République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Présenté par

AMARA Ibtissem et BELARBI Khoula

Pour l'obtention du diplôme de

MASTERS EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie fondamentale

THÈME

Évaluation des effets d'un traitement bactérien sur la germination et le développement précoce des plantules soumises au stress salin

Soutenue le : 24/06 /2026

DEVANT LE JURY

Présidente : Dr. BELKACEM Imane	MCA	U. Mostaganem
Encadrante : Dr. KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima	MCB	U. Mostaganem
Co-encadrante : Dr. BEKENNICHE Nahla	MCA	U. Mostaganem
Examinatrice : Dr. SISBANE Ismahene	MCB	U. Mostaganem

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu tout puissant ; qui nous a donné la santé, la volonté, et la patience pour l'accomplissement de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements et notre profonde gratitude :

À notre promotrice**, Dr. KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima**, Maître de Conférences « B » à l'Université de Mostaganem, d'avoir accepté de nous encadrer pour notre projet de fin d'étude ;

Nous la remercions pour la proposition du sujet, pour sa patience, sa rigueur scientifique, ses précieux conseils, sa disponibilité, et pour sa bienveillance tout au long de cette étude.

Au **Dr. BEKENNICHE Nahla**, Co-encadrant pour nous avoir fait, l'honneur de contribuer à ce travail ;

Au **Dr. BELKACEM Imane**, Maître de Conférences « A » à l'Université de Mostaganem, qui nous fait l'immense honneur de présider le jury de notre mémoire et d'y faire part pour évaluer ce travail ;

Au **Dr. SISBANE Ismahene,** qui a accepté d'avoir accepté de faire partie du jury, de prendre de son temps pour lire, examiner et juger la valeur scientifique de cette étude.

Au **Dr. HAMOUM Hakim,** pour l'intérêt scientifique qu'il a porté à ce sujet.

Au personnel du Laboratoire Pédagogique de Microbiologie (03) de l'Université de Mostaganem, d'avoir mis à notre disposition toutes les facilités et les moyens afin de mener à bien la réalisation de notre partie pratique.

À tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Mostaganem qui ont contribué à notre formation scientifique depuis nos premiers pats à l'université.

Enfin, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

DÉDICACE

À mes chers parents,

Pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours universitaire.

Que Dieu vous accorde santé et longue vie.

À mon aimable binôme Ibtissem,

Avec qui j'ai partagé les moments de stress, de fatigues et de joies durant la réalisation de ce travail. Ce manuscrit est le fruit de notre acharnement et persévérance.

À mes frères et sœurs,

Pour leurs encouragements continus et pour leur intérêt constant et leurs soutiens indéfectibles tout au long de mon parcours universitaire.

À toute ma famille,

Proches et amis, qui ont toujours cru en moi et m'ont soutenu de près ou de loin dans les moments les plus importants.

À tous ceux qui m'aiment, et me souhaitent la réussite et que ces quelques lignes n'ont pas cités.

Belarbi khoula

DÉDICACE

Au terme de mon parcours universitaire, c'est à vous, mes précieux parents, que je dédie du plus profond de mon cœur ce modeste travail, qui est avant tout le fruit de votre amour, de vos sacrifices et de vos prières.

À la mémoire de mon cher père,
Qui aurait tant aimé vivre ce moment de joie à mes côtés. À l'homme d'exception qui m'a tout donné, dont les valeurs, la bienveillance et les sacrifices continuent de guider chacun de mes pas. Que Dieu le Tout-Puissant l'accueille dans Son vaste paradis et lui accorde Sa miséricorde infinie. Tu resteras à jamais ma plus grande fierté et mon éternel modèle.

À ma tendre mère,
Aucun mot, aucune dédicace ne saurait expressément traduire l'immensité de ma gratitude envers toi. Je te dédie ce travail pour te remercier du plus profond de mon âme pour ton soutien indéfectible, ta patience infinie et tes sacrifices inestimables tout au long de mes études. Tu as été mon pilier, ma force dans les moments de doute, et celle qui a cru en moi contre vents et marées. Que Dieu te préserve, t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur, et me donne la chance de pouvoir un jour te rendre une partie de ce que tu as fait pour moi.

À mon cher oncle, à sa petite famille, ainsi qu'à ma chère tante,
Pour leur présence chaleureuse, leur affection constante et leur précieux soutien.

À ma chère binôme Khoula,
Pour sa précieuse amitié, ses encouragements continus et sa présence fidèle à mes côtés tout au long de ce parcours.
À mes frères et sœurs,
Pour leur amour, leur complicité et leur présence constante à mes côtés.

À tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin.

Amara Ibtissem

Listes des tableaux

Tableau 1 : Principales causes de la salinité primaire..... **05**

Tableau 2 : Principales causes de la salinité secondaires **06**

Tableau 3 : Quelques réactions Vitales des plantes faces aux stress salin..... **10**

Tableau 4 : Présentation de la composition, des caractéristiques et rôle de la Rhizosphère...**12**

Tableau 5 : Mécanismes d'action des PGPR. **15**

Tableau 6 : Résultats des caractères physiologiques et biochimiques des cinq isolats……...**26**

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'évolution d'un sol à partir de la roche-mère ……**04**

Figure 2 : Les interventions des PGPR sur la croissance des plantes …….....11

Figure 3 : Préparation du solution mère (A : le chou blanc / B : la tomate) …… .**16**

Figure 4 : Représentation schématique du dispositif expérimental in-vivo et de la chronologie des traitements salins (NaCl) chez le blé ……. ...**23**

Figure 5 : Observation au microscope optique de la souche C1 apparenté au genre *Enterococcus sp* (G x100).....**27**

Figure 6 : Histogramme des indices de solubilisation du phosphore.....**30**

Figure 7 : Histogramme des taux de germination des graines de blé selon les différents lots de traitement salin ……**31**

Figure 8 : Histogramme des longueurs des biomasses végétales et Racinaires selon les différents lots du traitement salin……... ……. ...……...**33**

Figure 9 : Histogramme des mesures des Poids frais moyen de la biomasse végétale (Plantules et racines) **35**

Figure 10 : Résultats du dosage des chlorophylles selon les lots de traitement salin ..……...**36**

Figure 11 : Histogramme du dénombrement de la population bactérienne du sol expérimentale……. …..**38**

Liste des abreveation

Abréviation	Signification
PGPR	Plant Growth-PromotingRhizobacteria (Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes)
NaCl	Chlorure de sodium
CE	Conductivité électrique
Na^+	Ion sodium
Cl^-	Ion chlorure
K^+	Ion potassium
Ca^{2+}	Ion calcium
CO_2	Dioxyde de carbone
ROS	ReactiveOxygenSpecies (Espèces réactives de l'oxygène)
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
SOD	Superoxyde dismutase
CAT	Catalase
APX	Ascorbate peroxydase
GPX	Gaïacol peroxydase
SOS1	Salt Overly Sensitive 1
IAA	Acide indole-3-acétique (Auxine)
ISR	InducedSystemic Resistance (Résistance systémique induite)
MRS	Man, Rogosa and Sharpe
TSI	Triple Sugar Iron
PVK	Milieu de Pikovskaya
HCl	Acide chlorhydrique
NaOH	Hydroxyde de sodium
UFC	Unités Formant Colonies
ADN	Acide Désoxyribonucléique
pH	Potentiel Hydrogène
mM	Millimolaire
°C	Degré Celsius
P1	Souche bactérienne témoin Pseudomonas spp.

Table des matières

Introduction : 1
I. Le stress salin 3
I.1. Le sol : 3
I.2. Définition de la salinité 4
I.2.1. Origines de la salinité des sols 5
I.3. Impact du stress salin sur les plantes 7
I.3.1. L'effet osmotique 7
I.3.2. L'effet ionique 7
I.3.3. Effet sur la germination et la biomasse végétale 8
I.4. Réactions adaptatives des plantes au stress salin 8
II. Les Bactéries promotrices de la croissance des plantes 10
II.1. La Rhizosphère : 10
II.1.2. La Microflore de la Rhizosphère : 10
II.1.3. Importance des PGPR en agriculture 13
II. **Matériels et Méthodes** 14
II.1. Lieu et objectif de l'étude : 14
II.2. Matériels 14
II.2.1. Matériels Biologiques 14
II.2.2. Les milieux de cultures 14
II.2.4. La verrerie et les appareilles utilisés 15
II.3. Méthodes 16
II.3.1. Isolement des bactéries à partir des matrices végétales 16
II.3.2. Conservation des isolats bactériens purifiées 17
II.3.3. Réactivation des isolats avant expérimentation 17
II .4. Caractérisation phénotypique et physiologique des isolats 18
II.4.1. Caractéristiques phénotypiques : 18
II.4.2. Caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats 18
II.5. Évaluation de l'effet du stress salin sur le développement végétal (In vivo) 19

II.5.1. Préparation des solutions salines (NaCl) 19
II.5.2. Désinfection et stérilisation superficielle des semences 20
II.5.3. Préparation de l'inoculum bactérien et enrobage des semences 20
II.5.4. Dispositif expérimentale in vitro de la germination des graines : 21
II.5.5. Dispositif expérimental in-*vivo* et traitement du sol par le NaCl 21
II.6. Paramètres du suivi de l'efficacité du traitement bactérien : 24
II.6.1. Evaluation de la germination (*in-vivo)* : 24
II.6.2. Evaluation de la croissance de la biomasse végétale *(in-vitro)* : 24
II.6.3. Evaluation des caractères physiologiques de la biomasse végétale : 25
II.6.4. Evaluation de la population bactérienne dans les échantillons de sol : 25
II.7. Analyse statistique 25
III. **Résultats et discussion** 26
III.1. Identification phénotypique et biochimique des isolats 26
III.2. Biocompatibilité des isolats : 29
III.3. Solubilisation du phosphore : 29
III.4. Détermination de l'efficacité du traitement bactérien 31
III.4.1. Taux de germination 31
III.4.2. Longueur des biomasses végétales 33
II.4.3. Poids frais des parties aériennes et des racines 34
II.4.4. Dosage de la Chlorophylle 36
II.4.5. Persistance bactérienne dans la rhizosphère (sol) 37
Conclusion générale : 40
Références bibliographiques 43

Résumé :

Ce travail vise à évaluer le potentiel des bactéries endophytes en tant qu'agent de promotion de la croissance végétale. En premier lieu, un isolement bactérien est réalisé à partir des échantillons de légumes. L'identification phénotypique a porté sur des critères physiologiques et biochimiques à savoir ; la coloration de Gram, la Catalase, la fermentation des sucres, température de croissance et thermo résistance, croissance à différentes concentrations de NaCl et différents pH. Une sélection des isolats est déterminée par un test de biocompatibilité et de solubilisation du phosphore, parmi les tests de promotion de croissance des végétaux. Le deuxième volet, concerne les essai in-vivo et in-vitro de traitement bactérien et évaluation de leurs effets sur la germination et le développement précoce du système racinaire et les plantules des graines du blé dur (Triticum durum). Au totale cinq isolats bactériens, ont été obtenues à partir des échantillons de tomate et de choux blanc. Ils présentent un profil typique apparenté au genre *Enterococcus sp.* Caractérisées par une remarquable tolérance aux fluctuations de pH, elles démontrent également une remarquable adaptation aux conditions de stress salin extrêmes, soulignant leur grande résistance à diverses concentrations de NaCl. Leur profil métabolique révèle une fermentation des sucres étudiés, soutenue par une activité fermentative sur le milieu TSI, sans production d'H2S.Le test de solubilisation du phosphore réalisé sur un substrat PVK a révélé la formation d'une zone translucide autour des colonies de bactéries. Les indices de solubilisation mesurés oscillaient entre 10 et 21 mm, correspondant à un indice de solubilisation compris entre 1,67 et 3,5. Les résultats des essais in-vivo et in-vitro montrent un impact positif de l'isolat (C1) sélectionné et évalué sur les aspects de la germination, la croissance des plantules, ainsi que l'expansion du système racinaire. À la plus forte concentration de 200 mM de NaCl, le taux de germination chez le lot inoculé par C1 atteint 24%, comparativement au témoin stressé non inoculé (Tn3) qui n'excède pas 32%. Une amélioration notable des mesures morphologiques sous conditions de stress est enregistrée à 150 mM avec une longueur des racines significative de 5,5 cm et plantules (5 cm) avec un nombre de feuille de 4 comparables aux lot témoins. Les poids frais des racines et plantules affichent 0,37 g et 0,16 g, respectivement. L'emploi de la souche C1 sur la masse traitée produit un effet protecteur significatif sur le plan statistique, diminuant ainsi la dégradation des pigments chlorophylliens (3,60 mg/L) à150Mm. Les résultats du comptage bactérien dans le sol indiquent que la charge bactérienne mesurée au niveau du lot témoin et des lots (Tn) est inférieure à celle relevée dans les lots soumis aux traitements salins et inoculés avec l'isolat C1. Cette élévation de la densité bactérienne reflète une meilleure aptitude de cet isolat à coloniser la rhizosphère et à y rester après inoculation. Le rôle protecteur et stimulant constaté chez les plantes inoculées découle directement des caractéristiques PGPR pour la bactérie employée. Ces résultats suggèrent que cet isolat bactérien présente un intérêt potentiel dans les approches biologiques visant l'amélioration de la croissance des plantes et la tolérance au stress salin.

Mots clés : PGPR, germination, blé, NaCl, *Enterococcus* sp

Abstract

This study aimed to evaluate the potential of endophytic bacteria as plant growth-promoting agents. First, bacterial isolates were obtained from vegetable samples. Phenotypic identification was based on physiological and biochemical criteria, including Gram staining, catalase activity, sugar fermentation, growth temperature and thermos-resistance, as well as growth at different NaCl concentrations and pH values. The selection of isolates was carried out through biocompatibility and phosphate-solubilization tests. The second part of the study focused on in vivo and in vitro assays to evaluate the effects of bacterial treatments on seed germination and early root system development in durum wheat seedlings (*Triticum durum*). A total of five bacterial isolates were obtained from tomato and white cabbage samples. They exhibited a typical profile related to the genus *Enterococcus* sp. Characterized by remarkable tolerance to pH fluctuations, they also demonstrated strong adaptation to extreme saline stress conditions, highlighting their resistance to various NaCl concentrations. Their metabolic profile revealed fermentation of the tested sugars, supported by fermentative activity in TSI medium without H_2S production. The phosphate-solubilization test performed on PVK medium revealed the formation of clear halos around bacterial colonies. The measured solubilization zones ranged from 10 to 21 mm, corresponding to solubilization indices between 1.67 and 3.5. The in vivo and in vitro experiments showed a positive impact of the selected isolate (C1) on germination, seedling growth, and root system expansion. At the highest concentration of 200 mM NaCl, the germination rate of seeds inoculated with C1 reached 24%, compared with only 12% in the stressed non-inoculated control (Tn3). A notable improvement in morphological parameters under saline stress was recorded at 150 mM NaCl, with root lengths reaching 5.5 cm and seedling lengths 8 cm, while maintaining a number of leaves comparable to the controls. Fresh root and shoot weights reached 0.37 g and 0.16 g, respectively. The effect of strain C1 produced a statistically significant protective effect by reducing chlorophyll pigment degradation (5.60 mg L^{-1} at 150 mM NaCl). Soil bacterial counts indicated that bacterial density in inoculated treatments was higher than in stressed controls. This increase reflects the isolate's ability to colonize and persist in the rhizosphere after inoculation. The protective and stimulatory effects observed in inoculated plants are directly linked to the PGPR characteristics of the bacterium. These results suggest that this strain has considerable potential for biotechnological applications aimed at improving plant growth and tolerance to saline stress.

Key words: PGPR, germination, wheat, NaCl, *Enterococcus* sp , salt stress

الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم إمكانات البكتيريا الداخلية النباتية (Endophytes)كعوامل محفزة لنمو النباتات. في البداية، تم عزل سلالات بكتيرية من عينات الخضروات. واعتمد التعريف الظاهري لهذه السلالات على مجموعة من الخصائص الفسيولوجية والكيميائية الحيوية، تشمل تلوين غرام، واختبار الكاتالاز، وتخمير السكريات، ودرجة حرارة النمو والتحمل الحراري، إضافة إلى القدرة على النمو عند تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (NaCl) وقيم مختلفة للأس الهيدروجيني (pH). وتم اختيار السلالات المعزولة اعتمادًا على اختبارات التوافق الحيوي وإذابة الفوسفات. كما شمل الجزء الثاني من الدراسة تجارب داخل المختبر وخارجه لتقييم تأثير المعاملات البكتيرية على إنبات البذور والتطور المبكر للمجموع الجذري لشتلات القمح الصلب .(*Triticum durum*)

تم استخلاص خمس سلالات بكتيرية من عينات الطماطم والملفوف الأبيض. وأظهرت هذه السلالات خصائص مميزة قريبة من جنس .*Enterococcus* sp وتميزت بقدرتها العالية على تحمل تقلبات الأس الهيدروجيني، كما أظهرت تكيفًا ملحوظًا مع ظروف الإجهاد الملحي الشديد، مما يدل على مقاومتها لتركيزات مختلفة من الملح. كما أظهر ملفها الأيضي قدرتها على تخمير السكريات المدروسة، مع نشاط تخمري على وسط TSIدون إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين .(H_2S)

أظهر اختبار إذابة الفوسفات على وسط PVK تكوّن هالات شفافة حول المستعمرات البكتيرية. وتراوحت أقطار مناطق الإذابة بين 10 و21 مم، وهو ما يقابل مؤشرات إذابة تتراوح بين 1.67 و3.5.

وأظهرت نتائج التجارب داخل وخارج المختبر تأثيرًا إيجابيًا للسلالة المعزولة المختارة (C1)على إنبات البذور ونمو الشتلات وتوسع المجموع الجذري. فعند أعلى تركيز ملحي (200 ملي مول من (NaCl، بلغت نسبة الإنبات في البذور الملقحة بالعزلة C1حوالي 24%، مقارنة بـ 12% فقط في الشاهد المجهد غير الملقح .(Tn3)كما سُجل تحسن ملحوظ في الصفات المورفولوجية تحت ظروف الإجهاد الملحي عند 150 ملي مول من NaCl، حيث بلغ طول الجذور 5.5 سم وطول الشتلات 8 سم، مع عدد أوراق مماثل تقريبًا للشاهد. وبلغ الوزن الرطب للجذور والأجزاء الهوائية 0.37 غ و0.16 غ على التوالي.

كما أظهرت السلالة C1 تأثيرًا وقائيًا ذا دلالة إحصائية من خلال الحد من تدهور أصباغ الكلوروفيل (5.60 ملغ/لتر عند 150 ملي مول من NaCl) وأشارت نتائج العد البكتيري في التربة إلى أن الكثافة البكتيرية في المعاملات الملقحة كانت أعلى من تلك المسجلة في الشواهد المجهدة. ويعكس ذلك قدرة هذه السلالة على استعمار منطقة الجذور والبقاء فيها بعد التلقيح. وترتبط التأثيرات الوقائية والمنشطة المسجلة في النباتات الملقحة مباشرة بخصائص البكتيريا المحفزة لنمو النبات .(PGPR)وتشير هذه النتائج إلى أن هذه السلالة تمتلك آفاقاً بيو تكنولوجية واعدة تهدف إلى تحسين نمو النباتات وتعزيز مقاومتها للإجهاد الملحي."

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المحفزة لنمو النبات، نمو الشتلات، قمح، كلوريد الصوديوم، الإجهاد الملحي

Enterococcus sp.

Introduction :

À l'échelle mondiale, le secteur agricole est confronté à un défi crucial : assurer la sécurité alimentaire tout en préservant les ressources naturelles **(Shrivastava et Kumar, 2015).**

En effet, le stress salin induit un double effet délétère : un stress osmotique et une toxicité ionique due à l'accumulation des ions Na+ et Cl-, Ces perturbations freinent le développement cellulaire et altèrent la photosynthèse, conduisant inévitablement à une réduction significative de la biomasse végétale **(Parida and Das, 2005).**

Face à cette problématique, le développement d'alternatives écologiques basées sur le biocontrôle devient une nécessité. L'utilisation des bactéries promotrices de la croissance des végétaux (PGPR) représente une stratégie prometteuse pour améliorer la tolérance des plantes au sel **(Glick, 2012).**

L'application de ces bactéries à titre individuel ou en consortium bactérien, permet et/ou crée une synergie capable de stimuler la croissance et d'assurer une protection efficace des plantes, stabilisant ainsi la dynamique microbienne de la rhizosphère qui stimule cette croissance végétale **(Hamid et al., 2021).**

Les bactéries endophytes qui colonisent les tissus internes des plantes sans provoquer de symptômes pathogènes, représentent un groupe de microorganismes particulièrement prometteur en tant que PGPR. Ces microorganismes peuvent intervenir dans plusieurs mécanismes favorables au développement végétal, tels que la solubilisation des nutriments, la production de phytohormones, l'amélioration de l'absorption minérale et la modulation des réponses physiologiques des plantes. Toutefois, l'efficacité de ces microbes dépond de leurs caractéristiques biologiques, de leur capacité de colonisation ainsi que de leur persistance dans l'environnement rhizosphérique **(Tilman et al., 2002 ; Vessy.,2003 ; Hardoim et al.,215)**

Toutefois, la salinité des sols constitue un obstacle majeur à la productivité des cultures, figurant parmi les contraintes environnementales les plus sévères dans les régions arides, notamment en Algérie, où il entraîne une réduction notable des rendements agricoles et constitue une profonde préoccupation majeure. En raison des défis croissants posés par ce phénomène, il devient impératif d'approfondir notre compréhension des mécanismes sous-jacents à la salinité ainsi que de ses impacts directs et indirects sur les systèmes agricoles. Cette connaissance est essentielle pour concevoir et mettre en œuvre des stratégies visant à renforcer la résilience des cultures tout en favorisant la restauration écologique des terres affectées par ce fléau.

Dans cette perspective, ce travail vise à évaluer le potentiel de souches bactériennes isolées à partir des légumes et caractérisées et sélectionnées pour leur promotion de la croissance végétale. Aussi, l'étude s'intéresse plus particulièrement, à leurs impacts sur la germination et le développement précoce des plantules et le système racinaire, sur certains paramètres physiologiques et métaboliques liés à la vigueur des plantes, ainsi qu'a leur persistance dans le sol après inoculation.

Le manuscrit est structuré en trois chapitres, le premier concerne la partie des fondements théoriques ou quelques rappels bibliographiques sont synthétiser. Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale, ou sont détaillé toute les méthodes et les protocoles des différentes manipulations réaliser au laboratoire. Le troisième et dernier chapitre, expose les résultats expérimentaux obtenus, leur interprétation et leur discussion à la lumière des données de la littérature scientifiques des travaux antérieurs.

I. Le stress salin

I.1. Le sol :

Le sol est le produit de l'interaction entre un substrat géologique, la topographie, le climat et les organismes qui habitent à sa surface et dans ses couches plus profondes. La grande variété des sols que nous observons est le résultat de la combinaison de diversité des substrats, des conditions climatiques et des communautés de vie. Au départ, le sol n'est constitué que de matière minérale inerte (roche-mère géologique) qui, au fil du temps, est modifiée par le climat et peuplée de végétation, de microorganismes et d'animaux **(Archambeaud et Thomas, 2023).**

La formation du sol **(Figure 1)** est un processus qui s'étale sur une période longue comparée à l'échelle humaine. Il faut environ cent ans pour produire un centimètre de terre fertile dans nos conditions climatiques. Suite à la colonisation d'un substrat géologique par la vie, un équilibre est établi après des milliers d'années entre des processus antagonistes : la pédogenèse d'une part, l'érosion et le lessivage d'autre part. On désigne par climax une condition où le sol, le climat, la flore et la faune coexistent dans un équilibre dynamique stable (**Gobat et *al.,* 2013).**

Toutefois, cette situation peut évoluer si les conditions environnementales varient : changement climatique, changement d'usage lié à l'activité humaine, et ainsi de suite. En effet, es racines des végétaux, leurs secrétions (exsudats) tout comme celles des micro-organismes et des animaux participent à ce processus de décomposition, de dissolution et d'oxydation de la matière brute qui permettra avec le temps de la transformer en un environnement viable et nourrissant permettant la structuration d'un substrat en un milieu organisé, composé d'agrégats stables et d'espaces vides. Cette structure du sol, facilite le stockage et le transport de l'eau et des gaz, favorisant ainsi le développement de la vie : les êtres vivants peuvent croître et se diversifier, rendant le sol riche en nutriments (**Gobat et *al.,* 2013).**

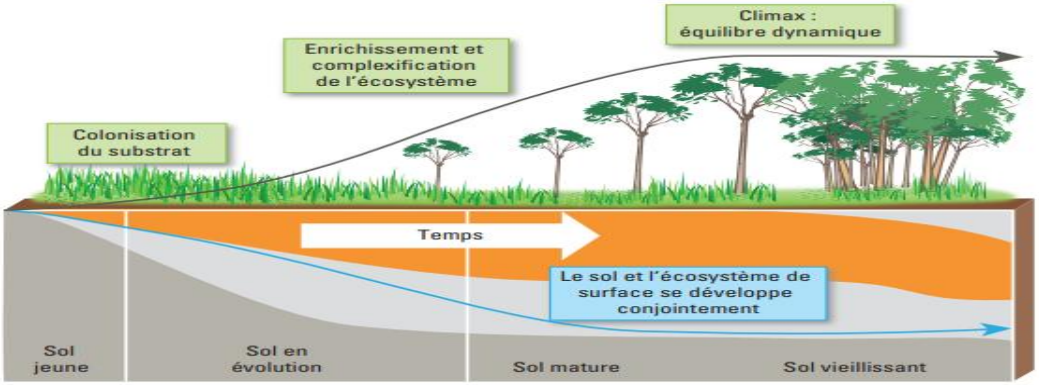

Figure 1 : Schéma de l'évolution d'un sol à partir de la roche-mère (Gobat et *al.*, 2013).

I.2. Définition de la salinité

On définit la salinité du sol comme l'agencement de sels solubles dans la solution du sol à des niveaux qui pourraient influencer la croissance et l'expansion des végétaux. Les sels majeurs en cause sont les chlorures, les sulfates, les bicarbonates et les carbonates de sodium, de calcium et de magnésium. On évalue généralement la salinité en mesurant la conductivité électrique (CE) de l'extrait de saturation du sol, un sol étant traditionnellement jugé comme salin lorsque sa CE excède 4 dS/m (40mM de Nacl), **(Richards, 1954 ; Parihar et al., 2015)**

Ce phénomène se produit couramment dans les zones arides et semi-arides où l'évaporation dépasse les précipitations, ce qui stimule l'entassement des sels dans la zone des racines. La salinisation peut se produire de façon naturelle, comme avec l'altération des roches sources ou l'intrusion marine, ou être provoquée par des activités humaines, notamment à travers l'irrigation avec de l'eau salée et l'insuffisance du drainage **(Munns et Tester, 2008).**

En effet, les sols salins sont souvent reconnaissables par leur couche de croûte blanche en surface, une structure altérée, un faible capacité d'infiltration de l'eau et une disponibilité restreinte de certains nutriments. La solution du sol, riche en sels, intensifie le potentiel osmotique, ce qui entrave l'absorption d'eau par les racines, même sa présence dans le milieu **(Shahzad, B. et al., 2021).**

Aujourd'hui, la salinité représente l'un des facteurs abiotiques majeurs qui freinent la production agricole à l'échelle mondiale. Face à ce danger, il est essentiel de comprendre les mécanismes de la salinité et leurs conséquences sur l'agriculture afin d'élaborer des stratégies de résilience et de restauration écologique **(Shrivastava et Kumar, 2015).**

I.2.1. Origines de la salinité des sols

L'accumulation de sels solubles dans la rhizosphère est un processus complexe découlant de l'interaction de divers facteurs environnementaux et anthropiques. D'après les procédés de formation, deux sources principales sont distinguées : la salinité naturelle ou primaire, et la salinité anthropique ou secondaire **(Rengasamy, 2006).**

I.2.1.1. La salinité primaire (naturelle)

La salinité primaire se forme naturellement sur des durées géologiques étendues, sans être influencée par une action humaine **(Munns, 2005).** Elle est principalement associée à des phénomènes naturels, détaillés dans **le tableau 1** suivants :

Tableau 1 : Principales causes de la salinité primaire.

Processus naturel	Caractéristiques	Références
L'altération des roches mères	C'est la source originelle des sels. Sous l'effet des facteurs climatiques (pluie, variations de température), les minéraux constitutifs des roches primaires se dégradent et libèrent progressivement des ions alcalins et alcalino-terreux (Na+, Cl-, Ca^{2+}, Mg^{2+}) dans la solution du sol.	(Parihar et al., 2015)
Les apports atmosphériques et marins	Dans les zones côtières, les vents marins transportent des embruns chargés de chlorure de sodium sous forme d'aérosols, qui se déposent ensuite sur les sols environnants par précipitation. De plus, les intrusions d'eau de mer dans les nappes phréatiques côtières accentuent fortement ce phénomène	(Isayenkov et Maathuis, 2019)
L'aridité climatique	Dans les régions sèches, le déficit hydrique chronique (faibles précipitations associées à une forte évapotranspiration) empêche le lessivage naturel des sels vers les profondeurs. Par conséquent, les sels remontent par capillarité et se concentrent de façon permanente dans les horizons superficiels du sol	(Hanifi et al., 2019)

I.2.1.2. La salinité secondaire (anthropique)

En revanche, la salinisation secondaire connaît une progression rapide due à des pratiques culturales inappropriées ainsi qu'à une gestion non rationnelle des ressources hydriques et pédologiques **(Machado et Serralheiro, 2017).** Parmi les causes principales, on trouve (tableau 2) :

Tableau 2 : Principales causes de la salinité secondaires

Causes (processus)	Caractéristiques	Références
L'irrigation par des eaux de mauvaise qualité	L'utilisation répétée d'eaux d'irrigation, même faiblement chargées en sels (eaux saumâtres ou résiduelles), apporte continuellement des tonnes de sel à l'hectare qui s'accumulent au fil des saisons	(Shrivastava et Kumar, 2015)
Le dysfonctionnement du système de drainage	En l'absence d'un réseau de drainage adéquat pour évacuer les excès d'eau, l'irrigation intensive provoque une élévation progressive du niveau de la nappe phréatique (remontée de nappe). Lorsque cette nappe atteint la zone racinaire, l'évaporation intense de l'eau laisse les sels piégés à la surface du sol	(Machado et Serralheiro, 2017).
L'usage abusif des engrais chimiques :	L'application excessive de fertilisants minéraux hautement solubles (comme certains engrais potassiques ou azotés) sature la capacité d'échange du sol et contribue directement à l'augmentation de la pression osmotique autour des racines	(Farooq et al., 2015).

I.3. Impact du stress salin sur les plantes

Le stress salin induit des bouleversements physiologiques, biochimiques et moléculaires significatifs chez les plantes. Conformément au modèle biphasique classique de Munns (2005), l'effet du sel se manifeste en deux étapes temporellement distinctes : une première phase matures dominée par l'effet osmotique et une seconde phase tardive caractérisée par la toxicité des ions. Ces deux facteurs ont un impact négatif sur la croissance globale de la plante, influant directement sur sa capacité de germination et sa biomasse **(Munns, 2015).**

En effet selon l'exemple du blé (Triticum aestivum L. et Triticum durum), un surplus de sels induit un stress osmotique, une toxicité ionique principalement liée aux ions sodium (Na+) et chlorure (Cl−), en plus d'un déséquilibre nutritif affectant l'absorption du potassium, du calcium et du phosphore. Ces perturbations conduisent à une réduction de la germination, de la croissance des plantes, de la superficie des feuilles, du processus de photosynthèse et de la biomasse générée. Les conséquences entraînent finalement une diminution de la productivité et de la qualité des grains. Même si le blé est classé comme une céréale modérément tolérante au sel par rapport à d'autres cultures, des baisses substantielles de rendement peuvent se constater lorsque la limite de tolérance est franchie **(Kreba, 2019).**

I.3.1. L'effet osmotique

La manifestation de l'effet osmotique est instantanée lorsque les sels s'amassent dans la solution du sol qui enveloppe les racines **(Munns & Tester, 2008).** La présence élevée de ions Na^+ et Cl^- diminue le potentiel osmotique du sol, limitant sérieusement la capacité d'absorption d'eau des racines et entraînant ce qu'on appelle une « sécheresse physiologique » **(Shrivastava et Kumar, 2015).**

En réponse à cette contrainte d'humidité, la plante agit sans délai en fermant ses stomates pour réduire la perte d'eau par le biais de la transpiration. Cette fermeture des stomates diminue l'assimilation du dioxyde de carbone (CO_2), inhibant de facto l'activité de photosynthèse et ralentissant la division et l'extension des cellules, ce qui cause le retard initial de croissance perceptible chez la plante **(Farooq et al., 2015).**

I.3.2. L'effet ionique

À l'inverse de l'effet osmotique, la toxicité ionique se manifeste sur une période plus étendue (après plusieurs jours ou semaines). Elle découle de l'assimilation inévitable et de

l'accumulation démesurée des ions Na^+ et Cl^- dans les tissus des feuilles par le biais du processus de transpiration **(Isayenkov et Maathuis, 2019).**

Quand la capacité des cellules à vacuoliser est excédée, ces ions s'amassent dans le cytoplasme provoquant un impact toxique direct qui se manifeste par, l'inhibition enzymatique (Le Na^+ se substitue au potassium (K^+), un cofacteur essentiel pour plus de 50 enzymes cellulaires, bloquant ainsi des voies métaboliques majeures) ; la perturbation nutritionnelle (L'excès de Na^+ induit un antagonisme compétitif qui bloque l'absorption des nutriments essentiels comme le potassium (K^+) et le calcium (Ca2+), provoquant des déséquilibres ioniques sévères) ; et un Stress oxydatif (**(**L'accumulation des sels induit une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui altèrent les membranes cellulaires, dégradent la chlorophylle et provoquent la sénescence précoce des feuilles), **(Munns et Tester, 2008 ; Parihar et al., 2015 ; Isayenkov et Maathuis, 2019).**

I.3.3. Effet sur la germination et la biomasse végétale

L'effet osmotique associé à la toxicité ionique entraîne inévitablement une chute significative de la productivité et de la structuration de la plante **(Machado et Serralheiro, 2017).**

Durant la phase de germination in vitro, le stress salin entrave l'imbibition des graines en raison de la faible tension de l'eau. Par ailleurs, les ions toxiques diminuent l'activité des enzymes de réserve telles que l'alpha-amylase et déséquilibrent la balance hormonale entre l'acide abscissique (ABA) et les gibbérellines, entraînant une réduction significative du taux de germination, ainsi qu'un retard dans l'émergence du germe et de la radicule **(Parihar et al., 2015).**

Pendant la phase de croissance, l'inhibition de la photosynthèse et les lésions cellulaires freinent l'expansion de la partie aérienne et du système racinaire. Les longueurs des tiges et des racines sont diminuées. De ce fait, la biomasse totale de la plante s'effondre, entraînant une réduction importante en termes quantitatifs du poids frais (perte d'eau cellulaire) et du poids à sec (déficit d'accumulation de matière organique) **(Shrivastava et Kumar, 2015 ; Machado et Serralheiro, 2017).**

I.4. Réactions adaptatives des plantes au stress salin

Dans l'intérêt de persister et favoriser leur croissance face aux conditions de haute salinité, les plantes ont évolué pour développer une variété de réactions adaptatives complexes.

Selon le patrimoine génétique de l'espèce (glycophytes ou halophytes), ces systèmes de tolérance agissent aux niveaux morphologique, physiologique et biochimique pour contrer les impacts néfastes du stress osmotique et de la toxicité ionique **(Ashraf et Foolad, 2007).**

Selon Munns (2005), l'adaptation osmotique représente la première défense de la plante contre la pénurie d'eau immédiate provoquée par la salinité. Dans le but de rétablir l'équilibre hydrique interne par rapport à celui du sol, ce qui favorise l'absorption permanente de l'eau, la cellule végétale produit et renferme assidûment dans son cytoplasme des solutés compatibles ayant une faible masse moléculaire, qu'on nomme aussi osmolytes **(Gupta et Huang, 2014).**

Ces composés qui ne sont pas toxiques comprennent ; les acides aminés, en particulier la proline, dont l'accumulation cytosolique joue un rôle crucial non seulement dans l'osmorégulation, mais aussi dans la stabilisation des membranes et des protéines ; Les sucres solubles : Comme le saccharose, le glucose et le tréhalose, qui agissent comme des protecteurs des structures cellulaires contre la déshydratation ; et les composés d'ammonium quaternaire : tels que la glycine bétaïne, qui protège l'appareil photosynthétique (les thylakoïdes) sous stress salin **(Ashraf et Foolad, 2007 ; Munns et Tester, 2008 ; Gupta et Huang, 2014).**

Aussi, Pour éviter l'accumulation toxique du sodium (Na+) dans le cytoplasme où se déroulent les réactions enzymatiques vitales, les plantes tolérantes déploient des mécanismes stricts de régulation et de transport ionique **(Tableau 3) (Slama et al., 2015).**

Par ailleurs, le stress salin induit indirectement un stress oxydatif secondaire à travers la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), telles que le peroxyde d'hydrogène (H2O2) et les radicaux superoxydes qui endommagent les lipides, les protéines et l'ADN cellulaire, et pour neutraliser ces molécules toxiques, les plantes activent un système de défense antioxydant hautement performant comprenant des antioxydants enzymatiques comme la Superoxyde Dismutase (SOD), la Catalase (CAT), l'Ascorbate Peroxydase (APX) et la Gaïacol Peroxydase (GPX), dont les activités augmentent significativement pour détoxifier les ROS en molécules inoffensives (H2O et O2) **(Ahmad et al., 2010).**

Les antioxydants non enzymatiques, tels que l'ascorbate (Vitamine C), le glutathion et les caroténoïdes, qui piègent directement les radicaux libres **(Ashraf et Foolad, 2007)**

Tableau 3 : Quelques réactions Vitales des plantes faces aux stress salin

Réactions vitales	Caractéristiques	Références

L'exclusion du Na+ au niveau racinaire	Les racines limitent l'entrée du sodium ou favorisent son efflux actif vers la solution du sol grâce à des transporteurs membranaires spécifiques de type SOS1 (Salt Overly Sensitive)	(Isayenkov et Maathuis, 2019).
La compartimentation vacuolaire	C'est un mécanisme d'adaptation majeur. Les ions Na+ en excès sont séquestrés à l'intérieur de la vacuole via les antiports Na+/H+, isolant ainsi le danger loin du cytoplasme. Ce processus permet en même temps d'utiliser le Na+ vacuolaire pour maintenir la turgescence cellulaire	(Munns et Tester, 2008).
Le maintien du rapport (K+/Na+)	La plante s'efforce de maintenir une sélectivité élevée pour l'absorption du potassium (K+), ion indispensable au métabolisme, en bloquant l'influx compétitif du sodium	(Slama et al., 2015).

II. Les Bactéries promotrices de la croissance des plantes

II.1. La Rhizosphère :

La première mention du terme rhizosphère date de 1904 et est due au microbiologiste Lorenz Hiltner. Ce terme trouve son origine dans le grec « rhiza », qui est l'équivalent de racine, ainsi que dans le latin « sphera », qui fait référence à une sphère ou un globe **(Anton et al., 2008)**.

La rhizosphère est le microenvironnement qui entoure les racines des plantes et dans lequel se déroulent une multitude d'interactions entre le sol, les racines et les microorganismes du sol, créant ainsi un habitat écologique spécifique **(Tableau 4).**

Par ailleurs, la rhizosphère peut aussi être caractérisée comme la zone du sol où la microflore est affectée par l'existence et le fonctionnement des racines, et les processus physico-chimiques déclenchés par l'action des racines encouragent et stimulent les activités microbiologiques dans cette région **(Garbaye, 2013).**

II.1.2. La Microflore de la Rhizosphère :

Représenté par les espèces PGPR, acronyme de Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes, sont des bactéries favorisant la croissance des végétaux. (PromotingGrowth Plant Rhizobacteria), sont des bactéries bénéfiques qui colonisent la

rhizosphère, région du sol située autour des racines des plantes. Elles optimisent l'expansion végétale assurée par divers processus biologiques et biochimiques. Les PGPR ont également un rôle crucial dans la défense des plantes contre les agents pathogènes et dans l'augmentation de la fertilité des sols **(Kloepper et Schroth, 1978).**

Les PGPR résident principalement dans la rhizosphère, où elles exploitent les exsudats racinaires pour se nourrir. Cette collaboration entre les bactéries et les racines engendre des interactions profitables tant pour la plante que pour le microorganisme **(Sylvia et al.,2005).**

Les PGPR stimulent le développement des plantes par divers procédés directes et /ou indirectes, et protègent indirectement les plantes contre les maladies par différents mécanismes **(Tableau 5, Figure-1).**

Elles jouent un rôle crucial dans l'agriculture durable grâce à leurs multiples applications agronomiques et environnementales. Elles favorisent la croissance des végétaux, boostent l'efficacité agricole et diminuent l'emploi des fertilisants chimiques et des pesticides. En outre, elles aident à préserver l'environnement en réduisant la pollution des sols et des eaux. Il a également été démontré que certaines PGPR renforcent la résilience des plantes face à des stress abiotiques comme la sécheresse et la salinité **(Paul,2007).**

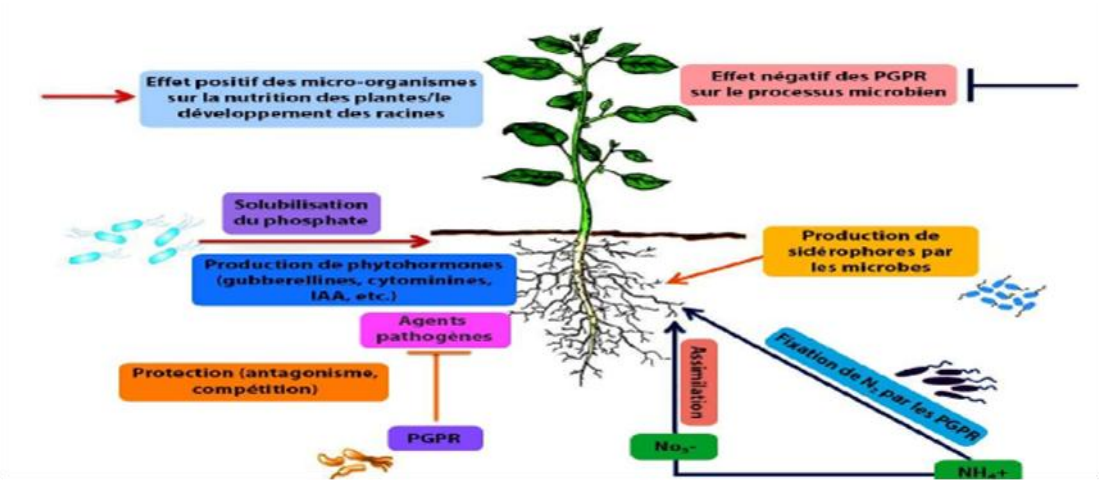

Figure 02 : les interventions des PGPR sur la croissance des plantes (Glick, 2012)

Tableau 4 : Présentation de la composition, des caractéristiques et rôle de la rhizosphère

Compartiments Rhizosphériques	**Caractéristiques du sol**	**Rôle de la Rhizosphère**

Selon Schroder et Hartmann (2003), la rhizosphère se subdivise en trois compartiments distincts : L'endo-rhizosphère, correspondant à l'intérieur des racines Le rhizoplan, qui représente la surface des racines L'ectorhizosphère ou sol rhizosphérique, constituée du sol directement influencé par les racines.	La rhizosphère se caractérise par sa haute concentration en nutriments, qui découle des multiples interactions entre la végétation et le sol Elle comporte plusieurs particularités distinctives : Un pH spécifique ; Un potentiel spécifique d'oxydoréduction ; Un important courant d'eau acheminé vers les racines ; Avoir une grande quantité de matière organique et une composition organique diversifiée ; Une activité biologique vigoureuse qui se manifeste notamment par une forte concentration en dioxyde de carbone (CO_2). (**Courchesne et al., 2001)**	La protection contre l'érosion, le gel, le feu, et permet la phytoremédiation, **(Maalem et Sansri, 2014) ;** L'amélioration des caractéristiques biologiques du sol, en faveur de l'activité des micro-organismes, de sa capacité à fertiliser et de sa qualité ; La prolifération et de l'activité des bactéries telluriques par la teneur nutritive abondante de cette région ; La régulation de la santé et de la nutrition des plantes en lien avec les caractéristiques des exsudats racinaires ;L'accroissement de l'accès au phosphore assimilable pour les plantes grâce à la production de phosphatases dans la rhizosphère.(Référence ici) La libération de composés organiques, l'ingestion d'eau et de ions, ainsi que la création de divers métabolites microbiens illustrent les transferts de matière et d'énergie entre les plantes et les microorganismes. **(Hinsinger et al., 2005)**

Tableau 5 : Mécanismes d'action des PGPRs

Mécanismes directs	**Mécanismes Indirects**

Fixation biologique de l'azote : certaines bactéries convertissent l'azote atmosphérique en formes assimilables par les plantes, améliorant ainsi leur nutrition azotée.*Rhizobium sp*.**(Glick, 2012).**	**Production d'antibiotiques**, certaines bactéries sécrètent des substances antimicrobiennes inhibant les microorganismes pathogènes *Pseudomonas* sp **(Compant et al.,2005).**
Solubilisation du phosphore : ils transforment le phosphore insoluble du sol en formes disponibles pour les plantes grâce à la production d'acides organiques **(Rodríguez et Fraga,1999).**	**Compétition avec les agents pathogènes,** ils occupent les sites de colonisation autour des racines et utilisent les nutriments disponibles, limitant ainsi le développement des microorganismes nuisibles. **(Lugtenberg et Kamilova, 2009).**
Production de phytohormones : ils produisent des hormones végétales telles que l'auxine (IAA), les gibbérellines et les cytokinines qui stimulent le développement racinaire et la croissance des plantes. **(Vessey, 2003).**	**Induction de la résistance systémique** en stimulant les mécanismes de défense naturels des plantes, un phénomène appelé résistance systémique induite (ISR). Cette résistance permet aux plantes de mieux tolérer les maladies et les stress environnementaux **(Van Loon et al.,1998).**

II.1.3. Importance des PGPR en agriculture

Durant les dernières années, une méthode novatrice a été élaborée afin de réduire le stress lie à la salinité chez les végétaux. Il s'agit de l'application des pgpr sur les graines et les plantes. L'emploi des pgpr en tant qu'inoculant dans le domaine agricole pour diminuer la résistance au sel, est considérée comme la stratégie la plus prometteuse pour optimiser la production et le rendement des zones affectées par la salinité **(mayak et al.,2004).**

Les PGPR jouent un rôle crucial dans l'agriculture durable, grâce à leurs multiples applications agronomiques et environnementales. Elles favorisent la croissance des plantes, augmentent les rendements agricoles et permettent de limiter l'utilisation des engrais chimiques ainsi que des pesticides. En outre, elles participent à la préservation de l'environnement en réduisant la pollution des sols et des cours d'eau. Certaines PGPR renforcent aussi la résistance des plantes face aux stress abiotiques, tels que la sécheresse et la salinité **(Paul, 2007).**

Dans le cadre de l'agriculture durable, les PGPR sont employées comme biofertilisants et agents de biocontrôle. Elles contribuent non seulement à diminuer le recours aux intrants chimiques, mais également à améliorer la productivité agricole et la qualité des sols (**Bhattacharyya et Jha,2012).**

II. Matériel et Méthodes

II.1. Lieu et objectif de l'étude :

Cette étude s'inscrit dans un cadre des travaux de recherches scientifiques de l'encadreur et a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Microbiologie 3. Les principaux axes du travail sont les suivants :

- L'isolement des bactéries endophytes à partir de divers échantillons, notamment des fruits et des légumes.
- L'identification des caractéristiques phénotypiques, biochimiques et physiologiques des isolats, test de solubilisation du phosphore...)
- Détermination de l'efficacité d'un traitement bactérien en condition du stress salin : Essais *in vitro* et *in vivo*

II.2. Matériel

II.2.1. Matériel Biologiques

- Les échantillons de légumes utilisés pour l'isolement des bactéries, proviennent du marchée locale de la ville de Mostaganem, il s'agit de légumes fraiches (Tomate, et Chou blanc) achetées de bon matin et acheminer dans des sacs hermétiques jusqu'au laboratoire.
- Le blé dure (*Triticum durum*), provient d'une ferme agricole artisanal, dans le village de Granine situé dans la plaine côtière entre bettioua et mars el hadjdj, appartenant à la commune de Bettioua, au nord-est de la wilaya d'Oran (Algérie), il s'agit de graines biologiques destinées à l'alimentation humaine, utilisées en exploitation et exemptes de traitement chimiques.
- La souche de *Pseudomonas aeruginosa* (P1) nous a été offerte par Mme BEKENNICHE N., maitre de conférences à l'université de Mostaganem, et a été utiliser comme souche témoin pour les tests in vivo.

II.2.2. Les milieux de cultures

- **Milieu MRS (gélose et bouillon)** de Man Rogosa et Sharpe est le plus connu pour la recherche et l'isolement des *Lactobacilles sp.*La formule type par litre de milieu comprend : Peptone : 10,0 g ; Extrait de viande : 10,0 g ; Extrait de levure : 4,0 g ; Glucose (ou dextrose) :

20,0 g ; Acétate de sodium : 5,0 g ; Phosphate dipotassique (K_2HPO_4) : 2,0 g ; Citrate d'ammonium : 2,0 g ; Tween 80 : 1,0 ml ; Sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) : 0,2 g ; Sulfate de manganèse ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) : 0,05 g ; Agar-agar : 10,*0 à 15,0 g.*

- **Milieu king B (gélose et bouillon)** qui permet identifier facilement certaines bactéries, notamment *Pseudomonas sp.* Composition pour 1 litre d'eau distillée : Peptone : 20,0 g ; Glycérol : 10,0 ml ; Phosphate dipotassique (K_2HPO_4) : 1,5 g ; Sulfate de magnésium ($MgSO_4$) : 1,5 g *;* Agar : 12,0 à 15,0 g ; Le pH est généralement ajusté à 7,2 ± 0,2.
- **Milieu PVK (Pikovskaya**) est un milieu de culture sélectif utilisé pour isoler et identifier les microorganismes capables de solubiliser le phosphate.

II.2.4. La verrerie et les appareilles utilisés

- Tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon ; lames ; lamelles ;
- PH mètre ;
- Bain marie ;
- Autoclave ; Étuve ;
- Réfrigérateur (-4°C) ;
- Vortex ; Agitateur et barreau magnétique ;
- Balance de précision ;
- Microscope optique ;
- Centrifugeuses.

II.3. Méthodes

II.3.1. Isolement des bactéries à partir des matrices végétales

L'isolement des souches bactériennes a été réalisé à partir de deux matrices végétales fraîches : la tomate (*Solanum lycopersicum*) et le chou blanc (*Brassicaoleracea var. capitata f. alba*). Afin de cibler des groupes bactériens d'intérêt écologique et fonctionnel (bactéries promotrices de la croissance végétale - PGPR), deux milieux de culture sélectifs ont été rigoureusement mis en œuvre selon la méthode des dilutions décimales **(Guiraud, 2012)** :

1. **Préparation des échantillons et suspension-mère :** Des fragments de tissus sains issus de tomates et de choux blancs ont été prélevés stérilement 1 g d'échantillons sont peser et broyer de manière aseptique dans un volume déterminé (9 ml) d'eau peptone stérile ou d'eau physiologique et l'ait écrémé constituant ainsi la suspension-mère (10^{-1})

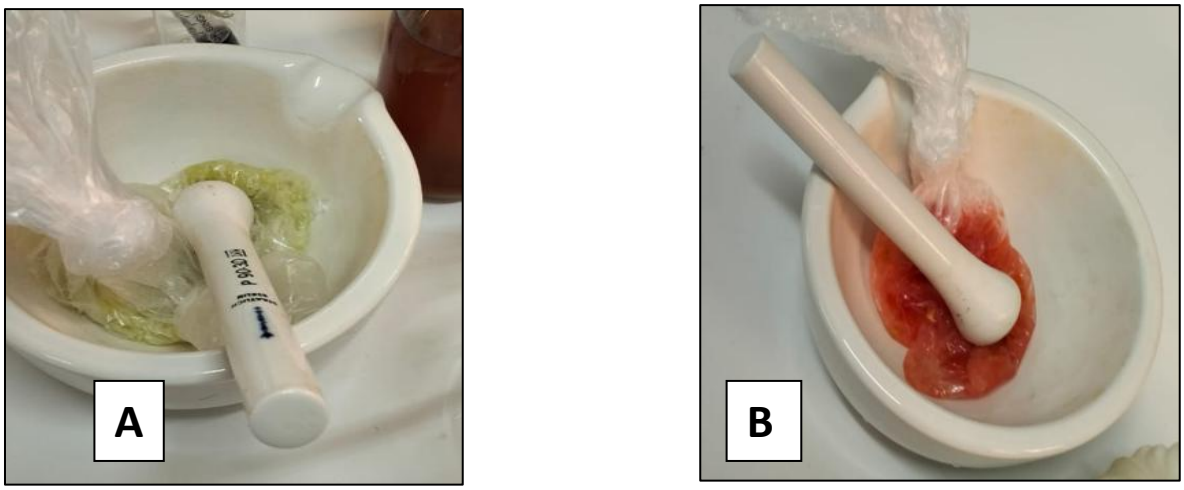

Figure03 : préparation du solution mère (A : le chou blanc / B : la tomate)

2. **Préparation des dilutions décimales :** À partir de la suspension-mère, une série de dilutions décimales successives allant de (10^{-2} à 10^{-6}) a été préparée dans des tubes à essais contenant 9 mL d'eau physiologique stérile

3. **Inoculation sur milieux sélectifs :** Un volume de 0,1 mL de chaque dilution a été étalé stérilement à l'aide d'une pipette pasteur en verre sur la surface des milieux spécifiques, le milieu MRS pour l'isolement des bactéries lactiques du genre *Enterococcus sp*, et le milieux King B pour la croissance de *Pseudomonas aeruginosa.*

4. Les boîtes du milieu MRS ont été placé dans des conditions d'anaérobiose à une température de 30 °C à 37 °C pendant 24 heures et les boîtes du milieu king B ensemencées ont été incubées en conditions d'aérobiose stricte à 30 °C pendant 24 heures
5. **Purification :** Après la période d'incubation, les colonies représentatives et distinctes ont été sélectionnées par la détermination du Gram des groupe bactérien et par le test catalase. Ensuite L'épuration a été réalisée par la méthode des stries par épuisement successives sur de nouvelles boîtes contenant les mêmes milieux d'isolement respectifs, jusqu'à l'obtention de cultures pures et homogènes.

II.3.2. Conservation des isolats bactériens purifiées

Afin de préserver la viabilité des isolats purifiés, de maintenir leurs propriétés physiologiques stables et d'éviter les risques de contaminations ou de mutations au cours du temps, les souches ont été conservées selon deux approches complémentaires **(Saidi et *al*., 2004)** ;

- **Conservation à court et moyen terme :** Les cultures pures ont été ensemencées sur des tubes de gélose inclinée. Après une incubation de 24 heures à 30 °C permettant le développement de la biomasse, les tubes ont été stockés au réfrigérateur à une température contrôlée de +4 °C. Cette méthode permet de maintenir les souches viables pour une utilisation fréquente lors des manipulations quotidiennes, avec un repiquage systématique toutes les 2 à 3 semaines.
- **Conservation à long terme :** A partir des cultures jeunes (18-48 h) sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min. Unefois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation sur leculot. Le milieu de conservation contient du lait écrémé, 0,2% d'extrait delevure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense eten tubes Eppendorf à -20°C**.** En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans le lait écrémé à 0,5% d'extrait de levure, avant utilisation

II.3.3. Réactivation des isolats avant expérimentation

Avant chaque série de tests microbiologiques ou biochimiques, les souches conservées ont été réactivées par ensemencement sur un milieu liquide à partir des stocks à +4 °C ou des cryotubes. Les tubes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures afin de restituer aux bactéries leur pleine activité métabolique et de disposer de cultures jeunes.

II .4. Caractérisation phénotypique et physiologique des isolats

II.4.1. Caractéristiques phénotypiques :

L'étude phénotypique constitue la première étape d'orientation pour l'identification des isolats. Elle repose sur deux examens complémentaires (Guiraud, 2012) :

- **Examen macroscopique :** Il consiste à observer directement les colonies isolées se développant sur les milieux gélosés (MRS et King B) après 24 à 48 heures d'incubation. Les critères notés sont la forme, la taille, la pigmentation (couleur), l'aspect de la surface (lisse, rugueuse, brillante), le profil (galbé, plat) et le type de contours (bords réguliers ou irréguliers).
- **Examen microscopique (Coloration de Gram) :** Cet examen permet de déterminer la pureté de la culture, la morphologie cellulaire (bacilles ou coques), le mode de groupement des cellules ainsi que la structure de la paroi bactérienne (Gram-positif ou Gram-négatif) selon le protocole standardisé du laboratoire.

II.4.2. Caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats

Dans le souci d'évaluer les capacités adaptatives et de résistance de nos souches face aux contraintes environnementales et au stress osmotique, trois tests ont été réalisés :

- **Effet de la température (Test de thermo résistance) :** Ce test vise à évaluer la capacité des souches à survivre à des températures élevées. Pour ce faire, les suspensions bactériennes de chaque souche ont été soumises à un traitement thermique en les plaçant dans un bain-marie réglé à des températures critiques de 60 °C et 100 °C pendant un 10 min. Après ce traitement, un volume de chaque suspension a été ensemencé par étalement sur des boîtes de Petri contenant le milieu gélosé approprié. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température standard de 37 °C pendant 24 heures afin d'observer l'apparition ou l'absence de croissance coloniale (Guiraud, 2012).
- **Effet du pH :** La croissance bactérienne a été testée sur une gamme de pH variant de 5 à 10 (ajustée à l'aide de solutions de HCl ou NaOH). Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, le développement bactérien a été évalué afin de définir le pH optimal de chaque isolât (Badis et al., 2004).
- **Tolérance aux différentes concentrations de NaCl :** Ce test permet de mesurer l'effet du stress salin direct sur l'activité bactérienne in vitro. Les souches ont été cultivées sur un milieu additionné de concentrations croissantes en chlorure de sodium (NaCl), à savoir :

50Mm/ 150Mm / 200Mm / 6,5%. La croissance a été suivie après incubation à 37 °C (Guiraud, 2012).

- **Test de la catalase :** Ce test met en évidence la présence de l'enzyme catalase, capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H2O2) en eau et en oxygène. Une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée sur une colonie bactérienne prélevée sur lame. L'apparition immédiate de bulles (effervescence) indique une réaction positive (Catalase+), tandis que l'absence de bulles indique une réaction négative (Catalase-) (Guiraud, 2012).
- **Détermination du type de fermentation** (Test sur milieu TSI - Triple Sugar Iron) :Le milieu TSI a été utilisé pour étudier la capacité des souches à fermenter trois sucres (Glucose, Lactose, Sucrose), à produire du gaz (CO2) et à synthétiser du sulfure d'hydrogène (H2S). L'ensemencement est réalisé par piqûre centrale dans le culot du tube suivi d'un striage sur la pente inclinée. Après incubation à 30-37 °C pendant 24 heures, les virages de l'indicateur de pH (rouge de phénol) permettent d'identifier le profil fermentaire (MacFaddin,) ;
- **Test de solubilisation du phosphore in vitro** (Milieu PVK - Pikovskaya) : Ce test évalue une aptitude clé des PGPR, à savoir la capacité à solubiliser les phosphates inorganiques insolubles. Les isolats ont été spotés stérilement sur un milieu de Pikovskaya (PVK) contenant du phosphate tricalcique [Ca3_PO4_2]. Après une incubation prolongée de 3 à 7 jours à 37 °C, la présence d'un halo clair autour de la colonie bactérienne confirme l'activité de solubilisation (Pikovskaya, 1948 ; Nautiyal, 1999).
- **Test de biocompatibilité entre les souches** : Dans la perspective de formuler un consortium bactérien efficace pour l'inoculation des plantes, il est indispensable de vérifier l'absence d'antagonisme direct entre les isolats sélectionnés. Le test de biocompatibilité a été réalisé par la méthode de diffusion en gélose : le milieu de culture est ensemencé en nappe avec une souche indicatrice, puis des gouttes de la suspension d'une autre souche sont déposées à la surface. L'absence d'une zone d'inhibition de croissance autour du dépôt après incubation valide la parfaite biocompatibilité et la synergie des souches (Anith et al., 2011).

II.5. Évaluation de l'effet du stress salin sur le développement végétal (In vivo)

II.5.1. Préparation des solutions salines (NaCl)

Afin d'évaluer la tolérance du modèle végétal et l'efficacité des souches bactériennes sous différentes intensités de contrainte saline, une gamme de concentrations croissantes en chlorure de sodium (NaCl) a été préparée au laboratoire. Les concentrations retenues pour cette étude sont les suivantes :**50 mM :** Correspondant à un stress salin de faible intensité ; **150 mM**

: Correspondant à un stress salin sévère ; **200 mM :** Correspondant à un stress salin très sévère (seuil de toxicité critique).

II.5.2. Désinfection et stérilisation superficielle des semences

Pour éliminer la microflore épiphyte susceptible d'interférer avec l'inoculation bactérienne et d'altérer les résultats, les semences ont subi une stérilisation superficielle rigoureuse en milieu stérile sous hotte à flux laminaire selon le protocole adapté deBouremani et al. (2024) suivant :

- **Trempage initial :** Les graines sont d'abord immergées dans de l'éthanol à 70% pendant une minute pour éliminer les bulles d'air et initier la désinfection.
- **Désinfection chimique :** Les graines sont ensuite transférées dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl à 2-3%) pendant 5 à 10 minutes sous agitation constante.
- **Rinçage abondant :** Afin d'éliminer toute trace d'agent stérilisant toxique pour la germination, les semences sont rincées successivement 5 à 6 fois avec de l'eau distillée stérile.
- **Séchage partiel :** Les graines stériles sont ensuite déposées délicatement sur du papier filtre stérile pour éliminer l'excès d'eau avant l'étape d'enrobage.

II.5.3. Préparation de l'inoculum bactérien et enrobage des semences

Cette étape consiste à préparer le matériel bactérien (les souches isolées) et à réaliser l'inoculation directe des graines désinfectées, selon le protocole de Nawaz et al. (2020):

- **Culture et activation :** Les souches bactériennes ont été préalablement cultivées dans un milieu liquide approprié (bouillon nutritif) sous agitation à 37°C pendant 24 heures jusqu'à obtention d'une phase stationnaire de croissance.
- **Lavage des cellules :** Afin d'éliminer toute trace de milieu de culture résiduel, la suspension bactérienne est centrifugée (généralement à 5000 tours/min pendant 15 minutes). Le culot bactérien obtenu est ensuite lavé deux à cinq fois consécutives avec une solution saline stérile (eau physiologique) par des cycles de re suspension et de centrifugation.
- **Ajustement de la charge bactérienne :** La concentration finale de la suspension (inoculum) est ajustée par spectrophotométrie à une densité optique standard équivalente à environ 10^8 UFC/ml (Unités Formant Colonies).
- **Enrobage (Inoculation) :** Les semences préalablement stérilisées sont immergées directement dans le culot ou la suspension bactérienne lavée pendant une durée déterminée

(environ 1h à 2h) sous agitation lente pour permettre une adhésion homogène des bactéries autour des téguments de la graine.

II.5.4. Dispositif expérimentale in vitro de la germination des graines :

Les graines inoculées sont transférées aseptiquement et disposées de manière homogène dans des boîtes de Petri stériles contenant un milieu aqueux gélosé (gélose ordinaire). Ce support gélosé a été diviser en plusieurs lot selon le traitement expérimental nécessaire permettant d'assure un approvisionnement hydrique constant et stérile, optimal pour initier la phase de germination in vitro et suivre le développement précoce des plantules avant leur transfert ultérieur.

Les lots d'expérimentation ont été répartis comme suit :

- Lot 1 : Lot T pour témoin : ce lot contient les graines du blé sans traitement NaCl ni de traitement Bactérien
- Lot 2 : Lot Tn1, Lot Tn2, et Lot Tn3 ; contenant les graines traitées seulement par les différentes concentrations de NaCl, 50 mM ; 150 mM ; 200 mM, respectivement.
- Lot 3 : Correspondant aux lots de traitements bactériens sans NaCl ; Lot C1 ; Lot P1
- Lot 4 : correspondant aux lots de traitement bactériens en présences des différentes concentrations de NaCl : Lot C1 50 ; Lot C1 150 ; Lot C1 200 ; et Lot P1 50 ; Lot P1 150 et Lot P1 200

II.5.5. Dispositif expérimental in-*vivo* et traitement du sol par le NaCl

Le dispositif expérimental a été conçu pour croiser le facteur d'inoculation bactérienne (graines enrobées par les différentes souches) avec le facteur d'intensité du stress salin (NaCl) et le transfert des graines germées dans le sol, Ce protocole s'est déroulé selon les étapes successives suivantes adapté des travaux de Felieccia et al. (2017) ;

II.5.5.1. Préparation du sol et des plateaux d'alvéole pour le transfert

- **Stérilisation du sol :** Afin de réduire les contaminations microbiennes indigènes, d'homogénéiser les conditions expérimentales, d'améliorer la reproductibilité des résultats et de limiter les biais liés à la microflore naturelle du sol, un protocole strict de standardisation du substrat a été appliqué au laboratoire :
- **Sélection et composition du substrat :** Le substrat d'essai est composé d'un mélange proportionnel recommandé de deux (02) volumes de terreau fin pour un (01) volume de sable lavé (soit 2/3 de terreau et 1/3 de sable). Le terreau apporte les nutriments nécessaires tandis

que le sable permet une bonne aération, un drainage optimal et réduit la compaction du milieu.

- **Tamisage :** Le terreau et le sable ont été tamisés séparément à l'aide d'un tamis de maille comprise entre 2 et 5 mm afin d'éliminer les pierres, de retirer les débris organiques ou végétaux grossiers, et d'obtenir une texture parfaitement homogène.
- **Lavage du sable :** Le sable a été rincé à plusieurs reprises à l'eau du robinet jusqu'à l'obtention d'une eau limpide, suivi d'un dernier rinçage à l'eau distillée, avant d'être égoutté et séché partiellement.
- **Mélange et humidification pré-stérilisation :** Le terreau et le sable ont été mélangés soigneusement jusqu'à l'obtention d'un substrat homogène et aéré. Ce mélange a ensuite été humidifié légèrement avec de l'eau distillée (humide mais non détrempé) pour améliorer l'efficacité du transfert thermique lors du chauffage.
- **Double stérilisation au four (Chaleur sèche)** : Pour répondre aux exigences des essais microbiologiques et optimiser l'élimination des spores et des micro-organismes thermorésistants, une double stérilisation (Tyndallisation partielle) a été exécutée :

✓ Jour 1 : Les plateaux ont été introduits dans un four de laboratoire préchauffé, puis maintenus à une température constante de 80 à 90 °C pendant 1 heure à 1 heure 30 (sans dépasser 100 °C afin de préserver les propriétés physico-chimiques du substrat). Après le cycle, les plateaux ont été laissés au repos pendant 24 heures à température ambiante pour stimuler la germination des spores survivantes.

✓ Jour 2 : L'opération de chauffage au four a été répétée exactement dans les mêmes conditions (80–90 °C pendant 1 heure) pour détruire définitivement les formes végétatives issues des spores.

- **Refroidissement et conservation** : À l'issue de la stérilisation, le substrat a été laissé à refroidir complètement à l'abri de toute recontamination en maintenant les plateaux couverts. Le substrat stérile a ensuite été conservé dans des récipients propres hermétiquement fermés avant d'être réparti de façon strictement équitable et pesée dans les pots de culture.
- **Répartition sur plateaux :** Le substrat a été étalé de manière uniforme sur des plateaux en verre résistant à la chaleur, sur une épaisseur maximale de 3 à 5 cm pour garantir une diffusion thermique et une stérilisation homogène.
- **Répartition des traitements et transfert des graines :** Après l'étape de germination précoce in vitro, les graines ou jeunes plantules ont été transférées délicatement dans les pots de culture. L'expérimentation a été structurée en combinant plusieurs variantes de traitements, les lots ont été réparti comme précédemment cité :

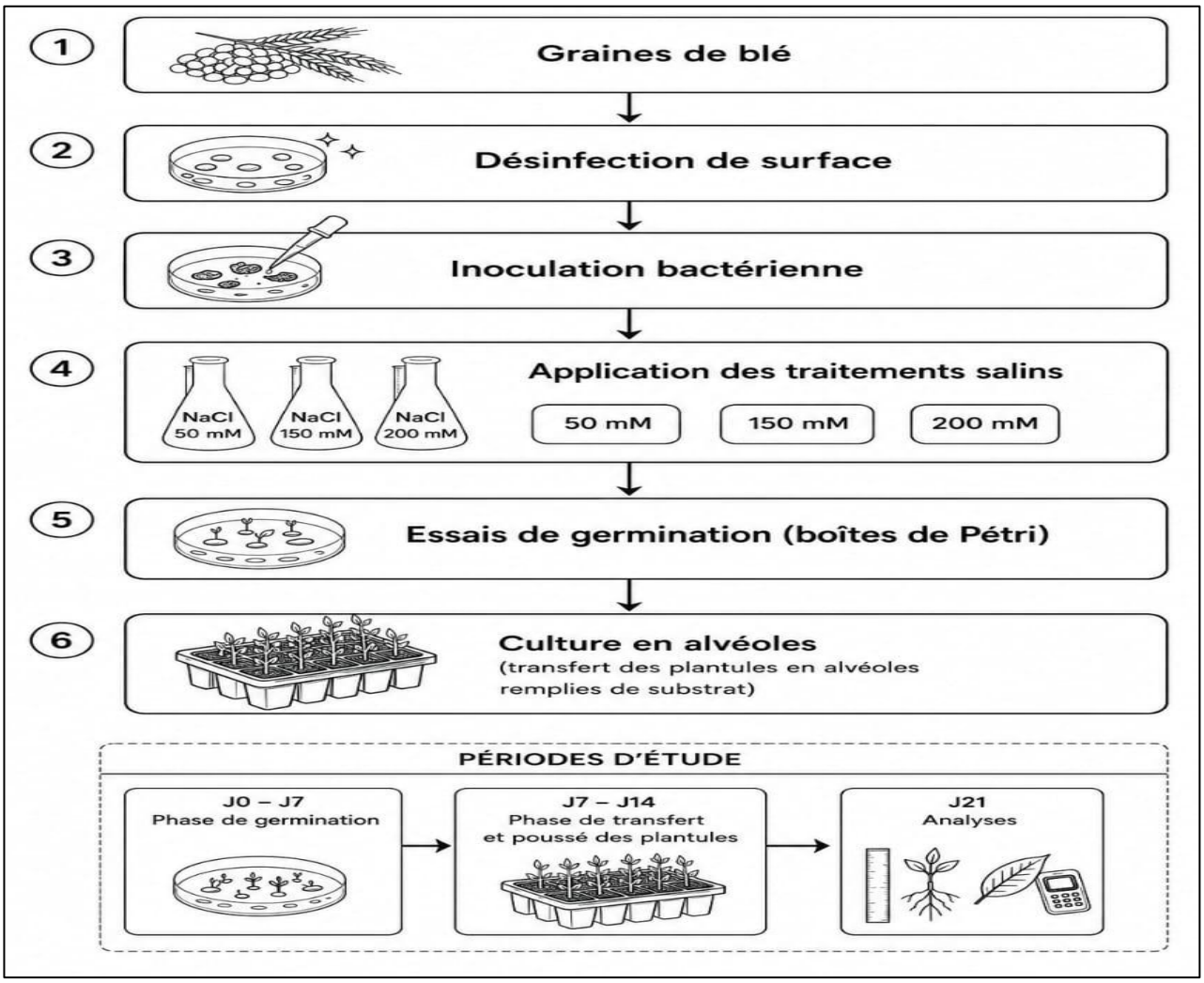

Figure 04 : Représentation schématique du dispositif expérimental in-vivo et de la chronologie des traitements salins (NaCl) chez le blé (*Triticum durum)*

II.5.5.2. Application du stress salin et régime d'arrosage :

Dans l'objectif de maintenir une contrainte saline constante et simuler au mieux les conditions de salinité des sols agricoles au niveau de la rhizosphère, un protocole d'arrosage strict a été appliqué :

- **Préparation de l'eau d'arrosage :** Des solutions d'arrosage spécifiques ont été préparées au laboratoire en dissolvant les quantités requises de chlorure de sodium (NaCl) dans de l'eau distillée stérile afin de reconstituer fidèlement la gamme des concentrations d'étude (50 mM, 150mM et 200 mM).
- **Régime d'irrigation :** Le stress a été induit par l'apport régulier et planifié de ces solutions salines préparées lors des cycles d'arrosage programmés afin d'évaluer précisément l'effet protecteur des bactéries face à la toxicité ionique et au stress osmotique

II.6. Paramètres du suivi de l'efficacité du traitement bactérien :

II.6.1. Evaluation de la germination (*in-vivo)* :

II.6.1.1. Taux de germination :

Le taux de germination a été mesuré sur une période allant de J0 à J7. Une graine était considérée comme germée dès que la radicule devenait visible. Le calcul du taux de germination s'effectuait à l'aide de la formule suivante :

TG (%) = (Nombre de graines ayant germé / Nombre total de graines semées) × 100

Cette méthode est conforme aux recommandations de l'AOSA (1990)

II.6.1.2. Longueur du système racinaire :

La longueur de la plumule embryonnaire a été évalué et enregistré en centimètres chaque jour pour chaque grain germé pendant toute la phase de germination de J1-J7. De plus, la distance en centimètres entre l'extrémité du premier nœud cotylédonaire et la radicule la plus allongée a été déterminée (Al-Mutawa, 2003).

II.6.2. Evaluation de la croissance de la biomasse végétale*(in-vitro)* :

II.6.2.1. Longueur des parties aériennes

La longueur des parties aériennes a été mesurée à l'aide d'une règle graduée entre le collet et l'extrémité de la feuille la plus développée. Les résultats ont été exprimés en cm (Ashraf et Harris, 2004).

II.6.2.2. Longueur racinaire

La longueur de la racine principale a été mesurée après lavage soigneux des racines pour enlever toutes traces des débris du sol. Les résultats ont été exprimés en cm (Munns et Tester, 2008).

II.6.2.3. Poids frais des parties aériennes et des racines

Les parties aériennes et racinaires ont été séparées au niveau du collet puis pesées immédiatement à l'aide d'une balance analytique de précision (±0,001 g). Les résultats ont été exprimés en g/plantule (Munns et Tester, 2008).

II.6.3. Evaluation des caractères physiologiques de la biomasse végétale

II.6.3.1. Dosage de la Chlorophylle :

L'extraction des pigments photosynthétiques a été réalisée à partir de [100-200] mg de tissu foliaire frais, en le broyant dans 10 mL d'acétone à 80 %. Suite à la centrifugation, l'absorbance du surnageant a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre aux longueurs d'onde de 663 nm et 645 nm. Les concentrations de chlorophylle a, chlorophylle b et chlorophylle globale ont été déterminées en utilisant les formules d'Arnon (1949). Les résultats ont été indiqués en termes de mg/gde matière fraîche.

II.6.4. Evaluation de la population bactérienne dans les échantillons de sol :

L'évaluation de la persistance et la présence des traitements bactériens dans les échantillons de sol d'expérimentation a été effectuée en utilisant la technique de dilutions en série, suivie d'une inoculation sur un milieu de culture approprié (Guiraud, 2003), en fonction de la bactérie étudiée. Suite à l'incubation, un dénombrement des colonies caractéristiques a été effectué, avec une expression des résultats en unités de formation de colonies par gramme de sol sec.

II.7. Analyse statistique

Les données obtenues ont été traitées à l'aide du logiciel Microsoft Excell. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± écart-type calculées à partir des répétitions expérimentales. Les graphiques ont été réalisés avec Excel aussi afin d'illustrer l'évolution des différents paramètres mesurés en fonction des traitement appliqués.

III. Résultats et discussion

Dans cette section, l'analyse des divers tests effectués permet de déterminer le profil fonctionnel et physiologique des bactéries isolées. Les résultats sont exposés et examinés, tout en les mettant en perspective avec d'autres recherches sur le même sujet.

III.1. Identification phénotypique et biochimique des isolats

Au totales cinq isolats bactériens, ont été obtenues à partir des échantillons de tomate et de choux blanc, Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques **(Tableau 6 et Figure 5)** ainsi que les caractères physiologiques et biochimiques permettant l'identification phénotypique des isolats sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Résultats des caractères physiologiques et biochimiques des cinq isolats.

Caractéristiques	Isolat C1	Isolat C2	Isolat C3	Isolat C4	Isolats C5
Aspect Colonies	Petites colonies blanchâtre lisses et bombé, légèrement crémeuse	Colonies moyennes lisse de couleur blanche crémeuse	Petites Colonies brillantes homogène et de couleurs crème à blanche	Petites colonies à surface lisse de couleur blanche et texture crémeuse	Petites colonies à surface lisse de couleur blanche et texture crémeuse
Gram/ catalase	Positif / Négative	Positif / Négative	Positif / Négative	Positif / Négative	Positif / Négative
Forme Cellulaire	Cocci ovoïdes diplocoque ou en chainette	Cocci diplocoque ou en chainette	Cocci ovoïdes diplocoque ou en chainette	Cocci sphériques en paires amas et chainette	Cocci sphériques en paires amas et chainette
Croissance à 37°C	+	+	+	+	+
Croissance à 45°C	+	+	+	+	+
PH basique 8	+	+	+	+/-	-
PH acide 4	+	+	+	+	+
Croissance à 6,5 % de NaCl	+++	++	+	±	±
Croissance à 50mM NaCl	+	+	+	+	+
Croissance à 150mM NaCl	+	+	+	+	+
Croissance à 200mM NaCl	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+
Saccharose	+	±	+	±	±
Milieu TSI	+	+	+	+	+
Milieu lait écrémé	Coagulation	Coagulation	Coagulation	Coagulation	Coagulation

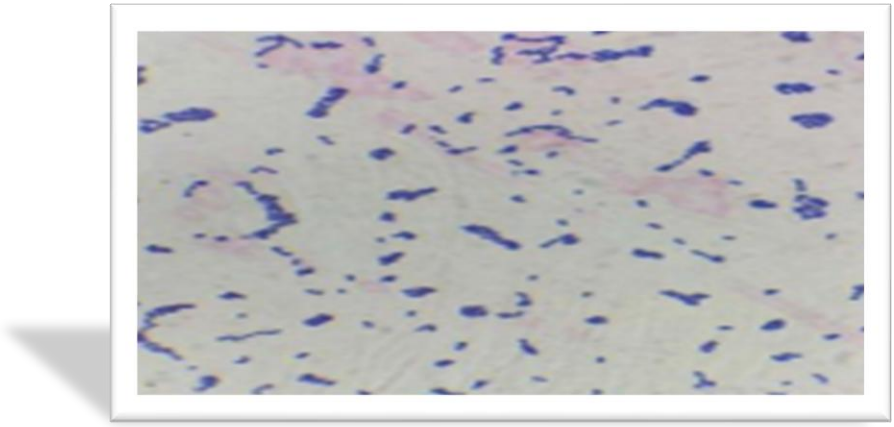

Figure n°5 : Observation au microscope optique de la souche C1 apparenté au genre *Enterococcus sp* (G x100)

Les isolats étudiés présentent un profil typique apparenté au genre *Enterococcus*, caractériser par une morphologie de Cocci Gram positifs disposés en diplocoques ou en courtes chaines, avec l'absence d'activité de la catalase, une bonne tolérance aux variations de pH ainsi que sur le plan physiologique les souches montrent un forte capacité d'adaptation dans les conditions extrêmes du stress salin traduisant une tolérance osmotique élevé. En effet, le genre Enterococcus : cocci Gram positif, catalase négative, croissance à 37°C et 45°C ainsi qu'une capacité d'adaptation aux conditions salines. **(Facklam et Collins,1989).**

Plusieurs études concernant l'isolement d'*Enterococcus* à partir de matériaux végétaux et alimentaires ont fait état d'observations similaires. Selon **Moreno et al. (2006),** certaines souches présentent une morphologie comparable à nos résultats et une grande faculté d'adaptation à l'environnement. Aussi, **Franz et al. (2011)** ont également démontré que les *Enterococcus* prélevés de produits végétaux montrent une grande plasticité physiologique qui leur permet de résister à des environnements difficiles.

L'hypothèse selon laquelle les isolats analysés appartiennent au genre Enterococcus est renforcée par les similitudes observées. Le profil métabolique, met en évidence une fermentation active des sucres testées, confirmé par un comportement fermentatif sur le milieu TSI sans production d'H2S. Cette activité fermentaire est associée à la coagulation du lait écrémé due à la production d'acide lactique confirmant le caractère acidifiant des isolats.

Ce processus découle de la production d'acide lactique, menant à une baisse du pH et à une précipitation des protéines laitières. D'après **Leroy et De Vuyst (2004),** ce comportement est typique des bactéries lactiques et représente un signe essentiel de leur activité métabolique.

Franz et al. (2007) ont aussi noté des profils de fermentation similaires chez diverses souches d'*Enterococcus* qui peuvent rapidement acidifier leur environnement de culture.

Par ailleurs, la capacité de croissance à large spectre de température ainsi que la thermo résistance à 60°C, observée renforce l'identification au *genre Enterococcus*, connue pour sa robustesse physiologique. Les résultats obtenus indiquent aussi une croissance persistante même à une concentration de 200 mM NaCl ce qui suggère que les souches isolées maintiennent une grande part de leur activité physiologique malgré l'accroissement de la pression osmotique. En effet, la capacité de continuer à croître à diverses températures et à de fortes concentrations de NaCl témoigne d'une adaptation physiologique significative. Cette résistance pourrait être due à des processus de régulation osmotique, d'accumulation de solutés compatibles et de préservation de l'intégrité des membranes **(Giraffa, 2002).**

Aussi, **Upadhyay et al. (2012)** ont aussi montré que les bactéries tolérantes au sel participent indirectement à l'amélioration des performances des plantes en situation de stress salin que ces bactéries peuvent préserver leurs fonctions métaboliques même dans des conditions environnementales hostiles.

Concernant les bactéries associées à la rhizosphère, cette caractéristique est essentielle puisqu'elle détermine leur capacité à persister et à coloniser les racines malgré les contraintes abiotiques. Une bactérie qui n'est pas capable de tolérer la salinité voit habituellement son activité biologique diminuer, ce qui freine son aptitude à continuer à exercer une influence bénéfique sur la plante **(Munns & Tester, 2008 ; Upadhyay et al., 2012).**

De plus, dans l'optique de sélection des bactéries PGPR, la résistance au sel chez ces dernières a souvent un effet indirect sur l'amélioration de la résistance des plantes au stress salin. En s'implantant dans la rhizosphère, elles ont la capacité de stimuler la croissance du réseau racinaire, optimiser l'absorption des minéraux et accroître la disponibilité des nutriments indispensables. Ces influences favorisent la capacité des plantes à mieux faire face aux conditions adverses et à assurer une croissance plus stable en situation de stress salin. Plusieurs recherches ont démontré que l'introduction de bactéries PGPR adaptées à la salinité chez le blé favorise une augmentation de la biomasse végétale, de la longueur des racines et de l'absorption des nutriments **(Vessey, 2003 ; Upadhyay et al., 2012)**

III.2. Biocompatibilité des isolats :

L'évaluation de la biocompatibilité parmi les souches isolées représente une phase cruciale pour le choix des souches envisagées pour être employées en consortium microbien ou même comme inoculum de multiples fonctions. Effectivement, cela offre la possibilité d'évaluer simultanément la compétence des différentes souches à co-exister sans provoquer d'effets antagonistes susceptibles d'entraver leur croissance ou leurs activités biologiques.

Les résultats démontrent l'absence totale d'antagonisme entre les isolats (C1 ; C4 ; C5) testés ce qui démontre que ces deux souches peuvent être associées et agir de manière complémentaire et synergique ensembles. Contrairement aux isolats C2, C 3, qui ont présenté des effets antagonistes entre eux en plus avec les autres isolats (C4, C5). La souches C1 était biocompatible avec tous les isolats.

Cette recherche met en évidence une absence d'inhibition variable entre les isolats, ce qui indique une possibilité accrue de coexistence entre les souches compatibles. L'absence de zones d'inhibition entre les isolats suggère une compatibilité biologique favorable. Cette constatation indique en particulier que les isolats ne génèrent pas de substances antibactériennes, semblables à la bactériocine, dans les conditions expérimentales démontrées **(Franz et al.,2007).** Cependant, aussi selon **Franz et al. (2007),** certaines variétés d'Enterococcus produisent des entérocines qui ont la capacité d'inhiber d'autres bactéries.

III.3. Solubilisation du phosphore :

Le test de solubilisation du phosphate réalisé sur milieu PVK a révélé la formation d'un halo transparent autour des colonies bactériennes. Les résultats des indices de solubilisations sont représentés par la figure n°6.

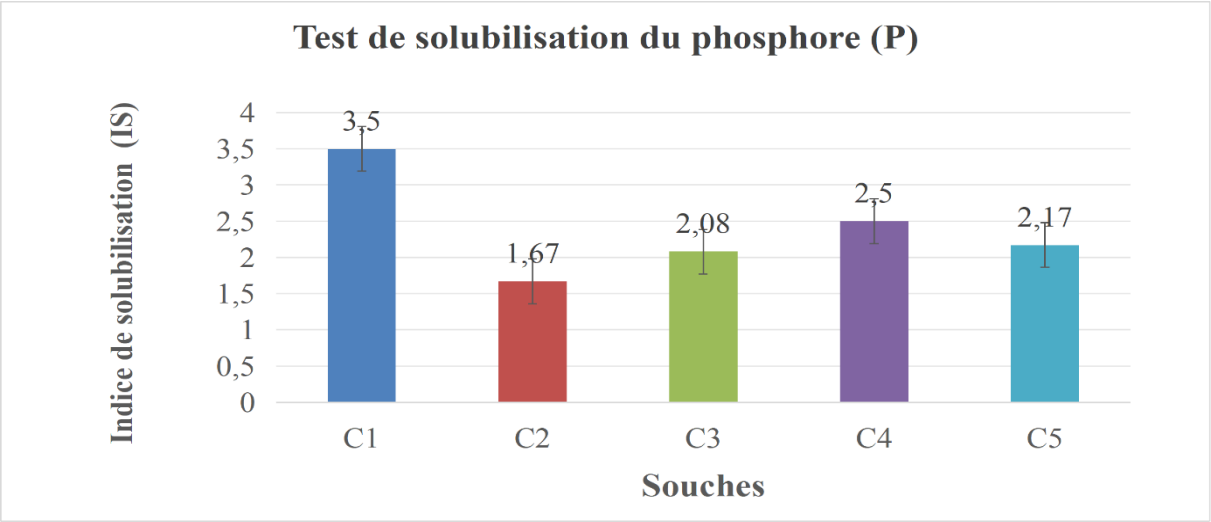

Figure : Histogramme des indices de solubilisation du phosphore

Le diamètre de la colonie était de 6 mm alors que le diamètre total (colonie + halo) variait entre 10 et 21 mm, correspondant à un indice de solubilisation compris entre 1,67 et 3,5. Cette observation confirme que les isolats présentent une capacité modérée à très bonne de solubilisation du phosphore insoluble présent dans le milieu. En effet, La formation de ce halo est généralement attribuée à la production d'acides organiques capables de diminuer le pH du milieu et de libérer les ions phosphates à partir des complexes minéraux insolubles **(Rodríguez & Fraga, 1999).**

L'importance de ce résultat réside dans le fait que le phosphore est un élément indispensable au développement du blé. Il intervient dans la synthèse des acides nucléiques, la production d'énergie cellulaire sous forme d'ATP et le développement du système racinaire. Cependant, dans de nombreux sols agricoles, une grande partie du phosphore est immobilisée sous des formes peu disponibles pour les plantes. Ainsi, la capacité de la souche à solubiliser le phosphate pourrait favoriser une meilleure nutrition phosphatée du blé et améliorer son développement, particulièrement dans les sols pauvres en phosphore assimilable **(Richardson et al., 2009).**

Pour affiner l'interprétation des résultats, diverses études ont signalé que certaines souches relevant du genre Enterococcus ont la faculté de solubilisant le phosphore, grâce à la génération d'acides organiques et à l'acidification de leur milieu de culture. Cette action aide à convertir les formes non solubles du phosphore en formes que peuvent assimiler les plantes.

Des résultats similaires ont été observés par **Rodriguez et Fraga. (1999),** qui ont démontré le rôle des bactéries solubilisatrices du phosphate dans l'amélioration de la disponibilité du phosphore. De plus, **Sharma et al. (2013)** ont signalé que diverses bactéries rhizosphériques dotées de cette action stimulent de manière indirecte la croissance des racines et améliorent l'efficacité nutritive des végétaux. Dans notre recherche, les indices de solubilisation que nous avons observés confirment donc l'aptitude agronomique des isolats choisis.

III.4. Détermination de l'efficacité du traitement bactérien

III.4.1. Taux de germination

Les résultats relatifs à l'étude du taux de germination (TG) des graines de blé, obtenus le premier jour (J1) et le septième jour (J7) dans diverses concentrations de stress salin, sont visualisés dans la Figure 07.

cc

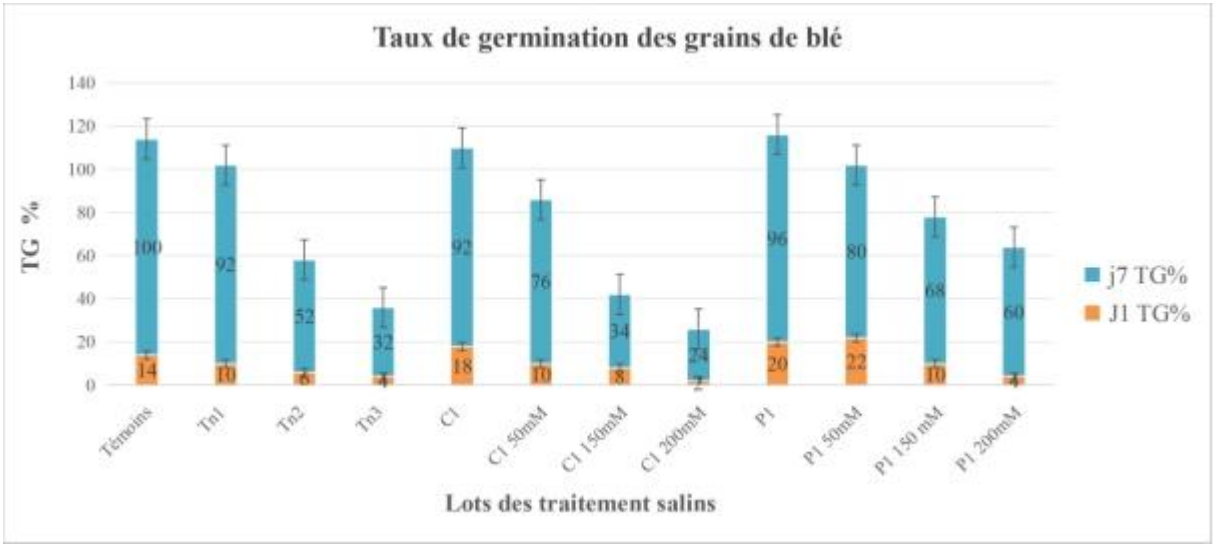

Figure 7 : Histogramme des taux de germination des graines de blé selon les différents lots de traitement salin

D'une part, concernant les échantillons témoins, on observe une diminution notable et graduelle du taux de germination à J7 avec une augmentation de la concentration de NaCl. Le TG diminue de 100% pour le témoin complet à 92% pour Tn1 (50 mM), puis chute à 52% pour Tn2 (150 mM) et descend à 32% pour Tn3 (200 mM), révélant l'impact négatif important de la salinité sur les premières étapes de la croissance des plantes.

D'autre part, l'ensemencement des graines avec des isolats bactériens (C1 et P1) provoque une augmentation remarquable et significative du taux de germination, particulièrement en présence de stress osmotique. À la plus forte concentration de 200 mM de NaCl, le groupe inoculé avec la souche P1 maintient un TG de 60% tandis que le groupe C1 atteint 24%, comparativement au témoin stressé non inoculé (Tn3) qui n'excède pas 32%. Par ailleurs, dans des conditions standard (sans NaCl), l'inoculation favorise la croissance dès le premier jour (J1), le TG passant de 14% (Témoin) à 18% (C1) et 20% (P1) ce qui traduit une bonne croissance de nos isolats face à la nocivité du sel.

La diminution du taux de germination observée chez les lots non inoculés (Tn) s'explique par deux facteurs majeurs induits par le stress salin : l'effet osmotique et la toxicité ionique. En effet, une ne forte concentration de NaCl dans le substrat diminue le potentiel hydrique, ce qui restreint l'imbibition des graines, une étape pourtant essentielle pour réactiver le métabolisme embryonnaire **(Grozeva et al.,2019).** De surcroît, l'accumulation excessive des ions Na+ et Cl - perturbe l'activité des enzymes hydrolytiques (telles que l'alpha-amylase) nécessaires à la mobilisation des réserves de l'albumen **(Akhtar et al.,2012).**

En contrepartie, l'atténuation de ce stress chez les lots inoculés (C1 et P1) est attribuée aux mécanismes typiques des bactéries promotrices de la croissance végétale (PGPR). Ces bactéries ont la capacité de synthétiser des phytohormones, notamment l'Acide Indole-3-Acétique (AIA), qui stimule l'élongation cellulaire et accélère l'imbibition **(Dimpka et al.,2009)**.

De plus, les PGPR induisent la production d'osmolytes compatibles (comme la proline) chez la plante et régulent la balance hormonale en diminuant les taux d'acide abscissique (ABA, hormone inhibitrice de la germination) au profit des gibbérellines (GA), déclenchant ainsi une germination plus rapide et vigoureuse **(Hardoim et al.,2008).**

Nos constatations coïncident exactement avec les recherches de **(Upadhyay et al. 2012**), qui ont prouvé que la contamination du blé avec des bactéries résistantes au sel améliore de manière significative l'indice de vigueur de la germination dans des conditions salines. Etant donné que **(Vessey 2003)** a noté que l'action bénéfique des rhizobactéries aide à préserver l'intégrité membranaire des graines face au stress oxydatif provoqué par la salinité.

Cette concordance avec la documentation confirme que l'isolat C1 apparentés au genre *Enterococcus sp*, démontrent des habilités physiologiques PGPR préliminaire intéressantes

similaires aux souches de références (P1), ce qui suggère leur usage potentiel en tant que bio-inoculant dans les régions arides ou semi-arides après une meilleur caractérisations des différentes propriétés des PGPR.

III.4.2. Longueur des biomasses végétales

La Figure 08 illustre les données morphométriques concernant la taille des plantules, la longueur des racines (en cm) et le nombre de feuilles du blé, cultivé en fonction de diverses concentrations de NaCl et inoculé ou pas par nos isolats.

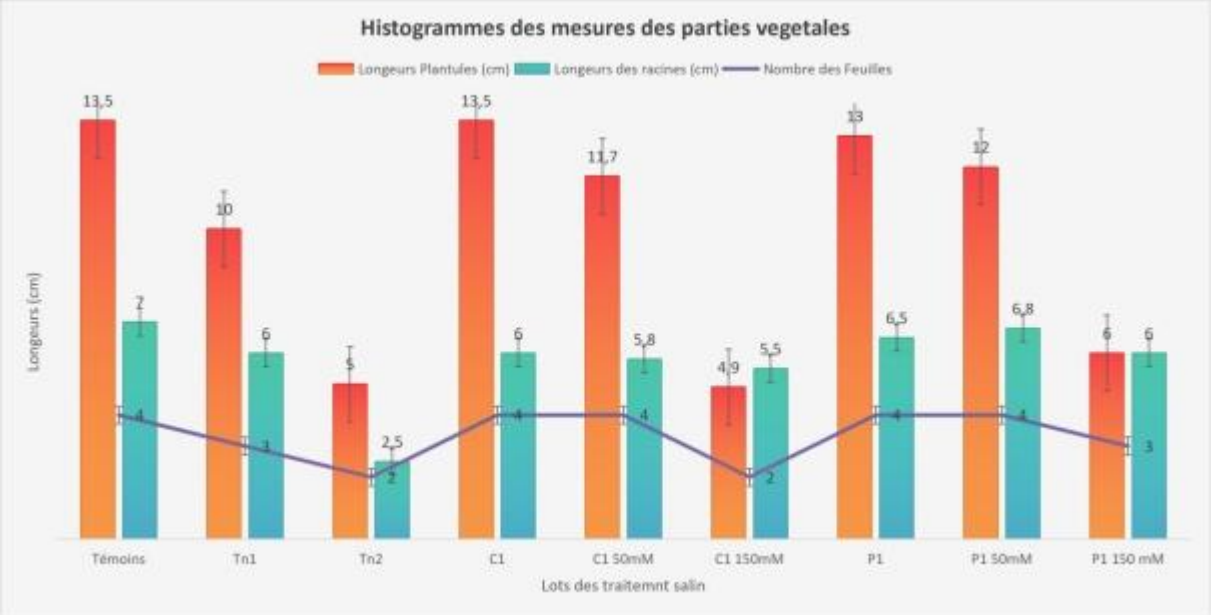

Figure 08 : histogramme des longueurs des biomasses végétales et Racinaires selon les différents lots du traitement salin

L'analyse des échantillons témoins non inoculés (Tn) révèle un impact sévère et proportionnel à la dose de la salinité sur l'étirement des tissus. Dans le cas du témoin absolu, les plantules mesurent 13,5 cm, les racines atteignent 7 cm, et l'on dénombre en moyenne 4 feuilles. Face à un stress de 50mM (Tn1), ces valeurs diminuent à 10cm et 6 cm, respectivement. Sous un stress intense de 150 mM de NaCl (Tn2), cette inhibition devient décisive, provoquant l'effondrement de la longueur des semis à 5 cm, celle des racines à 2,5 cm et la réduction du nombre de feuilles à 2. Par contre, l'introduction de souches bactériennes (C1 et P1) entraîne une amélioration notable des mesures morphologiques sous conditions de stress.

Dans une concentration de 50mM de NaCl, le lot inoculé avec P1 présente une longueur de plantule atteignant 12cm et une longueur de racine de 6,8cm, surpassant largement le témoin de stress correspondant Tn1. Même avec une pression saline forte de 150mM, l'utilisation de la

souche P1 permet de conserver une taille de 6cm pour les plantules et 6cm pour les racines, en comparaison au témoin Tn2 (5cm et 2,5 cm respectivement). Le lot C1 à 150 mM conserve aussi une longueur de racine significative de 5,5 cm. Par ailleurs, la plupart des échantillons traités comptent 3 ou 4 feuilles, attestant de l'efficacité de nos isolats à maintenir la croissance structurelle du blé face au stress osmotique.

Nos résultats obtenus, se rapprochent de ceux obtenus par les travaux d'Upadhyay **et al. (2012)** qui ont démontré que l'intégration de rhizobactéries qui supportent le sel dans le blé élargit considérablement le diamètre des tiges et des racines lorsqu'elles sont exposées au NaCl. Par ailleurs, comme l'indiquent **Coelho et al. (2022),** les communautés bactériennes lactiques, notamment celles de l'espèce Enterococcus, détiennent des caractéristiques biologiques et biochimiques exceptionnelles qui leur permettent de mener une vie dynamique dans la rhizosphère malgré une forte pression osmotique **(Coelho et al., 2022)**

La réduction de la longueur des axes végétatifs et du nombre de feuilles chez les lots non inoculés s'explique par la diminution de la pression de turgescence cellulaire induite par le stress osmotique, ce qui bloque l'extension des parois membranaires **(Hardoim et al.,2008).**

De plus, l'accumulation des ions toxiques Na+ perturbe l'activité des gibbérellines et des cytokinines, des phytohormones endogènes pourtant indispensables à la division cellulaire au niveau des méristèmes caulinaires et racinaires **(Hardoim et al.,2008).**

Le rôle protecteur et stimulant constaté chez les plantes inoculées découle directement des caractéristiques PGPR des bactéries employées. L'acide (AIA) produit par les bactéries induit un renouvèlement de la paroi cellulaire (hypothèse de l'extension de croissance), ce qui favorise l'allongement des cellules racinaires et encourage la croissance des racines latérales. Un système racinaire plus vaste maximise l'absorption de l'eau, réduisant de ce fait le manque d'eau au niveau des parties aériennes. Cela favorise une division cellulaire dynamique cruciale pour l'apparition des feuilles et la croissance des plantules **(Dimpka et al.,2009).**

II.4.3. Poids frais des parties aériennes et des racines

Les poids frais moyens des racines et des jeunes plants de blé, exprimés en grammes (g) après avoir été soumis à diverses salinités et inoculés ou non par nos bactéries employées, se trouvent dans la **Figure 09.**

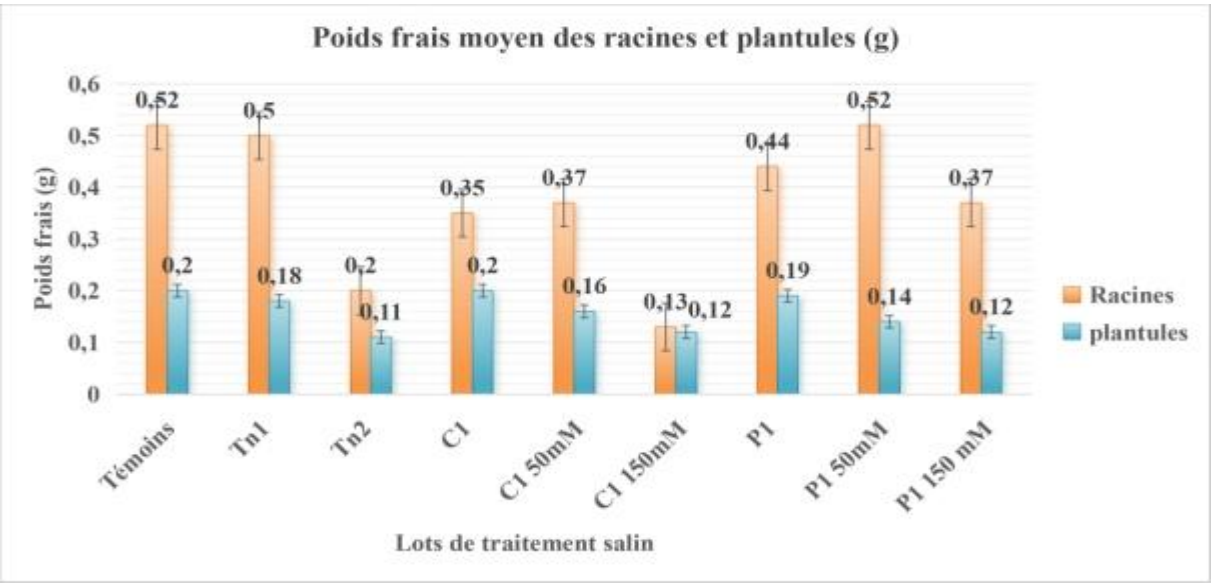

Figure 9 : Histogramme des mesures des Poids frais moyen de la biomasse végétale (Plantules et racines)

Pour les groupes non traités (Tn), on note une réduction continue et importante de la masse fraîche à mesure que la salinité augmente. Dans le groupe de contrôle sans inoculation, la masse fraîche s'établit à 0,52 g pour les racines et à 0,2 g pour les plantules. Sous une salinité moyenne de 50 mM (Tn1), nous observons une baisse de ces valeurs à 0,5 g et 0,18 g respectivement, alors qu'une salinité plus élevée de 150 mM (Tn2) entraîne une réduction significative, ramenant la masse à 0,2 g pour les racines et 0,11 g pour les plantules. À l'inverse, l'ajout des bactéries (C1 et P1) limite de manière notable les effets négatifs du sel. Sous une pression osmotique de 50 mM de NaCl, le groupe inoculé par P1 conserve une masse racinaire de 0,52 g (identique au contrôle absolu) et 0,14g pour la partie aérienne, alors que le groupe C1 affiche 0,37 g pour les racines et 0,16 g pour les plantules. Même avec une salinité élevée de 150 mM l'inoculation par P1 maintient une bonne quantité de biomasse racinaire de 0,37 g par rapport au groupe témoin stressé non inoculé Tn2 0,2 g. Ces constatations démontrent la faculté de nos souches à maintenir la production de matière fraîche dans des conditions difficiles.

Ces résultats s'expliquent par le stress hydrique et la toxicité du sodium qui réduisent la biomasse des plantes non traitées en limitant la turgescence et la photosynthèse. À l'inverse, l'inoculation par des PGPR stimule le développement racinaire via des phytohormones. Ce système racinaire densifié optimise l'absorption d'eau et de nutriments, améliorant ainsi la biomasse malgré les conditions salines **(Hardiom et al.,2008 ; Dimpka et al., 2009 ; Hmaeid et al., 2014)**

II.4.4. Dosage de la chlorophylle

Les résultats relatifs à la quantification des pigments photosynthétiques (chlorophylle a, b et totale), exprimés en milligramme par litre (mg/L) chez les différents lots de blé soumis ou non à la contrainte saline, sont illustrés par la **Figure 10**.

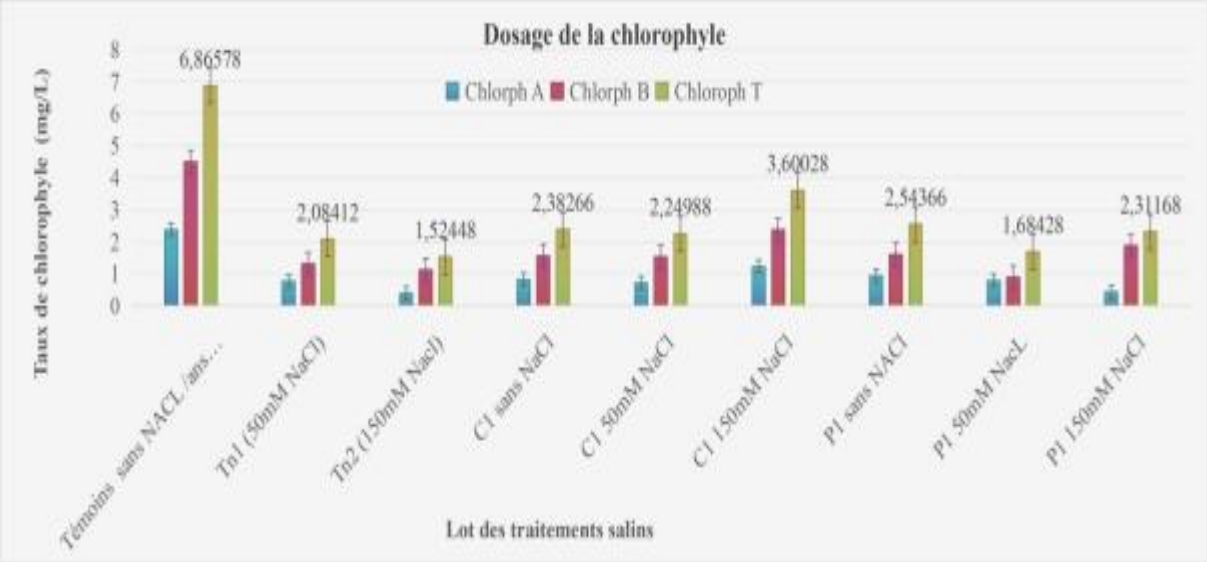

Figure 10 : Résultats du dosage des chlorophylles selon les lots de traitement salin

L'analyse des lots témoins non inoculés (Tn) met en évidence une dégradation sévère et continue des teneurs en chlorophylle proportionnellement à l'intensité du stress salin appliqué. La teneur en chlorophylle des lots non inoculés chute drastiquement sous l'effet du stress salin, passant de 6,86 mg/L (témoin) à 2,08 mg/L (50 mM) et 1,52 mg/L (150 mM). Contrairement, au lot traiter par l'apport des isolats bactériens (C1 et P1) induit un effet protecteur statistiquement remarquable, limitant la perte de pigments.

En conditions normales (sans NaCl), les lots inoculés maintiennent des taux stables. Sous contrainte saline de 150 mM, le lot inoculé avec la souche C1 se distingue de manière spectaculaire en affichant un taux de chlorophylle totale de 3,60 mg/L, ce qui représente plus du double de la valeur enregistrée chez le témoin stressé non inoculé Tn2 (1,52 mg/L). De même, la souche P1 permet de maintenir une teneur de 2,31 mg/L à 150 mM de NaCl, confirmant ainsi l'aptitude de nos isolats à préserver l'appareil photosynthétique de la plante face à la toxicité saline.

Chez les plantes stressées et non inoculées, la modification des niveaux de chlorophylle est due à deux processus physiologiques principaux déclenchés par l'accumulation d'ions Na+ et Cl-. D'une part, un niveau trop élevé de sel stimule l'action de la chlorophyllase, une enzyme

qui décompose catalytiquement les molécules de chlorophylle. Par ailleurs, le stress salin entraîne du stress oxydatif secondaire, ce qui conduit à une génération excessive de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) qui provoquent des dommages aux membranes des thylakoïdes dans les chloroplastes par peroxydation lipidique **(Mohammad et al.,2019).**

L'explication de la persistance d'indices de chlorophylle élevés dans les plantules inoculées repose sur la performance systémique des souches PGPR. Ces bactéries favorisent une absorption sélective des nutriments, notamment en augmentant l'assimilation du magnésium (Mg2+) qui est l'atome central de la molécule de chlorophylle, et du fer, tout en limitant l'influx toxique du sodium (Na+) vers les parties aériennes. En outre, il a été démontré que l'inoculation par des rhizobactéries bénéfiques stimule l'activation des enzymes antioxydantes de la plante, telles que la superoxyde dismutase et la catalase. Cette stimulation assure une bioprotection efficace des chloroplastes contre la dégradation oxydative **(Mehta et al., 2010 ; Kalajiet al., 2011)**

Nos résultats confirment pleinement les observations antérieures de Upadhyay et al. (2012), qui avaient révélé que l'ajout de blé avec des rhizobactéries tolérant le sel atténue sérieusement les effets négatifs du NaCl sur la création de pigments essentiels à la photosynthèse. En outre, comme souligné dans l'examen exhaustif de Coelho et al. (2022), les propriétés métaboliques robustes caractéristiques des bactéries lactiques, notamment celles du genre Enterococcus, leur confèrent une aptitude remarquable à prospérer dans des environnements hypersalins **(Upadhyay et al., 2012 ; Coelho et al.,2022).**

II.4.5. Persistance bactérienne dans la rhizosphère (sol)

Les résultats du dénombrement des population bactériennes à partir des échantillons de sol employer dans les différents lots d'expérimentation sont représenté dans la figure 10 :

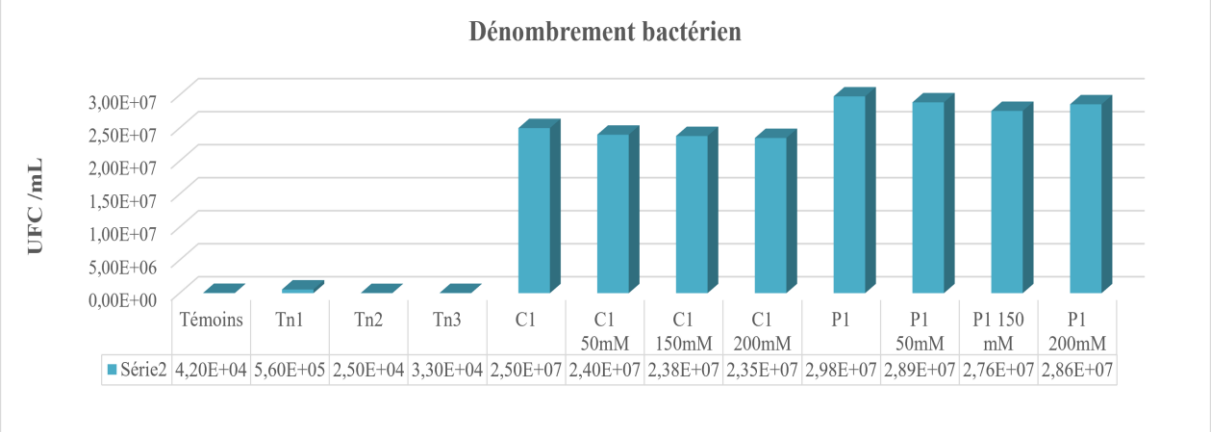

Figure 10 : Histogramme du dénombrement de la population bactérienne du sol expérimentale

Les résultats du dénombrement bactérien dans la rhizosphère révèlent que la charge bactérienne enregistrée au niveau du lot témoin et les lots (Tn), est inférieure à celle observée dans les lots des traitements salins et inoculés par les souches C1 et P1. Cette augmentation de la densité bactérienne traduit une meilleure capacité de ces souches à coloniser la rhizosphère et à s'y maintenir après inoculation.

Ce phénomène de persistance pourrait être dû à la capacité des microorganismes introduits à exploiter les exsudats racinaires en tant que source de carbone et d'énergie, ce qui leur facilite la multiplication et la pérennité dans le sol. De plus, on a constaté que certaines bactéries de la rhizosphère possèdent des mécanismes d'adaptation qui leur assurent une résistance face aux contraintes environnementales tout en préservant leur activité métabolique **(Lugtenberg et al., 2009).**

Il convient également de noter que la présence d'un dénombrement bactérien au niveau du témoin indique que le sol rhizosphérique n'est pas stérile et contient naturellement une microflore autochtone **(Atlas et al., 1998).**

Cependant, la charge bactérienne plus élevée observée dans les traitements inoculés par les souches C1 et P1 suggère que ces dernières ont pu s'installer plus efficacement dans la rhizosphère et contribuer à augmenter la densité microbienne totale comparativement au témoin. Cette différence met en évidence une meilleure capacité de persistance et de colonisation des souches introduites **(Compant et al., 2010).**

Ces résultats sont comparables à de nombreuses recherches scientifiques. En effet, **Vessey (2003)** qui a également fait état de résultats similaires, démontrant que l'introduction de bactéries favorisant la croissance des plantes peut engendrer une densification de leur présence dans la rhizosphère ainsi qu'une interaction améliorée avec le système racinaire. Aussi de manière comparable, **Lugtenberg et Kamilova (2009)** rapportent que les bactéries capables de coloniser la rhizosphère de façon efficiente présentent généralement une plus grande persistance comparativement aux conditions sans inoculation.

Par ailleurs, **Richardson et al. (2009)** ont souligné que le maintien d'une population bactérienne significative au niveau de la rhizosphère est crucial pour maximiser les interactions entre les plantes et les micro-organismes, ce qui contribue indirectement à la disponibilité des nutriments.

Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude suggèrent que les souches C1 et P1 présentent une meilleure aptitude de colonisation et de persistance dans la rhizosphère comparativement au témoin.

Conclusion générale :

La présente étude a permis de démontrer l'intérêt du traitement bactérien comme stratégie biologique durable pour stimuler la croissance et le développement des plantes dès les premiers stades de leur cycle de vie.

En premier lieu, cinq isolats bactériens, ont été obtenues à partir des échantillons de tomate et de choux blanc. Ils présentent un profil typique apparenté au genre *Enterococcus,* caractérisé par une morphologie de cocci Gram positifs organisés en diplocoques ou en courtes chaînes. Ces derniers se distinguent par l'absence d'activité catalasique, une tolérance remarquable aux variations de pH, et physiologiquement, les souches démontrent une adaptation notable dans des situations de stress salin extrêmes, révélant leur haute tolérance à différentes concentrations de NaCl.

Aussi, le profil métabolique dévoile une fermentation des sucres analysés, corroborée par une activité fermentative sur le milieu TSI sans production d'H2S. Cette activité de fermentation est liée à la coagulation du lait écrémé résultant de la production d'acide lactique, attestant ainsi du caractère acidifiant des isolats.

Par ailleurs, l'essai de solubilisation du phosphate, effectué sur un milieu PVK, a démontré l'apparition d'un halo translucide autour des colonies bactériennes. Les indices de solubilisation mesurés oscillaient entre 10 et 21 mm, correspondant à un indice de solubilisation compris entre 1,67 et 3,5. Cette constatation confirme que les isolats démontrent une capacité allant de modérée à excellente à solubiliser le phosphore insoluble présent dans l'environnement.

En second lieu de l'étude, les résultats des expérimentations *in-vivo et in-vitro*, ils démontrent un effet favorable de l'isolats (C1) choisi et testé sur les paramètres de germination, le développement des plantules, ainsi que le développement du système racinaire.

D'une part, concernant les échantillons témoins, on observe une diminution notable et graduelle du taux de germination à J7 avec une augmentation de la concentration de NaCl. Le TG diminue de 100% pour le témoin complet à 92% pour Tn1 (50 mM), puis chute à 52% pour Tn2 (150 mM) et descend à 32% pour Tn3 (200 mM), révélant l'impact négatif important de la salinité sur les premières étapes de la croissance des plantes.

D'autre part, l'ensemencement des graines avec des isolats bactériens (C1 et P1) provoque une augmentation remarquable et significative du taux de germination, particulièrement en présence de stress osmotique. À la plus forte concentration de 200 mM de NaCl, le groupe inoculé avec la souche P1 maintient un TG de 60% tandis que le groupe C1 atteint 24%, comparativement au témoin stressé non inoculé (Tn3) qui n'excède pas 32%. Par ailleurs, dans des conditions standard (sans NaCl), l'inoculation favorise la croissance dès le premier jour (J1), le TG passant de 14% (Témoin) à 18% (C1) et 20% (P1) ce qui traduit une bonne croissance de nos isolats face à la nocivité du sel.

L'analyse des échantillons témoins non inoculés (Tn) révèle un impact sévère et proportionnel à la dose de la salinité sur l'étirement des tissus. Dans le cas du témoin absolu, les plantules mesurent 13,5 cm, les racines atteignent 7 cm, et l'on dénombre en moyenne 4 feuilles. Face à un stress de 50mM (Tn1), ces valeurs diminuent à 10cm et 6 cm, respectivement. Sous un stress intense de 150 mM de NaCl (Tn2), cette inhibition devient décisive, provoquant l'effondrement de la longueur des semis à 5 cm, celle des racines à 2,5 cm et la réduction du nombre de feuilles à 2. Par contre, l'introduction de souches bactériennes (C1 et P1) entraîne une amélioration notable des mesures morphologiques sous conditions de stress.

Dans une concentration de 50mM de NaCl, le lot inoculé avec P1 présente une longueur de plantule atteignant 12cm et une longueur de racine de 6,8cm, surpassant largement le témoin de stress correspondant Tn1. Même avec une pression saline forte de 150mM, l'utilisation de la souche P1 permet de conserver une taille de 6cm pour les plantules et 6cm pour les racines, en comparaison au témoin Tn2 (5cm et 2,5 cm respectivement). Le lot C1 à 150 mM conserve aussi une longueur de racine significative de 5,5 cm. Par ailleurs, la plupart des échantillons traités comptent 3 ou 4 feuilles, attestant de l'efficacité de nos isolats à maintenir la croissance structurelle du blé face au stress osmotique.

Concernant, le poids frais de la masse végétale, les groupes non traités (Tn), présentent une réduction continue et importante de la masse fraîche à mesure que la salinité augmente. Dans le groupe de contrôle sans inoculation, la masse fraîche s'établit à 0,52 g pour les racines et à 0,2 g pour les plantules. Sous une salinité moyenne de 50 mM (Tn1), nous observons une baisse de ces valeurs à 0,5 g et 0,18 g respectivement, alors qu'une salinité plus élevée de 150 mM (Tn2) entraîne une réduction significative, ramenant la masse à 0,2 g pour les racines et 0,11 g pour les plantules. À l'inverse, l'ajout des bactéries (C1 et P1) limite de manière notable les effets négatifs du sel. Sous une pression osmotique de 50 mM de NaCl, le groupe inoculé

par P1 conserve une masse racinaire de 0,52 g (identique au contrôle absolu) et 0,14g pour la partie aérienne, alors que le groupe C1 affiche 0,37 g pour les racines et 0,16 g pour les plantules. Même avec une salinité élevée de 150 mM l'inoculation par P1 maintient une bonne quantité de biomasse racinaire de 0,37 g par rapport au groupe témoin stressé non inoculé Tn2 0,2 g. Ces constatations démontrent la faculté de nos souches à maintenir la production de matière fraîche dans des conditions difficiles du stress salins.

La quantité de chlorophylle dans les échantillons non inoculés subit une forte baisse en raison du stress salin, diminuant de 6,86 mg/L (échantillon témoin) à 2,08 mg/L (50 mM) et 1,52 mg/L (150 mM). En revanche, l'application de la souche C1, à la masse traitée génère un effet protecteur statistiquement notable, réduisant ainsi perte des pigments chlorophylliens. Dans des conditions standard (sans NaCl), les lots inoculés conservent un taux constant. En présence d'une salinité de 150 mM, l'échantillon infecté par la souche C1 se démarque de façon remarquable avec un niveau total de chlorophylle de 3,60 mg/L, soit plus du double de la valeur observée chez le témoin stressé non infecté Tn2 (1,52 mg/L).

Cela prouve indiscutablement que l'introduction de la bactérie C1 a aidé à préserver les activités métaboliques des plantes, surtout par le biais de l'augmentation des niveaux de pigments Chlorophylliens, indiquant une amélioration de l'état physiologique des plantes. Aussi, la persistance des populations bactériennes dans le sol observé au cours de l'expérimentation suggère leur aptitude à coloniser durablement l'environnement rhizosphérique et exercer leurs effet promoteurs de croissance.

Ces résultats préliminaires indiquent que l'isolat C1, apparenté au genre *Enterococcus sp,* présente des capacités physiologiques PGPR préliminaires intéressantes comparables aux souches de référence (P1). Cela suggère un potentiel d'utilisation en tant que bio-inoculant dans les régions arides ou semi-arides, une fois que les diverses propriétés des PGPR auront été mieux caractérisées.

En perspective, ce travail, ouvre plusieurs panels d'études scientifiques, portant sur la validation de ces résultats préliminaires dans des conditions agronomiques variées, notamment, l'identification moléculaires des isolats, en explorant l'effet de chacune des souches et promouvoir le profil complet entant que PGPR ; l'identification des mécanismes impliqués dans les interactions plante-microorganismes ainsi que le développement de formulations biologiques adaptées aux exigences d'une agriculture durable.

Références bibliographiques

- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. Critical Reviews in Biotechnology, 30(3), 161-175.
- Akhtar, M.; Hussain, F.; Ashraf, M.Y.; Qureshi, T.M.; Akhter, J.; Awan, A.R (2012). Influence of salinity on nitrogen transformations in soil. Commun. SoilSci. Plant Anal., 43, 1674–1683.
- Anton, H., Michael, R. et Michael, S. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research, Plant and Soil, vol. 312, n° 1-2, novembre, p. 7.
- Apse, M. P., Blumwald, E. (2002). Engineering salttolerance in plants. Current Opinion in Biotechnology, 13, 146-150.
- Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and ExperimentalBotany, 59, 206-216.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C. (2004). Potentialbiochemicalindicators of salinitytolerance in plants. Plant Science, 166, 3–16.
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Anuar, A. R., Zahurah, I. H., Faridah, M. S., et Shahidullah, S. M. (2009). Efficiency of plant growth-promotingrhizobacteria for the enhancement of ricegrowth. African Journal of Biotechnology, 8, 1247-1252.
- Atlas, R. M., et Bartha, R. (1998). MicrobialEcology: Fundamentals and Applications (4e éd.). Menlo Park, California : Benjamin/Cummings Publishing Company.
- Bhattacharyya, P. N., Jha, D. K. (2012). Plant growth-promotingrhizobacteria (PGPR):emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 1327-1350.

- Bouremani, N. Cherif-Silini, H. Silini,A . Rabhi, NEH. Bouket, AC. Belbahri**,** L. Osmotolerant plant growthpromotingbacteriamitigate adverse effects of drought stress on wheatgrowth. AIMS Microbiol. 10 (3), 507.
- Coelho, M. C., Malcata, F. X., et Silva, C. G. (2022). Lactic acid bacteria in raw-milkcheeses: From starter cultures to probioticfunctions. Foods, 11(15), 2276
- Compant, S., Clément, C., &Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promotingbacteria in the rhizo- and endosphere of plants:Theirrole, colonization, mechanismsinvolved and prospects for utilization. SoilBiology and Biochemistry, 42(5), 669–678.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., et Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promotingbacteria for biocontrol of plant diseases. Applied and EnvironmentalMicrobiology, 71(9), 4951-4959.
- Courchesne, F., Gobran, G. et Clegg S. (2001). Rhizosphericprocessesinfluencing the biogeochemistry of forestecosystems. Journal of Biogeochemistry 42.107–12.
- Dimkpa C, Weinand T, Asch F. 2009**.** Plant rhizobacteria interactions alleviateabiotic stress conditions. Plant Cell; Environ. 32: 1682-1694.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A., et Siddique, K. H. (2015). Salt stress in maize:effects, resistancemechanisms, and management. Agronomy for SustainableDevelopment, 35(2), 461-481.
- Franz, C. M. A. P., Huch, M., Abriouel, H., Holzapfel, W., et Gálvez, A. (2011). Enterococci as probiotics and their implications in foodsafety. International Journal of Food Microbiology, 151(2), 125–140.
- Franz, C. M. A. P., van Belkum, M. J., Holzapfel, W. H., Abriouel, H., et Gálvez, A. (2007). Diversity of enterococcalbacteriocins and theirgrouping in a new classification scheme. FEMS MicrobiologyReviews, 31(3), 293–310.

- Garbaye, J. (2013). La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. Edition Quae, Versailles, 251 p.
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. FEMS MicrobiologyReviews, 26(2), 163–171.
- Glick, B. R. (2012). Plant Growth-PromotingBacteria:mechanisms and applications. Scientifica, 2012, 1-15.
- Gobat, M., Aragno, M. et Matthez, w. (2003). Le sol vivant: bases de pédologie biologique des sols. Presses Polytechniques et Universitaires, Lausan. P 5-6.
- Grozeva, S.;Kalapchieva, S.;Tringovska, I. Evaluation of gardenpea cultivars to salt stress tolerance. Mech. Agric. Conserv. Resour. 2019, 65, 150–152.
- Guiraud J P ; 2003. Microbiologie Alimentaire. Tec et Doc, Dunod. Paris.90-292.
- Gupta, B., et Huang, B. (2014). Mechanism of salinitytolerance in plants:physiological, biochemical, and molecular characterization. International Journal of Genomics, 2014, 1-18.
- Hanifi, A., Bouksila, F., et Bahri, A. (2019). Soilsalinizationunderarid and semi-aridclimates: Case of Algeria and Tunisia. Journal of Arid Land Studies, 29(1), 15-23.
- Hardoim PR, van Overbeek SV, van Elsas JD. 2008. Properties of bacterial endophytes and theirproposedrole in plant growth. Trends Microbiol. 16: 463-471.
- Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P.J. et Wenzel, W. (2005). Rhizospheregeometry and heterogeneityarising from root-mediatesphysical and chemicalprocesses New phytologist 168, 293-303p.
- Hmaeid, N., Metoui, O., Wali, M., Zorrig, W., et Abdelly, C. (2014). Comparative effects of rhizobacteria in promoting growth of Hordeum maritimum L. plants under salt stress. Journal of Plant Biology, 57(5), 286–295.
- Isayenkov, S. V., Maathuis, F. J. (2019). Plant salinitystress:manyunanswered questions. Frontiers in Plant Science, 10, 80.

- Kalaji, H. M., Bosa, K., Ko´ scielniak, J., et Zuk-Gołaszewska, K. (2011). Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO2 assimilation of twoSyrianbarleylandraces. Environ. Exp. Bot. 73, 64–72.
- Kloepper, J. W., &Schroth, M. N. (1978). Plant growth-promotingrhizobacteria on radishes. Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, 2, 879-882.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science &Technology, 15(2), 67–78.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promotingrhizobacteria. AnnualReview of Microbiology, 63, 541-556.
- Maalem, A. et Sansri, D. (2014). Activité anti-phytopathogénes de quelques souches rhizospheriques appartenant aux groupes des actinomycétes filamenteux et des Pseudomonas spp fluorescents. Université 8 Mai 1945 Guelma. 22p.
- Machado, R. M., et Serralheiro, R. P. (2017). Soilsalinity:effect on vegetablecropgrowth. Management practices to prevent and mitigatesoilsalinization. Horticulturae, 3(2), 30.
- Mayak, S., Tirosh, T., et Glick, B. R. (2004). Plant growth-promotingbacteriathat confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science, 166, 525-530.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., et Bharti, S. (2010). Chlorophyll a fluorescencestudyrevealingeffects of high salt stress on Photosystem II in wheatleaves. Plant Physiol. Biochem. 48, 16–20.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7, 405-410.
- Mohammad Ansari, Farid Shekari, Mohammad Hossein, Mohammadi,Katalin , Juhos György Végvári. Borbála Biró. (2019). Salt-tolerantplantgrowth-promotingbacteriaenhancedsalinitytolerance of salt-tolerantalfalfa (Medicago sativa L.) cultivars at high salinity.ActaPhysiologiae Plantarum (2019) 41:195.

- Munns, R. (2005). Genes and salttolerance:bringingthemtogether. New Phytologist, 167(3), 645-663.
- Munns, R., et James, R. A. (2003). Screening methods for salinitytolerance. Plant and Soil, 253, 201-218.
- Munns, R., et Tester, M. (2008). Mechanisms of salinitytolerance. AnnualReview of Plant Biology, 59, 651-681.
- Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah, Imran, A., Marghub, M. U., Imtiaz, M., et Mubeen, F. (2020). Potential of salt tolerant PGPR in growth and yield augmentation of wheat (Triticum aestivum L.) under saline conditions. Frontiers in Microbiology, 11, 2067.
- Parida, A. K., et Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinityeffects on plants. Ecotoxicology and EnvironmentalSafety, 60, 324-349.
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Mishra, V. P., et Prasad, S. M. (2015). Changingscene of partial tolerance to alteredplasticity: Current status of salinity stress restriction in plants. Frontiers in Plant Science, 6, 1057.
- Paul, E. A. (2007). SoilMicrobiology, Ecology and Biochemistry (3rd ed.). Academic Press.
- Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasisonAustralia. Journal of ExperimentalBotany, 57(5), 1017-1023.
- Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Soil Science, 78(2), 154.
- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., et Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant and Soil, 321, 305–339.
- Rodríguez, H., Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizingbacteria and theirrole in plant growth promotion. BiotechnologyAdvances, 17(4-5), 319-339.

- Sarma BK, Yadav SK, Singh S., Singh HB (2015). Défense des plantes contre les phytopathogènes par un consortium microbien : une nouvelle approche pour une efficacité accrue. Soil Biol. Biochem. 87 : 25–33.
- Shrivastava, P., et Kumar, R. (2015). Soilsalinity: A seriousenvironmental issue and plant growthpromotingbacteria as a mitigation strategy: A review. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(2), 123-131.
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., et Savouré, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotectants in halophytes. Annals of Botany, 115(3), 433-447.
- Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G., et Zuberer, D. A. (2005). Principles and Applications of SoilMicrobiology (2nd ed.). Pearson Prentice Hall.
- Upadhyay, S. K., Singh, J. S., et Singh, D. P. (2012). Exploitation of plant growthpromotingbacteria for sustainable agriculture under saline conditions. AppliedSoilEcology, 61, 88–97.
- Upadhyay, S. K., Singh, J. S., Saxena, A. K., et Singh, D. P. (2012). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidantstatus of wheatunder saline conditions. Plant Biology, 14(4), 605-611.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., & Pieterse, C. M. J. (1998). Systemicresistanceinduced by rhizospherebacteria. Annual Review of Phytopathology, 36, 453-483.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255, 571-586.
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., et Ali, S. Z. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 184, 13-24.

Annexes

Annexe I

a. Milieux de culture :

- **Gélose MRS de ManRogosa et sharpe**

Peptone .....10 g

Extrait de viande .....10 g

Extrait de levure .....5 g

Glucose .....20 g

Tween 80 ..... 1 ml

Phosphate dipotassique ..... 2 g

Acétate de sodium .....5 g

Citrate triammonique .....2 g

Sulfate de magnésium .....200 g

Sulfate de manganèse .....50 g

Agar-Agar .....15 g

Eau distillée ..... 1000 ml

pH = 6.5 / Autoclavage à 20°C pendant 20 min

- **Bouillon MRS de Man Rogosa et sharpe**

Peptone.....10 g

Extrait de viande.....10 g

Extrait de levure .....5 g

Glucose.....20 g

Tween 80 ..... 1 ml

Phosphate dipotassique .....2 g

Acétate de sodium .....5 g

Citrate triammonique.....2 g

Sulfate de magnésium .....200 g

Sulfate de manganèse .....50 g

Eau distillée ..... 1000 ml

pH = 6.5 / Autoclavage à 120°C pendant 20 min

- **Lait écrémé**

Poudre de lait (0% MG) 120,0g

Eau distillée ..... 1000 ml

Stérilisation : 110°C pendant 10 min

- **Milieu King B :**

Peptone de viande 10,00

Peptone de caséine 10,00

Phosphate dipotassique 1,50

Sulfate de magnésium 1,50

Agar 15,00

pH : 7,2 Autoclavage 15 minutes à 121°C

- **Composition du milieu PVK : Pikovskaya :**

Glucose..... 10 g

Ca3(PO4)2..... 5 g

(NH4)2 SO4 .....0,5 g

NaCl.. .....0,2 g

MnSO4.7 H2O .....0.1 g

MgSO47H2O ..... 0.1 g

FeSO47H2O .....0.002 g

Kcl .....0.2 g

MnSO44H2O .....0.04 g

Extrait de levure .....0.5 g

Pourpre de bromocrésol ..... 0.1 g

Agar .....20 g

pH : 7.2