



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle}. Méchali Roufaïda

M^{lle}. Kherrat Soumia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES

THÈME

Optimisation de la solubilisation du phosphate par des rhizobactéries

Soutenu publiquement le : 30/05/2016

DEVANT LE JURY :

Président	DJIIBAOUI R.
Encadreur	BOUZNAD A.
Co-encadreur	CHIBANI H.R.
Examineur	MEKHALDI A.

M.C.A U. Mostaganem
M.C.B U. Mostaganem
Doctorante U. Mostaganem
Pr. U. Mostaganem

Remerciements

*Dieu « ELLAH » merci de nous avoir donné
La chance de vivre et de pouvoir étudier.*

*Nos vifs remerciements, à nos parents pour leurs encouragements, soutiens
moraux, tout au long de notre formation.*

*Nous remercions tout particulièrement **Mr. Bouznad. A** pour l'encadrement de
ce travail.*

*Nous remercions **Melle .Chibani Hiba rahman** et **Mr.Hamoum Hakim** pour
leur précieux conseils, leur disponibilité, et leur patience tout à long de ce stage.*

*Nous remercions **Mr.Djibaoui R** et **Mr. Mekhaldi A** d'avoir accepté de juger ce
travail*

*Nous remercions Notre responsable de promotion **Mr. Djibaoui** et à tous
l'enseignants(es) qui ont contribués à notre formation chacun par son nom
Et à tous les membres du jury.*

*Nous remercions le responsable de laboratoire de microbiologie **Mm. Lazreg
Hafida** et **Mm. Rachidi Fadila** qui nous a permis de travailler dans des
conditions favorable.*

*Aussi à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce
Modeste travail*

A tous ces personnes nous retirons nos remerciements du fond de cœur.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents.

A mes Frères : Schaib et Aboubaker et Mohamed et Omar

A ma sœur : Noussaiba et son mari Omar.

A toute ma famille Mechali et Baroud et spécialement à mes cousins.

A mon amie Boudinar Lalia à tous mes amis sans exception.

Et les autres collègues de ma promotion et du département.

A tous qui m'ont apporté du soutien toute ma vie.

A tous mes enseignants

Mechali Roufaida

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents.

A mes Frères : Laredj et Hamza.

A ma sœur : Chaima.

*A toute ma famille Kherrat et Brahmia et surtout ma tante Fatima
et à tous mes amis sans exception.*

Et les autres collègues de ma promotion et du département.

A tous qui m'ont apporté du soutien toute ma vie.

A tous mes enseignants.

Kherrat Soumia

Sommaire

Résumé	I
Liste des tableaux	II
Liste des figures	III
Liste des abréviations	IV
Introduction.....	1

Première Partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Le phosphore

1. Généralités sur le phosphore	3
2. Le phosphore dans le sol	3
2.1. États du phosphore dans le sol.....	4
2.1.1. Phosphore total	4
2.1.2. Phosphore assimilable	4
2.2. Différentes formes du phosphore dans le sol.....	5
2.2.1. Forme soluble (forme ionique).....	5
2.2.2. Forme minérale.....	5
2.2.2.1. Phosphore échangeable (adsorbé sur les constituants du sol).....	5
2.2.2.2. Phosphore précipité (peu soluble).....	5
2.2.3. Forme organique.....	6
2.3. Dynamique du phosphore.....	6
2.4. Transfert du phosphore dans le sol	7
2.5. Facteurs affectant la disponibilité et l'évolution du phosphore dans le sol	8
2.5.1. Facteurs physiques.....	9
2.5.2. Facteurs chimiques	10
2.5.3. Facteurs biologiques.....	11
3. Le phosphore dans le système sol-plante.....	11

Chapitre II

Les Rhizobacteries

1. La rhizosphère	13
1.1. Communauté microbienne de la rhizosphère	13
1.2. Les rhizobactéries	14
1.3. Interactions plantes-bactéries dans la rhizosphère.....	15
2. Les bactéries solubilisant le phosphate	15
3. Mobilisation du phosphore dans le sol	16
3.1. La désagrégation.....	16
3.2. La solubilisation	17
3.3. La minéralisation.....	17
3.4. L'immobilisation.....	18
4. Les Rhizobactéries comme bio-fertilisant.....	19

Deuxième partie : Etude expérimentale

Matériels et méthodes

Résultats et discussion

1. Isolats bactériens utilisés.....	20
2. Solubilisation du phosphate le sur milieu solide	20
3. Optimisation de la solubilisation de phosphate	20
3.1. Optimisation de la composition de milieu de culture	20
3.1.1. Effet de différents milieux de culture liquide	20
3.1.2. Effet de différentes sources de carbone	22
3.1.3. Effet de différentes sources d'azote	23
3.2. Optimisation des conditions de cultures	23
3.2.1. L'effet de la Durée d'incubation	23
3.2.2. L'effet de température	23
3.2.3. L'effet de différentes valeurs de pH.....	24
4. Analyse statistique.....	24

Résultats et discussion

1. Solubilisation du phosphate sur milieu solide.....	25
2. Optimisation de solubilisation de phosphate	27
2.1. Optimisation de La composition de milieu de culture	27
2.1.1. Effet de différents milieux de culture.....	27
2.1.2. Effet de différentes sources de carbone.....	31
2.1.3. Effet de différentes sources d'azote.....	33
2.2. Optimisation des conditions de cultures	35
2.2.1. L'effet de la durée d'incubation.....	35
2.2.2. L'effet de température.....	37
2.2.3. L'effet de différentes valeurs de pH.....	39
Conclusion	41

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Les bactéries solubilisant le phosphate jouent un rôle vital dans la fertilité du sol et par conséquent favorisent la croissance d'un grand groupe de plantes. L'objectif de ce travail est l'évaluation de la capacité des isolats bactériens à libérer le phosphate inorganique et l'optimisation de leur solubilisation. Différents milieux de cultures, source d'azote et source de carbones ont été utilisés sous des conditions de culture variables pour optimiser la solubilisation du phosphate par deux bactéries isolées à partir de sol salin A1 et A2. L'étude de la solubilisation de phosphate tricalcique par les deux isolats sur milieu PVK solide a montré que l'efficacité de solubilisation la plus élevée a été observée chez l'isolat A2 (228,57 %). La comparaison des quantités de phosphore libéré par les isolats dans les différents milieux de culture liquide a déterminé que la meilleure solubilisation a été obtenue dans le milieu NBRIP pour les deux isolats A1 et A2 avec des quantités de 651,619 µg/ml et 560,667 µg/ml de phosphore libre respectivement. Le glucose a été sélectionné pour être la meilleure source de carbone pour la solubilisation du phosphate par les deux isolats. L'effet de la variation de source d'azote dans le milieu a permis de sélectionner le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ comme source d'azote la plus favorable pour les deux isolats bactériens. Les résultats ont montré que le pH=5 et la température de l'incubation 30°C sont les conditions optimales pour la solubilisation pour les bactéries utilisées. L'étude de l'effet de temps d'incubation a mené à sélectionner le 6^{ème} jours d'incubation comme un temps optimal pour la solubilisation de phosphate par les deux isolats.

Mots clés : bactéries solubilisant le phosphate, phosphate tricalcique, optimisation de la solubilisation de phosphate.

الملخص

تلعب البكتيريا المحللة للفوسفات دوراً حيوياً في خصوبة التربة وبالتالي تعزز نمو مجموعة كبيرة من النباتات. الهدف من هذا العمل هو دراسة قدرة البكتيريا المعزولة على تحرير الفوسفات الغير عضوي وتحسين تحلله. مختلف الأوساط الزراعية، مصدر الأزوت ومصدر الكربون استُعملت وفق شروط زراعية مختلفة لتحسين تحلل الفوسفات من طرف البكتيريا المعزولة من التربة المالحة A1 و A2. دراسة تحلل الفوسفات ثلاثي الكالسيوم من طرف البكتيريا المعزولة في الوسط الـ PVK الصلب لوحظ أن كفاءة تحلل الفوسفات المعدني كان الأعلى في الوسط الزراعي الصلب للسلالة A2 (2228,57 %) مقارنة كميات الفوسفور المنحلة عند مختلف الأوساط السائلة أظهرت أن أحسن تحلل قد تم الحصول عليه في الوسط NPRIP بالنسبة للسلالتين A1 و A2 مع كميات (651,619 µg/ml) و (560,667 µg/ml) للفوسفور الحر على التوالي. قد وُجد الغلوكوز كأفضل مصدر لانهلال الفوسفات بالنسبة للبكتيريا المعزولة. تأثير اختلاف مصدر الأزوت في الوسط سمح باختيار $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ كمصدر ملائم بالنسبة للبكتيريتين. النتائج أظهرت أن $\text{pH}=5$ وحرارة التحضين 30 ° هي الشروط المثلى للتحلل الفوسفات للبكتيريا المستعملة. دراسة تأثير مدة التحضين حددت اختيار اليوم السادس كمدة مثلى لتحلل الفوسفات عند جميع البكتيريا المعزولة.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا المحللة للفوسفات، الفوسفات ثلاثي الكالسيوم، تحسين تحلل الفوسفات.

Abstract

Phosphate solubilizing bacteria play a vital role in soil fertility, which they are used to promote the growth of a large group of plants. The aim of this work is the evaluation the capacity of bacterial isolates to release inorganic phosphate and optimizing their solubilization. Different culture media, nitrogen source and carbon source were used under varying culture conditions for optimizing solubilization of phosphate by two bacteria isolated from saline soil A1 and A2. The study of solubilization of tricalcium phosphate by the bacterial isolates on PVK solid medium showed that the highest solubilization efficiency was observed with the isolate A2 (2228.57%). The comparison of amounts of phosphorus released by the isolates in different liquid cultures showed that the best solubilization was obtained in NBRIP medium for both A1 and A2 isolates with quantities of 651.619 µg / ml and 560.667 µg / ml of free phosphorus respectively. Glucose was found to be the best source of carbon for solubilization of phosphate by the two isolates. The effect of the variation of nitrogen source in the medium allowed to select ammonium sulfate $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ as the most favorable nitrogen source for both bacterial isolates. The results showed that the pH = 5 and the incubation temperature of 30C° are optimal conditions for solubilization for the bacteria used. The study of the effect of incubation time led to select the 6th day of incubation as an optimal time for phosphate solubilization by the two isolates.

Keywords: phosphate solubilizing bacteria, tricalcium phosphate, optimization of phosphate solubilization.

Liste des Tableaux

Tableau 01 : phosphore commun (P) des minéraux trouvés dans les sols acides, neutres et calcaires	4
Tableau 02 : les composants de différents milieux de cultures liquides.....	21
Tableau 03 : Mesure l'efficacité de la solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ chez les deux souches A1 et A2	26
Tableau 04 : Effet de différents milieux de cultures liquide sur la solubilisation de phosphate par les isolats A1 et A2.....	28
Tableau 05 : Effet de différents sources de carbone sur la solubilisation de phosphate par les isolats A1 et A2.	31
Tableau 06 : Effet de différents sources de l'azote sur la solubilisation de phosphate par les isolats A1 et A2	33
Tableau 07 : Effet du temps d'incubation sur l'activité de solubilisation de phosphore.....	35
Tableau 08 : Effet de température sur la solubilisation de phosphate par les isolats A1 et A2.....	37
Tableau 09 : Effet de température sur la solubilisation de phosphate par les isolats A1 et A2	39

Liste des figures

Figure 0 Erreur ! Signet non défini. : Dynamique du phosphore dans le système sol-plante. ..	7
Figure 02 : Mécanismes d'action des bactéries solubilisant le phosphate.	18
Figure 03 : la solubilisation de phosphore sur le milieu solide Pikovskaya (PVK) par les isolats A1 et A2.	25
Figure 04 : La courbe standard de phosphore.	27
Figure 05 : La solubilisation du phosphate par les deux isolats bactériens (A1, A2)..	28
Figure 06 : Effet de divers milieux de culture sur la solubilisation de phosphate minérale chez la souche A1.	30
Figure 07 : Effet de divers milieux de culture sur la solubilisation de phosphate minérale chez la souche A2.	30
Figure 08 : Effet de diverse source de carbone sur la solubilisation de phosphate inorganique chez la souche A1.	32
Figure 09 : Effet de diverse source de carbone sur la solubilisation de phosphate inorganique chez la souche A2.	32
Figure 10 : Effet de diverse source d'azote sur la solubilisation de phosphate inorganique chez la souche A1.	34
Figure 11 : Effet de diverse source d'azote sur la solubilisation de phosphate inorganique chez la souche A2.	34
Figure 12 : effet de durée d'incubation sur l'activité de solubilisation de phosphore pour la souche A1.	36
Figure 13 : effet de durée d'incubation sur l'activité de solubilisation de phosphore pour la souche A2.	36
Figure 14 : l'effet de température sur la solubilisation du phosphate inorganique chez la souche A1.	38
Figure15 : l'effet de température sur la solubilisation du phosphate inorganique chez la souche A2.	38

Figure 16 : Effet de différentes valeurs de ph sur la solubilisation de phosphore pour la souche A1..... 40

Figure 17: Effet de différentes valeurs de ph sur la solubilisation de phosphore pour la souche A2. 40

Liste des abréviations

ATP	Adénosine triphosphate
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
AIA	Acide indole acétique
BSP	Bactéries solubilisant le phosphate
DO	Densité optique
GN	Gélose nutritive
HCN	Acide cyanhydrique
MSP	Microorganismes solubilisant le phosphate
NBRIP	National Botanical Research Institute of Phosphate growth medium
PGPM	Microorganismes favorisant la croissance végétale
PGPR	Plant growth promoting rhizobacteria
PTC	Phosphate tricalcique
PVK	Pikovskaya
rpm	rotation par minute
UV	Ultra-Violet

Introduction

Le phosphore (P) est un élément largement présenté dans la nature. Il est considéré comme un constituant fondamental de la vie des plantes. Le phosphore a un rôle dans une série de fonctions du métabolisme de la plante et il est l'un des éléments nutritifs essentiels nécessaires pour la croissance et le développement des végétaux. **(Marschner, 1993)**. Les ions ortho-phosphates représentent les seules formes de phosphore utilisable par les plantes. Dans les sols, ils sont généralement présents à de faibles concentrations dans la solution, en raison des nombreux processus géochimiques contraignant leur mobilité et disponibilité **(Plassard et al., 2015)**. Même dans les sols riches la plupart du phosphore n'est pas disponible pour les plantes, une grande quantité se trouve sous forme insoluble **(Dommergues et al., 1970)**.

Les bactéries solubilisant le phosphate sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème **(Vessey, 2003)**. Ces micro-organismes permettent la disponibilité du phosphore pour les plantes par solubilisation des phosphates précipités **(Kucey et al., 1989; Pradhan et al., 2005)**. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent bio-fertilisant dans l'agriculture **(Sharma et al., 2007)**. Les rhizobactéries peuvent promouvoir la croissance des plantes grâce à plusieurs mécanismes : la fixation biologique de l'azote, la synthèse des phytohormones, l'augmentation de la disponibilité du phosphate, la diminution du stress environnemental et la synergie avec d'autres micro-organismes dans le sol **(Fuentes et al., 2005)**.

Parmi les communautés bactériennes du sol, les espèces de *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia* et *Pseudomonas spp.* **(Subbarao, 1988 ; Kucey et al., 1989)**. *B. megaterium*, *polymyxa*, *circulans*, *coagulans*, *subtilis*, *sircalmous* sont les plus performantes dans la solubilisation des phosphates **(Podile et al., 2006)**. Certains microorganismes rhizobactériques ont l'aptitude à coloniser les racines de façon intense. Il s'agit par exemple de : *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptomyces*... **(Saharan et al., 2011)**. Les effets bénéfiques des rhizobactéries solubilisant le phosphate 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 **(Lugtenberg et al., 2002)**.

C'est donc l'objectif de ce travail est l'étude de la capacité de solubilisation le phosphore inorganique par les rhizobactéries isolées du sol salins et l'optimisation des conditions de cultures pour cette solubilisation.

La première partie de ce travail est consacrée à l'analyse et la synthèse des données bibliographiques relatives sur les différentes formes et la dynamique du phosphore dans le sol et le deuxième chapitre donne un aperçu sur l'environnement rhizosphérique et les rhizobactéries et le mécanisme de solubilisation de phosphate chez les bactéries solubilisant le phosphate.

La deuxième partie, décrit la méthodologie mise en œuvre dans cette étude et notamment les méthodes employées pour réaliser ce travail susceptibles d'optimiser et caractériser les souches les plus performantes pour la solubilisation du phosphate et les résultats des différentes analyses et tests sont discutés. Enfin la dernière partie présente une conclusion générale et les perspectives de la recherche.

1. Généralités sur le phosphore

Le phosphore est un élément chimique abondant dans la nature (**Beaudin, 2006**), il n'est pas seulement indispensable aux végétaux mais également aux humains et animaux. Le phosphore est un élément essentiel à la vie puis qu'il entre dans la constitution des tissus ou il tient un rôle important dans l'entreposage et les transferts d'énergie (**Beaudin et al., 2008**).

Le phosphore a un rôle métabolique unique dans tous les systèmes vivants comme il est intimement impliqué dans les réactions de l'ATP. Des dérivés de phosphate sont également des composants structurels importants des acides nucléiques, des co-enzymes, et des phospholipides ainsi comme étant impliqués dans presque toutes les voies métaboliques importants qui concernent la vie (**Buehler et al., 2002**).

2. Le phosphore dans le sol

L'atmosphère ne fournit pas le phosphore soluble pour les plantes et par conséquent, la source de phosphore est en grande partie les minéraux primaires et secondaires et ou les composés organiques. En comparaison à d'autres nutriments, La concentration de phosphore dans la solution du sol est beaucoup plus faible et varie de 0,001 à 1 mg / l (**Brady et Weil, 2002**). Les ions phosphates prélevés par la plante sont en effet sujets à de nombreuses interactions avec les constituants du sol et sont fortement retenus par la phase solide (**Ragothama , 1999 ; Hinsinger , 2001**).

Les composés minéraux de phosphore contiennent habituellement de l'aluminium (Al), du fer (Fe), du manganèse (Mn) et du calcium (Ca) en fonction de la nature du sol. Par exemple, le phosphore forme un complexe avec Al, Fe et Mn dans les sols acides, tandis que dans les sols alcalins, il réagit très fortement avec le Ca. Cependant, sous toutes les conditions, les différents types de complexes de phosphore dans le sol sont déterminés principalement par le pH du sol et par la nature et la concentration des minéraux contenus dans le sol (**Richardson, 1994**). Les minéraux de phosphore les plus connus sont représentés dans le tableau 01.

Chapitre I

Le phosphore

Tableau 01 : phosphore commun (P) des minéraux trouvés dans les sols acides, neutres et calcaires (Yadav et Verma, 2012).

Minéraux	Formule chimique
Les sols acides	
Strengite	Fe PO ₄ .H ₂ O
Variscite	Al PO ₄ .H ₂ O
Les sols neutres et calcaires	
Phosphate tricalcique	Ca ₃ (PO ₄) ₂
Dicalcium phosphate	CaH PO ₄
Dicalcium phosphate dihydrate	Ca H PO ₄
Fluorapatite	Ca H PO ₄ .2H ₂ O
Hydroxyapatite	Ca ₅ (PO ₄) ₃ F
Phosphate octacalcique	Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH
	Ca ₅ H(PO ₄) ₃ 2-5 H ₂ O

2.1. Etats du phosphore dans le sol

Dans le sol, le phosphore se présente généralement sous deux états bien distincts : l'un représente la quantité globale donc c'est le phosphore total et l'autre quantité où la plante peut l'utiliser, c'est le phosphore dit assimilable.

2.1.1. Phosphore total :

Cette partie du phosphore comprend une fraction minérale et une fraction organique à des pourcentages de 5 à 95% du phosphore total, mais la connaissance de cette quantité ne donne qu'une indication très imparfaite sur l'aptitude du sol à fournir du phosphore aux végétaux et à satisfaire leurs exigences (Pereda Campos, 2008).

2.1.2. Phosphore assimilable :

Le phosphore dit assimilable est alors définie pour caractériser la fraction du phosphore susceptible d'être absorbée par les racines, dont il est devenu nécessaire de corréliser la production agricole. Le terme du phosphore labile désigne la fraction du phosphore absorbé facilement par la plante (Pierzynski *et al.*, 2000).

2.2. Différentes formes du phosphore dans le sol

Les différentes formes de P dans le sol sont classées selon différents critères: la nature des composés phosphorés, le fractionnement chimique ou l'échange ionique. La nature des composés phosphorés permet de séparer le P organique du P inorganique (**Pereda Campos, 2008**). Les différentes formes du phosphore sont réparties comme suit :

2.2.1. Forme soluble (forme ionique) :

C'est le phosphore dissout dans la solution du sol, forme ionisée de l'acide phosphorique H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} dont les proportions relatives dépendent du pH du milieu concerné. Ces formes sont à l'origine de la nutrition phosphatée des cultures (**Morel, 1996**).

Selon Pereda Campos (2008), le phosphore de la solution du sol constitue moins de 1% du phosphore total, mais il est la source principale pour les végétaux.

2.2.2. Forme minérale :

La partie du phosphore dite inorganique (minérale) peut constituer une part importante (sinon majoritaire) des réserves en phosphore du sol (**Drouet, 2010**).

2.2.2.1. Phosphore échangeable (adsorbé sur les constituants du sol) :

Les ions phosphates ont une charge électro négative, ils sont retenus dans le sol par le biais de cations métalliques essentiellement par le Ca^{+2} . L'acide phosphorique est un anion, et ne peut être retenu par le complexe que par l'intermédiaire d'un cation : fer, aluminium, potassium, mais plus généralement le calcium (**Lambert, 1979**).

2.2.2.2. Phosphore précipité (peu soluble) :

Ces composés sont représentés généralement par les phosphates calciques, les phosphates de fer et d'aluminium. (**Hountin, 1996**). D'une façon générale, le phosphore insoluble et donc pas directement disponible.

Le phosphore absorbé ou précipité est principalement sous une forme de phosphate de fer ou d'aluminium dans les sols acides et sous formes de phosphate de calcium et de magnésium dans les sols alcalins et calcaires (**Pereda Campos, 2008**).

2.2.3. Forme organique :

Le phosphore organique peut provenir des déchets végétaux ou des micro-organismes du sol. Le phosphore organique représente de 20 à 80% du phosphore du sol, Il est présent sous une forme de phosphore soluble dans la solution du sol et sous forme de phosphore insoluble absorbé sur les particules du sol ou comme composant de la matière organique du sol (**Pereda Campos, 2008**).

Le phosphate organique est présent comme phosphates d'inositol, phospholipides, acides nucléiques et divers autres esters de phosphate qui sont issus de la dégradation de la matière organique (**Marschner, 1995 ; Pereda Campos, 2008**).

2.3. Dynamique du phosphore dans le sol

On peut définir la dynamique du phosphore comme étant le passage des ions phosphatés d'un état à un autre sous l'effet des mécanismes physico-chimiques et biologiques, Mesmoudi, (1999) suggère que la solubilité et la dynamique des ions phosphatés méritaient d'être étudié plus complètement.

Seulement 5% du phosphore transporté vers la racine et 2 % est directement intercepté par les racines. La plus grande partie (93 %) du phosphore du sol est transportée par diffusion c'est ce mécanisme qui domine dans la disponibilité du P du sol. Ce processus est extrêmement lent et c'est pour cette raison que la quantité de P en solution est faible (**Smith et al., 2003**).

Généralement le phosphore se retrouve dans le sol associé à des cations, à des oxydes ou des hydroxydes métalliques. Certains se retrouveront rapidement en solution, d'autres migreront plus lentement de la phase solide vers la solution et d'autres encore ne se solubiliseront qu'avec l'activité d'organismes vivants (**Beaudin, 2008**). La mise à disposition des ions phosphates aux plantes est régie par la désorption et la solubilisation de phosphore inorganique ainsi que par la minéralisation du phosphore organique (**Richardson et al., 2009**).

Le phosphore organique contenu dans la matière organique ne peut être disponible pour les plantes qu'après décomposition et minéralisation par les microorganismes (**Smith et al., 2003 ; Stroia, 2007**). La minéralisation et l'immobilisation se produisent simultanément dans le sol (**Figure 01**). La minéralisation serait le processus dominant si la teneur en P de la

Chapitre I

Le phosphore

matière organique est suffisamment élevée pour satisfaire les exigences de la population microbienne (Espinoza *et al.*, 2005).

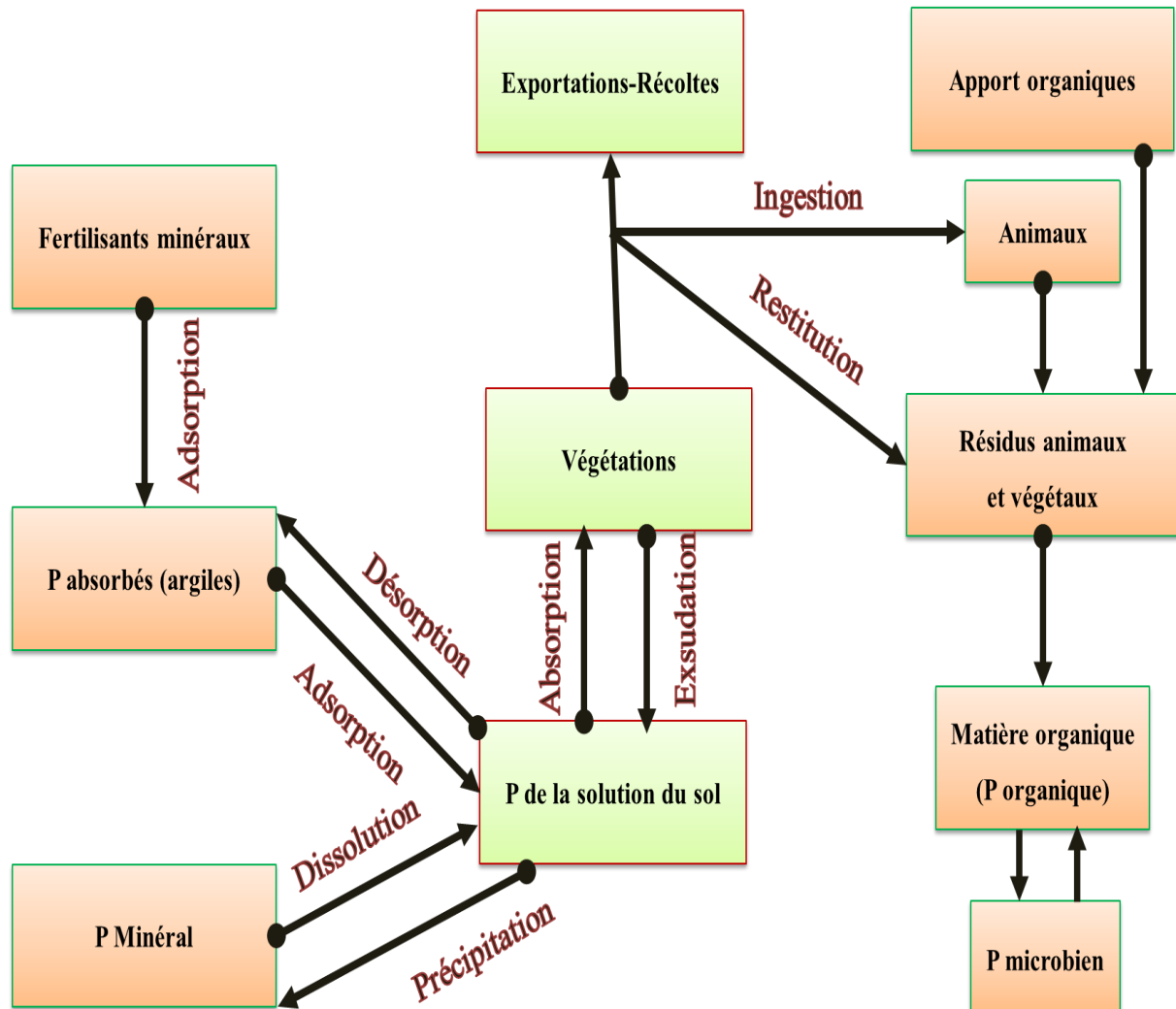


Figure 01 : Dynamique du phosphore dans le système sol-plante. Schéma adapté d'après celui d'Espinoza *et al.* (2005) ; Stroia (2007) ; Richardson *et al.* (2009), cité par Henintsoa, (2011).

2.4. Transfert du phosphore dans le sol

Les mouvements du phosphore dans le sol se réalisent de façon simultanée et en permanence selon des mécanismes bien précis :

A. Adsorption :

C'est le déplacement des ions phosphatés (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) de la solution du sol suite à des réactions chimiques. A court terme, les principaux facteurs responsables de l'absorption et de la fixation des ions phosphatés sont les oxydes d'aluminium et de fer libres ainsi que le calcium et le magnésium (**Giroux *et al.*, 1996 ; Gagnon et Beaulieu, 2002**).

B. Désorption :

C'est la libération du phosphore de la phase solide à la phase liquide. Ce phénomène a lieu suite à la diminution de la concentration en phosphore dans le sol par les prélèvements des plantes. Seulement une faible quantité des ions adsorbés peuvent être résorbés facilement, la plupart des ions phosphatés apportés au sol sont fixés et ne font pas l'objet d'une désorption et n'ont pas la même mobilité (**Pierzynski *et al.*, 2000**).

C. Précipitation :

Le phosphore dans le sol en réagissant avec des ions positifs, ces dernières provoqueront la précipitation et le phosphore prendra une forme insoluble dite « phosphore précipité ». Le phosphore minéral se trouve engagé dans des combinaisons avec le calcium, l'aluminium et le fer sous forme de sels de l'acide phosphorique H_3PO_4 (**Drouet, 2010**).

D. Dissolution :

La dissolution du phosphore précipité dépend largement du pH (**Pierzynski *et al.*, 2000**). La dissolution peut aussi être favorisée par l'activité enzymatique des champignons mycorhiziens. La vitesse de dissolution de l'apatite en milieu acide dépend de l'accessibilité des particules ainsi que de leur morphologie (**Zemoura, 2005**).

2.5. Facteurs affectant la disponibilité et l'évolution du phosphore dans le sol

Tous les facteurs physiques (texture, humidité...), chimiques (pH, calcaire...) et biologiques (racines, mycorhizes...) et leur pouvoir fixateur peuvent affecter l'évolution et le devenir des ions phosphoriques dans le sol et influencer sur le comportement du phosphore (**Giroux et Tran, 1994**). Ces facteurs sont autant de propriétés du sol qui affectent la disponibilité du phosphore (**Mkhabelaa et Warman, 2005**).

La rhizosphère est le volume de sol où s'exerce à la fois des mécanismes physiques, chimiques et microbiologiques déterminant et contrôlant le transfert des ions phosphoriques entre le sol et la solution et des mécanismes physiques, chimiques et microbiologiques sont capables de mobiliser des ions phosphoriques lors du fonctionnement du système sol-solution-plante (**Morel, 2002**).

2. 5. 1. Facteurs physiques

A. Humidité du sol :

La dissolution des composés amorphes et minéraux de phosphore dans le sol dépend de l'eau du sol, l'eau affecte les réactions du sol en régissant la diffusion du phosphore dans la solution du sol et finalement la disponibilité du phosphore pour la croissance relative des racines (**Barker et Pilbeam, 2007**). Dans la plupart des conditions, le phosphore est appliqué près de la surface du sol. Ainsi, pendant des périodes sèches dans les systèmes de production non irrigués, les déficiences en phosphore peuvent surgir (**Hanway et Olsen, 1980 ; Barker et Pilbeam, 2007**).

B. Température du sol :

Les changements de température affectent plusieurs des mécanismes impliqués dans le prélèvement des éléments nutritifs par les plantes (**Gagnon et Beaulieu, 2002**). La température du sol affecte les réactions qui régissent la dissolution, l'adsorption et la diffusion du phosphore et affecte également le potentiel de prélèvement du phosphore par les racines (**Barker et Pilbeam, 2007**). Elle influence aussi la croissance racinaire (**Ching et Barber, 1979 ; Gagnon et Beaulieu, 2002**) et la diffusion du phosphore dans le sol (**Mackay et Barber, 1984 ; Gagnon et Beaulieu, 2002**).

C. Texture :

La texture influe sur la disponibilité du phosphore : lorsque la teneur en argile augmente, la rétention en phosphore augmente d'où un phosphore moins soluble dans les sols argileux que dans les sols sableux. (**Badraoui et al., 1995**). Généralement, les niveaux de phosphore tendent à être moyens à élevés sur des sols qui ont des textures plus lourdes. Dans des sols avec une texture plus légère, ils ont généralement des niveaux moyens à faible (**Mullen, 2003**).

D. Aération et le compactage du sol :

L'aération et le compactage du sol constituent deux facteurs qui influencent considérablement l'approvisionnement des racines en oxygène nécessaire pour leur croissance, le tassement ou l'envahissement par l'eau du sol limitent le prélèvement du phosphore en le rendant moins disponible pour les plantes (**Mullen, 2003**).

2.5.2. Facteurs chimiques

A. pH :

Le pH du sol joue un rôle majeur dans la disponibilité du phosphore, quand le pH est inférieur à 6, la disponibilité de certains minéraux bénéfiques pour les plantes comme le phosphore est réduite (**Michel, 2005**). Les réactions réduisant la disponibilité du Phosphore se produisent à toutes les valeurs de pH mais sont plus prononcées dans les sols alcalins ayant un pH >7 et dans les sols acides ayant un pH <5 (**Demers, 2008**).

B. Matière organique :

La matière organique est une source de phosphore, sa minéralisation donne le phosphate assimilable par la plante (**Duthil, 1973**). La décomposition de la matière organique donne des acides organiques qui dissolvent le phosphore minéral de fer et d'aluminium (**Michel et al., 2003**).

C. Calcaire :

Le calcaire dans le sol influe sur son pH qui influe à son tour sur l'assimilation du phosphore. Dans les sols calcaires, riches en Ca^{2+} , la forme dominante du phosphore est celle du P Ca (phosphate lié au calcium) (**Mckenzie et al., 2003**), caractérisée par une faible labilité (**Gachon, 1988**).

D. Éléments nutritifs et sels solubles :

D'après Gachon (1969), en milieu salin un apport phosphaté est susceptible d'augmenter le rendement, ceci est dû à une interaction positive entre le phosphore et les sels lorsque la concentration est modérée. D'après Hafsi (1990), il existe des interactions synergétiques entre les deux engrais azotés et phosphatés qui font améliorer le rendement, la solubilité et l'absorption du phosphore. D'importantes corrélations ont été observées entre le phosphore total et certains éléments traces métalliques tels que Cu, Ni, Pb, Zn, Cd et Ti selon les types de sols considérés (**Baize, 2000**). La présence des sulfates en faible quantité dans le sol a un effet synergique vis-à-vis du phosphore. Aussi, il semble que le magnésium entraîne une meilleure dissolution du phosphore dans la solution du sol (**Razi, 2006**).

2.5.3. Facteurs biologiques

A. Effet des résidus de récolte :

Une fois incorporé au sol de grandes quantités de résidus de récolte, la biomasse microbienne par son action va permettre une immobiliser à court terme du phosphore disponible (**Mullen, 2003**).

B. Action des racines :

Dans les conditions de déficience phosphatée, notamment dans les sols riches en calcaire où le phosphore serait très lié aux ions Ca^{+2} , il a été montré que les plantes sécrètent au niveau de la rhizosphère des acides organiques pour mobiliser le phosphore fixé (**Lopez-Bucio et al., 2000**). Dans la plupart des sols, la quantité du phosphore dans les 10 premiers centimètres du sol est un bon indicateur sur la capacité du sol de fournir le phosphore à la culture. Comme les racines tendent à se concentrer dans cette zone, elles peuvent gagner l'accès facile aux ions phosphoriques pour une croissance précoce des plantes (**Mullen, 2003**).

3. Le phosphore dans le système sol-plante

Le phosphore est présent chez tous les organismes vivants. Chez les végétaux, il constitue un composant majeur et un élément minéral essentiel. Il joue un rôle important dans le métabolisme énergétique, la synthèse et le métabolisme des glucides, participe à la composition du noyau cellulaire et se concentre dans les organes reproducteurs du végétal (**Scheiner, 2005**). Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétative et, par la suite, la majeure partie du phosphore absorbé est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction (**Marschner, 1993**). Il entre dans la composition des acides nucléiques et dans la composition de l'ADN, ainsi que dans celle de l'ARN qui permet la transcription de l'information génétique en protéines. Il est impliqué dans les transferts d'énergie à l'intérieur des cellules par l'intermédiaire de molécules telles que l'ATP. Il entre dans la composition des phospholipides qui contrôlent la stabilité et les propriétés des membranes cellulaires (**Marschner, 1995**).

Le phosphore se trouve dans la plante sous forme minérale (**Duthil, 1973**). Mais il est beaucoup plus fréquemment présent combiné sous forme organique. Sa répartition dans les tissus est très inégale et augmente généralement avec la teneur en azote (**Gervy, 1970**). D'après Gervy, (1970) La teneur des végétaux en phosphore est soumise à des variations fort importantes, elle dépend principalement de la nature de l'espèce, de l'âge de la plante et

Chapitre I

Le phosphore

de l'organe analysé, elle dépend également, mais dans une moindre mesure, de la richesse du sol en P_2O_5 , elle dépend enfin très faiblement de la présence d'autres éléments donnant lieu à des antagonismes avec l'acide phosphorique.

Des plantes déficientes en phosphore montrent un retard de croissance (réduction de la croissance des cellules et des feuilles, de la respiration et de la photosynthèse), et souvent une couleur vert foncé (concentration plus élevée en chlorophylle) et une coloration rougeâtre (augmentation de la production d'anthocyanes) (**Marschner, 1993**).

Il a été signalé que le niveau de l'approvisionnement en phosphore pendant les étapes reproductrices règle la partition des photosynthétats entre les feuilles-sources et les organes reproducteurs, ceci étant essentiel pour les légumineuses fixatrices d'azote (**Marschner, 1993**).

Chapitre II

Les rhizobactéries

1. La rhizosphère

La rhizosphère est la zone du sol située près des racines et caractérisée par une activité microbiologique intense. C'est un environnement écologique dynamique où les microorganismes et les plantes interagissent pour l'exploitation des micro et macronutriments du sol présent en quantité limitée (**Gholami et al., 2012**).

C'est également un environnement caractérisé par un volume très élevé de substances racinaires favorisant une grande population microbienne (**Miransari, 2011**). Cette population originaire des grains et du sol environnant (**Miethling et al., 2000**) est habituellement distribuée à une distance de 0,5 à 1 m des racines de la plante, dont une concentration de plus de 10^9 à 10^{12} microorganismes par gramme de (**Miransari, 2011**).

Plus précisément, la rhizosphère est divisée en trois grandes composantes qui interagissent ensemble : la rhizosphère sol, la rhizoplane et les racines (**Barea et al., 2005**). La rhizosphère sol est la zone du sol influencée par les racines due à la libération de substrats qui influence l'activité microbiologique (**Barea et al., 2005**). Ainsi, durant leur croissance, les racines libèrent activement ou passivement une gamme de composés organiques, surtout des hydrates de carbone (**Chaboud, 1983**).

La microflore du sol est composée de différents types des microorganismes tels plusieurs genres bactériens fixateurs d'azote et des mycorhizes. Ceux-ci peuvent jouer un rôle de stimulation de croissance par l'apport d'éléments nutritifs et de protection des pathogènes environnants (**Amarger, 2002**).

1.1. Communauté microbienne de la rhizosphère

Dans le sol, les microorganismes représentent la majorité des organismes vivants et constituent une importante part de la diversité génétique de la planète. Il a été estimé qu'un gramme de sol contiendrait de 10^{10} à 10^{11} bactéries (**Horner-Devine et al., 2003**), de 6000 à 50000 espèces bactériennes (**Curtis et al., 2002**). Cette microorganismes jouent un rôle clé dans un grand nombre de processus des différents écosystèmes incluant l'acquisition d'éléments nutritifs pour les plantes (**Sprent, 2001 ; Smith et Read, 2008**).

Chapitre II

Les rhizobactéries

La microflore rhizosphérique est naturellement constituée de procaryotes et d'eucaryotes (**Kent et Triplett, 2002 ; Cardon et Gage, 2006**). Certains sont sans effets sur le développement des végétaux (microorganismes commensaux), d'autres encore sont favorables (mutualistes) alors que d'autres, enfin, ont des effets délétères (parasites et phytopathogènes). (**Whipps, 2001**). La rhizosphère joue un rôle actif dans la régulation des interactions entre plantes et microorganismes (**Hirsch et al., 2003**).

De ce fait, il a été suggéré que la plante favorise celles qui lui sont bénéfiques (**Lynch, 1990 ; Cook et al., 1995**). Afin d'optimiser les interactions favorables et développer des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement il est nécessaire de mieux connaître le mécanisme de ces interactions. Actuellement, l'inoculation par les microorganismes tels que les champignons mycorhizogènes (**Elhassan et al., 2010 ; Gianinazzi et al., 2010**) et les bactéries fixatrices d'azote (**Bhattacharjee et al., 2008 ; Elhassan et al., 2010**) représentent un potentiel important pour l'amélioration de la croissance et la lutte biologique contre les maladies d'origine tellurique.

1.2. Les rhizobactéries

Les rhizobactéries connues sous le terme PGPR stimulent directement la croissance de plantes en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux. Elles stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les *Rhizobia*. L'établissement de l'association PGPR-plante est primordial pour l'expression des effets bénéfiques (**Hallmann et al., 1997**).

Plusieurs études sur la relation PGPR amélioration de l'absorption des nutriments ont conclu que l'application des inoculations bactériennes améliore considérablement l'absorption du N, P, et K. En outre, le processus d'inoculation avec *Azospirillum* et *Bacillus* spp. a montré une nette accumulation de ces minéraux dans les tissus de la plante (**Amir et al., 2005**).

La microflore rhizosphérique bénéfique pour les plantes peut avoir soit un effet via les organismes associés à la racine (relations mutualistes) ou via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère (**Van der Heijden et al., 2008**).

Chapitre II

Les rhizobactéries

Certains microorganismes, principalement des bactéries telles *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* (Gray et Smith, 2005) et *Streptomyces* spp. (Tokala et al., 2002) sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires. Elles influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (voie directe) et ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (voie indirecte).

1.3. Interactions plantes-bactéries dans la rhizosphère

Les microorganismes présents dans la rhizosphère jouent un rôle important dans l'adaptation écologique de leur plante hôte. Des processus microbiens importants qui devraient se produire dans la rhizosphère inclure la pathogenèse et son contrepartie, la promotion protection des plantes de croissance, ainsi comme la production d'antibiotiques, cycle géochimique de minéraux et de colonisation végétale (Kent et al., 2002).

Interactions plantes-microorganismes peuvent donc être considérés comme bénéfique, neutre ou nuisible à la plante, en fonction des micro-organismes et des plantes spécifiques impliquées et des conditions environnementales (Bais et al., 2006). L'étude de ces micro-organismes en démêlant leurs relations possibles avec des plantes a lancé un nouveau et fascinant domaine des enquêtes dans la recherche rhizosphère.

2. Les bactéries solubilisant le phosphate

Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient donc constituer une source prometteuse comme agent bio-fertilisant dans l'agriculture (Sharma et al., 2007). Les microorganismes solubilisant les phosphates (MSP) pourraient aussi faciliter la croissance et le développement des plantes par la production de nutriments essentiels et modifier la concentration des substances améliorant la croissance des plantes telles que l'AIA ou stimuler la fixation symbiotique et non symbiotique de l'azote moléculaire. Ils peuvent jouer aussi un rôle dans la production des sidérophores, des antibiotiques et d'acide cyanhydrique (HCN) (Khan et al., 2009).

BSP jouent un rôle dans la nutrition de phosphore en améliorant sa disponibilité pour les plantes grâce à la libération à partir de pools sol de Phosphore inorganiques et organiques par solubilisation et de la minéralisation. Ces micro-organismes augmentent la performance

Chapitre II

Les rhizobactéries

globale des plantes en fournissant Phosphore principalement soluble aux plantes dans les systèmes de production différents (**Khan et al., 2014**)

BSP sont communes dans la rhizosphère, cette dernière étant le siège de nombreuses interactions entre les plantes et les divers microorganismes associés. La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (**Kim et al., 1998 ; Richardson, 2001**). Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents comme *P.chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* ont été identifiés comme rhizobacteries solubilisant le phosphate (**Cattelan et al., 1999 ; Bano et Musarat, 2003**).

Les micro-organismes solubilisant le phosphate (MSP) ont été considérés comme les meilleurs moyens écologiques pour la nutrition des cultures par le phosphate. Bien que, plusieurs bactéries (*Pseudomonas* et *Bacillus*) et des souches fongiques (*Aspergillus* et *Penicillium*) ont été identifiés comme des MSP mais leurs performances dans des conditions *in situ* n'est pas fiable et doit être améliorées soit en utilisant des souches génétiquement modifiées ou des techniques de co-inoculation (**Sharma et al., 2013**).

3. Mobilisation du phosphore dans le sol

Des procédés différents participent à la transformation des phosphates comme la désagrégation, la solubilisation, la minéralisation et l'immobilisation.

3.1. La désagrégation

Dans la nature, certaines roches phosphatées s'altèrent suite à de nombreux processus écologiques. Les processus d'altération sont classés en deux principales catégories : la désagrégation mécanique et chimique (**Mackey et Paytan, 2009**).

Dans la désagrégation mécanique, des procédés physiques (incluant l'expansion thermique, la pression, l'action hydraulique, la formation de cristaux de sel ...) peuvent causer une détérioration ou encore une fragmentation du matériel rocheux sans modifier sa composition chimique.

En revanche, la désagrégation chimique (incluant divers produits chimiques) cause l'altération de la roche phosphatée en modifiant la structure chimique des minéraux à partir desquels la roche phosphatée est faite. Le processus de l'altération chimique comprend la dissolution, l'hydrolyse, l'hydratation et l'oxydoréduction (**Mackey et Paytan, 2009**).

Chapitre II

Les rhizobactéries

3.2. La solubilisation

L'amélioration de la fertilité du sol est l'une des stratégies les plus communes pour augmenter la production agricole. En plus de la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates est également importante. Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. Contrairement à l'azote, il n'existe pas de source biologiquement disponible (**Ezawa *et al.*, 2002**).

Les micro-organismes permettent la disponibilité du Phosphore pour les plantes par minéralisation du P organique du sol et par solubilisation des phosphates précipités (**Kucey *et al.*, 1989., Pradhan et Sukla, 2005**) (Figure 02). Notons que ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (mono et dibasiques) (**Mackey et Paytan, 2009**).

3.3. La minéralisation

Dans le sol, les plantes et les détritiques animaux constituent un énorme réservoir de Phosphore organique qui est généralement indisponible pour la plupart des organismes vivants. Pour devenir biodisponible, le Phosphore contenu dans la matière organique doit tout d'abord être minéralisé en phosphate.

Le processus de minéralisation, au cours duquel les complexes de Phosphore organique sont convertis en minéraux phosphatés, est un processus modulé grâce à l'activité de certaines enzymes microbiennes, notamment les phosphatases qui sont classées en fonction du type des groupements carbonés liés aux phosphates qu'elles clivent.

Les phosphatases ont des exigences spécifiques vis-à-vis de certains substrats. Les catégories les plus courantes des phosphatases microbiennes contribuant à la minéralisation du P comprennent les phosphomonoestérases, les phosphodiesterases, les nucléases, et les nucléotidases, ainsi que les phytases (**Mackey et Paytan, 2009**).

3.4. L'immobilisation

Lors du processus de l'immobilisation, le Phosphore labile est séquestré et retiré de l'environnement pour une période de temps. Les procédés d'immobilisation peuvent être regroupés en deux catégories : La première catégorie, l'immobilisation transitoire ou

Chapitre II

Les rhizobactéries

l'assimilation cellulaire, comprend tous les processus de séquestration du Phosphore dans les cellules vivantes microbiennes et est rapidement réversible à la mort cellulaire. La deuxième catégorie appelée la formation de minéraux phosphatés, englobe les processus de minéralisation influencé par l'activité microbienne qui génèrent des minéraux contenant du P il s'agit de la phosphogénèse (Mackey et Paytan, 2009).

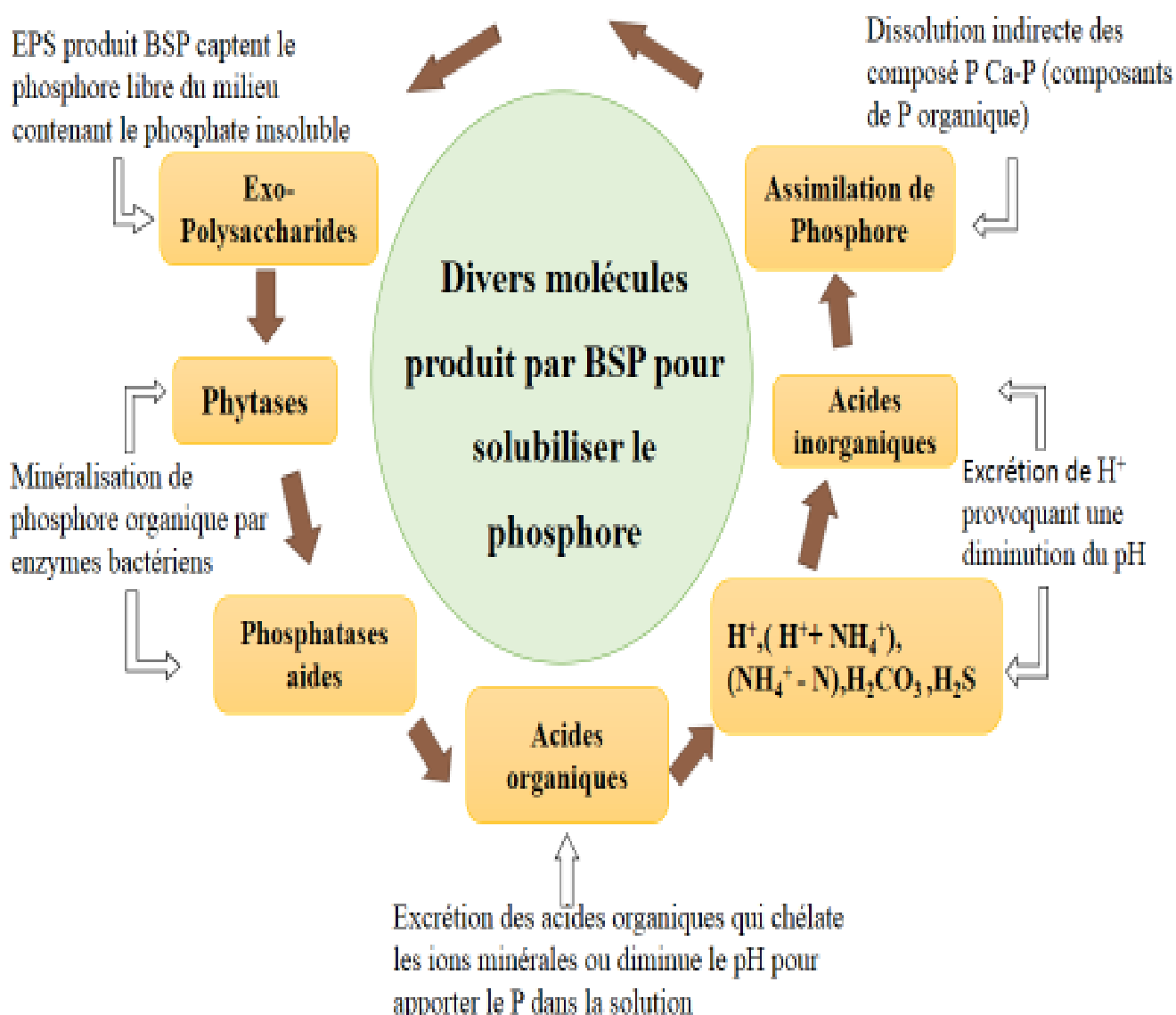


Figure 2: Mécanismes d'action des bactéries solubilisant le phosphate (Khan *et al*, 2009).

Chapitre II

Les rhizobactéries

4. Les Rhizobacteries comme un bio-fertilisant

Les bio-fertilisants peuvent être définis comme des produits qui contiennent des microorganismes vivants lorsqu'elles sont appliquées aux semences ou à la surface des plantes ou le sol, ils colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante capables de promouvoir la croissance des plantes en augmentant l'offre ou la disponibilité des éléments nutritifs primaires à la plante hôte (**Vessey, 2003**).

Selon Mishra et al (2013), un bio-fertilisant est un mélange de cellules latentes favorisant la fixation d'azote, la solubilisation de phosphate et la solubilisation de silicate, des études antérieures montrent qu'un bio-fertilisant préparé en combinant PGPR avec composts pourrait accroître les effets favorisant la croissance et la bio-contrôle des plantes (**Chen et al., 2011**). Des espèces comme le *Pseudomonas* (**Leonardo et al., 2006**) et *Bacillus* (**Gong et al., 2006**), élaborent des substances qui ne sont pas encore bien définies soit comme des phytohormones soit comme des régulateurs de croissance permettant aux cultures d'avoir plus de racines fines augmentant ainsi la surface d'absorption chez les plantes. Ces PGPR sont désignés comme des bio-stimulants et les phytohormones qu'ils produisent comprennent : AIA, les cytokinines, les gibbérellines et les inhibiteurs de la production d'éthylène (**Agritech, 2014**).

Ces bactéries sont actuellement commercialisées sous forme d'inoculum. Elles semblent promouvoir la croissance des cultures par plusieurs mécanismes qui sont comme suit : suppression des maladies des plantes (par des bio-protecteurs), l'amélioration de l'acquisition des éléments nutritifs (biofertilisants), ou la production de phytohormones (appelées biostimulants) (**Agritech, 2014**).

Les bio-fertilisants à base de PGPR fournissent un rôle bénéfique dans la création d'une bonne rhizosphère pour la croissance des plantes et la conversion des éléments importants sur le plan nutritionnel grâce à des procédés biologiques, par exemple en augmentant la disponibilité de N, P, K (**Francis et al., 2010 ; Waddington., 1998**). La haute disponibilité de N, P et K pourrait améliorer la fertilité des sols, améliorer l'antagonisme et l'effet bio-contrôle, et d'étendre les micro-organismes de taux de survie dans le sol (**Yang et al., 2011**).

1. Isolats bactériens utilisés

L'expérimentation a été réalisée sur deux bactéries isolées de la rhizosphère du sol salin de la wilaya de Relizane A1 et A2 qui ont été fournies par le laboratoire de microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem.

La capacité de solubilisation du phosphate inorganique insoluble par les isolats bactériens sélectionnés a été testée avec un test qualitatif (sur milieu solide) et l'optimisation de cette solubilisation a été réalisée en milieu liquide (test quantitatif).

2. Solubilisation du phosphate sur le milieu solide

La capacité des isolats bactériens de libérer le phosphore soluble a été testée sur milieu Pikovskaya solide (**Pikovskaya, 1948**) contenant 0,5% de PTC comme seule source de phosphore. Chaque culture bactérienne est déposée à la surface de la gélose PVK. Après dix jours d'incubation à 30°C, la solubilisation du phosphate a été mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie sur milieu PVK.

Les diamètres des halos de solubilisation qui entourent les isolats bactériens ont été mesurés (halo + colonie). Les résultats ont été exprimés par calcul de l'efficacité de solubilisation (**Nguyen et al., 1992**) par la formule suivante :

$$\text{L'efficacité de la solubilisation \%} = (\text{diamètre de halo} / \text{diamètre de colonie}) \times 100$$

3. Optimisation de solubilisation de phosphate

3.1. Optimisation de la composition de milieu de culture

3.1.1. Effet de différents milieux de culture

L'estimation quantitative du phosphate solubilisé et la capacité de solubilisation de phosphate chez les isolats ont été testées en milieu liquide, des cultures jeunes des isolats solubilisant le phosphate (de 24 heures) provenant de la gélose nutritive (Annexe 01) ont été utilisées pour l'inoculation des milieux de culture. Des tubes à essai contenant 10 ml d'eau

Partie 2

Matériels et méthodes

physiologique (Annexe 03), ont été inoculés par quelques colonies bactériennes pour préparer une suspension bactérienne où sa densité optique a été ajustée à 1,5 à 600 nm en utilisant un spectrophotomètre UV- visible (**Kumar, 2010**).

Chaque flacon de 250 ml contenant 50 ml de milieu de culture avec PTC comme seule source de phosphate a été inoculé par 1 ml de suspension bactérienne (**Kumar, 2010**). Les milieux inoculés ont été incubés sous agitation permanente dans un incubateur agitateur rotatif à 180 rpm à 30°C pendant 7 jours.

L'efficacité de différents isolats solubilisant le phosphate a été testée en milieu liquide et en utilisant quatre milieux de culture liquide : PVK (**Pikovskaya, 1948**), AYG (**Halder et al., 1990**), NBRIY (**Nautiyal, 1999**), NBRIP (**Nautiyal, 1999**) (Tableau 02).

Tableau 02 : La composition de différents milieux de culture liquide.

Composants du milieu (g/l)	PVK	AYG	NBRIY	NBRIP
Glucose	10	20	10	10
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	1	0,5	0,1
MgSO ₄	0,1	0,5	0,1	0,25
Extrait de levure	0,5	0,2	-	0,2
KCl	0,2	-	0,2	0,2
NaCl	0,2	0,002	0,2	0,2
FeSO ₄	0,002	0,002	0,002	-
MnSO ₄	0,002	-	0,002	-
MgCl ₂	-	-	-	5
Ca ₃ (PO ₄)	5	5	5	5
pH	7,2	6,8	7	7

- **Dosage du phosphore**

Après 7 jours d'incubation le contenu de chaque flacon a été centrifugé à 6000 rpm pendant 30 min. La quantité de phosphore libérée dans le milieu par les isolats bactériens a été déterminée par la méthode Spectrophotométrique du jaune de vanado-molybdate (**Subba Rao, 1988**). Le principe de cette méthode consiste à mesurer la densité optique (absorbance) de la couleur jaune du complexe phosphovanadomolybdique en milieu acide. 1ml du surnageant a été ajouté à 2,5 ml de réactif Barton (Annexe 02), Ce volume a été ajusté à 50 ml avec de l'eau distillé et la présence d'une couleur jaune indique la libération de phosphates solubles.

L'absorbance des différentes solutions a été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 430 nm après 10 min. Le pH final de solubilisation de chaque surnageant a été mesuré et en utilisant un pH- mètre. Le phosphore soluble a été calculé à partir de l'équation de régression d'après la courbe d'étalonnage.

- **La courbe d'étalonnage**

Une courbe d'étalonnage standard a été effectuée avec une solution de KH_2PO_4 . (**Olsen et Sommers, 1982**). 0,2195 g de KH_2PO_4 a été dissoute dans 1 litre d'eau distillé. Cette solution contient 50 μg P/ml.

La procédure de la préparation la courbe standard est la suivante : un volume de 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 10 ml de solution stock de KH_2PO_4 a été mis dans des fioles de 50 ml. 2,5 ml de réactif Barton a été ajouté dans chaque fiole et le volume a été complété a 50 ml avec l'eau distillée, La mesure de l'absorbance des solutions a été réalisée après 10 min à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible.

3.1.2. Effet de différentes sources de carbone

Effet de différentes sources de carbone comme glucose, fructose, lactose et sucrose sur la capacité de solubilisation du phosphate des différents isolats bactériens ont été étudié dans le milieu de culture favorable contenant le phosphate tricalcique comme seule source de phosphate à un pH de 7. Les Erlenmeyers contenant 50 ml de milieu liquide ont été

Partie 2

Matériels et méthodes

inoculés à raison de 1 ml de suspension bactérienne (DO = 1,5). L'incubation a été réalisée à 30°C dans un agitateur rotatif à 180 rpm pendant 7 jours.

Les concentrations du phosphore libérées ont été estimées par la méthode de jaune de Vanado-molybdate.

3.1.3. Effet de différentes sources de l'azote

L'effet de diverses sources de l'azote comme $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, l'urée, caséine et NaNO_3 sur la capacité de solubilisation de phosphate, par les isolats bactériens a été étudié dans le milieu favorable contenant le phosphore tricalcique comme seule source de phosphate et le pH a été ajusté à 7. Les isolats ont été testés par ensemencement de 1 ml de l'inoculum (DO= 1,5) dans des flacons contenant 50 ml de milieu liquide. Les milieux inoculés ont été incubés à 30°C dans un incubateur agitateur à 180 rpm pendant 7 jours.

Après incubation la concentration de phosphate libérée dans chaque milieu a été mesurée par la méthode de jaune Vanado-molybdate.

3.2. Optimisation des conditions de cultures

3.2.1. L'effet de la durée d'incubation

La capacité de différents isolats bactériens à solubiliser le phosphate a été testée pour la détermination de la durée optimale d'incubation. 50ml de milieu favorable à la solubilisation à pH de 7 a été inoculé par 1ml de chaque suspension bactérienne. Les milieux inoculés ont été incubés à 30°C pendant 15 jours sous agitation permanente. Chaque 3 jours la quantité de phosphore libérée par les isolats bactériens a été mesurées par méthode de jaune de Vanado-molybdate.

3.2.2. L'effet de température

L'efficacité de solubilisation de phosphate par les isolats bactériens a été testée en variant leur température d'incubation. 50ml de milieu favorable à la solubilisation à pH de 7 a été inoculé par 1ml de chaque suspension bactérienne. Les cultures bactériennes ont été incubées à des températures de 25°C, 30°C, 35°C et 40°C dans un incubateur agitateur.

Matériels et méthodes

La concentration de phosphate libérée à différentes températures de croissance a été mesurée par la méthode de jaune Vanado-molybdate.

3.2.3. L'effet de différentes valeurs de pH

La capacité des isolats à solubiliser le phosphate a été vérifiée en faisant varier le pH initial du milieu de culture de 5, 6, 7 et 8. Pour la variation des valeurs de pH l'NaOH et l'HCl ont été utilisés. Le milieu de culture a été inoculé par les différents isolats puis incubés dans un incubateur agitateur à 180rpm à 30°C pendant 7 jours.

La quantité de phosphate soluble a été mesurée par la méthode de jaune de Vanado-molybdate.

4. Analyse statistique

Les résultats de différents paramètres ont été réalisés en triplicata et traités par analyse de variance par l'utilisation de logiciel « statbox » version 06.04, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

L'étude de la capacité des isolats à libérer le phosphate minérale sur milieu solide et en milieu liquide a permis de démontrer les résultats suivant :

1. Solubilisation du phosphate sur milieu solide

La capacité des isolats microbiens à solubiliser les phosphates a été testée sur le milieu de culture PVK (Pikovskaya) solide contenant du phosphate tricalcique comme seule source de phosphore. Le pouvoir des bactéries à solubiliser le phosphate peut être visuellement remarqué par production d'une zone claire autour des colonies bactériennes.

Les deux isolats ont été testés pour leur capacité à solubiliser le phosphate inorganique sur un milieu de culture solide PVK. Après une incubation de 10 jours à 30°C, les isolats A1 et A2 ont produit une zone claire autour de leurs colonies ce qui reflète une solubilisation de phosphate tricalcique (Figure 03). Ces zones claires entourant les colonies sont dues à la production des acides organiques dans le milieu (*Asea et al., 1988 ; Halvorson et al., 1990*).

La solubilisation des phosphates insolubles a été évaluée qualitativement sur milieu de Pikovskaya en utilisant le phosphate tricalcique comme seule source de phosphore par plusieurs chercheurs (*Ahmad et al., 2008 ; Aarab et al., 2009 ; Oliveira et al., 2009 ; Uma Maheswar et al., 2012 ; Cherif, 2014*).

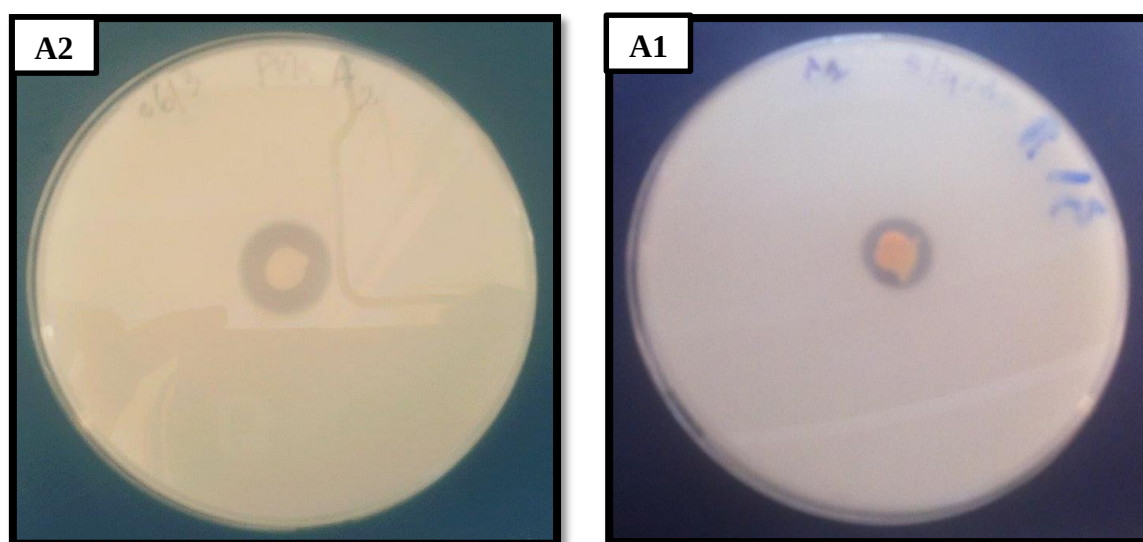


Figure 03 : La solubilisation de phosphore sur le milieu solide Pikovskaya (PVK) par les isolats A1 et A2.

Résultats et discussion

La méthode d'observation de la zone de solubilisation du phosphate ne peut être utilisée que pour des tests qualitatifs (**Meek *et al.*, 2001**). Les diamètres des zones de solubilisation de phosphate sur le milieu solide a été de 16 mm chez l'isolat A2 et de 13 mm chez l'isolat A1 (Tableau 03).

Cependant le calcul de l'efficacité de solubilisation à montrer des résultats variables de 228,57 % chez l'isolat A2 qui a été la plus élevés par rapport à l'isolat A1 qui a été de 216,66 %.

Tableau 03 : Mesure l'efficacité de la solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ chez les deux isolats A1 et A2.

	Isolat A1	Isolat A2
Diamètre d'halo (mm)	13	16
Diamètre de colonie (mm)	06	07
L'efficacité de la solubilisation (%)	216,66	228,57

Les résultats obtenus au cours de ce test concordent avec plusieurs travaux précédents qui ont démontré la capacité des bactéries rhizosphériques de solubiliser les phosphates, ces résultats ont été obtenus par Pandey *et al.*, (2005) qui put identifier une souche (MSP) caractérisée par un pouvoir de solubilisation du phosphate tricalcique élevé, avec une efficacité de la solubilisation de 215%. Sridevi et Mallaiah, (2009) ont détecté une solubilisation maximale chez un isolat de *Rhizobium* avec une efficacité de la solubilisation de 150%.

Les bactéries solubilisant le phosphore sont capables d'améliorer la disponibilité du phosphore pour les plantes surtout dans les sols riches en précipité de phosphate (**Husen, 2003**)

2. Optimisation de solubilisation de phosphate

2.1. Optimisation de La composition de milieu de culture

2.1.1. Effet de différents milieux de culture

Le pouvoir de la solubilisation est basé sur la mesure du phosphore soluble sous forme d'orthophosphate libérée en milieu liquide contenant un composé de phosphate minéral insoluble comme seule source de phosphore.

La capacité des isolats étudiés à solubiliser le phosphate inorganique a été testée en utilisant les quatre milieux liquides : PVK et AYG et NBRIY et NBRIP. L'intensité de la couleur jaune indiquent la quantité de phosphore libérée après l'addition de réactif Barton aux surnagent (Figure 05). Le phosphore soluble a été calculé à partir de l'équation de régression d'après la courbe d'étalonnage (Figure 04).

La quantité de phosphore soluble libérée par les isolats bactériens dans différents milieu de culture varie entre 84,476 à 651,619 μ g/ml. La solubilisation maximale a été observée chez la souche A1 avec une quantité de phosphore soluble de 651,619 μ g/ml en milieu liquide.

- La courbe d'étalonnage

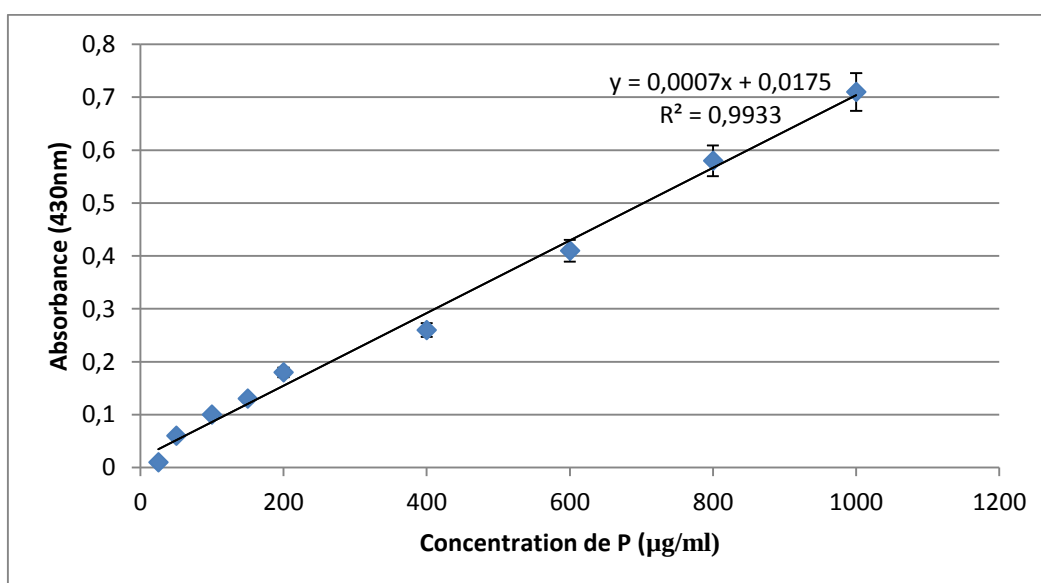


Figure 04 : La courbe standard de phosphore.

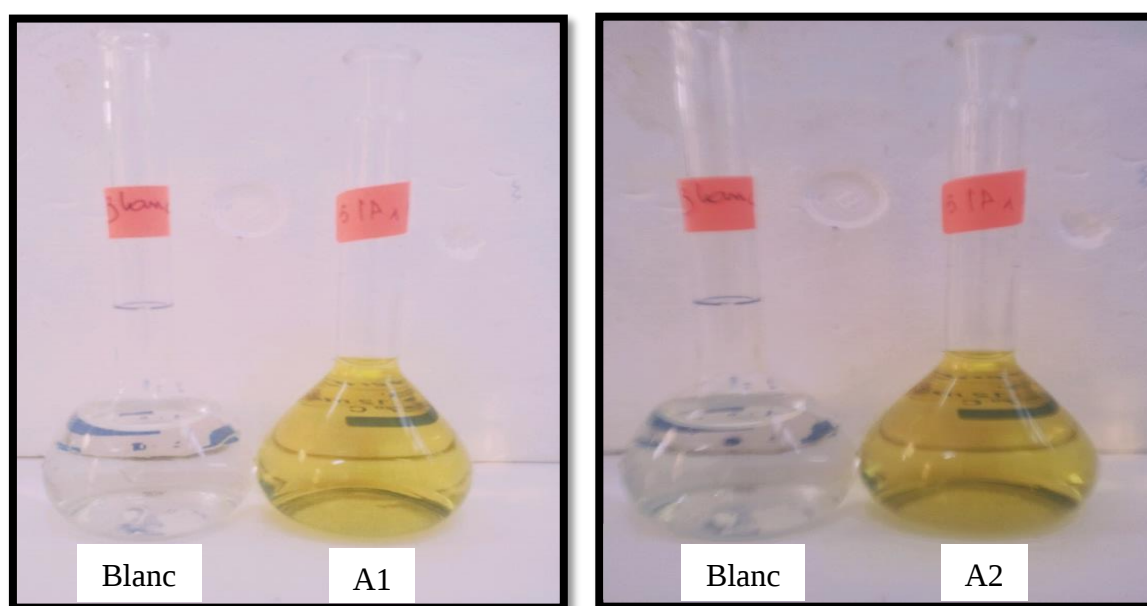


Figure 05 : La solubilisation du phosphate par les deux isolats bactériens (A1, A2).

La comparaison des quantités de phosphore libérée dans différents milieux de culture liquide à déterminer que la meilleure solubilisation a été obtenue dans le milieu NBRIP pour les deux souches A1 et A2 (651,619 μ g/ml, 560,667 μ g/ml) suivie du milieu PVK (377,81 μ g/ml, 372,571 μ g/ml) et du milieu NBRIY (142,59 μ g/ml ,194,476 μ g/ml) et en dernière position le milieu AYG avec un minimum de solubilisation de (84,476 μ g/ml, 177,905 μ g/ml) respectivement (Tableau 04).

L'étude comparative entre le pouvoir de ces isolats étudiés à solubiliser le phosphate inorganique dans différents milieux de culture liquides, atteste que la capacité de ces bactéries à libérer le phosphore soluble dans NBRIP liquide a été la plus élevée (Figure 06, 07)

Le milieu NBRIP liquide est utilisé par plusieurs chercheurs pour la solubilisation de phosphate par les rhizobactéries (**Johri et al., 1999 ; Cherif, 2014**). Ceci classe le milieu NBRIP liquide comme meilleur milieu pour la solubilisation du phosphate par la plupart des MSP (**Nautiyal et al., 2000**).

Le pH est le facteur essentiel dans la solubilisation du phosphate, les résultats en milieu NBRIP montrent que le pH a baissé jusqu'à 3,9. Ces résultats semblent indiquer que l'augmentation de la quantité de phosphate soluble dans le milieu se traduit par une baisse de pH de milieu de culture variant de 5,8 à 3,9 selon l'isolat bactérien alors que le pH initial de tous les milieux de culture était de 7.

En outre, la diminution progressive des valeurs du pH du milieu liquide est en accord avec les conclusions d'Illmer et Schinner (1992) qui ont prouvé que les rhizobiums qui ont une tendance à diminuer le pH du milieu de culture pendant la croissance sont les plus efficaces dans la solubilisation du phosphate tricalcique.

Ces résultats sont cohérents aussi avec les travaux de Whitelaw, (2000), Jeon *et al.*, (2003), Maliha *et al.*, (2004) et Chen *et al.*, (2005), Joseph et Jisha, (2008), Illmer *et al.*, (1992) qui ont montré que la solubilisation du phosphore complexe est en corrélation avec la diminution du pH du milieu de culture.

Perez *et al.*, (2007) ont montré aussi que le pH diminue avec l'augmentation de la population de *rhizobium* pendant la période d'incubation et que cette diminution de pH peut être liée à la production d'acides organiques au cours de la croissance bactérienne.

Les espèces de *Bacillus* (Illmer et Schinner 1992; Wani *et al.*, 2007) et *Pseudomonas spp* (Subbarao, 1988 ; Kucey *et al.*, 1989) sont parmi les communautés bactériennes les plus performantes dans la solubilisation de phosphate.

Résultats et discussion

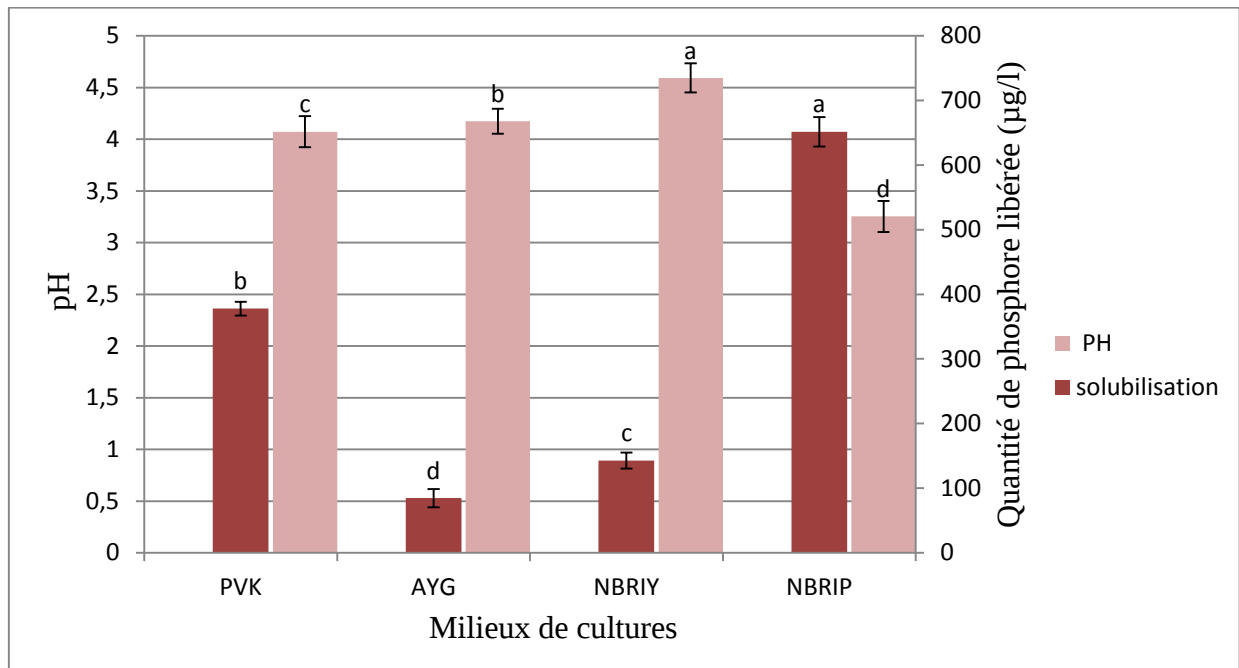


Figure 06 : Effet de divers milieux de culture sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A1.

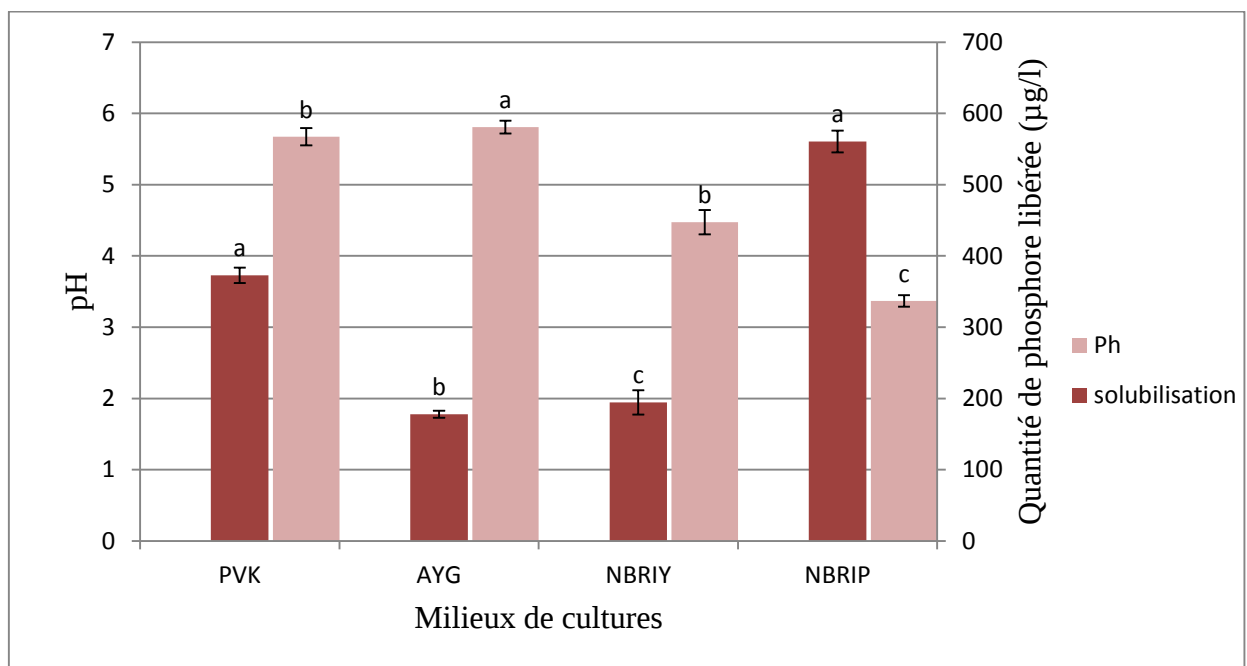


Figure 07 : Effet de divers milieux de culture sur la solubilisation de phosphate par l'isolat A2.

2.1.2. Effet de différentes sources de carbone

La solubilisation du phosphate a été testée avec différents sources de carbone, les quantités de phosphore libérées varient entre 103, 571 $\mu\text{g/ml}$ et 603,531 $\mu\text{g/ml}$. Selon les résultats obtenus il est remarquable que la source la plus préférée pour les deux isolats bactériens A1 et A2 (Figure 08,09) était le glucose avec des concentrations de phosphore libéré de 603,531 $\mu\text{g/ml}$ et 581,198 $\mu\text{g/ml}$ respectivement (Tableau 05).

La solubilisation du phosphate se produit en présence d'une source de carbone avec un maximum de solubilisation du phosphate tricalcique avec le glucose (**Fasim et al., 2002**).

Rose, (1957) a montré que le glucose est la meilleure source d'énergie pour les microorganismes dans un milieu liquide.

La libération du phosphate augmente avec l'augmentation des concentrations de glucose qui peut être attribué à une plus grande disponibilité de la source d'énergie pour la croissance des souches et la production de l'acide (**Yadav et Singh, 1991**).

Une baisse de pH a été accompagnée par l'augmentation de taux de solubilisation.

Résultats et discussion

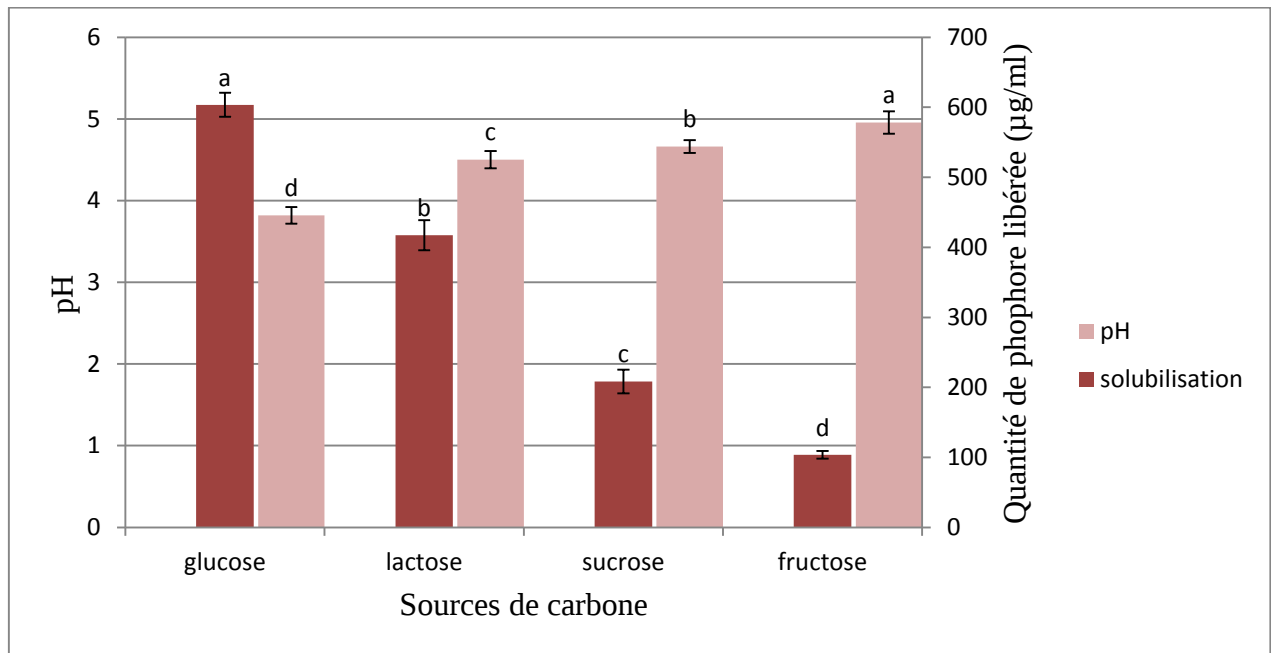


Figure 08 : Effet de diverse source de carbone sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A1.

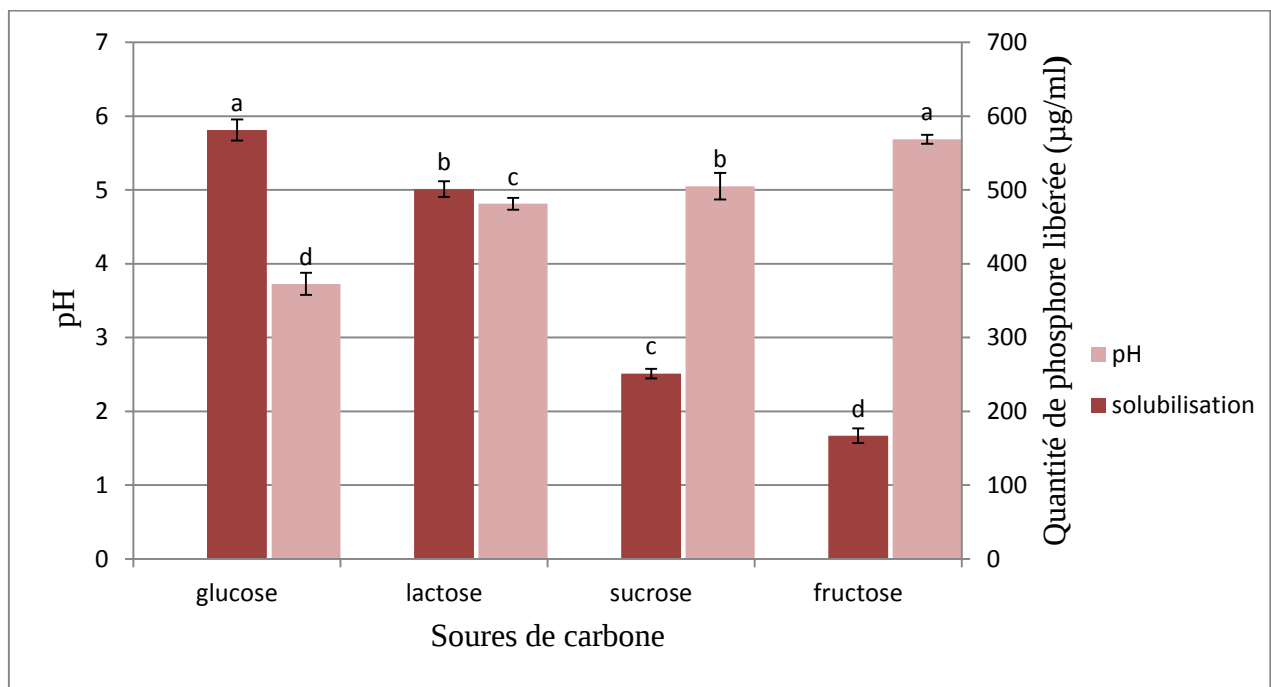


Figure 09 : Effet de diverse source de carbone sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A2.

2.1.3. Effet de différentes sources d'azote

Pour étudier l'effet de la source d'azote sur la solubilisation des phosphates, différentes sources d'azote ont été ajoutées pour remplacer le sulfate d'ammonium dans le milieu NBRIP liquide.

La solubilisation de phosphate a été testée avec différentes sources d'azote, les quantités de phosphore libérées varient entre 100,065 µg/ml et 590,89 µg/ml.

Il a été observé que le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a donné une solubilisation maximale des phosphates pour les isolats A1 et A2 avec des concentrations de phosphore libérées de 590,89 et 578,29 µg/ml respectivement (Tableau 06 et Figures 10,11) suivie par l'urée, la caséine et le NaNO_3 .

Ces résultats sont en concordance avec les études de Kumar et Ram, (2014). En outre, il a observé que les sources d'azote inorganiques favorisent une meilleure solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ par rapport aux sources d'azote organiques.

Les travaux sur l'influence de différentes sources d'azote sur la solubilisation des phosphates en milieu liquide ont révélés une meilleure solubilisation des phosphates en présence de sulfate d'ammonium (**Dave et Patel, 2003 ; Karunai et Ravindran 2012 ; Thakker et al., 1993**).

Une corrélation négative entre les valeurs de pH et la solubilisation du phosphate a été observé chez les deux isolats.

Partie 2

Résultats et discussion

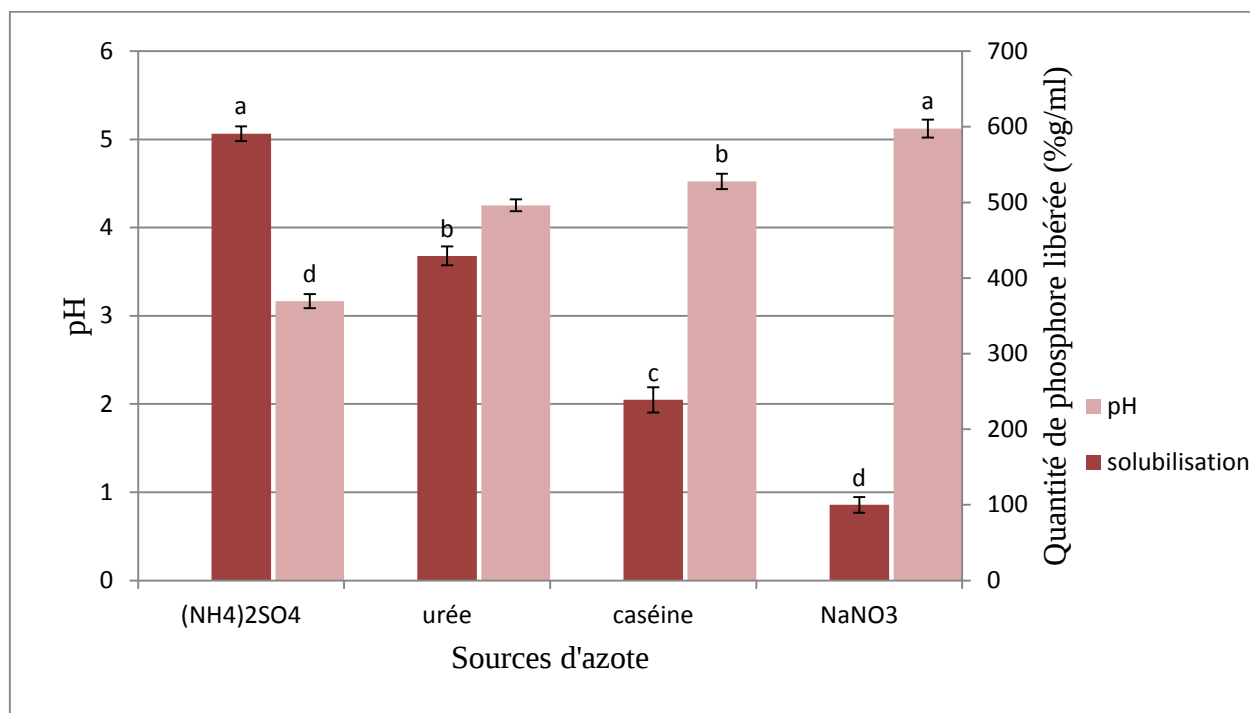


Figure 10 : Effet de diverse source d'azote sur la solubilisation de phosphate par l'isolat A1.

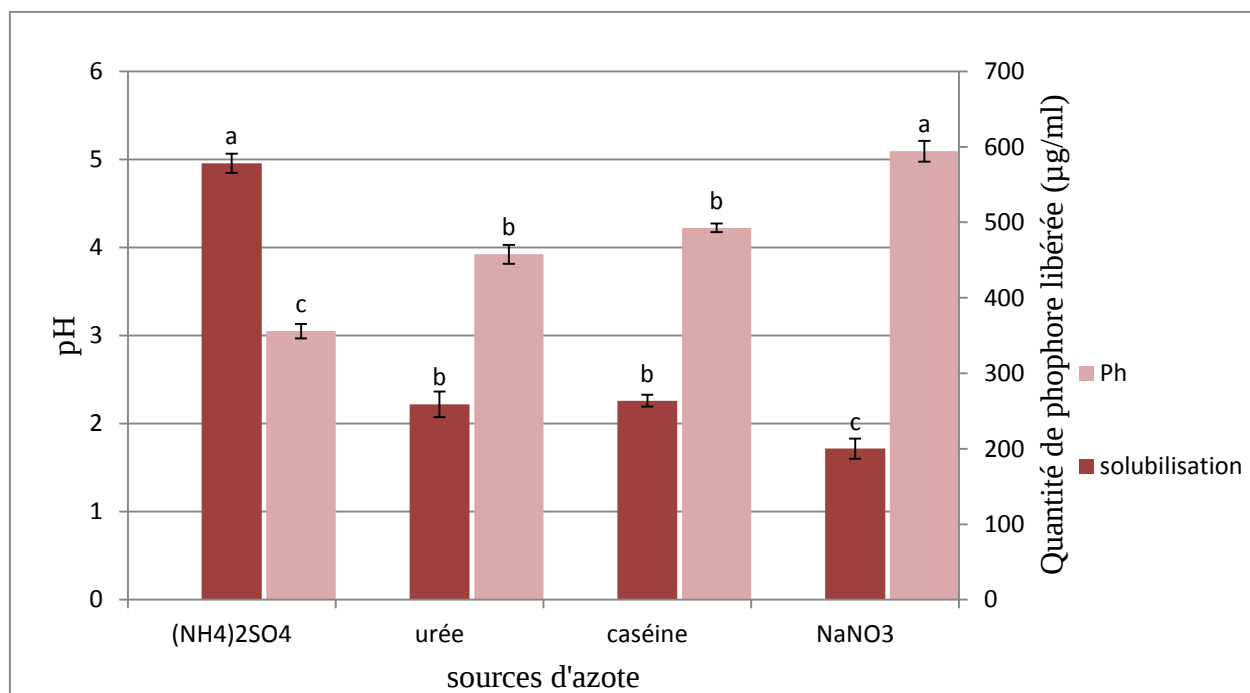


Figure11 : Effet de diverse source d'azote sur la solubilisation de phosphate par l'isolat A2.

2.2. Optimisation des conditions de cultures

2.2.1. L'effet de la durée d'incubation

La capacité de différents isolats bactériens à solubiliser le phosphate a été testée pour la détermination de la durée optimale d'incubation.

L'analyse de variance a révélé un effet significatif de temps d'incubation sur la solubilisation. Les résultats obtenus dans le tableau 07 et les figures 12 et 13 montrent que les valeurs maximales de solubilisation de phosphate tricalcique ont été observées après 6 jours d'incubation, avec un taux de solubilisation qui varie de 505,429 à 816,857 µg/ml de phosphore soluble.

La concentration de phosphate tricalcique solubilisée diminue avec le temps surtout après le 9^{ème} jours d'incubation jusqu'à le 15^{ème} jours qui présente les plus faibles concentrations de phosphore libre de 426,857 à 686,38 µg/ml.

Selon les résultats obtenus par Muleta *et al.*, (2012) il est remarquable que la solubilisation de phosphate tricalcique est maximale après le sixième jours d'incubation .

Résultats et discussion

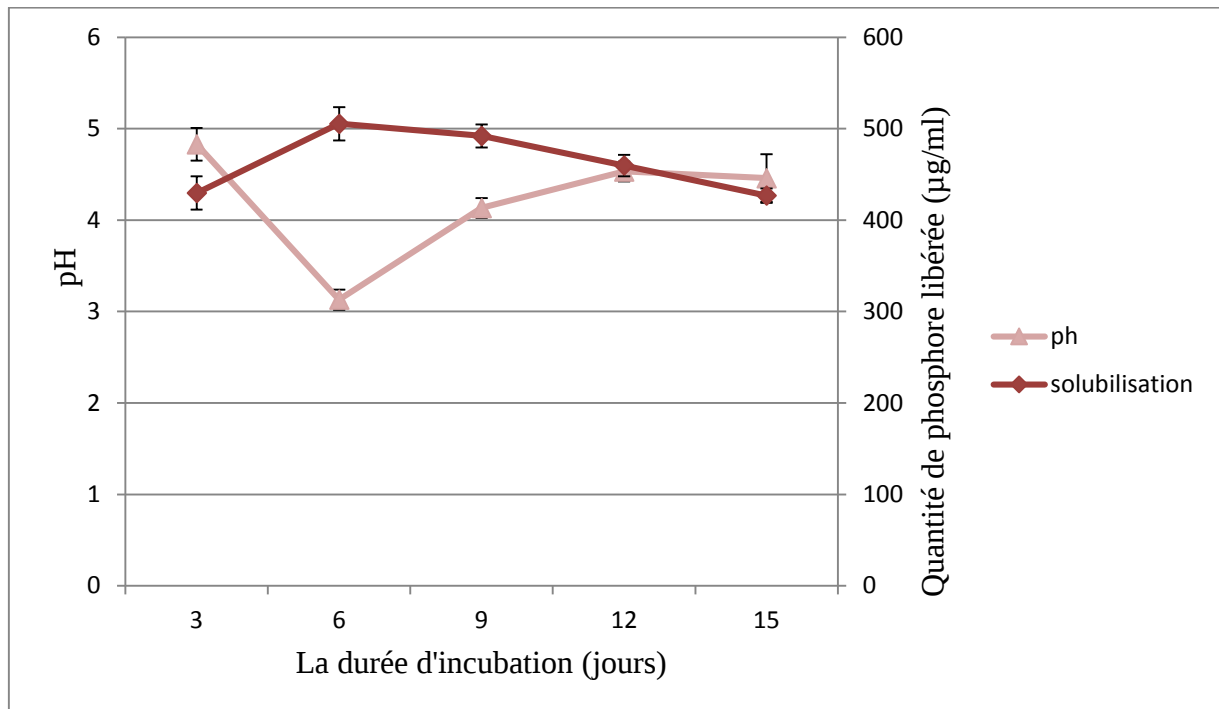


Figure 12 : Effet de la durée d'incubation sur l'activité de solubilisation de phosphore par l'isolat A1.

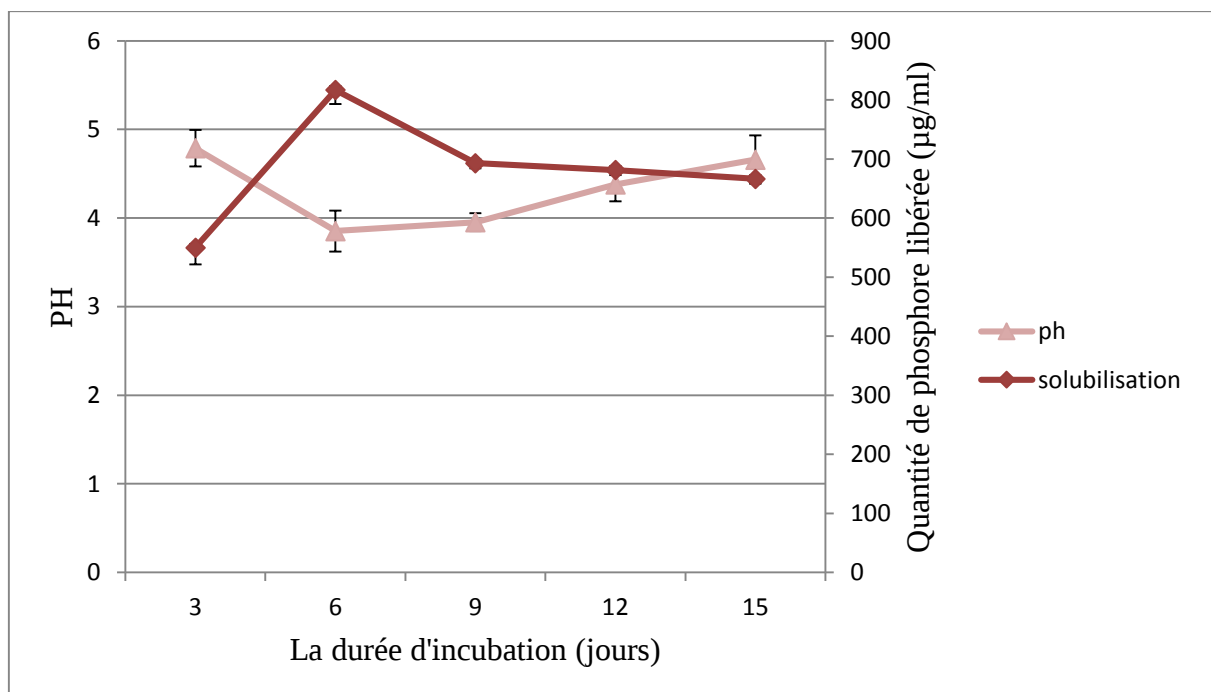


Figure 13 : Effet de la durée d'incubation sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A2.

2.2.2. L'effet de température

La température d'incubation apparaît comme un facteur agissant sur la capacité des isolats à solubiliser efficacement le phosphate tricalcique. Pour les deux isolats étudiés la température 30°C est la température optimale pour la croissance et la solubilisation du phosphate avec un taux de 587,333 et 578, 286 µg/ml de phosphore libéré par l'isolat A1 et A2 respectivement (Figures 14, 15).

A des températures de 25 35 et 40°C des taux faibles de solubilisation ont été remarquée pour les deux isolats varie entre 495,429 µg/ml à 118,286 µg/ml de phosphore libre (Tableau 08)

Des résultats similaires ont été obtenus par Cherif (2014) qui rapportent que la solubilisation de phosphate tricalcique a été maximale à une température de 30°C.

Sayer et Gadd (1998) ont montrés que la température de 28°C est l'optimale pour la solubilisation du phosphate insoluble.

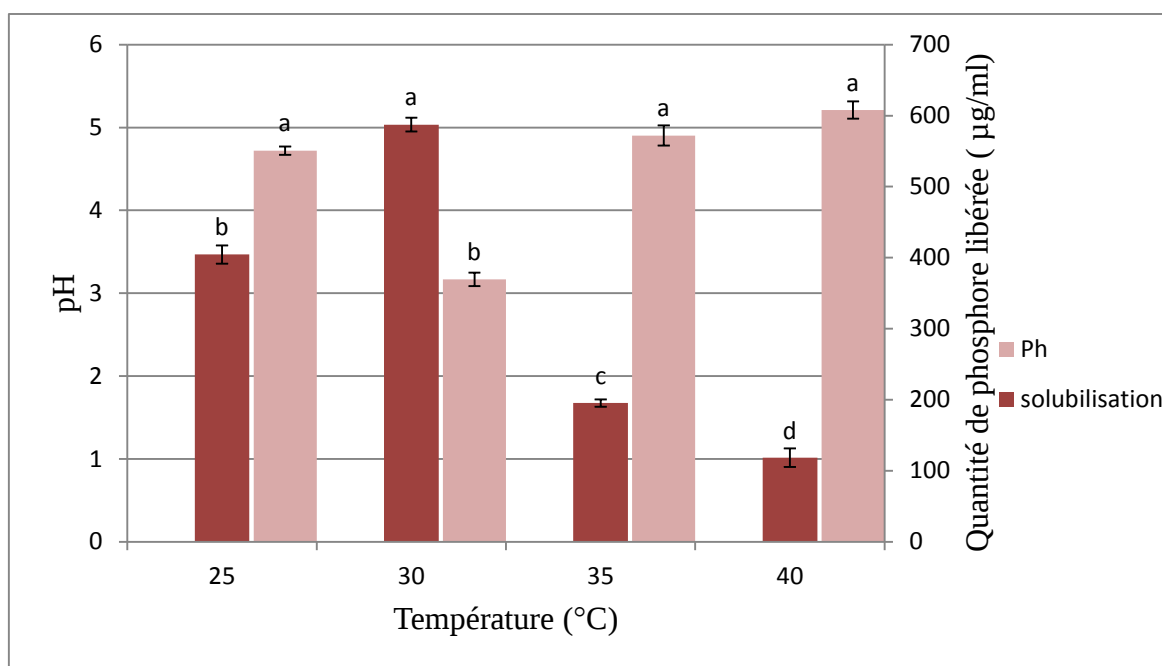


Figure 14 : Effet de la température sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A1.

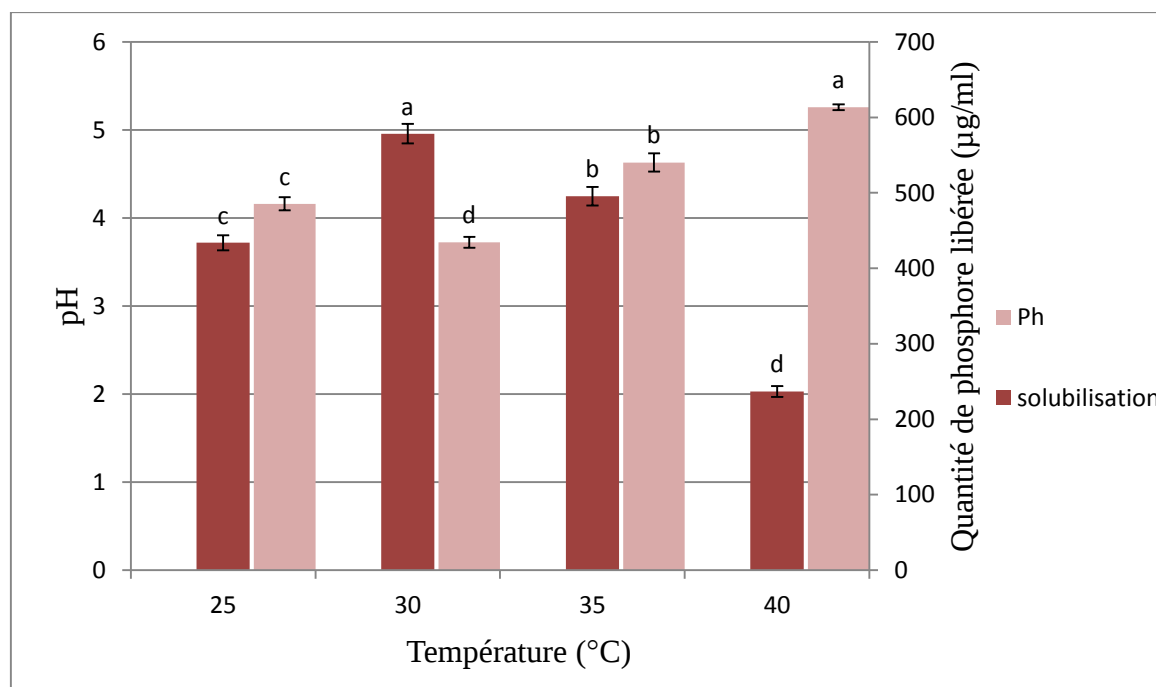


Figure 15 : Effet de la température sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A2.

2.2.3. L'effet de différentes valeurs de pH

La capacité des isolats à solubiliser le phosphate a été testée en faisant varier le pH initial du milieu de culture de 5, 6, 7 et 8.

Les résultats dans le tableau 09 et les figures 16 et 17 montrent que les quantités de phosphore libérées varient entre 196,857 µg/ml à 712,714 µg/ml et les quantités les plus élevées ont été observées à pH 5 pour les deux isolats qui sont de 505,429 µg/ml et 712,714 µg/ml pour A1 et A2 respectivement suivi par le pH 6 par contre le pH 8 présente des quantités de phosphate tricalcique solubilisées les plus faibles.

Nahas, (1996) a montré que la solubilisation du phosphate insoluble dépend d'une multitude de facteurs, dont la diminution du pH est le facteur majeur.

Une corrélation négative entre les valeurs de pH et la solubilisation du phosphate a été observé chez les deux isolats.

Résultats et discussion

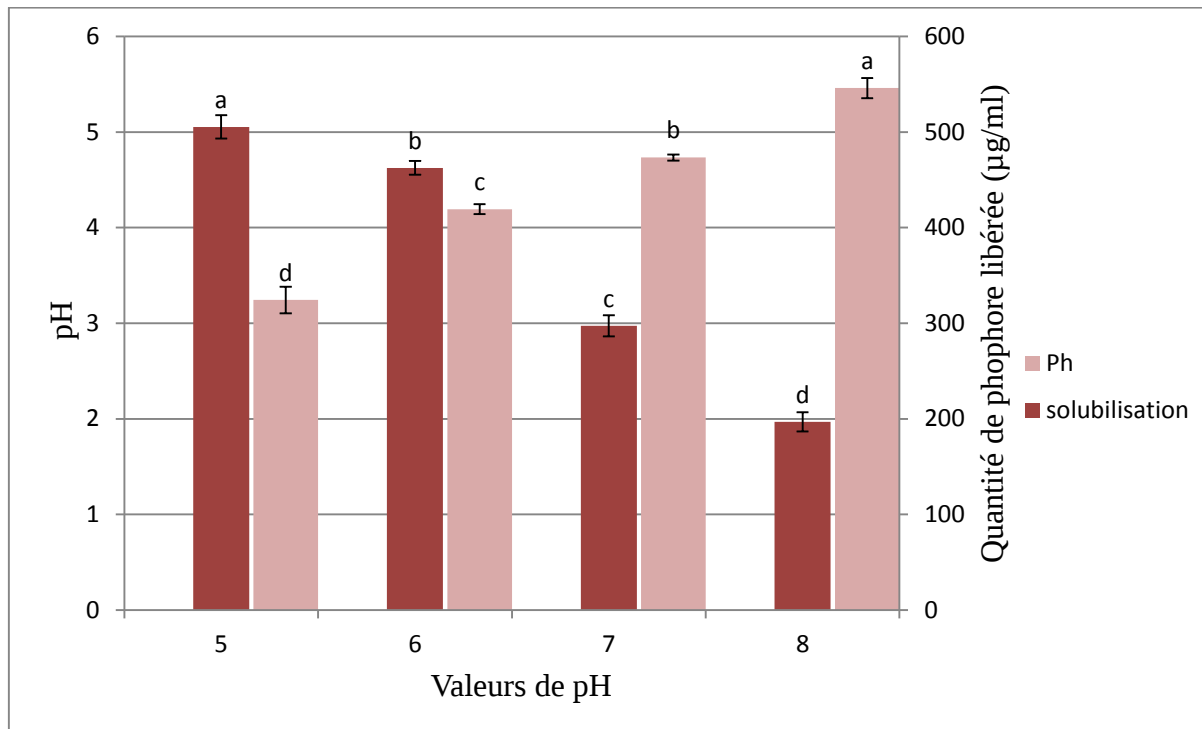


Figure 16 : Effet de différentes valeurs de pH sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A1.

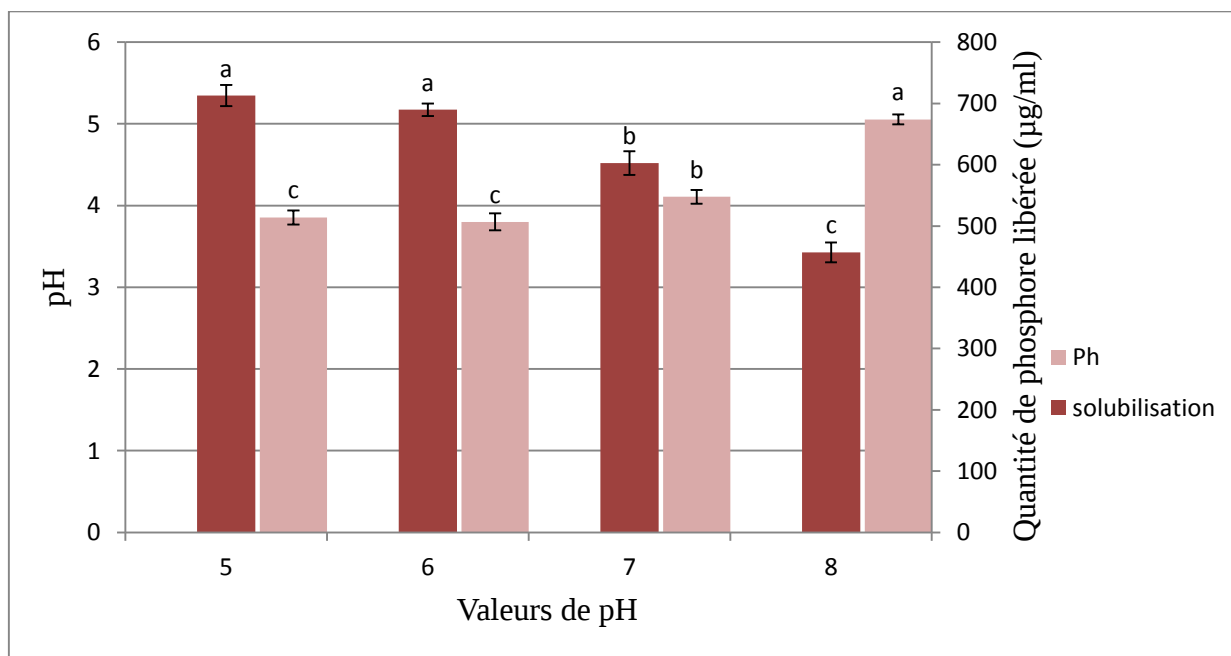


Figure 17 : Effet de différentes valeurs de pH sur la solubilisation du phosphate par l'isolat A2.

Conclusion

Ce travail se proposait sur l'optimisation de la solubilisation de phosphate par des rhizobactéries isolées d'un sol salin et de tester leur capacité à solubiliser le phosphore en étudiant les différents facteurs qui peuvent influencer sur la capacité des isolats sélectionnées à libérer les anions ortho-phosphates dans le milieu.

La capacité de solubilisation du phosphate inorganique insoluble à partir des deux isolats A1 et A2 sélectionnées a été testée qualitativement sur milieu solide et quantitativement en milieu liquide à raison d'optimisation le milieu et conditions de culture pour cette solubilisation.

Les isolats A1 et A2 ont produit une zone claire autour de leurs colonies, ce qui reflète une solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. L'efficacité de solubilisation de phosphate la plus élevée est de 228,57 % qui a été observé chez l'isolat A2 par rapport à l'isolat A1 avec une efficacité de 216,66 %.

La capacité des isolats étudiés à solubiliser le phosphate inorganique a été testée en utilisant les quatre milieux liquides PVK et AYG et NBRIY et NBRIP. La comparaison des quantités de phosphore libérées dans différents milieux de culture liquide qui varient entre 560,667 $\mu\text{g/ml}$ et 651,619 $\mu\text{g/ml}$ a déterminé que la meilleure solubilisation est obtenue dans le milieu NBRIP pour les deux isolatA1 et A2.

La composition de milieu de culture influe considérablement sur l'efficacité de solubilisation de phosphate d'où on a pu déterminer la source de carbone et de l'azote approprié pour une meilleure solubilisation pour chaque isolat. Un maximum de taux de solubilisation chez les deux isolats a été observé en utilisant le glucose et le sulfate d'ammonium comme source de carbone et d'azote respectivement avec des quantités de phosphore libérées variant entre 603,531 $\mu\text{g/ml}$ à 581,198 $\mu\text{g/ml}$ et 578,286 $\mu\text{g/ml}$ à 590,89 $\mu\text{g/ml}$ pour A1 et A2 respectivement. La température influe sur la croissance et la libération des ions ortho phosphates dans le milieu dont la température de 30°C a été considérée comme optimale pour la solubilisation de phosphate chez les deux isolats. La valeur de pH 5.0 de milieu a amené à une solubilisation maximale de phosphore inorganique par les souches utilisées et le 6^{ème} jour d'incubation a été considéré comme un temps optimal pour la solubilisation chez les deux isolats A1 et A2.

En conclusion, pour augmenter la production agricole il faut l'amélioration de la fertilité du sol par introduire des souches performantes qui peuvent mené à mieux solubiliser les sels minéraux dans le sol , identifier génétiquement les souches performantes afin de créer une banque des souches solubilisant le phosphore BSP .Utiliser les souches manipulées génétiquement dans la culture afin de progresser et assister à une grande production agricole ainsi qu'avoir des études expérimentales approfondies par leur inoculation in vivo pour déterminer leur efficacité dans l'amélioration de croissance de plantes en vue d'une application industrielle à grande échelle.

Références

Bibliographiques

- **Aarab, S., Laglaoui, A., Bakkali, M., Arakra, A. (2009).** Sélection des isolats rhizobiens solubilisant le phosphate tricalcique : inoculation des graines du triticales (variété momtaz). *Covaphos III*, 5: 147-152.
- **Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbial Research*, 163: 173-81.
- **Amarger, N. (2002).** Genetically modified bacteria in agriculture. *Biochimie*, 84 (11): 1061-72.
- **Amir, H.G, Shamsuddin, Z.H., Halimi, M.S., Marziah, M., Ramlan, M.F. (2005).** Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 36:2059–2066.
- **AGRITECH .(2014).** Organic Inputs and Techniques. Organic Farming.
- **Asea, P.E.A., Kucey, R.M.N., et Stewart, J.W.B. (1988).** Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biol. Biochem*, 20:459-464.
- **Badraoui, M., Soudi B., Monjahid Y., Bennani F., Mikou M., Bouhlassas.(1995).** Mineralogical consideration in soils fertility management in Morocco, Homes, terre et eaux, Morocco, (25) 100:80-88.
- **Bais, H.P. (2006).** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Ann. Rev. Plant Biol*, 57, 233-266.
- **Baize, D. (2000).** Guide des analyses en pédologie, 2e éd., INRA, Paris, 280p.
- **Bano, N., Musarrat, J. (2003).** Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent. *Cur. Microbiol*, 46: 324-328.
- **Barea, I.M., Pozo, M.J., Azcon, R., Azcon-Aguilar, C. (2005).** Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56 (417): 1761- 1778.
- **Barker, A.V., Pilbeam D. J., (2007).** Handbook of plant nutrition. Books in soils, plants, and the environment; v. 117, 662p.
- **Beaudin, I. (2006).** Revue de littérature : la mobilité du phosphore .version finol.Centre de référence en agroalimentaire du Québec,137p.
- **Beaudin, I. (2008).** Revue de littérature. La mobilité du phosphore Version finale. Ed CRAAQ, 137p.

Références

Bibliographiques

- **Bhattacharjee, S., Lee, L.Y., Oltmanns, H., Cao, H., Veena, J. Cuperus et Gelvin, S.B. (2008).** AtImpa-4, an Arabidopsis importin β isoform, is preferentially involved in Agrobacterium mediated plant transformation. *Plant Cell*, 20: 2661-2680.
- **Brady, N.C, Weil, R.R. (2002).** La nature et les Propriétés des sols, 13e éd. Prentice Hall de l'Inde, New Delhi, 960p
- **Buehler, S., Oberson, A., Rao, I.M, Friesen, D.K et Frossard, E. (2002).** phosphore séquentiels extraction d'une Oxisol de ^{33}P -marqué dans les systèmes agricoles contrastées. *Soil Science Society of Amérique du Journal*, 966: 868-877.
- **Cardon, Z., Gage, D. J. (2006).** Resource exchange in the rhizosphere - molecular tools and the microbial perspective. *Ann. Rev. Ecol*, 37: 459-488.
- **Cattelan, A.J., Hartel, P.G. Fuhrmann, J.J. (1999).** Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 63: 1670-1680.
- **Chaboud, A. (1983).** Isolation purification and chemical composition of maize root cap slime. *Plant Soil*, 73: 395-402.
- **Chen, L.H.; Tang, X.M., Raze, W., Li, J.H., Liu, Y.X., Qiu, M.H., Zhang, F.G., Shen, Q.R. (2011).** *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres continuously cropped cucumbers. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 89:1653–1663.
- **Chen, Y.P., Rehha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A ., Young, C.C. (2005).** Phosphate solubilizing bacteria subtropical soil and their tricalcium phosphate abilities , 34 :33-41
- **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, Université de Ferhat Abbas .Algérie, 134p
- **Ching, P.C., Barber, S.A. (1979).** Evaluation of temperature effects on K uptake by corn, *Agron. J*, 71: 1040-1044.
- **Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Banger, G., D.S. Kim. (1995).** Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 4197-4201.
- **Curtis, T.P., Sloan, W. T., Scannell, J. W. (2002).** Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 10494–10499.

Références

Bibliographiques

- **Dave, A., Patel, H.H. (2003).** Impact of different carbon nitrogen sources on phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens*. Indian J Microbiol, 43(1): 33-36.
- **Demers, I. (2008).** Formes et disponibilité du phosphore de composts utilisés comme amendements de sols agricoles, pour l'obtention du grade de maître des sciences (M. Se.), Laval (Québec), 92p.
- **Dommergues, Y., Mangenot, F.(1970).** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie édit. Paris ,796 pp.
- **Drouet, T.H. (2010).** Pédologie, BING-F-302. Ed. Lagev, 140p.
- **Duthil, P. (1973).** Elément d'écologie .Ed.J.B. TII.Paris, 155-452.

- **Fasim, F., Ahmed, N., Parsons, R., Gadd , G.M (2002).** Solubilization of Zinc salts by bacterium isolated by the air environment of tannery FEMS Micro. Lett , 213,1-6.
- **Fuentes-Ramirez, L., Caballero-Mellado, J. (2005).** Bacterial Biofertilizers. In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* ed. Siddiqui, Z.. Dordrecht, The Netherland: Springer. pp,143-172
- **Elhassan, G.A., Abdelgani, M.E.,Osman, A.G., Mohamed, S.S., Abdelgadir, B.S. (2010).** Potential production and application of biofertilizers in Sudan Pakistan. J. Nutr, 9: 926-934.
- **Espinosa, L., Norman, R., Slaton, N., Daniels, M. (2005).**The nitrogen and phosphorus cycles in soils.University of Arkansas, Division of Agriculture, 4 p.
- **Ezawa, T., Smith, SE., Smith, FA. (2002).** P metabolism and transport in AM fungi. *Plant Soi.*244: 221–230.

- **Gachon L., (1969).** La fertilisation phosphatée. Panorama des recherches récentes effectuées en France. Phosphore Agri, 53. 17 -26.
- **Gagnon, E., Beaulieu, R. (2002).** Utilisation du phosphore dans les engrais de démarrage. Min. env. S.A.A.A.C.Quebec,26p.
- **Gervy, R. (1970).** Les phosphates et l'agriculture. Ed. Dunod. Paris , 298p.

- **Gholami, A., Biyari, A., Gholipoor, M., Rahmani, H.A. (2012).** Growth promotion of maize (*Zea mays* L.) by plant-growth promoting rhizobacteria under field conditions. Communications in soil science and plant analysis, 43: 1263-1272.

Références

Bibliographiques

- **Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M.N., van Tuinen, D., Redecker, D., et Wipf, D. (2010).** Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20(8):519-30
- **Giroux, M., Carrier, D., Beaudet, P. (1996).** Problématique et méthode de gestion des charges de phosphore appliquées aux sols agricoles en provenance des engrais de ferme. *Agrosol* 9, no, 1: 36-45.
- **Giroux, M., Tran, T.S. (1994).** Etude des facteurs affectant l'évolution des teneurs en P et K des sols agricoles. *Agrosol*, 7 (2) : 23-30.
- **Gray, E.J., Smith, D.L. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signalling processes. *Soil Biol. Biochem*, 37: 395- 412.
- **Hafsi, M. (1990).** Influence de la fertilisation phospho-azotée sur la variété de blé dur (*Triticum durum*) « Mohamed Benbachir » cultivée dans les conditions des hautes plaines sétifiennes. E.N.S.A, 124p.
- **Hallmann, J, Qualt-Hallmann, A, Mahaffee, W.F., Kloepper, J.W. (1997).** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J. Microbiol*, 43, 895–914.
- **Halvorson, H.O., Keynan, A., Kornberg, H.L. (1990).** Utilization of calcium phosphates for microbial growth at alkaline pH. *Soil Biol. Biochem*, 22:887-890.
- **Hanway, J.J., Olson, R.A. (1980).** Phosphate nutrition of corn, sorghum, soybeans, and small grains. In: Khasawneh, Sample, Kamprath, Eds. *The Role of Phosphorus in Agriculture*.
- **Harrison, A.F. (1987).** Soil organic phosphorus: a review of world literature. CAB International, Wallingford, 257p.
- **Hedley, M. J., Hussin, A., Bolan, N. S. (1990).** New approaches to phosphorus fertilisation. Phosphorus requirements for sustainable agriculture in Asia and Oceania. *Proceedings of a symposium*, 125-142.
- **Henintsoa, M.(2011).** Disponibilité du phosphore et productivité agricole sous système de culture à rotation biennale voandzou-riz pluvial et système de culture pluviale continue de riz. Cas d'un sol ferrallitique de « tanety » sis à Laniera. Mémoire de fin d'études en vue d'obtenir le Diplôme d'Ingénieur Agronome de l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. Spécialisation Agriculture, 87 p.
- **Hinsinger, P. (2001).** Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. *Plant and soil*, 237: 173-195.

Références

Bibliographiques

- **Hirsch, A.M., Bauer, W.D., Bird, D.M., Cullimore, J., Tyler, B., Yoder, J.I. (2003).** Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecology*, 84: 858-868.
- **Hountin J. A.(1996).** Capacité d'adsorption du phosphore et distribution des éléments C, N et P dans un sol agricole traité avec du lisier de porc pendant 14 ans. Thèse pour l'obtention du grade de Philosophie Doctorat en sci de l'eau et de L'environnement, NRS-EAU, Québec (CANADA), 166.
- **Horner-Devine, M. C., Leibold, M. A., Smithe, V. H., Bohannon, B. J. M. (2003).** Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecol. Lett.*, 6: 613-622.
- **Illmer, P., Schinner, F. (1992).** Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol. Biochem.*, 24:389–395.
- **Jeon, J.S., Lee, S., Kim, H.Y., Ahn, T.S., et Song, H. (2003).** Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *The J. Microbiol. Soc. Korea*. 41: 271–276.
- **Johri, J.K., Surange, S., Nautiyal, C.S. (1999).** Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Curr. Microbiol.*, 39(2): 89-93.
- **Joseph, S., Jisha, M.S. (2008).** Buffering reduces phosphate solubilizing ability of selected strains of bacteria. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* Khartoum, Sudan, 4: 110–112.
- **Karunai Selvi, B., Ravindran, A.D. (2012).** Influence of different carbon and nitrogen sources on insoluble inorganic phosphate solubilization by *Bacillus subtilis*, 2(3): 441-445
- **Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M.S. Naqvi, S. M. S., Rasheed, M. (2009).** Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production. *J. agric. biol. Sci.*, 11: 48-58
- **Khan, M.S., Zaidi, A., Ahmad, E. (2014).** Mechanism of phosphate solubilisation and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms, in *Phosphate Solubilizing Microorganisms*, 34–35.
- **Khan, M.S., Zaidi, A., Javed, M. (2009).** *Microbial Strategies for Crop Improvement*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp: 1-371

Références

Bibliographiques

- **Kirk, G. J.D.(1999).** A model of phosphate solubilization by organic anion excretion from plant roots. *European Journal of Soil. Science*, 50, 369-378.
- **Kent, A.D., Triplett, E.W. (2002).** Microbial communities and their interactions in soil land rhizosphere ecosystems. *Ann.Rev. Microbiol*, 56: 211-236.
- **Kucey, R.M.N., Janzen, H.H., Legget, M.E. (1989).** Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron*, 42:199-228.
- **Kumar, A. (2010).** Development of a liquid biofertilizer with indigenous microbial strains of himachal pradesh. Thèse de doctorat. India ,171p
- **Kumar, M. G., Ram, K. R. (2014).** Phosphate Solubilizing Rhizobia Isolated from *Vigna trilobata*. *American Journal of Microbiological Research*, 2(3):105-109.
- **Kim, KY., Jordan, D.GA ., Donald, M.(1998).** Enterobacter agglomerans, phosphate solubilising bacteria, and microbial activity in soil: effect of carbon sources. *Soil Biol. Biochem*, 30:995–1003.
- **Lambert, J.C. (1979).** La fertilisation phosphatée. *revue cultivars*. N° 115, pp : 96-97.
- **Lopez-Bucio, J., Nieto-Jacobo, M.F., Ramirez-Rodriguez, V., Herreraestrella, L. (2000).** Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science*, 160: 1-13.
- **Lugtenberg, B.J.J., Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloomberg, G.V. (2002).** *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81:373-383.
- **Lynch, J.M. (1990).** The Rhizosphere. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- **Mackay, A.D., Barber, S.A. (1984)** .Soil temperature effects on root growth and phosphorus uptake by corn, *Soil Sci. Soc. Am. J*, 48: 818-823.
- **Mackey, K.R. M., Paytan, A. (2009).** Phosphorus cycle. *Encyclopedia of Microbiology*. Moselio Schaechter (ed.), Oxford, pp,322-334.
- **Maliha, R., Samina, K., Najma, A., Sadia, A.,Farooq, L. (2004).** Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms under in vitro conditions. *Pakistan J. Biol. Sci*, 7: 187–196.
- **Marschner, H. (1993).** Mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press Ltd., Harcourt Brace & Co. Publishers.
- **Marschner, P. (1995).** Mineral nutrition in higher plants. Academic Press, London.
- **Mckenzie, R. A., Prent L. E., Macleod, J.A. (2003).** Influence of soil texture on

Références

Bibliographiques

fertilizer and soil phosphorus transformation in Gleysolic soils. *Can.j.soil.sci.soc.* N°81: 395-403.

- **Meek, B.D., Graham, L.E., Donova, T.J., Mayberry, K.S. (2001).** Phosphorus availability in calcareous soil after high loading rates of animal manure. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 43: 741-744.
- **Miethling, R., Wieland, G., Backhaus, H., Tebbe, C.C. (2000).** Variation of microbial rhizosphere communities in response to crop species, soil origin, and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33. *Microbial Ecology*, 41: 43- 56.
- **Mkhabaela, M.S., Warman, P.R. (2005).** The influence of municipal solid waste compost on yield, soil phosphorus availability and uptake by two vegetable crops grown in a Pugwash sandy loam soil in Nova Scotia. *Agr. Ecosys. Environ.* 106: 57-67.
- **Michel, C.A., Thiens, S. J. (2003).** Phosphorus bioavailability following incorporation of grain manure crops. *Soil.sci.soc.Am.j*, V67: 1186-1194.
- **Michel, T. (2005).** Quelques notions de la fertilisation. Ed. Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec, 50p.
- **Miransari, M. (2011).** Soil microbes and plant fertilization. *Appl Microbiol Biotechnol*, 92: 875-885.
- **Morel, C. (2002).** Caractérisation de la phytodisponibilité du phosphore du sol par la modélisation du transfert des ions phosphates entre le sol et la solution. Thèse d'habilitation INRA Bordeaux, 80p.
- **Morel, R. (1996).** Les sols cultivés. Lavoisier, deuxième édition, 378 p.
- **Muleta, D., Fassil, A., Elisabe, B., Granhall, U. (2012).** Phosphate-solubilising rhizobacteria associated with *Coffea arabica* L. in natural coffee forests of southwestern Ethiopia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12 :73-84.
- **Mullen, L.C. (2003).** Phosphorus Nutrition for Winter Crops. Agfact P1.4.5, second edition. District Agronomist, Dubbo NSW Agriculture, 16p.
- **Nahas, E. (1996).** Factors determining rock phosphate solubilization by microorganism isolated from soil. *World J. Microb. Biotechnol*, 12:18-23
- **Nautiyal, C.S. (1999).** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilization microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett*, 170: 265-270.

Références

Bibliographiques

- **Nautiyal, C.S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., Verma, D. (2000).** Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiol. Lett*, 182: 291-296.
- **Nguyen, C., Yan W, Le Tacon F., Lapyire F. (1992).** Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P. D. Orton. *Plant Soil* 143, 193-199.
- **Oliveira, C.A., Alves, V.M.C., Marriel, I.E., Gomes, E.A., Scotti, M.R., Carneiro, N.P., Guimaraes, C.T., Schaffert, R.E., Sa, N.M.H. (2009).** Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(9) :17782-1787.
- **Olsen, S.R., Sommers, L.E (1982).** Phosphorus. *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbial Properties*. A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), second ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 403-430.
- **Pandey, P., Kang, S.C., Maheshwari, D.K. (2005).** Isolation of endophytic plant growth promoting *Burkholderia* sp. MSSP from root nodules of *Mimosa pudica*. *Current Science*, 89: 177-180.
- **Pereda Campos, M.V. (2008).** Contribution à l'étude des transporteurs de phosphate de la famille PHT1 chez le Peuplier (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) et le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* (Maire) P. D. Orton. Thèse de doctorat. Biologie Végétale et Forestière. Nancy (France), 141p.
- **Perez, E. S., Miguel, M.B., Yarzabal, M. (2007).** L'isolement et la caractérisation des bactéries solubilisant le phosphate-minéral d'origine naturelle coloniser une croûte dans le limonitique-est du Venezuela région sud. *Soil Biol*, 39 : 2905-2914.
- **Pikovskaya, R.I. (1948).** Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17: 362-370.
- **Pierzynski, G.M., Sims, J.T., Vance, G.F. (2000).** *Soils and environmental quality*. 2nd ed, CRC. Pres. New York, 459p.
- **Plassard, C, Robin, A. (2015).** Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol ?. *Innovations Agronomiques*, 43:115-138.
- **Podile, A.R., Kishore, G.K. (2006).** Plant growth-promoting rhizobacteria. *In: Gnanamanickam SS (ed) Plant-associated bacteria: rhizosphere bacteria*. Springer, Netherlands, pp 195–230.

Références

Bibliographiques

- **Pradhan, N., Sukla, L.B. (2005).** Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *Afr. J. Biotechnol*, 5(10): 850-854.
- **Raghothama, K.G. (1999).** Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 665-693.
- **Razi, S. (2006).** Etude expérimentale de l'influence du gypse sur la dynamique du Phosphore dans le sol et sa cinétique d'absorption par le Ray-grass. Thèse. MAG. AGR. Batna (Algérie): 3-36p.
- **Richardson, A. (2001).** Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol*, 28, 897-906.
- **Richardson, A.E. (1994).** Soil microorganisms and phosphorus availability. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR, Grace PR (eds) *Management of the soil biota in sustainable farming systems*. CSIRO Publishing, Melbourne, pp 50–62
- **Richardson, A.E., Hocking, P.J., Simpson, R.J., George, T.S. (2009).** Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. *CSIRO Publishing. Crop and Pasture Science*, 60 : 124-143.
- **Rose, R.E. (1957).** Techniques of determining the effect of micro-organisms on insoluble inorganic phosphates. *N. Z. J. Sci. Technol.* 38:773-780.
- **Saharan, B.S., Nehra, V. (2011).** Plant Growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sci. Med. Re.*, 21.
- **Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H., Gobi, T.A., (2013).** Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* 2, 587.
- **Scheiner, J.D. (2005).** Spéciation du Carbone, de l'azote et du Phosphore de différentes boues de stations d'épuration au cours de leurs incubations contrôlées dans deux types de sol. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, 218 p.
- **Sharma, K., Dak, G., Agrawal, A., Bhatnagar, M., Sharma, R. (2007).** Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seed and seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol*, 1: 61-63.
- **Sivan, A, Chet, I. (1992).** Microbial control of plant diseases. In: Mitchell R, editor. *Environmental Microbiology*. New York: Wiley-Liss, pp. 335–54.
- **Smith, F.W., Mudge, S.R., Rae, A.L., Glassop, D. (2003).** Phosphate transport in plants. *Kluwer Academic Publishers. Plant and Soil* , 248 : 71-83.

Références

Bibliographiques

- **Smith, S.E., Read, D.J. (2008).** Mycorrhizal symbiosis. 3rd edition, Academic Press, NewYork, USA.
- **Sprent, J.I. (2001).** Nodulation in Legumes. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- **Sridevi, M.L ., Mallaiah, K.V. (2009).** Phosphate solubilization by Rhizobium strains. Indian J Microbiol, 49(1):98-102.
- **Stroia, C. (2007).** Etude de fonctionnement de l'écosystème prairial en conditions de nutrition N et P sublimitantes. Application au diagnostic de nutrition. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, 256 p.
- **Subba Rao, NS. (1988).** Phosphate solubilizing micro-organism. *In*: Biofertilizer in agriculture and forestry. Regional Biofertilizer Development Centre, Hissar, India, 133–142.
- **Thakker, J., Narsian, V., Patel, H.H. (1993).** Inorganic phosphate solubilization by certain soil bacteria. Indian J Exp Biol, 31: 743-746.
- **Tokala, R.k., Strap, J.L.,Jung, C.M.(2002).** Novel plant-microbe rhizosphère interaction involving streptomyces lydicus WYEC108 and the pea plant (pisum sativum) Applied and Envirommental Microbiology, 68 :2161-2171.
- **Uma Maheswar, N., Sathiyavani, G. (2012).** Solubilization of phosphate by Bacillus Sps, from groundnut rhizosphere (Arachishypogaea L). Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(8):4007-4011.
- **Van der Heijden, M.G., Bardgett, R.D., van Straalen, N.M. (2008).** The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems.Ecol Lett, 11(6):651.
- **Waddington, S.R. (1998).** Organic matter management: From science to practice. Soil Fertil., 62:24–25.
- **Wani, P.A., Khan, M.S., Zaidi, A. (2007).** Synergistic effects of the inoculation with nitrogen fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria on the performance of field grown chickpea. J. Plant Nutr. Soil Sci, 170: 283-287.
- **Whippes, J. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp Bot, 52: 487-511.
- **Whitelaw, M.A. (2000).** Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Adv. Agron, 69:99-151.

Références

Bibliographiques

- **Yadav, B.K, Verma, A .(2012).** Phosphate solubilization and mobilization in soil through soil microorganisms under arid ecosystems, the functioning of ecosystems. In: Ali M (ed) In Tech. ISBN: 978-953-51-0573-2.
- **Yadav, K., Singh, T. (1991).** Phosphorus solubilization by microbial isolate from a Calcinuvent. J. Indian Soe. Soil Sei, 39 : 89-93.
- **Yang, X., Chen, L., Yong, X., Shen, Q. (2011).** Formulations can affect rhizosphere colonization and biocontrol efficiency of *Trichoderma harzianum* SQR-T037 againts Fusartium wilt of cucumbers. NBiol. Fertil. Soils, 47:239–248.
- **Zemoura, A .(2005).** Etude comparative de quelques méthodes de dosage du phosphore assimilable des sols calcaires en région semi-aride (w. de Batna). Thèse MAG, Batna (Algérie), 194p

Première Partie

LIGWIGLG L8LLIG

Synthèse

2ANfNG2G

Bibliographique

BIPJIO&LSBNJQNG

Chapitre I

Le phosphore

Chapitre II

Les rhizobactéries

Deuxième Partie

DEUXIÈME PARTIE

Etude

ETUDE

Expérimentale

EXPÉRIMENTALE

Matériels

et

Méthodes

Résultats

et

Discussion



Sommaire

SOMMAIRE



Introduction

INTRODUCTION



Conclusion

CONCLUSION

Références

Bibliographiques