Enfin, la corrélation entre les caractères physicochimiques des échantillons, l'effet combiné des bactéries à partir desquels elles sont issues sur la croissance du blé, ainsi que les caractères phénotypiques de ces isolats a été étudiée. La totalité des souches testées sont productrices de l'AIA (les concentrations varient de 4,63 à 13,28 µg/ml), 22 sont fixatrices de l'azote atmosphérique et 10 souches solubilisent le $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Phénotypiquement, 22 souches sont à Gram positif et 18 sont immobiles. La souche 3-B a significativement stimulé le pourcentage final de germination des graines de blé, alors que les souches 1-D, 2-B, 2-D et 2-F ont significativement stimulé les autres paramètres de croissance. Les corrélations obtenues entre les différentes variables représentées dans notre ACP souligne la complexité des effets de l'environnement sur la diversité fonctionnelle des bactéries et leurs interactions avec les plantes.

Mots clés : blé, AIA, solubilisation phosphate, fixation d'azote, sol, rhizosphère.

Abstract:

Soil physicochemical characters affect considerably the functional diversity of soil bacteria and their interaction with plants. Herein, the effect of soil physicochemical properties on some bacterial characters 'repartition and their role in wheat growth stimulation was studied. For this, 40 bacterial isolates were purified from four soil samples. After physicochemical characterization of the soil samples, pots experiment was carried out to check the strain's ability to stimulate wheat growth. A functional (AIA production, phosphate solubilization and nitrogen fixation) and phenotypic characterization (Gram, mobility) of the 40 isolates was performed. Finally, correlation between physicochemical characteristics of soil samples, bacterial phenotypic/functional characteristics and their effect on wheat growth was analyzed. All strains tested are AIA-producers (concentrations range from 4.63 to 13.28 µg/ml), 22 strains can fix atmospheric nitrogen and 10 strains solubilize $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Phenotypically, 22 strains are Gram-positive and 18 are immobile. The strain 3-B significantly stimulated the final germination percentage of wheat seeds, whereas 1-D, 2-B, 2-D and 2-F strains significantly enhanced the other growth parameters. The obtained correlations between the various variables represented in our PCA highlight the complexity of environmental effects on functional diversity of soil bacteria and their interactions with plants.

Key words: wheat, AIA, phosphate solubilization, nitrogen fixation, soil, rhizosphere.