

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire de Master

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

Effet des bactéries productrices de l'indole 3-acétique acide et de leur extrait sur la croissance des plantes

Présenté par : MOHAMEDATNI Sana

CHIKHAOUI Mounya

BOUYEDDA Safia

Devant le jury composé de :

Présidente : Mm GRARA N.

Professeur. Univ. 8 Mai 1945. Guelma.

Examineur : Mm BENHALIMA L.

MCB. Univ. 8 Mai 1945. Guelma.

Encadreur : Melle KHENAKA K.

MAA. Univ. 8 Mai 1945. Guelma.

Juin 2018

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Dieu qui a donné le courage et le savoir afin d'achever ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'université de Guelma.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur M^{LLE} K. Khenaka (Maître-assistant à L'Université 8MAI 1945 de Guelma) pour accepter de diriger ce travail, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral.

Toute notre gratitude va à madame N. Grara et qui a accepté de présider ce jury et madame L. Benhalima pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, nous tenons à remercier tous nos enseignants qui ont assuré notre formation et tous les personnels techniques du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers de L'université

De 8 MAI 1945 de GUELMA.

Dédicace

A mes chers parents Ahcen et Hadda pour leur amour et leur soutien continu, merci d'être à mes côtés.

À mes chers frères et sœurs

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

À tous mes proches.

SAFIA

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes parent SAMIRA et AHMED qui ont été toujours à mes côtés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études, pour la confiance et leurs mots d'encouragement.

**Merci mon chère maman et papa je vous aime beaucoup.*

*A mes sœurs MANAL et SOUNDESS et ma chéri OUSSAMA. Qui été toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager ;
Jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes remerciements.*

A mon marie ABDELMADJID pour son aide et ses encouragements et ainsi qu'à toute ma belle-famille.

A mes chères cousines :

IKRAM, RAHMA, SONYA et SOUMIA

Toutes les personnes qui de diverses façons et a différents moment apporté leur aide.

MOUNYA

Dédicaces

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

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

*A mes chers parents : Abdelouaheb et MIHOUB
Dalila pour leur soutien, leur aide, et leur sacrifice
et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Qu'ils
trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude
et tout mon amour en espérant les rendre fières.*

A mes chers frères Housseem Eddine et Oussama.

A toute ma famille et à toutes mes amies.

*A toute la promotion « Biologie moléculaire et
cellulaire 2017-2018 ».*

A tous ceux dont l'amitié sincère mes agréable

SANA

Liste des figures

Figure 1. Schéma présente une coupe de la rhizosphère.	3
Figure 2. Les principales voies métaboliques de la synthèse de l'AIA et ses analogues à partir du tryptophane.	13
Figure 3. Les étapes d'obtention des extraits de l'AIA.	17
Figure 4. La production d'AIA par les trois isolats.....	21
Figure 5. La production de l'AIA par l'isolat 1 en fonction de la durée d'incubation.....	22
Figure 6. La production de l'AIA par l'isolat 1 en fonction de la concentration de tryptophane.	23
Figure 7. La révélation physique et chimique des extraits de l'AIA.....	24
Figure 08. Effet des isolats bactériens sur la germination de <i>Cicer arietinum</i>	25
Figure 9. Effet des isolats bactériens sur la germination de <i>Triticum durum</i>	25
Figure 10. Effet des isolats bactériens sur la germination de <i>Phaseolus vulgaris</i>	26
Figure 11. Effet des isolats bactériens sur la germination de <i>Lens culinaris</i>	26
Figure 12. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur la longueur des tiges de <i>Triticum durum</i>	28
Figure 13. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur le poids de la partie aérienne de <i>Triticum durum</i>	28
Figure 14. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur le poids de la partie racinaire de <i>Triticum durum</i>	29
Figure 15. Isolat 1 après coloration de Gram ($\times 100$).....	30

Liste des tableaux

Tableau 1. Coloration de Gram, test d'oxydase, de catalase et de mobilité des isolats bactériens.....	30
Tableau 2. Identification des isolats bactériens par galerie Api 20 NE.....	30

Liste des abréviations

AIA : Acide 3-Indole Acétique.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

ABA : acide abscissique.

API 20 NE : Appareillage et procédés d'Identification des Non Entérobactéries (galerie biochimique).

CCM : Chromatographie sur couche mince.

N₂ : azote atmosphérique.

PH : potentiel d'hydrogène.

HCL : Acide chlorhydrique.

MIB : 2-methyl isobornéol.

AMF: Arbuscular Mycorrhizal Fung

N: Azote

NO₃: Nitrates.

NH⁺₄: Ion ammonium.

NH₃: Ammoniaque.

Table des matières

REMERCIEMENT

DÉDICACES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : LA RHIZOSPHERE

1. Généralité sur la rhizosphère3

2. L'effet rhizosphère.....4

3. La faune et la flore de la rhizosphère4

 3.1. La faune.....4

 3.2 La flore rhizosphérique.....5

 3.2.1. Les actinomycètes..... 5

 3.2.2. Les champignons.....5

 3.2.3 Les rhizobactéries..... 5

4. Les différents types d'interaction dans la rhizosphère6

 4.1. Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère.....6

 4.1.1. La symbiose..... 6

 4.1.2. Parasitisme.....6

 4.1.3. Compétition..... 6

 4.2. Les interactions entre les microorganismes et les plantes..... 6

CHAPITRE 2 : LES BACTERIES PROMOTRICES DE LA CROISSANCE DES
PLANTES

1. Définition des bactéries promotrice de croissance des plantes9

2. Effet direct des PGPR sur les plantes9

 2.1. La fixation de l'azote.....9

2.2. La solubilisation du phosphate.....	9
2.3. La solubilisation du potassium.....	9
2.4. La production des sidérophores.....	10
2.5. La production des phytohormones.....	10
2.5.1. L'acide gibbérellique.....	10
2.5.2. Les cytokinines.....	11
2.5.3. L'acide abscissique.....	11
2.5.4. L'éthylène.....	11
2.5.5. L'auxine.....	12
3. Effet indirecte des PGPR sur les plantes	14
3.1. La production des antibiotiques.....	14
3.2. Induction d'un système de résistance.....	14
3.3. Effet phytoprotecteur des Sidérophores.....	14
MATÉRIEL ET MÉTHODES	
1. Isolats bactériens utilisés	16
2. Dosage de la production de l'Acide-3-Indole Acétique	16
3. Optimisation de la production de l'AIA	16
4. Extraction et détection de l'AIA	16
A. Fermentation.....	16
B. Extraction.....	17
5. Chromatographie sur couche mince.	18
A. Principe.....	18
B. Mode opératoire.....	18
C. Révélation et lecture.....	18
6. Effet des isolats sur la croissance des plantes.....	18
A. Effet sur la germination.....	18
B. Désinfection et bactérisation des graines.....	18

C. Protocol expérimental.....	19
7. Effet des extraits et d'isolat sélectionné sur la croissance du <i>Triticum durum</i>	19
A. Désinfection et germination des graines.....	19
B. Protocol expérimental.....	19
8. Identification phénotypique des isolats	20
La galerie API 20 NE.....	20
9. Analyse statistique	20
RÉSULTATS ET DISCUSSION	
1. La production de l'AIA par les isolats bactériens	21
2. Optimisation de la production de l'AIA par l'isolat 1	22
3. Détection de l'AIA par chromatographie sur couche mince	23
4. Effet des isolats bactériens sur la germination des graines	24
5. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur la croissance du <i>Triticum durum</i> ...	27
6. Identification	29
CONCLUSION	32
RÉFÉRENCES	33
ANNEXES	40
RÉSUMÉ	47

INTRODUCTION

Introduction

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.) (Agueniou et Zeggagh, 2017).

Dans ce travail, nous sommes intéressées à la flore rhizosphérique bactérienne de sol. La rhizosphère est la zone de sol qui est sous l'influence des exsudats racinaires, c'est une zone très riche en nutriments, constituant une niche écologique stimulatrice de diverses activités microbiennes. Dans cette zone se trouve un groupe particulier de bactéries ; les rhizobactéries (Beauchamp, 1993 ; Cregut, 2009).

Les plantes, comme la plupart des êtres vivants, vivent au contact de nombreux microorganismes. Le contact entre plantes et microorganismes est permanent. Il s'établit dès que la graine tombe au sol, se poursuit et se développe lors de la germination et de la croissance du végétal, et se termine à la mort de celui-ci (Atie, 2005) Les plantes entretiennent une microflore associée à leurs racines (Jacques et Daniel, 1988), le développement de la communauté rhizosphérique a une variété d'impact direct ou indirect sur la croissance et le rendement de la plante (Boisvert, 2014). L'utilisation des bactéries afin d'améliorer la disponibilité des nutriments et de 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). Une flore bactérienne diversifiée, connue sous l'abréviation PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), est la plus étudiée dont on distingue deux grands groupes : les PGPR phyto-stimulatrices et les PGPR phyto-protectrices (Malek, 2015). Ces bactéries facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources nutritives (azote, phosphore, fer et les minéraux essentiels), la production de phytohormones (auxines, des gibbérellines), (Munees et Mulugeta, 2014). Indirectement, les PGPR participent dans la protection des plantes contre les agents phytopathogènes (Adam, 2008).

Les phytohormones sont des substances organiques naturelles qui exercent, à faibles concentrations, une influence majeure sur pratiquement tous les aspects physiologiques de la croissance des plantes (Arora et *al.*, 2013). Ces substances ne sont pas seulement produites par les plantes, une grande variété de microorganismes (champignons, bactéries) et même les algues

peuvent les synthétiser. Ainsi, la biosynthèse des phytohormones par les bactéries du sol constitue un outil clé par lequel elles améliorent la croissance des plantes et elles régulent leurs processus physiologiques (Narayanasamy, 2013).

L'objectif de notre travail est d'extraire l'AIA et l'étude de l'impact de cet extrait et des isolats rhizosphériques sur la croissance de plantes.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 :
LA RHIZOSPHERE

1. Généralité sur la rhizosphère

Le terme rhizosphère (éthymologiquement rhiza : racine, sphère : ce qui entoure) a été proposé la première fois en 1904 par un chercheur allemand (Hiltner) pour décrire la zone de sol qui entoure la racine et qui est directement ou indirectement influencée par la racine. La rhizosphère peut être qualifiée de moitié cachée du système racinaire qui est lui-même cryptique (figure 01). Au sein de la rhizosphère, on distingue le rhizoplan, qui correspond à l'interface sol/racine, et le sol adhérent au système racinaire, qui est le sol restant attaché aux racines après agitation vigoureuse. La racine modifie les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol rhizosphérique. Cet effet résulte des prélèvements racinaires d'eau et d'éléments minéraux mais surtout de la libération de composés organiques. Le volume de sol soumis à l'effet rhizosphérique est déterminé par la zone de diffusion des molécules organiques solubles et des composés volatils libérés par la racine (Stengel et Gelin, 1998).

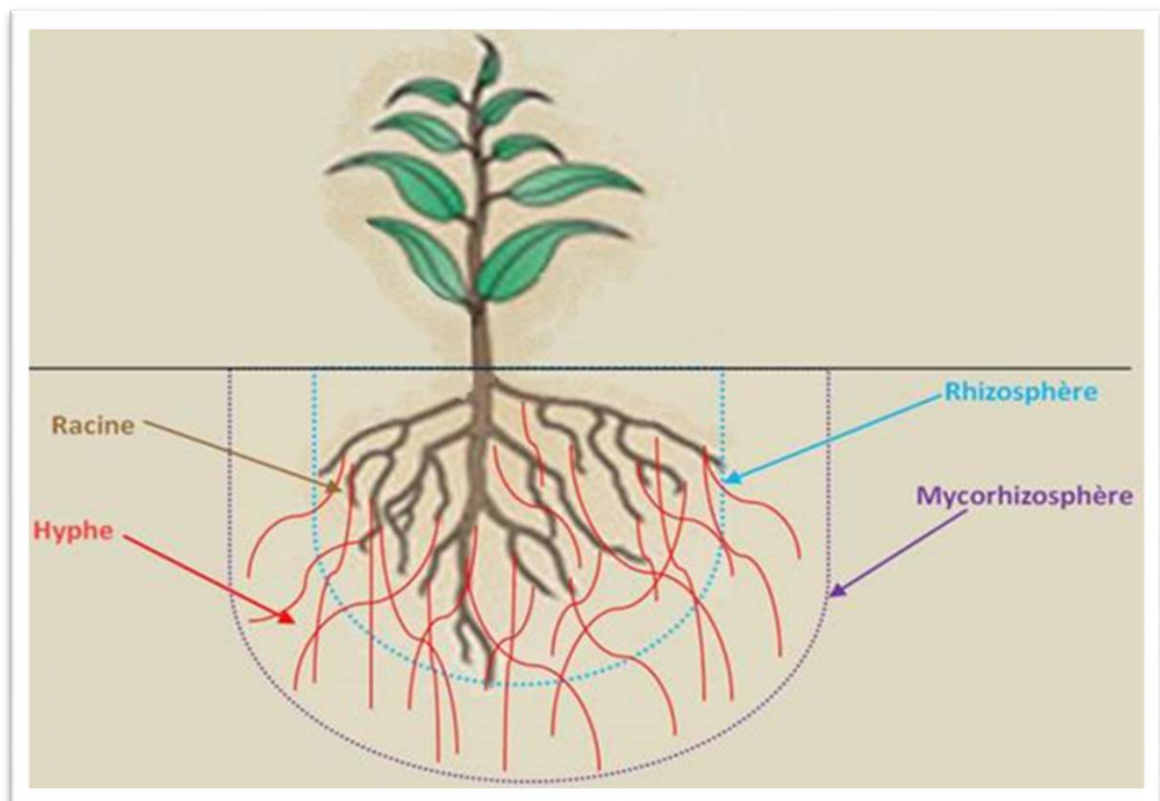


Figure 1. Schéma présente une coupe de la rhizosphère.

2. L'effet rhizosphère

Des phénomènes écologiques particuliers se produisent au niveau de la rhizosphère. En effet, les racines libèrent beaucoup de matières organiques sous forme de mucilage, d'exsudats et plus que 40% des produits de photosynthèse passent au niveau du système racinaire (Soufiane, 1989). L'exsudation ; ce terme est souvent employé abusivement comme synonyme de rhizodéposition. Elle désigne en fait la diffusion passive hors des cellules de composés solubles de faible poids moléculaire, par exemple des sucres ou des acides aminés, qui sont rapidement métabolisés par les microorganismes (Davet, 1996 ; Aouar, 2012).

Les exsudats racinaires représentent un élément clé dans les échanges entre la plante et les rhizobactéries, dont la densité et la diversité microbienne au tour des racines est en liaison directe avec la nature et la quantité des exsudats racinaires, cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante (Lemanceau, 1992).

3. La faune et la flore de la rhizosphère

Le sol, où cohabitent les racines des végétaux, les animaux et les microorganismes, est un assemblage complexe de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, à l'intérieur duquel se déroulent simultanément des phénomènes de dégradation et de synthèse. Il est considéré comme « un système écologique ». Chaque type de sol offre des potentialités énergétiques différentes qui se traduisent par des modifications de la flore et de la faune (Arpin et *al.*, 1980 ; Gobat et *al.*, 2010).

3.1. La faune

La faune rhizosphérique est constituée principalement d'organismes microscopique appelé la microfaune (<0,2mm) comme les protozoaires, les nématodes rotifères et les acariens. D'autre sont des animaux qu'on attribuera à la méso faune (0,2 à 4mm) comme les insectes et les microarthropodes (Arpin et *al.*, 1980). La faune rhizosphérique joue un rôle important dans l'équilibre des différentes relations. Chaque espèce occupe une niche qui lui est propre et joue un rôle particulier dans le recyclage de la matière organique, l'échange globaux d'énergie, les fonctions et les propriétés du sol (structure, fertilité, qualité) elle assure aussi la fragmentation des débris végétaux et la fabrication de l'humus ce qui augmente considérablement les surfaces de contact avec les micro-organismes (Fuchs et *al.*, 1999). Cependant, cet équilibre est relativement fragile, le plus souvent, ces animaux sont extrêmement sensibles à des faibles variations de pH, d'humidité, de température et de teneur en matière organique (Arpin et *al.*, 1980).

3.2 La flore rhizosphérique

Elle est représentée par quelques métazoaires, des protozoaires, des algues microscopiques, des champignons, des bactéries dont des actinomycètes, des cyanobactéries et des virus (Maier et *al.*, 2009).

3.2.1. Les actinomycètes

Les véritables Actinobacteria, également connus sous le nom d'actinomycètes, sont des microorganismes à coloration de Gram positive. Ils ont un type de croissance mycélien (les cellules produisent des filaments et des ramifications) rappelant celui des champignons filamenteux. Les actinomycètes sont les habitants communs du sol. Leur production de géosmine et de MIB (2-méthyl isobornéol), contribue significativement à l'odeur caractéristique du sol. Dans la rhizosphère les actinomycètes appartenant au genre *Frankia* sont extrêmement important pour de nombreux types de plantes. Cette importance réside dans le fait qu'elles sont capables d'onduler les racines de ces plantes et de fixer l'azote atmosphérique. Cette association est appelée : association actinorhizienne (Djaballah, 2010).

3.2.2. Les champignons

Les champignons mycorhiziens de type arbusculaire (AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi) sont le groupe le plus important dans la rhizosphère, ils peuvent établir une association symbiotique avec les racines, ce qui permettra à la plante de capter différents éléments nutritionnelle, l'exemple le plus discuter est le phosphore qui se trouve dans le sol, qui est transporter le long des hyphes et ensuite délivrer à la plante hôte. Les interactions avec les mycorhizes peuvent stimuler aussi les mécanismes de défense contre les parasites et les pathogènes (Clémentine, 2013).

3.2.3 Les rhizobactéries

La communauté bactérienne de la rhizosphère est recrutée parmi les réservoirs de microorganismes présents dans le sol (Bakker et *al.*, 2013).

Les rhizobactéries sont des bactéries qui présentent l'aptitude à coloniser les racines de façon intense. Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent aux différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium* sp, *Azospirillum* sp, *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp. Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine. En effet, le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant ces échanges sont réciproques (Lemanceau, 1992).

4. Les différents types d'interaction dans la rhizosphère

4.1. Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère

Le sol, véritable jungle écologique, est un système énergétique vivant où toutes les interactions possibles entre espèces ou populations et à tous les niveaux trophiques sont représentées : symbiose, parasitisme, compétition (Arpin et *al.*, 1980).

4.1.1. La symbiose

La symbiose désigne l'association constante, obligatoire et spécifique entre deux organismes dont chacun d'eux tirant un bénéfice de l'association (Peltier, 2010).

4.1.2. Parasitisme

Il représente l'attaque directe d'un microorganisme par un autre dans un but nutritionnel. La rhizosphère qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'attaque du parasitisme (Barroca, 2005).

4.1.3. Compétition

Le pouvoir compétitif des microorganismes est variable suivant qu'il s'agit de germes du rhizoplan ou de la rhizosphère éloignée. Vis-à-vis des espèces sporulées ou des Cocci à Gram négatif, les bacilles de la rhizosphère éloignée. Ce pouvoir compétitif paraît être aussi lié à la nature chimique des exsudats racinaires (Diem et Mangenot, 1975).

La compétition peut jouer un rôle important dans la lutte biologique contre les champignons parasites. La méthode consisterait à provoquer les interactions compétitives dans la rhizosphère en rendant limitants les éléments essentiels à l'activité infectieuse (germination et pénétration) de l'agent pathogène (Diem et Mangenot, 1975).

4.2. Les interactions entre les microorganismes et les plantes

Dans le règne végétal, les symbioses sont très répandues. Les plus communes sont les symbioses entre les racines des plantes et certains microorganismes du sol, tels des bactéries ou des champignons. Ces derniers sont nommés symbiontes, tandis que la plante est appelée l'hôte. Les symbioses racinaires de plantes sont classées en deux grands groupes : les ectosymbioses et les endosymbioses (Dickie et *al.*, 2013).

Les ectosymbioses ne concernent que 2% des plantes et se produisent surtout avec certains champignons du sol (Dickie et *al.*, 2013). Le mycélium de ces derniers entoure la racine et y pénètre en formant un réseau dans les espaces intercellulaires de la racine, sans entrer dans les

cellules. Au contraire, les endosymbioses racinaires concernent une grande majorité des plantes terrestres. Leur particularité est que les microorganismes symbiotiques pénètrent les cellules racinaires afin d'entrer en symbiose avec la plante (Herrbach, 2013).

Les endosymbioses racinaires

- **La mycorhization**

Un mycorhize, c'est une association symbiotique entre une plante (arbre, arbuste, plante herbacée, vivace ou annuelle, à fleurs ou non, sauvage ou cultivée, en pot ou en pleine terre...) et un champignon, susceptible de persister durant plusieurs années (Desfemmes, 2014). Il existe plusieurs groupes de champignons mycorhiziens, chacun étant caractérisé par un type de mycorhize bien particulier. Les mycorhizes les plus communes sont celles qui colonisent le plus grand nombre de plantes. Ce sont les ectomycorhizes (mycorhize externe) et les endomycorhizes (mycorhize interne) (Dechamplain et Gosselin, 2010).

L'ectomycorhize naît de la rencontre entre des hyphes d'un champignon mycorhizien et des racines d'une plante hôte, les hyphes s'infiltrant dans les racines et entourant les cellules sans y pénétrer, et forment, au pourtour de la racine, un amas d'hyphes qui s'appelle un manchon. De plus, plusieurs champignons ectomycorhizes forment les « chapeaux » ou « carpophores » que l'on voit sur les sols et certains d'entre eux sont comestibles et recherchés par les gastronomes, citons entre autres les girolles (ou chanterelles) et les bolets. Alors que, l'endomycorhize fut la première symbiose mycorhizienne avec les plantes. Elle résulte de champignons microscopiques dont les hyphes ont la particularité de pénétrer dans les cellules de la racine de la plante (Dechamplain et Gosselin, 2010).

Les symbioses fixatrices d'azote

L'azote (N) est l'un des principaux atomes dont les plantes dépendent pour se développer et se multiplier. La plupart des plantes ne peuvent bénéficier de l'azote que sous forme minérale, c'est-à-dire sous forme de nitrates (NO_3^-), ou d'ion ammonium (NH_4^+), présents dans le sol en quantité variable. Pourtant, la plus grande réserve d'azote est l'atmosphère, qui contient 78% d'azote sous forme de N_2 (Herrbach, 2013).

Au cours de l'évolution, certains organismes procaryotes ont acquis la faculté biologique de fixer l'azote atmosphérique. Cette capacité, appelée diazotrophie, nécessite chez le procaryote la présence de l'enzyme nitrogénase, qui transforme le N_2 en NH_3 . Ces organismes peuvent fixer l'azote à l'état libre, ce qui est le cas des bactéries du genre *Azotobacter*, ou en association

avec des racines de plante, auquel cas ils font profiter celle-ci de l'azote. Lorsque ces associations sont réciproquement profitables, elles sont appelées symbioses fixatrices d'azote. Ce type de symbiose semble être apparu dans un contexte de sols carencés en azote (Sprent et James, 2007).

Parmi ces symbioses, la plus répandue dans le règne végétal (20% des plantes sont concernées) est l'interaction symbiotique entre des plantes de la famille des légumineuses (pois, haricot, soja, arachide, trèfle, luzerne, etc.), et des bactéries fixatrices d'azote réunies sous le nom de rhizobia. Cette symbiose Légumineuse-Rhizobium est apparue il y a 60 millions d'années, et est donc beaucoup plus récente que la symbiose mycorhizienne. Les rhizobia réunissent 70 espèces et sont des bactéries Gram négatif. Ces bactéries possèdent, contrairement aux champignons mycorhiziens à arbuscules, une très haute spécificité d'hôte. Ainsi, chaque espèce de rhizobia s'associe plus ou moins spécifiquement avec une espèce de plante. Quelques rares espèces non-légumineuses sont capables de s'associer de façon symbiotique avec des rhizobia : il s'agit de plantes du genre *Parasponia*, appartenant à la famille des Cannabacées (Benmati et Djekoun, 2014 ; Vessey et al, 2005 ; Sprent et James, 2007).

CHAPITRE 2 :
LES BACTERIES
PROMOTRICES DE LA
CROISSANCE DES
PLANTES

1. Définition des bactéries promotrice de croissance des plantes

Kloepper et Schroth (1978) ont introduit le mot « Rhizobactéries » qualifiant la communauté bactérienne qui colonise compétitivement les racines des plantes, tout en améliorant leurs croissances. Les PGPR sont donc les bactéries qui colonisent la rhizosphère des plantes. Ainsi, une rhizobactérie est dite PGPR si, inoculée dans la rhizosphère d'une plante, elle est capable de lui apporter un effet bénéfique. (Aouane et Hamani, 2017).

2. Effet direct des PGPR sur les plantes

2.1. La fixation de l'azote

La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactérie qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racinaires dans le végétale, dans lesquelles l'azote est fixé en ammoniacque qui est rapidement transformé en nitrates et le rendre disponible pour l'hôte ; La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules dans lesquelles se produit la fixation de l'azote (Benmati et Djekoun, 2014 ; Munees et Mulugeta, 2013).

2.2. La solubilisation du phosphate

Le sol dispose d'une réserve importante en phosphore : environ 1,2 g de phosphore par kg de sol dans la lithosphère (enveloppe terrestre de la surface de la Terre). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasique (H_2PO_4) et basique (HPO_4^{2-}) (Gupta et *al.*, 2015). La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du phosphate insoluble en phosphate soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles, ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés au phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (Taktek, 2015).

2.3. La solubilisation du potassium

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013). En outre, en raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat,

les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles (Kumar et Dubey, 2012). Les microorganismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle K naturel et, par conséquent, les microorganismes solubilisant de potassium présent dans le sol pourraient fournir une technologie alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers et *al.*, 1998).

2.4. La production des sidérophores

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Neilands, 1995). Certains PGPR produisent des sidérophores, composés de faibles poids moléculaire, généralement inférieurs à 1 kDa contenant des groupements fonctionnels capables de capter le fer en le rendant assimilable par les plantes (Kirdi et Zermane, 2010).

2.5. La production des phytohormones

Les hormones végétales, encore appelées phytohormones, sont des substances organiques naturelles qui influencent l'ensemble des processus physiologiques de croissance, de différenciation et de développement des plantes et leur confèrent leur capacité d'adaptation aux variations de conditions de l'environnement. Les phytohormones ne sont pas seulement produites par les plantes, une grande variété de microorganismes (champignons, bactéries) et même les algues peuvent les synthétiser. 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 (Agueniou et *al.*, 2017).

L'utilisation de phytohormones, des substances qui régissent la croissance et le développement des plantes, est largement répandue en production horticole commerciale pour faciliter la multiplication végétative. Chaque phytohormone produit des effets différents selon sa concentration, son lieu d'action et le stade de développement de la plante (Leclerc et *al.*, 2007).

L'auxine a été la première hormone végétale identifiée. À partir des années 1950, on découvre d'autres hormones qui modulent la croissance et le développement des végétaux : gibbérellines, cytokinines, acide abscissique et éthylène (Granell et Carbonell, 1996).

2.5.1. L'acide gibbérellique

Comme les autres phytohormones, les gibbérellines sont essentielles pour de nombreux processus du développement comme la germination de la graine, l'allongement de la tige, l'expansion des feuilles, la maturation du pollen et l'induction de la floraison. Celle-ci est synthétisée un peu partout dans la plante, mais surtout dans les apex caulinaires et dans ceux

des racines. Tout comme l'auxine, les gibbérellines circulent dans le phloème mais aussi par les vaisseaux. Elles interviennent principalement dans l'élongation des entre-nœuds en stimulant à la fois la division cellulaire et l'élongation cellulaire. L'application exogène de gibbérellines sur les ovaires non fécondés permet d'obtenir des fruits parthénocarpies, ou sans noyau. Aussi, il est possible de lever la dormance des graines ou des bourgeons en utilisant des fortes doses d'acide gibbérellique (Fortin et Nadeau, 2002 ; Regnault, 2014).

2.5.2. Les cytokinines

Les cytokinines sont indispensables à la formation de la plante. Elles engendrent la formation des bourgeons, sous réserve d'un taux d'auxine pas trop élevé. Les cytokinines activent la division cellulaire, mais elles sont également la source d'activation de la chlorophylle, de la formation des jeunes pousses et d'autres actions encore (König, 2011).

Elles jouent un rôle-clé dans un grand nombre de processus physiologiques tels que la division cellulaire des plantes, l'interruption de la quiescence des bourgeons dormants, l'activation de la germination des graines, la promotion de la ramification, la croissance des racines, l'accumulation de la chlorophylle, l'expansion des feuilles et le retard de la sénescence (Bouali, 2017).

2.5.3. L'acide abscissique

Le rôle de l'acide abscissique accumulé de façon passagère en grande quantité au cours de la maturation des graines, son intervention dans l'induction éventuelle d'une dormance, son implication au stade de la déshydratation, enfin son action comme inhibiteur de la germination sont discutés à la lumière de travaux récents et de notre expérience personnelle. Une attention particulière est portée à tous les niveaux sur la nécessité d'une étude dynamique prenant en compte la synthèse, les sources potentielles d'ABA, l'orientation du métabolisme, l'évolution au cours du temps et enfin la localisation de l'hormone (Page-Degivry et Bulard, 1988).

2.5.4. L'éthylène

L'éthylène est un gaz volatil produit par la plante, considéré comme une hormone végétale. Tout comme l'ABA, l'éthylène joue un rôle dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques. Il est également impliqué dans les étapes de floraison, l'abscission des feuilles et la maturation de nombreux fruits. L'éthylène et l'auxine agissent en interaction pour de nombreux mécanismes, notamment pour la formation de la RL. Stepanova et coll. ont décrit cette interaction, en mettant en évidence que l'éthylène et l'auxine peuvent réguler réciproquement

leur biosynthèse, influencer leurs voies de réponse, et/ou agir indépendamment sur les mêmes gènes cibles (Stepanova et *al.*, 2007).

2.5.5. L'auxine

L'auxine est une phytohormone indispensable au développement des plantes. Le terme d'auxine a été étendu à un ensemble de substances naturelles aux propriétés analogues ainsi qu'à des hormones de synthèse. Il agit sur l'élongation et les divisions cellulaires. Ses rôles sont nombreux, sur la dominance apicale, la formation des fruits, la floraison, la réponse à l'environnement (lumière, blessures), le développement des organes, et particulièrement des racines et les racines latérales. De nombreuses revues récapitulent les divers rôles de l'auxine sur les plantes Au vu des multiples rôles et de la complexité de l'action de l'auxine sur le développement des plantes (Herrbach, 2013).

L'action de l'auxine dépend à la fois de sa concentration et du tissu sur lequel elle agit. Selon les plantes, une même concentration sur un même organe peut entraîner des conséquences différentes. Ceci implique une régulation très fine en amont et en aval de l'auxine. L'action de l'auxine est dépendante de sa présence et sa concentration dans la cellule, son transport, sa perception, et la régulation de gènes cibles (Herrbach, 2013).

a. Synthèse et conjugaison des auxines dans les racines

L'auxine se présente souvent sous forme conjuguée, en association avec des sucres, des acides aminés ou des protéines, grâce à des liaisons de type ester ou amide. Sous cette forme, l'auxine est inactive : la conjugaison est donc un mécanisme d'appoint permettant de réguler la concentration l'auxine active dans la cellule (Herrbach, 2013).

b. L'acide Indole Acétique

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. 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 (Vessey, 2003).

Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire de l'AIA. En fait, 80% de la flore rhizosphérique est capable de le produire, cependant, les bactéries à Gram positif sont

La biosynthèse de l'AIA par les bactéries implique cinq voies dépendantes du tryptophane : 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 tryptophane ; et une voie indépendante (Khan et *al.*, 2014).

3. Effet indirecte des PGPR sur les plantes

3.1. La production des antibiotiques

Les microorganismes telluriques produisent les antibiotiques qui sont des facteurs déterminants pour la vie dans un environnement aussi compétitif que la rhizosphère. La production des antibiotiques est un critère très important de compétitivité des microorganismes aux autres populations microbiennes. C'est un critère de performance pour la promotion indirecte de la croissance végétale. Il consiste à contrecarrer les agents phytopathogènes d'origine tellurique (Kirdi et Zermane, 2010).

La sélection des souches rhizobactériennes performantes pour la production des antibiotiques doit prendre en considération l'influence du stade de développement de la plante à inoculer et les conditions environnementales de sa rhizosphère (Kirdi and Zermane, 2010).

3.2. Induction d'un système de résistance

Les PGPR peut déclencher chez la plante un phénomène connue sous le nom d'induction de la résistance systémique qui est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise qui se produit lorsque la plante active ses mécanismes de défense en réponse à une infection par un agent pathogène (Abdesselam et Latache, 2017). Les plantes inoculées avec des PGPR peuvent également fournir une résistance systémique contre un large éventail de pathogènes végétaux. Les maladies d'origine fongique, bactérienne et virale et, dans certains cas, même les dommages causés par les insectes et les nématodes peuvent être réduits après l'application de PGPR, il conféré à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie à la suite de la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par les microorganismes (Ara Naznin et *al.*, 2012 ; Cherif, 2014).

3.3. Effet phytoprotecteur des Sidérophores

Les PGPR, notamment du genre *Pseudomonas sp.*, sont connues pour leur capacité à produire des sidérophores dans le milieu. La qu'élution du fer est un phénomène qui participe

efficacement à l'antagonisme contre les agents phytopathogènes en réduisant leurs effectifs dans le sole (Kirdi et Zermane, 2010).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Isolats bactériens utilisés

Les trois isolats bactériens utilisés dans cette étude sont isolés précédemment à partir de la rhizosphère de *Capsicum annuum* cultivé à Belkhir, Guelma.

2. Dosage de la production de l'Acide-3-Indole Acétique

La production de l'AIA par les trois isolats est testée selon le protocole de (Bric et *al.*, 1991), la fermentation était réalisée en utilisant le milieu TY (annexe 01) additionné de 500 µg/ml de tryptophane, dans un volume de 50 ml. Le milieu estensemencé par 100 µl d'une culture bactérienne jeune, les flacons sont incubés à 30°C pendant 96 h avec 100 rpm, (trois répliques sont réalisés pour chaque isolats).

Après incubation, 10 ml de chaque culture sont centrifugés pendant 20 min à 3800 rpm 1 ml du surnageant est additionné à 3 ml du réactif de Salkowski (annexe 01). Une demi-heure plus tard d'incubation à l'obscurité, Le développement d'une couleur rose indique la production de l'AIA, l'absorbance à 535 nm est mesurée. Les valeurs d'AIA produite par chaque souche calculée par extrapolation sur une courbe standard préparée en utilisant l'AIA pure.

3. Optimisation de la production de l'AIA

L'optimisation de la production de l'AIA est réalisée seulement pour l'isolat qui a la meilleure production. L'effet de la durée d'incubation et la concentration de L-tryptophane sur la production de l'AIA ont été étudiées.

La concentration de l'AIA est mesurée en fixant tous les paramètres de culture puis en changeant un seul paramètre. La fermentation est réalisée en utilisant le même protocole cité précédemment. L'effet de la durée d'incubation est étudié après 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{èm} jours. Alors que les concentrations de L- tryptophane étudiées sont : (0, 250, 500, 750, 1500, 2000, 2500 et 3000 µg/ml).

4. Extraction et détection de l'AIA

A. Fermentation

L'isolat qui a la meilleure production est utilisé pour faire l'extraction de l'AIA. Le même protocole de fermentation cité précédemment est appliqué en utilisant une concentration de 1500 µg/ml de L-tryptophane avec un volume totale de 200 ml. L'extraction est réalisée après 96 h.

B. Extraction

L'extraction est réalisée selon la méthode citée par (Ahmad *et al.*, (2005)

Le surnageant récupéré après fermentation est acidifié d'abord avec HCL afin d'obtenir un pH égal à 2,5. L'extraction de l'AIA est réalisée par l'acétate d'éthyle. 150 ml de surnageant est mélangé avec 300 ml de solvant d'extraction. Les deux phases non miscibles sont séparées dans une ampoule à décanter (figure 03).

Le séchage complet de l'extrait est réalisé par un évaporateur rotatif à 45°C, ensuite l'extrait obtenu est récupéré dans 1 ml de méthanol. L'extrait est conservé à -20°C jusqu'à l'utilisation.

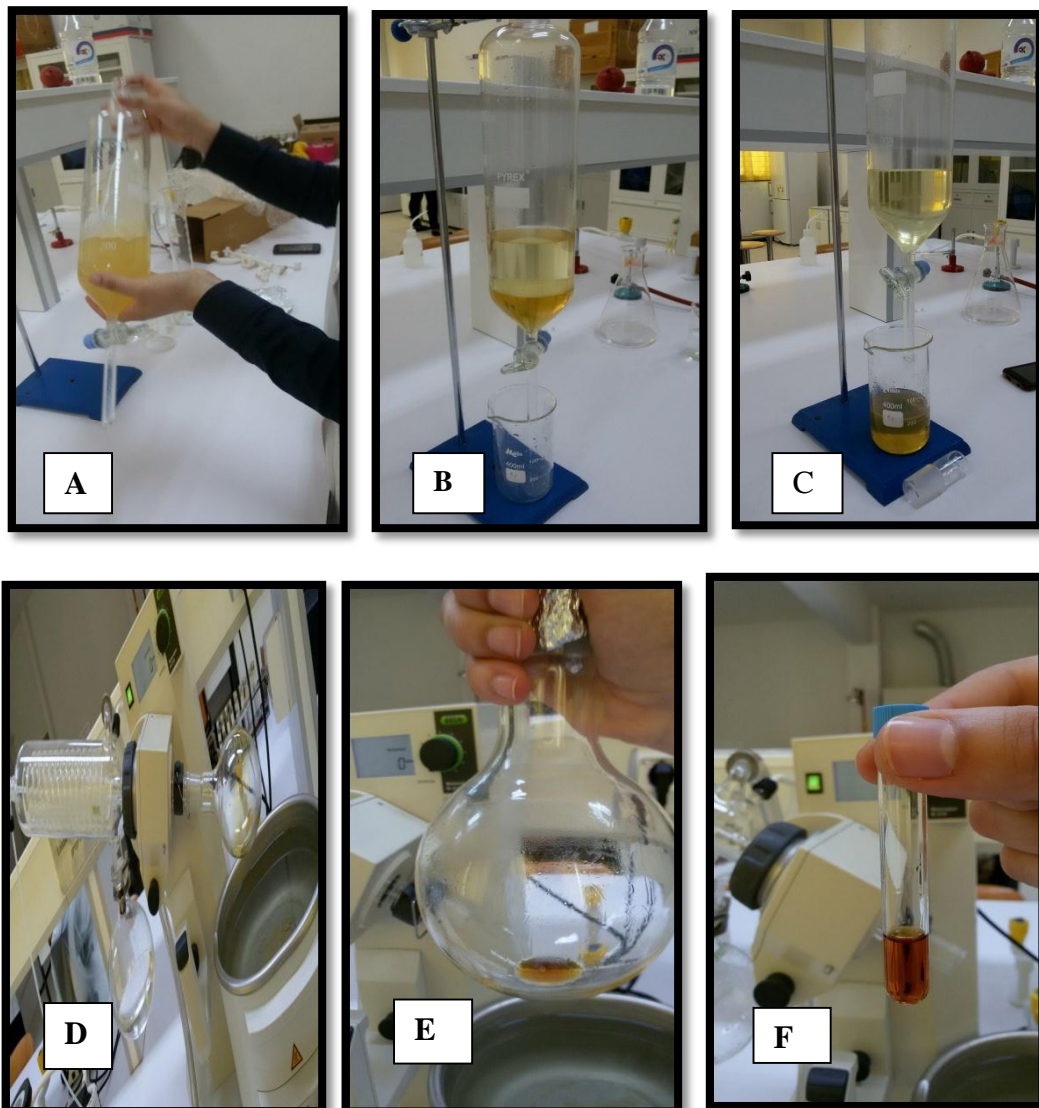


Figure 3. Les étapes d'obtention des extraits de l'AIA. (A) : agitation du mélange, (solvant + surnageant), (B) : la séparation des deux phases, (C) : élimination de la phase aqueuse, (d) récupération de la phase organique (E) : évaporation, (F) : récupération de l'extrait.

5. Chromatographie sur couche mince.

A. Principe

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélange en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants (Smaoui, 2010).

B. Mode opératoire

La chromatographie sur couche mince est utilisée sur des plaques en gel de silice (GF254, épaisseur 0,25 mm).

Le système de migration utilisé est formé d'un mélange de trois solvants : 55ml d'acétate d'éthyle, 35ml de chloroforme et 10 ml d'acide formique (Goudjal et *al.*, 2013).

Le mélange de solvant est versé dans la cuve de chromatographie avec une hauteur de 0,5 cm environ. Sur la même plaques, l'extrait ainsi qu'un contrôle contenant l'AIA authentique sont déposés à l'aide d'une pipette pasteur et avec un espace de 4 cm entre les deux dépôts.

C. Révélation et lecture

Après séchage des plaques, la révélation est réalisée par deux méthodes, une méthode physique représentée à l'aide d'une lampe à UV à une longueur d'onde de (254- 365 nm) et une chimique correspond à l'inondation de la plaque dans le réactif de Salkowski.

6. Effet des isolats sur la croissance des plantes

A. Effet sur la germination

Dans cette expérience, l'effet de nos trois isolats a été testé sur la germination des graines, quatre types des graines sont utilisées *Triticum durum*, *Cicer arietinum*, *Phaseolus vulgaris*, *Lens culinaris*).

B. Désinfection et bactérisation des graines

Les graines ont été stérilisées selon les trois étapes suivantes :

- Les graines ont été mises dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau javel) 12% pendant 3 minutes ;

- Juste après les graines ont été suspendus dans une solution d'éthanol 70% pendant 3 minutes sous une légère agitation manuelle ;
- Ensuite les graines ont été lavées avec l'eau distillée stérile à cinq reprises afin de se débarrasser des résidus de chlore et d'éthanol.

La bactérisation des graines désinfectées est réalisée dans des suspensions bactériennes fraîches, avec une agitation légère pendant 15 min environ.

C. Protocole expérimental

Les graines obtenues ont été semées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu eau-agar stérile (10g d'agar agar/litre d'eau distillée), pour chaque type de graines 3 boîtes sont utilisées. 3 boîtes control sont utilisées, dont les graines sont trempées dans l'eau distillée stérile. Les boîtes sont incubées à 28°C à l'obscurité. Le nombre de graines germées dans chaque boîte a été déterminé chaque jour à partir du 3^{ème} jour et poursuivi jusqu'au 7^{ème} jour.

7. Effet des extraits et d'isolat sélectionné sur la croissance du *Triticum durum*

L'isolat avec meilleure pourcentage de germination est utilisé pour étudier l'impact sur la croissance des graines dans le sol.

A. Désinfection et germination des graines

Les graines sont désinfectées selon les étapes citées précédemment.

B. Protocole expérimental

Après germination, neuf graines sont semées dans chaque pot (13 cm) remplis de la tourbe noire (Profi-agro). Trois lots sont utilisés : le premier pour tester l'effet de l'isolat sélectionné, le deuxième pour tester l'effet de l'extrait et le troisième représente le lot control. Six pots sont utilisés dans chaque lot. Les graines du premier lot sontensemencées par 1 ml d'une culture bactérienne fraîche pour chaque pot. 1 ml de l'extrait dilué (90.45µg/ml) est ajouté à chaque pot dans le deuxième lot, alors que rien n'est ajouté pour le lot control.

Les pots sont cultivés pendant 20 jour, dans une serre contrôlée avec une température de 25°C.

Les pots sont irrigués avec l'eau de robinet chaque deux jours.

8. Identification phénotypique des isolats

Le meilleur isolat en production des auxines et celui en meilleur résultat de germination sont identifiés phénotypiquement. Les deux souches sont soumises à une coloration de Gram (Astier-Théfenne et *al.*, 2014), test d'oxydase, test de catalase et étude de la mobilité sur le milieu mannitol-mobilité.

La galerie API 20 NE

Afin de s'orienter phénotypiquement vers l'espèce, et selon les résultats des tests précédent, la galerie API20NE était choisie. La galerie était utilisée selon les recommandations du fabricant.

9. Analyse statistique

Les résultats sont soumis à une analyse de la variance à un seul facteur selon la méthode de Newman-Keuls en utilisant Xlstat 2014. 05. 03.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. La production de l'AIA par les isolats bactériens

La figure ci-dessous représente les résultats de la production de l'AIA par les trois isolats en présence de tryptophane à une concentration de 500 µg/ml. À partir de nos résultats, on constate que les trois isolats testés sont producteurs d'AIA, mais avec des concentrations différentes, la production la plus élevée est enregistrée pour l'isolat 1 (53,12 µg/ml).

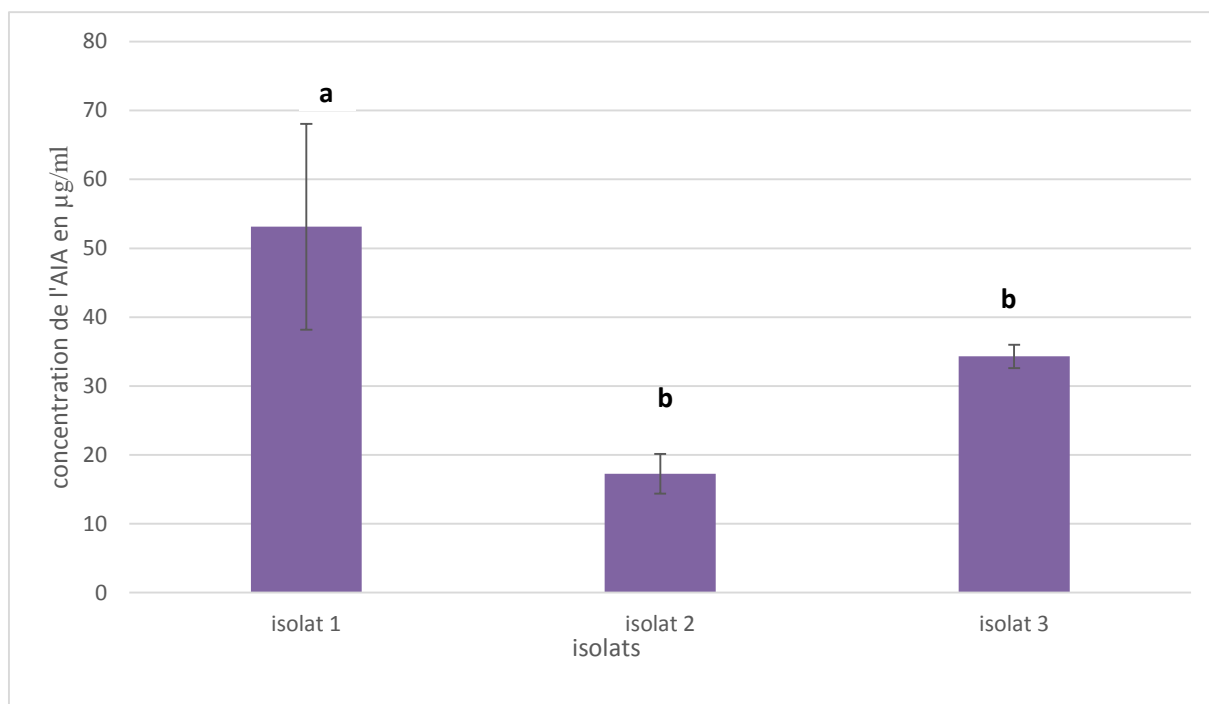


Figure 4. La production d'AIA par les trois isolats. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

En fait, la croissance des plantes par les rhizobactéries est le résultat de l'action combinée de plusieurs mécanismes, cependant, la production de phytohormones (en particulier AIA) est considérée comme le mécanisme direct, le plus important, utilisé par les bactéries pour augmenter la croissance et rendement, cette phytohormone coordonne différents processus de développement chez les plantes (Ali et *al.*, 2008).

Selon la littérature la production de l'AIA est très commune entre les microorganismes de la rhizosphère ; D'après (Zakharova et *al.*, 1999), environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire cette phytohormone. Au niveau de la rhizosphère, la production de l'AIA par les microorganismes est effectuée à partir des exsudats racinaires. Selon les niveaux de production de l'AIA, nos résultats sont supérieurs aux résultats obtenus par (Agueniou et Zeggagh, 2017) et proches aux ceux obtenus par (Mezaach, 2012) qui ont noté un intervalle

de production de 31.5 à 57.5µg/ml en analysant la production chez différentes espèces de *Pseudomonas sp*

2. Optimisation de la production de l'AIA par l'isolat 1

La production de l'AIA était notée seulement pour trois intervalles de temps. Selon la figure 05, une production stable est observée entre le 3^{ème} et le 4^{ème} jour, cependant, dans le 5^{ème} jour la production diminue. De même, une diminution de la production de l'AIA est observée par (Dahdah et *al.*, 2015) à partir de 5^{ème} jour.

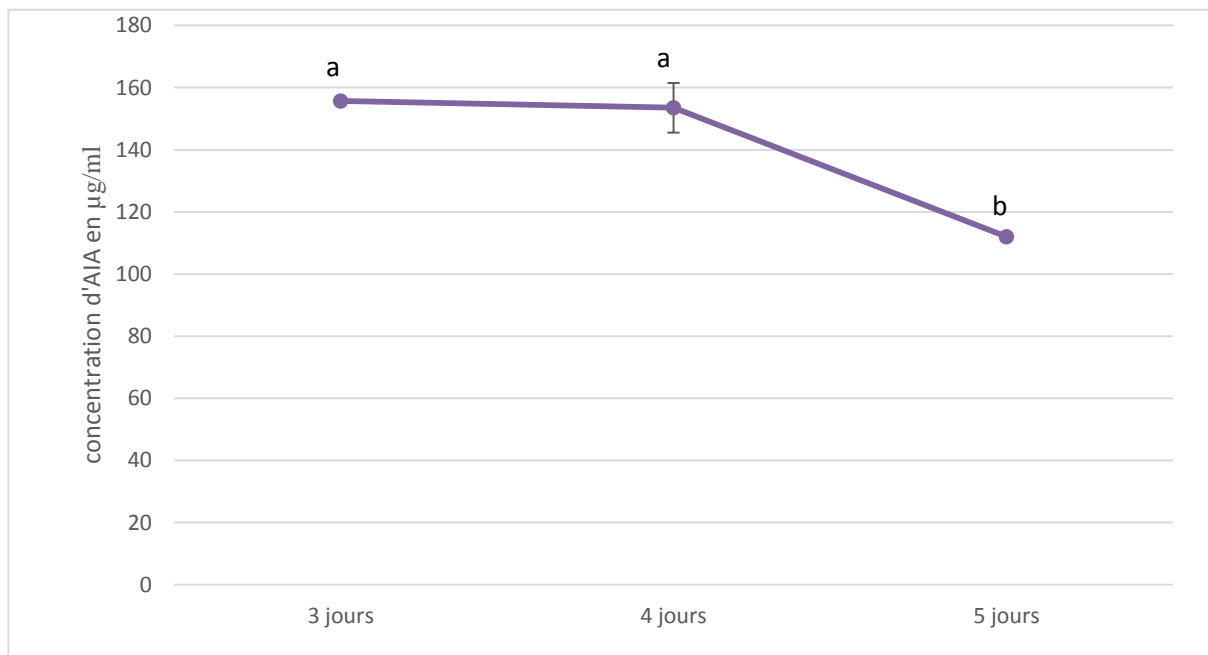


Figure 5. La production de l'AIA par l'isolat 1 en fonction de la durée d'incubation. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

(Leveau et Lindow, 2005) ont expliqué que les PGPR peuvent dégrader l'AIA soit pour son utilisation comme source de carbone, ou bien pour la modulation de la concentration de cette phytohormone dans la rhizosphère, la figure 6 montre la capacité de notre souche à stabiliser la concentration de l'AIA dans le milieu, dont la production a augmenté avec l'augmentation de la concentration de tryptophane et elle se stabilise à partir de 750 µg/ml. En réalité, la capacité des PGPR à stabiliser la concentration de l'AIA est une caractéristique de grande importance, car, la grande augmentation de la concentration de l'AIA représente un facteur de stress chez les plantes (Hopkins, 2003 ; Liu et *al.*, 1982).

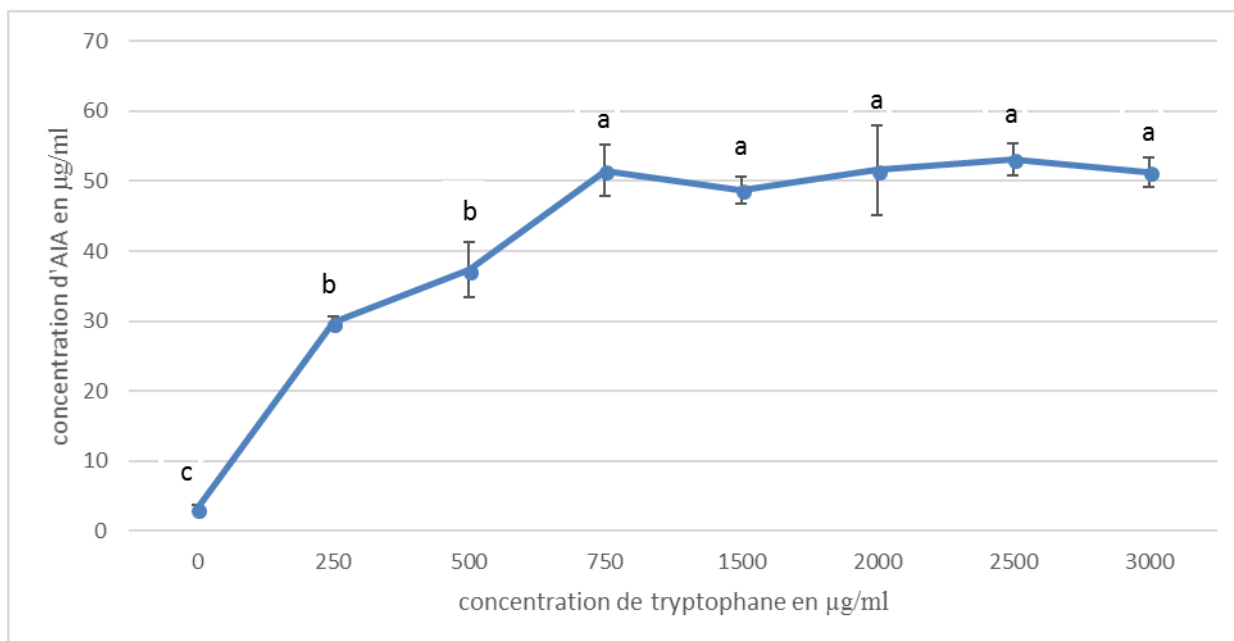


Figure 6. La production de l'AIA par l'isolat 1 en fonction de la concentration de tryptophane. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

3. Détection de l'AIA par chromatographie sur couche mince

La figure 07 montre la bonne séparation des différents composants de l'extrait, selon ces résultats, la production de l'AIA est confirmée, dont on observe un grand spot, rose, compatible et avec le même rapport frontal que celui de l'AIA authentique. Les deux types de révélation montrent la présence de plusieurs d'autres spots dans l'extrait, où deux sont colorés aussi en rose. Selon la littérature de la production de l'AIA par les rhizobactéries est réalisée selon différentes voies, dont la plupart utilisent le tryptophane des exsudats racinaires comme précurseur de production, les voies les plus répandus qui utilisent le tryptophane sont : la voie de l'idole-3-acétamide, la voie de tryptamine, la voie de tryptophane oxydase en chaîne latérale et la voie d'indole-3-acétonitrile (Olanrewaju et *al.*, 2017). Chacune de ces voies peut produire plusieurs molécules intermédiaires possédant un noyau indole et semblables à la molécule de l'AIA.

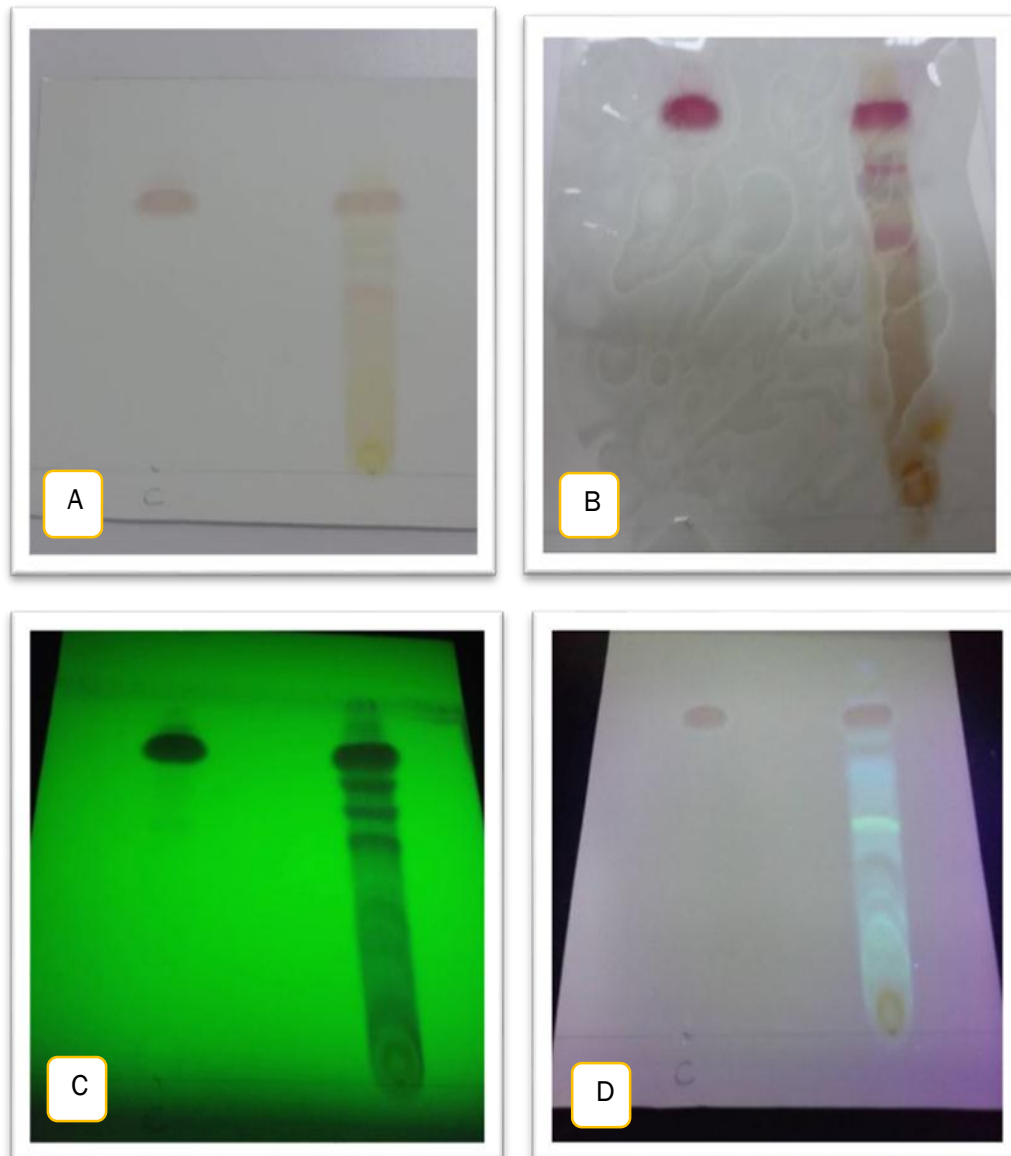


Figure 7. La révélation physique et chimique des extraits de l'AIA. A : à l'œil nue, B : par le réactif de Salkowski, C : sous la lampe à UV à une longueur d'onde (254 nm), D : sous la lampe à UV à une longueur d'onde (365 nm).

4. Effet des isolats bactériens sur la germination des graines

Les figures 8, 9, 10 et 11 montrent l'effet des trois isolats bactériens sur la germination des différents types des graines. Selon ces résultats, la germination des graines de *Cicer arietinum* et de *Triticum durum* est augmentée seulement avec l'isolat 2, avec 66,27 % et 12,51 % respectivement. Cependant, toutes les souches bactériennes ont diminué la germination de *Phaseolus vulgaris* et de *Lens culinaris*.

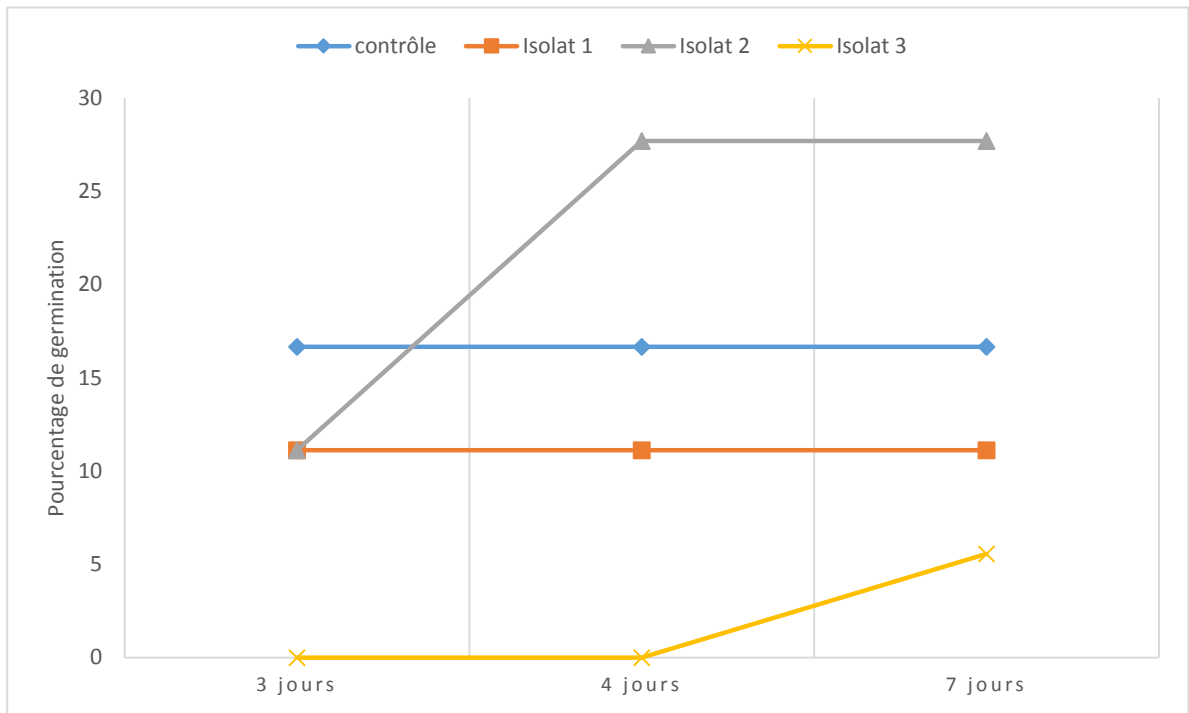


Figure 08. Effet des isolats bactériens sur la germination de *Cicer arietinum*.

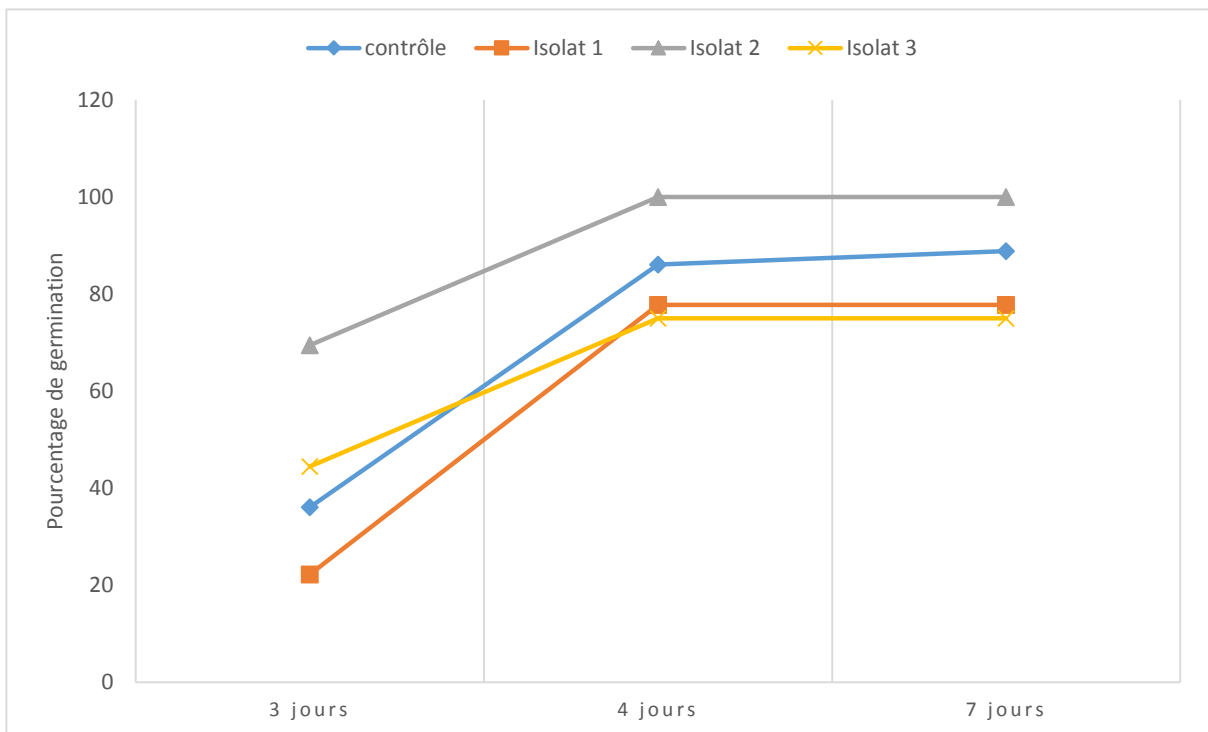


Figure 9. Effet des isolats bactériens sur la germination de *Triticum durum*.

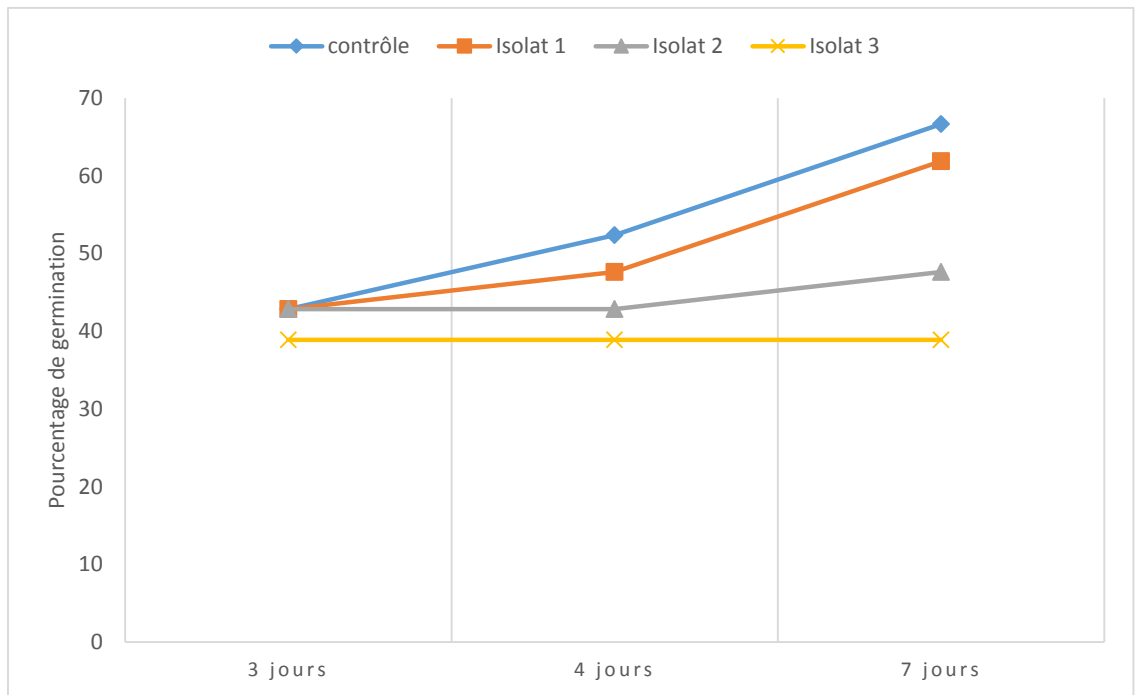


Figure 10. Effet des isolats bactériens sur la germination de *Phaseolus vulgaris*.

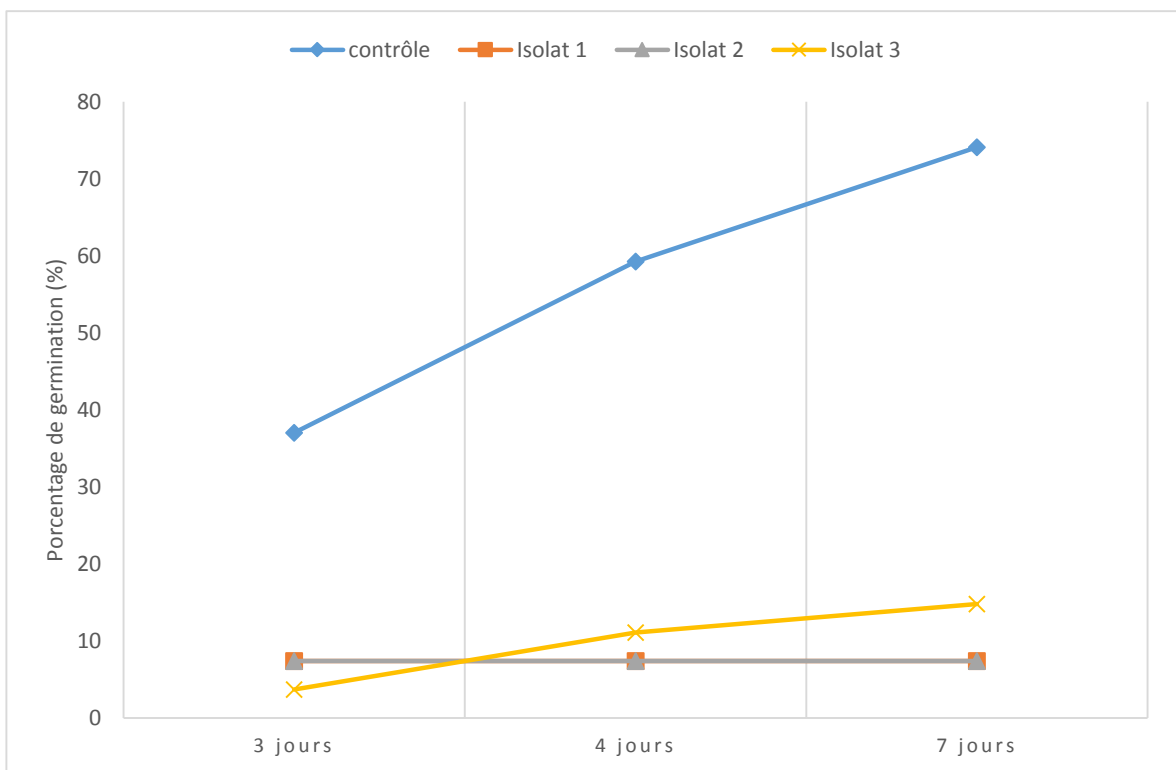


Figure 11. Effet des isolats bactériens sur la germination de *Lens culinaris*.

La germination est un processus physiologique et de développemental qui permet de passer du stade de la graine quiescente à la plantule (Villegente, 2013).

Les PGPR sont capables d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes par augmentation du taux de germination. Cet effet positif est attribué, selon la littérature, à la capacité de ces souches bactériennes à produire ou de modifier des hormones végétales, principalement, les gibbérellines qui jouent un rôle clé dans la germination (Barassi et al., 2006).

L'effet négatif observé des isolats bactériens sur la germination des graines peut être attribué à la grande spécificité de la relation plante-microorganismes, ainsi, la même souche bactérienne peut avoir des effets différents selon l'espèce végétale. Nos résultats sont en concordance avec ceux de (Kirdi et Zermane, 2010), qui a évalué, *in vitro*, la capacité de 12 souche a augmenté le taux et la vitesse de germination de sept types de graines comportant *Vicia faba*, *Cicer arietinum*, *Triticum*, *Pisum sativum*, *Hordeum vulgare*, *Medicago sativa* et *Solanum lycopersicum*, l'effet des 12 isolats bactériens était différents d'une espèce végétale à l'autre, dont une diminution du taux de germination était observée sur les graines de *lycopersicum*.

5. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur la croissance du *Triticum durum*.

Les figures 12, 13 et 14 résument les résultats de l'effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur les différents paramètres de croissance de *Triticum durum*. Selon ces résultats une augmentation non significative, de tous les paramètres, est enregistrée pour l'isolat 2. Cela peut être due à la durée limitée de la culture de la plante. En fait, des effets significatifs des PGPR sur la croissance du blé ont été enregistrés à partir de quatre semaines de croissance (Egamberdieva, 2007 ; Egamberdiyeva et Höflich, 2003).

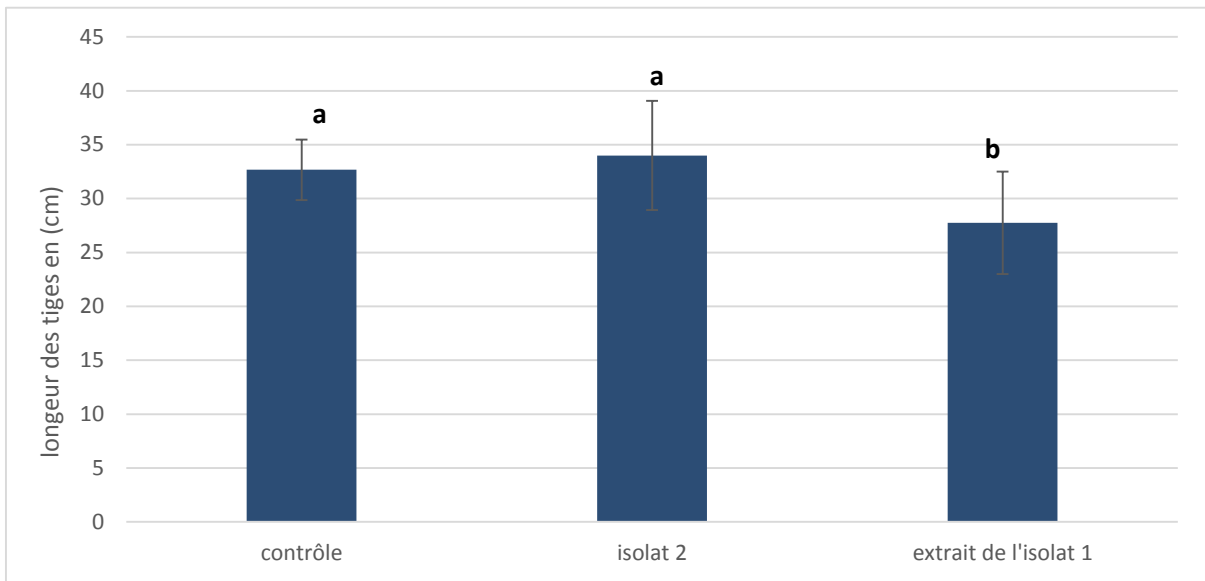


Figure 12. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur la longueur des tiges de *Triticum durum*. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

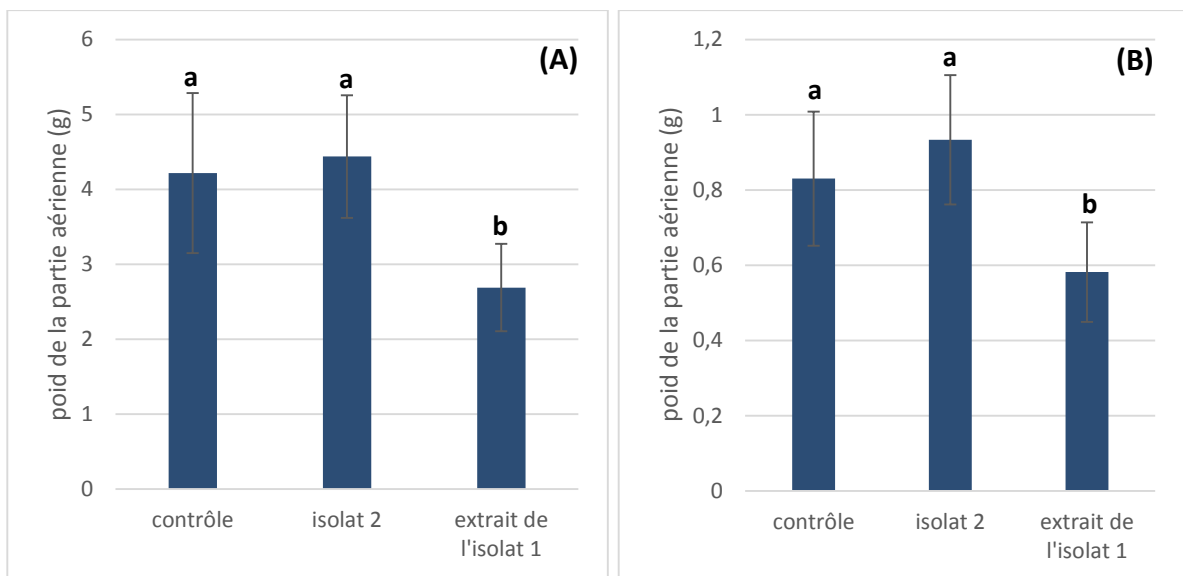


Figure 13. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur le poids de la partie aérienne de *Triticum durum*. (A) : poids frais ; (B) : poids sec. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

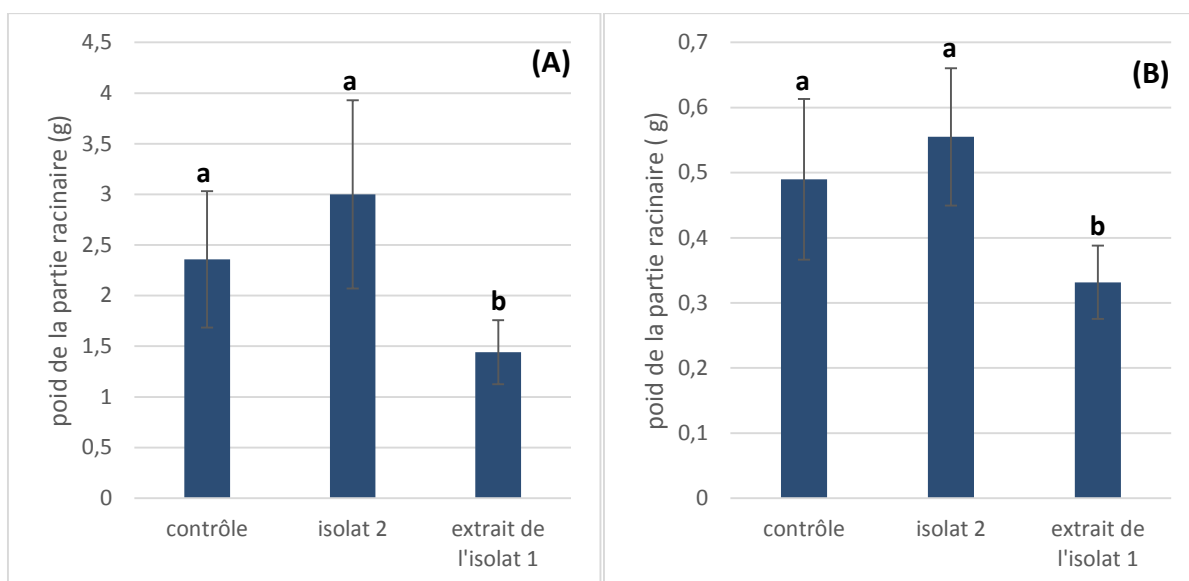


Figure 14. Effet de l'isolat 2 et l'extrait de l'isolat 1 sur le poids de la partie racinaire de *Triticum durum*. (A) : poids frais ; (B) : poids sec. Les lettres a et b indiquent une différence significative à $P < 0,05$.

Cependant, l'extrait de l'isolat 1 a diminué significativement la croissance de la plante étudiée. Cette diminution peut être expliquée par la présence des autres molécules dans l'extrait, comme elle a révélé précédemment la CCM, qui ont un effet inhibiteur sur la croissance de *Triticum durum*. D'autre part, l'effet inhibiteur peut être due à la concentration de l'extrait appliquée, ainsi, (Roberto et Rodolfo, 2004) a conclu que l'AIA peut inhiber la germination de blé en agissant sur la concentration de gibbérelline qui régule la germination ce qui diminue la croissance de la plante. De plus, (Chauhan *et al.*, 2009 ; Roychowdhury *et al.*, 2012) ont rapporté la dépendance entre l'augmentation de la concentration de l'AIA et la diminution de germination et de croissance des plantes.

6. Identification

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 1 et la figure 15, les deux isolats sont des bacilles à Gram négatif, elles sont productrices d'oxydase et de catalase, cependant l'isolat 1 est mobile et l'autre isolat est immobile.

Tableau 1. Coloration de Gram, test d'oxydase, de catalase et de mobilité des isolats bactériens.

Souche	Coloration de Gram	L'oxydase	Catalase	La mobilité
Isolat 1	Bacille à Gram négatif	Positive	Positive	Mobile
Isolat 2	Bacille à Gram négatif	Positive	Positive	Immobile

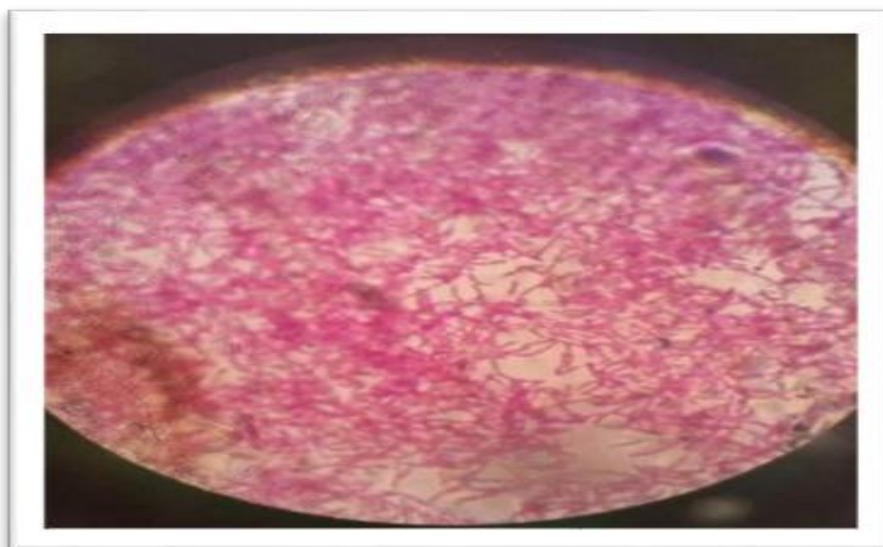


Figure 15. Isolat 1 après coloration de Gram ($\times 100$).

Les résultats de la lecture de la galerie Api 20 NE sont résumés dans le tableau ci-dessous, en parallèle, les résultats détaillés sont présentés dans l'annexe 03. Il apparaît que phénotypiquement, l'isolat 1 et 2 appartient aux espèces *Pseudomonas luteola* et *Aeromounas hydrophila* respectivement.

Tableau 1. Identification des isolats bactériens par galerie Api 20 NE.

	Reference	
Isolat 1	<i>Pseudomonas luteola</i>	

Isolat 2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	
-----------------	-----------------------------	--

Selon la littérature, plusieurs travaux ont évoqué le rôle des bactéries Gram négatif comme bactéries promotrices de la croissance du blé, comparativement aux bactéries Gram positif qui sont rarement mentionnés (Bashan et *al.*, 2004 ; Christie, 2009 ; Akhtar et Siddiqui, 2009). Les deux espèces bactériennes étudiées sont démontrées précédemment stimulatrices de croissance des plantes, ainsi, *Aeromonas hydrophila* est montrée capable d'améliorer la croissance de soja (Zhang et *al.*, 1996) *Pseudomonas luteola* est démontrée capable d'améliorer la croissance de la canne à sucre (Morgado González et *al.*, 2015).

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. Ces 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. Ainsi, d'autres travaux sont nécessaires pour augmenter l'efficacité de ces bactéries *in vivo*.

Dans cette étude, deux isolats bactériens identifiés phénotypiquement en autant que *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas luteola* sont sélectionnés pour améliorer la croissance de *Triticum durum*. *Aeromonas hydrophila* était sélectionné pour avoir amélioré la germination de blé, alors que *Pseudomonas luteola* est utilisé pour extraire l'indole acétique acide.

Après 3 semaines de croissance, *Aeromonas hydrophila* a amélioré non significativement la croissance de blé, alors que l'extrait brut de *Pseudomonas luteola*, à une concentration de (90,45µg/ml) d'AIA, a diminué significativement tous les paramètres de croissance.

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, ainsi que des purifications des extraits bruts sont nécessaires pour améliorer la productivité des résultats.

RÉFÉRENCES

Références

- Abdesselam, N., Latache, N. el houda, 2017. Identifications et caractérisation des bactéries isoler à partir de différents sols. Mémoire de master en Sciences. Université de TLEMCEM.
- Adam, A., 2008. Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxigénase par des rhizobactéries non-pathogènes Elicitation of induced systemic resistance in tomato and cucumber and activation of the lipoxygenase pathway by non-pathogenic rhizobacteria. Thèse de doctorat en sciences. Université de Viège.
- Agueniou, F., Zeggagh, H., 2017. Effet de la physicochimie des sols sur la diversité phénotypique et fonctionnelle des bactéries telluriques et l'interaction Bactérie-Blé dur. Mémoire de master en Sciences. Université A. MIRA, Bejaia.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, I.S., 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of azotobacter and fluorescent Pseudomonas in the presence and absence of tryptophan. *Turk J Biol* 29, 29–34.
- Akhtar, M.S., Siddiqui, Z.A., 2009. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and Rhizobium sp. on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 3489–3496.
- Ali, B., Sabri, A.N., Ljung, K., Hasnain, S., 2008. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Lett. Appl. Microbiol.* 48, 542–547. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02565.x>
- Aouane, M., Hamani, H., 2017. Etude des PGPR “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” des plantes actinorhiziennes : cas de *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnus angustifolia*. Mémoire de master en Sciences. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Aouar, L., 2012. Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Mémoire de master. Université Mentouri, Constantine.
- Ara Naznin, H., Kimura, M., Miyazawa, M., Hyakumachi, M., 2012. Analysis of Volatile Organic Compounds Emitted by Plant Growth-Promoting Fungus *Phoma* sp. GS8-3 for Growth Promotion Effects on Tobacco. *Microbes Environ. JSME* 28. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12085>
- Arora, N.K., Tewari, S., Singh, R., 2013. Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their Mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs, in: *Plant Microbe*

- Symbiosis: Fundamentals and Advances. Springer, New Delhi, pp. 411–449.
https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4_16
- Arpin, P., Kilbertus, G., Ponge, J.-F., Vannier, G., 1980. Importance de la microflore et de la microfaune en milieu forestier. *Pesson P Actual. D'écologie For. Sol Flore Faune*
- Beauchamp, C.J., 1993. Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection* 74, 19–27. <https://doi.org/10.7202/706033ar>
- Benmati, M., Djekoun, A., 2014. “PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.)” : Aspects moléculaires et génétiques. Université Constantine 1, constantine. Gauthier-Villars pp.87-150, 87–150.
- Astier-Théfenne, H., Wolf, A., Darles, C., Garnotel, É., 2014. Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44 : application à la coloration de Gram. *Rev. Francoph. Lab., Accréditation en bactériologie* 2014, 37–46.
[https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(14\)72444-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(14)72444-X)
- Atie, N., 2005. Isolation and identification of *pseudomonas fluorescens* auxin hormone producer and study their effects on the growth and yield of wheat. Université Al-Zahra.
- Bakker, P.A.H.M., Berendsen, R.L., Doornbos, R.F., Wintermans, P.C.A., Pieterse, C.M.J., 2013. The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Front. Plant Sci.* 4, 165.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00165>
- Barassi, C., Ayrault, G., Creus, C., Sueldo, R.J., Sobrero, M.T., 2006. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Sci. Hortic.* 109, 8–14.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.025>
- Barroca, M., 2005. Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux : importance écologique et rôle évolutif. (phdthesis). Université de Bourgogne.
- Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L.E., 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can. J. Microbiol.* 50, 521–577. <https://doi.org/10.1139/w04-035>
- Boisvert, K., 2014. Évaluation du déplacement de modèles d'endophytes dans le maïs et de leur effet sur la photosynthèse. Mémoire en science. L'Université du Québec, trois-rivières.
- Bouali, W., 2017. Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bakr Belkaid, TLEMCEN.

- Bric, J.M., Bostock, R.M., Silverstone, S.E., 1991. Rapid In Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 535–538.
- Chauhan, J., Tomar, Y., Indrakumar, S., Seema, A., Debarati, A., 2009. Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *J Am Sci* 5, 79–84.
- Cherif, H., 2014. Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de doctorat en sciences. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Christie, P.J., 2009. *Agrobacterium* and Plant Cell Transformation, in: Schaechter, M. (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (Third Edition). Academic Press, Oxford, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00115-2>
- Clémentine, L., 2013. Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale. Thèse de doctorat en sciences. Université de Bourgogne, France.
- Cregut, M., 2009. Caractérisation de la communauté bactérienne impliquée dans la minéralisation du soufre organique dans les rhizosphères de colza et d'orge. Thèse de doctorat en sciences. Université Nancy.
- Dahdah, K., Rai, A., Bensidhoum, L., Schmid, M., Hartmann, A., Nabti, E., 2015. Caractérisation d'une souche d'actionbactérie, *Dietzia* SP., productrice de métabolites d'intérêt agricole 9, 1–19.
- Davet, P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale, Inra.
- Dechamplain, N., Gosselin, L., 2010. Les champignons mycorrhiziens. Université Laval.
- Desfemmes, C., 2014. Les mycorhizes : une association surprenante entre plantes et champignons [WWW Document]. URL <http://www.gerbeaud.com/jardin/decouverte/mycorhize-association-symbiose-plante-champignon,889.html> (accessed 6.10.18).
- Dickie, I.A., Martínez-García, L.B., Koele, N., Grelet, G.-A., Tylianakis, J.M., Peltzer, D.A., Richardson, S.J., 2013. Mycorrhizas and mycorrhizal fungal communities throughout ecosystem development. *Plant Soil* 367, 11–39. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1609-0>
- Diem, H.G., Mangenot, F., 1975. Influence de la rhizosphère sur les interactions microbiennes dans le sol. *Bull. Société Bot. Fr.* 122, 203–212. <https://doi.org/10.1080/00378941.1975.10839366>

- Djaballah, C., 2010. Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain Mlila. Mémoire de master en Sciences. Université Mentouri, Constantine.
- Egamberdieva, D., 2007. Plant Growth Promoting Properties of Rhizobacteria Isolated from Wheat and Pea Grown in Loamy Sand Soil. *Turk J Biol* 9–15.
- Egamberdiyeva, D., Höflich, G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 35, 973–978. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00158-5)
- Figueiredo, M. do V.B., Seldin, L., Araujo, F.F. de, Mariano, R. de L.R., 2010. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications, in: *Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Microbiology Monographs*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 21–43. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_2
- Fortin, J.-S., Nadeau, A., 2002. L'influence des phytohormones sur la croissance des plantes 17.
- Fuchs, J.G., HERISSE, J.-M., AGREF, 1999. Fertilité des sols : Les produits biologiques: bien les connaître pour mieux les utiliser ! Institut de recherches et de consultations en agronomie et écologie appliquées 17–22.
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. *Le sol vivant*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., Zitouni, A., 2013. Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29, 1821–1829. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1344-y>
- Granell, A., Carbonell, 1996. *Les hormones végétales*. Univ. Polytech. Valence 42.
- Gupta, G., Parihar, S.S., Ahirwar, N.K., Snehi, S.K., Singh, V., 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J. Microb. Biochem. Technol.* 7, 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- Herrbach, V., 2013. Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitoooligosaccharides (LCOs) symbiotiques chez *Medicago truncatula*. Toulouse 3.
- Hopkins, W.G., 2003. *Physiologie végétale, De bloeck superieur*. ed.
- Jacques, F., Daniel, M., 1988. Isolement de bactéries rhizosphérique et effet de leur inoculation en pots chez *Zea mays*. *Agronomie EDP Sciences - Google Search [WWW Document]*. URL <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885104>

- Khan, A.L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., Al-Khiziri, S., Ullah, I., Ali, L., Jung, H.-Y., Lee, I.-J., 2014. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *J. Microbiol.* 52, 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>
- Kirdi, B., Zermane, N., 2010. Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites : *Orobanche crenata* Forsk. et *Cuscuta campestris* Yuncker / “Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: *Orobanche crenata* Forsk. and *Cuscuta campestris* Yuncker”.
- König, C., 2011. Formation des bourgeons : les hormones auxine, cytokinine et gibbérelline | Dossier [WWW Document]. URL <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/botanique-pas-bourgeon-pas-foret-1187/page/4/> (accessed 6.11.18).
- Kumar, P., Dubey, R.C., 2012. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Curr. Perspect. Appl. Microbiol.* 1, 6–38.
- Leclerc, M.-E., Olivier, A., Lapointe, L., 2007. L’effet de phytohormones sur la multiplication végétative de la matteuccie fougère-à-l’autruche. *Nat. Can.* 131, 15–23.
- Lemanceau, L., 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents 413–437, 414.
- Leveau, J.H.J., Lindow, S.E., 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 2365–2371. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2365-2371.2005>
- Liu, S.-T., Perry, K.L., Schardl, C.L., Kado, C.I., 1982. *Agrobacterium* Ti plasmid indoleacetic acid gene is required for crown gall oncogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79, 2812–2816. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.9.2812>
- Maier, R.M., Pepper, I.L., Gerba, C.P., 2009. *Environmental Microbiology*. Academic Press.
- Malek, F., 2015. Interaction microbienne cours assure aux Master II microbiologie et Magistère Maitrise de la qualité et du développement microbien. Mémoire de magistère. Université de Tlemcen.
- Mezaach, S., 2012. Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Thèse doctorat en sciences. Université Ferhat ABBAS Sétif.

- Morgado González, A., Espinosa Victoria, D., Gómez-Merino, F., 2015. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in sugarcane. *Terra Latinoam.* 33, 321–330.
- Munees, A., Mulugeta, K., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. 28 Febr. 2013 1018–3647, 1–20.
- Narayanasamy, P., 2013. Detection and Identification of Bacterial Biological Control Agents, in: *Biological Management of Diseases of Crops, Progress in Biological Control.* Springer, Dordrecht, pp. 201–293. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6380-7_4
- Neilands, J.B., 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Biol. Chem.* 270, 26723–26726.
- Olanrewaju, O.S., Glich, B.R., Babalola, O.O., 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *Springer Neth.* 33, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Page-Degivry, M.-T.L., Bulard, C., 1988. L'acide abscissique dans la régulation du développement embryonnaire et de la germination. *Bull. Société Bot. Fr. Actual. Bot.* 135, 19–32. <https://doi.org/10.1080/01811789.1988.10826907>
- Parmar, P., Sindhu, S.S., 2013. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J. Microbiol. Res.* 3, 25–31.
- Peltier, C., 2010. Les bactéries intestinales influent sur l'évolution de la mouche ! [WWW Document]. *Futura.* URL <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/biologie-bacteries-intestinales-influent-evolution-mouche-25881/> (accessed 6.16.18).
- Regnault, T., 2014. Biosynthèse et transport des gibbérellines chez *Arabidopsis thaliana* (phdthesis). Université de Strasbourg.
- Rogers, J.R., Bennett, P.C., Choi, W.J., 1998. Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *Am. Mineral.* 83, 15321540.
- Chauhan, J., Tomar, Y., Indrakumar, S., Seema, A., Debarati, A., 2009. Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *J Am Sci* 5, 79–84.
- Roberto, B.-A., Rodolfo, S., 2004. *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*, 1 edition. ed. CRC Press, New York.
- Roychowdhury, R., Mamgain, A., Ray, S., Tah, J., 2012. Effect of gibberellic acid, kinetin and indole 3-acetic acid on seed germination performance of *Dianthus caryophyllus* (Carnation). *Agr Conspectus Sci* 77, 157–160.
- Smaoui, S., 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés (phd). Université de Toulouse.

- Soufiane, B., 1989. Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes [WWW Document]. URL <http://docplayer.fr/15231957-De-bacteries-et-d-actinomycetes-antagonistes-aux-champignons-p-wtopathogenes.html> (accessed 6.14.18).
- Sprent, J.I., James, E.K., 2007. Legume Evolution: Where Do Nodules and Mycorrhizas Fit In? *Plant Physiol.* 144, 575–581. <https://doi.org/10.1104/pp.107.096156>
- Stengel, P., Gelin, S., 1998. Sol : interface fragile, Inra. ed.
- Stepanova, A.N., Yun, J., Likhacheva, A.V., Alonso, J.M., 2007. Multilevel Interactions between Ethylene and Auxin in Arabidopsis Roots. *Plant Cell* 19, 2169–2185. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.052068>
- Taktek, S., 2015. Dissolution biologique des phosphates : interaction bactéries – mycorrhizes. Thèse de doctorat. Université de Lavale, Québec, Canada.
- Van oostende, C., 2006. Analyse quantitative des réponses précoces à l'auxine dans une suspension de cellules de Tabac. Thèse de doctorat en sciences. Université Bordeaux 1.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Villegente, M., 2013. Caractérisation Biochimique et Moléculaire de Mécanismes de la Germination d'Espèces Endémiques de Nouvelle-Calédonie. <https://doi.org/10.6098/2013NCAL0050>
- Zakharova, E.A., Shcherbakov, A.A., Brudnik, V.V., Skripko, N.G., Bulkhin, N.S., Ignatov, V.V., 1999. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. *Eur. J. Biochem.* 259, 572–576. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00033.x>
- Zhang, F., Dashti, N., Hynes, R.K., Smith, D.L., 1996. Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Nodulation and Nitrogen Fixation at Suboptimal Root Zone Temperatures. *Ann. Bot.* 77, 453–460. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0055>

ANNEXES

Annexe 01

La composition des milieux de cultures

Milieu TY

Composition en g/l

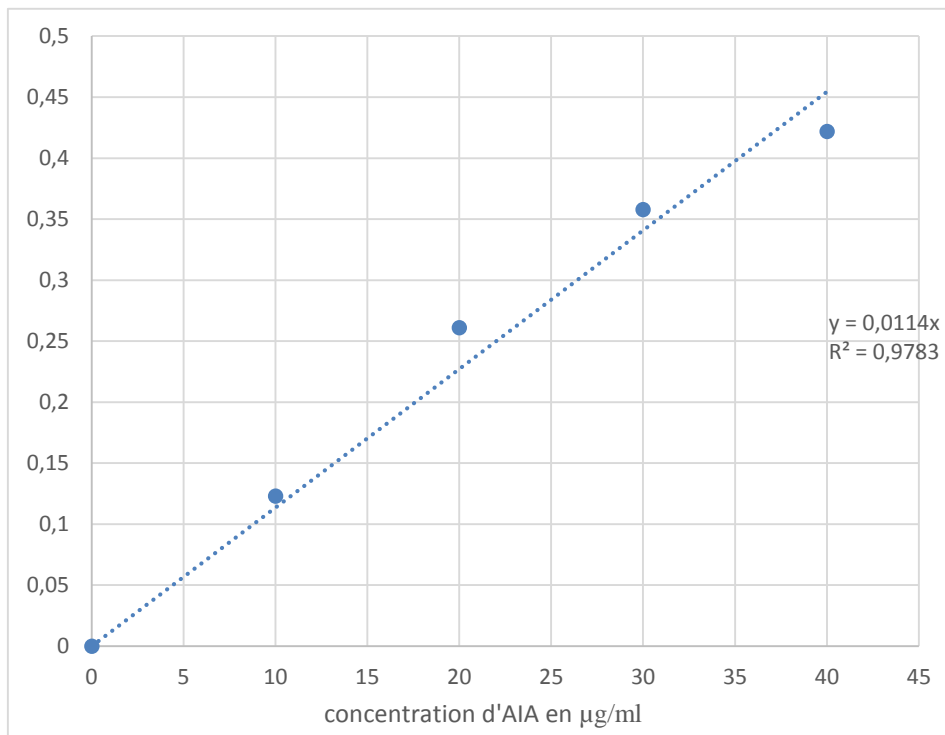
Extrait de levure	3g
Tryptone.....	5g
CaCL ₂ 2H ₂ O.....	0,65g
pH = 6,8-7	

Mannitol- Mobilité

Peptone trypsique de caséine.....	10g
Mannitol.....	7,5g
Rouge de phénol en solution à 1%.....	4ml
Nitrate de potassium.....	1g
Agar-agar.....	3,5g

Le réactif de Salkowski.

Solution de chlorure ferrique (FeCl ₃ , 6H ₂ O 0,5M)	7,5ml
Acide sulfurique H ₂ SO ₄ (98%).....	150 ml
Eau distillée.....	250 ml

Annexe 2**La courbe d'étalonnage**

Annexe 3


Tableau de lecture de la galerie API 20 NE.

test	Composant actifs	QTE (mg/m)	Réactions/enzymatique	Résultats négatif	Résultats positif
NO ₃	Potassium nitrate	0.136	Réduction des nitrates en nitrites	Incolore	Rose – Rouge
			Réduction des nitrites en Azote	Rose	Incolore
TRP	L-tryptophane	0.2	Formation d'indole (tryptophane)	Incolore /vert pâle /jaune	Rose
<u>GLU</u>	D-glucose	1.92	Fermentation (Glucose)	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1.92	Arginine DI Hydrolase	Jaune	Orange /Rose /Rouge
<u>URE</u>	Urée	0.76	URE ase	Jaune	Orange / Rose / Rouge
ESC	Esculine citrate de Fer	0.56 0.072	Hydrolyse (Bgalactosidase) (ESCuline)	Jaune	Gris /marron /Noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Hydrolyse (protéase) (GELatine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du Piment noir
PNPG	4-nitrophényl-BD-galaactopyranoside	0.22	B-galactosidase (paranitrophényl-BD-galactopyranosidase)	Incolore	Jaune

GLU	D-glucose	1.56	Assimilation (GLUCose)	Transparence	Trouble
ARA	L-arabinose	1.4	Assimilation (arabinose)	Transparence	Trouble
MNE	D-mannose	1.4	Assimilation (mannose)	Transparence	Trouble
MAN	D-mannitol	1.36	Assimilation (mannitol)	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1.28	Assimilation (N-acétyl-glucosamine)	Transparence	Trouble
MAL	D-maltose	1.4	Assimilation (maltose)	Transparence	Trouble
GNT	potassium gluconate	1.84	Assimilation (potassium gluconate)	Transparence	Trouble
CAP	Acide caprique	0.78	Assimilation (Acide caprique)	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	1.12	Assimilation (Acide adipique)	Transparence	Trouble
MLT	Acide malique	1.56	Assimilation (malate)	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	2.28	Assimilation (tri sodium citrate)	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	0.8	Assimilation (acide phénylacétique)	Transparence	Trouble
OX	Voire notice de l'oxydase	-	Cytchrome –oxydase	Voire notice de l'oxydase	

Résultat de test d'identification de l'isolat 1 par la galerie Api 20 NE.

Test	Résultats
NO3	+
TRP	-
GLU	-
ADH	+
URE	+
ESC	+
GEL	+
PNG	+
GLU	+
ARA	-
MNE	+
MAN	+
NAG	-
MAL	+
GNT	-
CAP	-
ADI	-
MLT	-
CIT	+
PAC	-
OX	+



Résultat de test de l'identification de l'isolat 2 par la galerie Api 20 NE.

Test	Résultat
NO3	+
TRP	+
GLU	-
ADH	+
URE	+
ESC	+
GEL	+
PNG	+
GLU	+
ARA	+
MNE	+
MAN	+
NAG	+
MAL	+
GNT	+
CAP	-
ADI	-
MLT	+
CIT	-
PAC	-
OX	+

Annexe 4**Systématique des graines utilisées**
Systématique de blé dur (*Triticum durum*).

Règne	plantea (végétale)
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>

RÉSUMÉ

Résumé

La rhizosphère est la région du sol, qui est caractérisée par sa richesse en micro-organismes, et notamment en bactéries et champignons microscopiques. Les rhizobactéries ont la capacité de produire une phytohormone essentielle à la croissance et le développement des plantes qui est l'acide indole-3-acétique (AIA). Parmi trois isolats rhizosphériques, la meilleure souche productrice de l'AIA est utilisée pour extraire l'AIA, la production est confirmée par une chromatographie sur couche mince. L'extrait brute ainsi que la souche ayant le meilleur effet sur la germination de blé, sont utilisés pour améliorer la croissance de blé dans une serre contrôlée. Après 3 semaines de croissance, *Aeromonas hydrophila* a amélioré non significativement la croissance de blé, alors que l'extrait brut de *Pseudomonas luteola*, à une concentration de (90,45 µg/ml) d'AIA, a diminué significativement tous les paramètres de croissance.

Une identification moléculaire et des études plus prolongées sous serre et en champ sur les isolats, ainsi que des purifications des extraits bruts sont nécessaires pour améliorer la productivité des résultats.

Les mots clé : Rhizobactéries, l'acide indole-3-acétique, PGPR, *Pseudomonas luteola*, *Aeromonas Hydrophila*, *Triticum durum*.

Abstract

The rhizosphere is the region of the soil, which is characterized by its richness in microorganisms, and in particular in bacteria and fungi. Rhizobacteria have the ability to produce phyto-hormones essential for the growth and development of plants. The most important phyto-hormones is the indole-3-acetic acid (AIA). Amongst three rhizosphere isolates used in this study, the best AIA producing strain was used to extract AIA, the production was confirmed by thin layer chromatography. The crude extract and the strain with the best effect on wheat germination were used to improve wheat growth in a controlled greenhouse. After 3 weeks of growth, *Aeromonas hydrophila* improved but not significantly wheat growth, whereas the crude extract of *Pseudomonas luteola*, at concentration of (90.45 µg / ml of AIA), was significantly decreased all measured growth parameters.

Molecular identification and longer greenhouse and field studies with bacterial isolates, as well as purifications of crude extracts, are needed to improve the productivity of the results.

Key words: Rhizobacteria, indole-3-acetic acid, PGPR, *Pseudomonas luteola*, *Aeromonas Hydrophila*, *Triticum durum*.

ملخص

منطقة الجذور هي منطقة التربة، التي تتميز بغناها في الكائنات الدقيقة، وعلى وجه الخصوص في البكتيريا والفطريات. لدى *Rhizobacteria* القدرة على إنتاج هرمونات نباتية ضرورية لنمو وتطور النباتات. أهم الهرمونات النباتية هو حمض الإندول 3-أسيتيك (AIA) من بين ثلاث عزلات من ريزازوسفير استُخدمت في هذه الدراسة، تم استخدام أفضل السلالة المنتجة للـ AIA لاستخراج الـ AIA ، وقد تم تأكيد الإنتاج بواسطة تحليل كروماتوجرافي طبقة رقيقة. تم استخدام المستخلص الخام والسلالة ذات التأثير الأفضل على إنبات القمح لتحسين نمو القمح في البيوت المحمية الخاضعة للرقابة. بعد 3 أسابيع من النمو، تحسن *Aeromonas hydrophila* ولكن ليس بشكل ملحوظ نمو القمح، في حين أن المستخلص الخام من *Pseudomonas luteola* ، بتركيز 90.45 ميكروغرام / مل من (AIA) ، انخفض بشكل ملحوظ جميع معايير النمو المقاسة.

هناك حاجة إلى تحديد الجزيئات والدراسات المسببة للاحتباس الحراري والميداني أطول مع العزلات البكتيرية، فضلا عن تنقية من المستخلصات الخام، لتحسين إنتاجية النتائج.

الكلمات المفتاحية: *Rhizobacteria*، حمض الإندول 3-أسيتيك، البكتيريا المحسنة لنمو النبات، *Pseudomonas luteola*، *Aeromonas hydrophila*، *Triticum durum*.