

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 و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENCHAIB Fatima Zohra

HACHI Meriem

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie appliquée

THÈME

**Isolement et caractérisation des rhizobactéries d'intérêt
biotechnologique**

DEVANT LE JURY :

Président : MEKHALDI.A

Pr U. Mostaganem

Encadreur : HAMOUM.H

MCB U. Mostaganem

Examineur : BOUZNED.A

MCB U. Mostaganem

Année universitaire 2020-2021

Remerciement

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans de bonnes conditions.

Un remerciement spécial pour notre encadreur Mr HAMOUM Hakim qui nous a beaucoup Aidé et retenu tout au long de ce travail, et qui nous a orienté avec ses conseils et surtout merci pour sa patience. On le remercie pour sa gentillesse, ses précieux conseils et son soutien

Nos remerciements les plus chaleureux au président du jury Mr. Mekhaldi A, d'avoir eu l'amabilité d'accepter de critiquer et de juger ce travail, nous sommes particulièrement reconnaissant et honorés par sa participation au jury.

Nous tenons à remercier également Mr Bouznad. D'avoir ménager son temps pour juger et critiquer ce travail.

Nous tenons à remercier infiniment Mme Hafida de nous avoir accordé la chance de travailler au sein de son laboratoire et de nous avoir fait profiter de ses connaissances. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude. Nous tenons à remercier Mr ABAYDI, Mme SAADIYA et Mme HAOUARIA pour leur disponibilité, leur aide et leur patience

Nous n'oublions pas de présenter nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation et l'accomplissement de ce travail

Dédicace

On dédie ce modeste travail

A nos parents,

pour leur amour inestimable, leurs sacrifices, leur confiance et leur soutien pendant tout notre cursus scolaire et universitaire.

A nos frères et sœurs ,

A nos chères amies

*Et a toutes les personnes qui ont ,
de près ou de loin , contribués à la réalisation de ce travail*

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction 1

Chapitre I .Revue bibliographique

I.1.Généralité sur la rhizosphère..... 3

I.1.1.La rhizosphère..... 3

I.1.2.Comportimentation de la rhizosphère..... 3

I.1.3.communauté microbienne de la rhizosphère..... 4

I.1.4.Les bactéries rhizosphériques ou rhizobactéries..... 5

I.1.5.L'origine de la formation du sol rhizosphériques..... 5

I.1.5.1.Exudats..... 6

I.1.5.2.Sécrétions 6

I.1.5.3.Lysats 6

I.1.5.4.Mucilages 6

I.1.5.5.Mucigel..... 6

I.2. les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes 7

I.2.1.Mode d'action des PGPR..... 8

I.2.1.1.Effets directs des PGPR sur la plante 8

I.2.1.1.1. Fixation d'azote. 8

I.2.1.1.2.La solubilisation du phosphate..... 8

I.2.1.1.3.La solubilisation du potassium 9

I.2.1.1.4.La production des sidérophores 10

I.2.1.1.5.La production des phytohormones 10

I.2.1.1.5.1.Production d'acide indole acétique 10

I.2.1.1.5.2.Mode d'action d'AIA..... 11

I.2.1.1.5.3.Roles d'AIA..... 11

I.2.1.2.Effet indirects des PGPR sur la plante 12

I.2.1.2.1.Antibiose 12

I.2.1.2.2. Résistance Systémique Induite (ISR) 13

I.2.1.2.3. Production au cyanure d'hydrogène 13

I.2.1.2.4. Enzymes lytiques 14

I.2.1.2.5.La compétition pour l'espace et les nutriments..... 14

I.2.2.Taxonomie des PGPR..... 15

I.2.2.1. Alpha-proteobacteria.....	15
I.2.2.2. Les bêta-proteobacteria	15
I.2.2.3. Les gamma-proteobacteria	15
I.2.2.4. Les Firmicutes	15
I.2.2.5. Les Actinobactéries.....	16

Chapitre II . Matériel et méthodes

II.1. Localisation de la zone d'étude et caractéristiques physico-chimiques des sols prélevés.	17
II.1.1. Délimitation de la zone d'étude	17
II.1.2. Prélèvement des échantillons de sol	17
II.1.3. Caractère physicochimique du sol.....	18
II.1.3.1. pH du sol	18
II.1.3.2. Humidité du sol	18
II.2. Isolement et identification des rhizobactéries	19
II.2.1. Isolement des rhizobactéries	19
II.2.2. Purification et conservation des isolats	19
II.2.3. Identification des isolats	20
II.2.3.1. Caractérisation macromorphologique des isolats	20
II.2.3.2. Caractérisation microscopiques des isolats	21
II.2.3.3. Caractères biochimiques	21
II.2.3.3.1. Test catalase	21
II.2.3.3.2. Test oxydase.....	21
II.3. Evaluation de la production d'AIA par les isolats	21
II.3.1. Réactivation des isolats.....	21
II.3.2. Production de l'acide indole acétique.....	21

Chapitre III .Résultats et discussions

III. Résultats	26
III.1.1. Caractérisation physico-chimique des sols.....	26
III.1.2. Caractérisation morphologiques et biochimiques des isolats bactériennes	27
III.1.3. Production de de l'acide indole acétique (AIA)	28
III.2. Discussions	31
Conclusion	33
Références bibliographiques	34

Annexes

Liste des Abréviations

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

AIA: Acide Indole-3-Acétique

RFCP : Rhizobactéries Favorisant la Croissance des Plantes

ATP : Adénosine-triphosphate

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

DO: Densité Optique

pH : potentiel Hydrogène

Rpm : rotation par minute

UV : Ultra-Violet

µg: Micro gramme

RFCP : Rhizobactéries Favorisant la Croissance des Plantes

nm: Nano meter

GN: Gélose Nutritive

LB : Luria Bertani

PGP :Plant Growth Promotion

Liste des tableaux

Tableau.III.1 Localisation des ponts de prélèvement des échantillons.	26
---	----

Liste des figures

Figure I.1. Représentation schématique des zones de la rhizosphère	4
FigureI.2. Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère	7
FigureI.3. Rôles d'AIA chez les plantes	12
Figure II.1. localisation de la zone d'étude	17
Figure II.2. Prélèvement d'échantillon de sol.....	18
Figure II.3. Isolement et purification des isolats.....	20
Figure II.4. Réactivation des souches.....	22
Figure II.5. Production d'acide indole acétique par les isolats.....	23
Figure III.1. Caractères des isolats	27
Figure III.2. Caractères microscopique des isolats	28
Figure III.3: Taux de production d'acide indole acétique par les isolats bactériens.....	29

Résumé

L'acide indole acétique est une auxine importante produite par les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, l'objectif de l'étude est l'amélioration de la production d'AIA par des souches bactériennes isolées du sol . Trente et un souches ont été isolées à partir de six échantillons de sol (Dans les communes de Hadjadj et Masra de la wilaya de Mostaganem). La mise en évidence de l'AIA est basée sur la réaction colorimétrique. Il s'est avéré que Vingt et un souches ont la capacité de production de l'auxine. Les quantités d'auxine produites varient entre $3,07\pm 0,021$ jusqu' à $55,74\pm 0,028$ $\mu\text{g/ml}$. La souche E2 est la meilleure productrice avec une valeur de $55,74\pm 0,028$ $\mu\text{g/ml}$.

Mots-clé : PGPR , acide indole acétique, auxine

Abstract

Indole acetic acid is an important auxin produced by growth-promoting rhizobacteria, the objective of this study is the amelioration of IAA production by bacterial strains isolated from the soil. Thirty-one strains were isolated from six soil samples (from the communes of Hadjadj and Masra in the wilaya of Mostaganem). The detection of IAA is based on a colorimetric reaction. twenty one strains were found to have the capacity to produce auxin. The amounts of auxin produced ranged from 3.07 ± 0.021 to 55.74 ± 0.028 $\mu\text{g/ml}$. E2 is the best producer with a value of 55.74 ± 0.028 $\mu\text{g/ml}$ PS.

Key words : PGPR , Indole acetic acid , auxin

الملخص

حمض إندول الخليك هو أحد الأوكسين المهمة الذي تنتجه بكتيريا الريزوسفير المعززة للنمو ، الهدف من هذه الدراسة هو تحسين إنتاج IAA بواسطة السلالات البكتيرية المعزولة من التربة. تم عزل 31 سلالة من ستة عينات من التربة (من بلديتين بولاية مستغانم ، حجاج وماسرة). يعتمد اكتشاف IAA على التفاعل اللوني ، وجد أن إحدى وعشرين سلالة لها القدرة على إنتاج الأوكسين ، تراوحت كميات الأوكسين المنتجة من 0.021 ± 3.07 إلى 0.028 ± 55.74 ميكروغرام / مل. E2 هو أفضل منتج بقيمة 55.74 ± 0.028 ميكروغرام / مل .

الكلمات المفتاحية : PGPR، حمض إندول الخليك ، الأوكسين

INTRODUCTION

Introduction

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries bénéfiques qui colonisent efficacement la rhizosphère, elles exercent sur les plantes divers effets influençant leur croissance (Orozco Mosqueda *et al.*, 2021 ; Moustaine *et al.*, 2019).

Ces microorganismes rhizosphériques peuvent améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes directes ou indirectes tels que la solubilisation des nutriments (P, K et Zn), la production de sidérophores, la fixation biologique de l'azote et la production de phytohormones (V. Dhayalan *et al.* 2021, Odoh Chuks Kenneth 2017, Pravin Vejan *et al.*, 2016)

Chez les plantes, de nombreux processus de croissance et de développement sont contrôlés par les phytohormones. En outre, ces intéressantes substances fonctionnent également comme des signaux moléculaires en réponse à des facteurs environnementaux (Racher Backer *et al.*, 2018; Maheshwari *et al.*, 2015).

En général, cinq classes d'hormones végétales ont suscitées l'intérêt des chercheurs à savoir les auxines qui sont représentée principalement par l'acide indole-acétique (Xingfeng *et al.*, 2018) Leurs rôles sont multiples, en effet, elle intervient dans la formation de tissus vasculaires, l'initiation des racines adventives, la dominance apicale et le développement des fleurs et des fruits. L'auxine affecte également les processus cellulaires, tels que la division cellulaire, l'agrandissement et la différenciation (Jie Luo *et al.* 2018, Singh. 2018, Bernard R. Glick. 2012)

L'amélioration des souches est un élément essentiel du développement des procédés de production des substances biologiques. La mutagenèse induite est largement utilisée pour la sélection de microorganismes produisant des substances biologiquement actives et l'amélioration de leurs activités (Goodarzi, 2016).

L'objectif de notre présente étude Consiste à isoler et sélectionner des bactéries productrices de l'acide indole acétique et d'améliorer leur production.

Notre étude présente un manuscrit structuré en trois parties, la première représente une revue bibliographique rassemblant des données sur la rhizosphère ainsi que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR). La deuxième partie décrit les méthodes employées pour l'isolement et la caractérisation des rhizobactéries. La troisième partie décrit les résultats obtenus

Introduction-----:

au cours de la réalisation pratique, sous forme de graphiques et de tableaux ainsi qu'une discussion globale et une conclusion qui clôture le travail.

CHAPITRE I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. Revue bibliographique

I.1. Généralité sur la rhizosphère

I.1.1. La rhizosphère

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par **Lorenz Hiltner** (Anton *et al.*, 2008), bactériologiste spécialiste de microbiologie du sol et professeur d'agronomie au collège Technique de Munich (Lombi *et al.*, 2001). Il a défini la rhizosphère comme étant la région du sol située sous les racines des plantes et soumise à leur influence directe, Et un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral (Marie-Line Faure, 2018). Du fait de sa richesse en éléments nutritifs, la rhizosphère contient ainsi 10 à 100 fois plus de microorganismes par g de sol que le sol non rhizosphérique (Séverine Lopez, 2018).

Ainsi, elle est considérée comme un système complexe, hétérogène, dynamique et interactif, qui dépasse la simple notion d'interface entre le monde végétal et le monde minérale. Elle est un condensé des processus physiques, chimiques et biologiques qui animent les sols (Hinsinger., 1998 ; Michel *et al.*, 2005). Cependant, Cette mince couche peut être affecté par les contraintes du sol, sa salinisation, son eutrophisation ou la pollution, ou encore par des phénomènes d'acidification (Anoua *et al.*, 1997).

I.1.2. Compartimentation de la rhizosphère

La rhizosphère est divisée en trois grand composantes qui interagissent ensemble : la rhizosphère sol, la rhizoplane, et les racines (Barea *et al.*, 2005).

La rhizosphère, qui est la zone du sol influencée par les racines grâce à la libération de substrats qui affectent l'activité microbienne.

La rhizoplane, qui est la surface de la racine, y compris les particules du sol adhérant fortement. Et enfin, la racine elle-même (endorhizosphère), qui est une partie du système racinaire, parce que certains micro-organismes endophytes sont capables de coloniser les tissus racinaires internes. Un grand nombre d'organismes microscopiques tel que les bactéries et les algues coexistent dans la rhizosphère, cependant, les bactéries sont le groupe le plus abondant dans cette partie de l'environnement de la plante, et il est fort probable qu'ils influencent grandement la physiologie de la plante. (Bowen et Rovira, 1991)

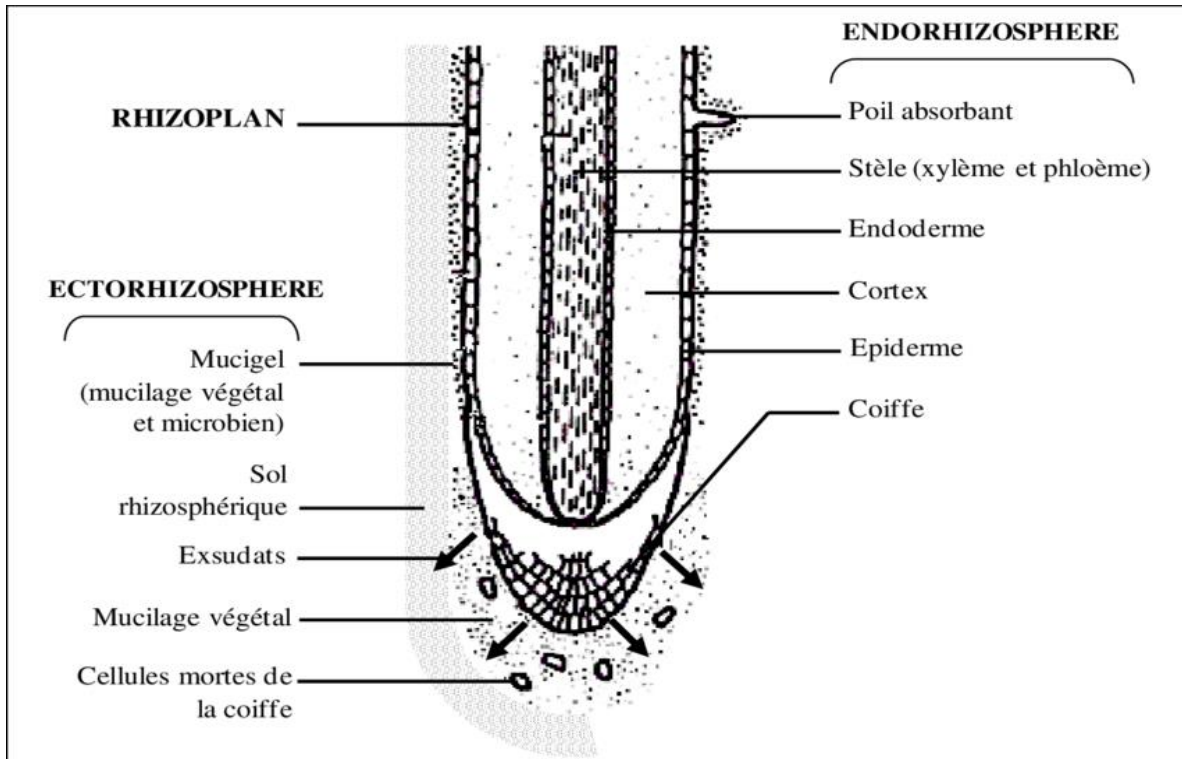


Figure.I.1 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay, 2015).

I.1.3. Communauté microbienne de la rhizosphère

La rhizosphère est une niche écologique avec de nombreux micro-organismes qui jouent un rôle significatif sur la santé des plantes (Geoffroy Villejoubert, 2016).

Ces microorganismes ne sont pas isolés dans le sol et sont structurés en communautés complexes au sein desquelles diverses interactions microbiennes existent (Clémentine Lepinay, 2013). Parmi les interactions bénéfiques aux plantes, on peut citer les symbioses, la mieux connue est la symbiose rhizobienne chez les légumineuses (Quin Han *et al.*, 2020). Ainsi, les mycorhizes qui sont contractées par les racines des végétaux avec certains champignons du sol (William R. Rimington *et al.*, 2018)

Toutefois, certains microorganismes sont nuisibles à titre d'exemple *Ralstonia solanacearum* qui affecte les cultures de pomme de terre, d'autres microorganismes ne semblent avoir aucun effet (Huijuan Wang *et al.*, 2019).

Les protozoaires et les nématodes qui se nourrissent sur des bactéries sont aussi concentrés autour des racines. Ainsi, la plupart des cycles des nutriments et des phénomènes de prédation se

déroule dans la zone immédiatement adjacente aux racines, siège d'une activité métabolique intense (Dommergues, 1978).

D'une façon générale, la structure des racines et la composition des exsudats racinaires changent durant le développement de la plante et sous l'effet des conditions environnementales telles que la disponibilité de l'eau et la température. Par conséquent, la dynamique de la population microbienne rhizosphérique peut aussi changer. En effet, les plantes, grâce à l'émission des signaux spécifiques, exercent une pression sélective qui tend généralement à réduire la diversité microbienne et à favoriser des espèces ou des souches particulières (Bertrand *et al.*, 2000).

I.1.4. Les bactéries rhizosphérique ou rhizobacteries

Les bactéries de la rhizosphère, dits rhizobactéries, sont capables de coloniser l'intérieur ou l'extérieur des racines de nombreuses espèces des plantes et peuvent être divisé entre ceux qui forment une relation symbiotique avec la plante et ceux qui ne le font pas. ce dernier groupe, disant libre-vie, sont étroitement associés à la surface de la racine et réside dans les racines (Kloepper *et al.*, 1989). Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp fluorescents* (Lemanceau, 1992).

Elles sont généralement très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (Peter *et al.*, 2015). Elles sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries favorise de la croissance des plantes, connues sous le terme RFCP (Beauchamp, 1993), (PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Kloepper *et al.*, 1989; Zahir *et al.*, 2004).

I.1.5. L'origine de la formation du sol rhizosphérique:

L'effet rhizosphérique est déterminé en grande part par la libération de différents composés organiques regroupés sous le terme rhizodéposition. D'une façon générale la libération d'une partie des photosynthétats dans le sol contribue à la formation des sols. En effet, la fraction minérale provenant de la roche mère en se liant aux molécules organiques libérées par la plante, qu'elle soit vivante ou morte, aboutit à la formation du complexe organo-minéral caractérisant le sol. La rhizodéposition comprend différents composés organiques, certains libérés de façon active (sécrétions, mucilages,) d'autres de façon passive (exsudats, lysats, mucigel) (Stengel *et al.*, 1998).

I.1.5. 1. Exsudats

Elles Sont de petites molécules, solubles dans l'eau ou volatiles, libérées selon des mécanismes passifs par des cellules vivantes, ces molécules sont variées hydrates de carbone, acides organiques, acide Aminés, acides gras, stérols, vitamines enzymes, nucléotides etc..., Même s'il apparait une certaine analogie entre les exsudats produits par de nombreuses plantes, des différences existent entre espèces végétales et pour une même espèce selon le stade de développement de la plante.

I.1.5. 2. Sécrétions

Elles sont des composés libérés selon des mécanismes actifs vers le milieu extérieur.

I.1.5.3. Lysats

Elles constituent le contenu cellulaire libéré suite à l'autolyse de cellules épidermiques âgées de la paroi racinaire.

I.1.5. 4. Mucilages

Elles sont constituées de polysaccharides, d'acides aminés et de protéines, ces composés ont plusieurs origines, ils peuvent provenir :

- De sécrétions issues des vésicules de l'appareil de golgi des cellules de la coiffe.
- D'hydrolysats de polysaccharides de la paroi de cellules situées entre l'épiderme et les cellules desquamées de la coiffe, de sécrétions par les cellules de l'épiderme dépourvues de paroi primaire.
- De la dégradation bactérienne de la paroi primaire de cellules mortes de l'épiderme.

I.1.5. 5. Mucigel

Correspondant aux composés gélatineux de nature polysaccharidique produits à la fois par les racines et les populations microbiennes de la rhizosphère. Ce gel favorise le contact entre les particules de sol. Et la surface racinaire et améliore donc le transfert des éléments minéraux et de l'eau vers la racine. Par ailleurs, le mucigel assure une fonction de lubrification permettent la progression de la racine dans le sol.

I.2. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes PGPR :

Les PGPR ou « Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effets on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey *et al.*, 2004 ; Herman *et al.*, 2008 ; Microrsky, 2008).

Les PGPR sont capables de coloniser les systèmes racinaires des plantes et de promouvoir leur croissance par des mécanismes directs ou indirects (Glick *et al.*, 1998). Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extracellulaire (Gray et Smith, 2005). Au niveau intracellulaire, les bactéries sont dites endophytiques et colonisent l'apoplaste. Ces bactéries font parties de la famille des Rhizobiums. Généralement symbiotiques, ce sont notamment les PGPR spécialisées dans les structures nodales des *Fabaceae*. Au niveau extracellulaire, elles sont localisées en surface ou à proximité des racines, elles sont donc rhizosphériques (Vessey, 2003).

Quatre effets principaux ont été identifiés chez ces PGPR. Elles peuvent augmenter la disponibilité des éléments nutritifs, réguler la production de phytohormones, augmenter la tolérance aux stress abiotiques et inhiber les bio agresseurs par compétition (Glick, 2012 ; Souza, 2015).

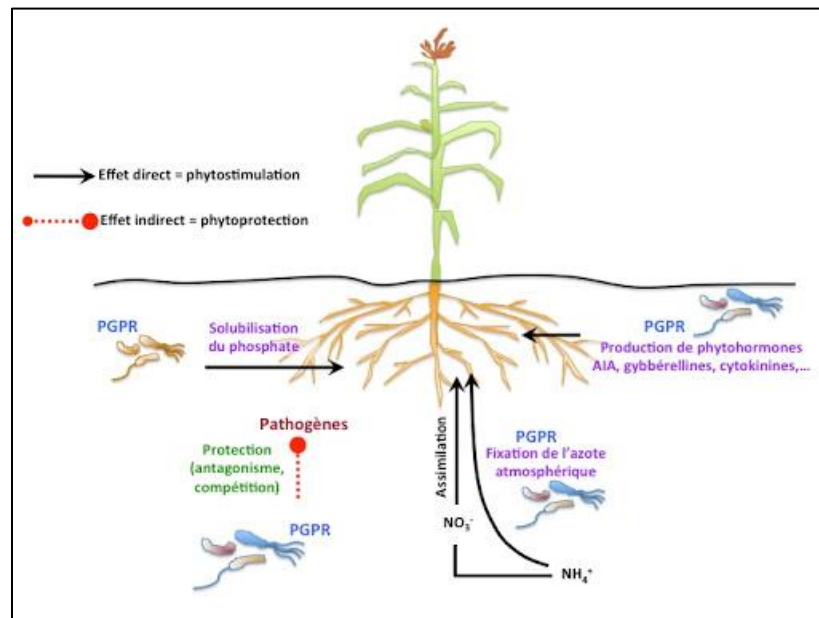


Figure.I.2: Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère (Khan *et al.*, 2009)

I.2. 1. Mode d'action des PGPR

Les PGPR peuvent influencer la croissance des plantes de façon directe ou indirecte. Les mécanismes impliqués directement sont la sécrétion d'hormones (auxines, gibberellines, cytokinines, etc.) ou en facilitant l'absorption de nutriments (fixation d'azote, solubilisation de phosphate ou de potassium et synthèse de sidérophore).

Indirectement, les PGPR vont aider la croissance des plantes via la sécrétion d'antibiotiques ou d'enzymes limitant les phytopathogènes (Glick B.R *et al* ; 2007)

I.2. 1. 1. Effets directs des PGPR sur la plante :

Les bactéries PGPR facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (Munees et Mulugeta, 2013).

I.2. 1. 1.1. Fixation d'azote :

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N₂ dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N₂ atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N₂ par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim 1994). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes ; symbiotiques et non symbiotiques.

La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote. (Kim 1994)

I.2. 1. 1.2. La solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est l'un des principaux nutriments essentiels qui limitent la croissance et le rendement des plantes (Fitriyanti *et al.*, 2017 ; Lee *et al.*, 2019 ; Bhattacharjya *et al.*, 2019) en raison de leur effet prometteur sur la croissance racinaire et son développement.

Le phosphore est considéré comme une molécule biologique qui entre dans la composition de l'ADN, l'ARN et des phospholipides. Il est également impliqué dans les transferts d'énergie à l'intérieur des cellules par l'intermédiaire des molécules telles que l'ATP (Sharon *et al.*, 2016).

Le phosphore peut exister dans les sols sous forme organique (Po) et inorganique (Pi). Cependant, une grande partie (environ 95 à 99 %) est présente sous forme de phosphate insoluble liée avec des cations comme le fer, l'aluminium et le calcium qui ne peuvent être utilisés par les plantes (Firew *et al.*, 2016 ; Matos *et al.*, 2017 ; Pallavi, 2018).

Les microorganismes sont capables de favoriser l'assimilation du phosphore par les plantes, en particulier les bactéries solubilisatrices de phosphates inorganiques, tels que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Rhizobium* et *Actinobacteria* (Zhang *et al.*, 2019), environ 20 % des Actinobactéries peuvent solubiliser le phosphate, y compris ceux des genres *Actinomyces*, *Micromonospora* et *Streptomyces* (Alori *et al.*, 2017).

Plusieurs micro-organismes agissent comme agent solubilisant du phosphate et convertissent le phosphore insoluble (PO_4^{3-}) en forme soluble HPO_4^{2-} et H_2PO_4^- par la production des acides, les réactions d'échange, l'acidification, la chélation et la formation de substances polymères (Pandey *et al.*, 2018 ; Suleman *et al.*, 2018). En effet, Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate peuvent être une source prometteuse comme agent biofertilisant en agriculture (Sharma *et al.*, 2007).

I.2. 1. 1.3. La solubilisation du potassium

Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013).

En raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles (Kumar et Dubey., 2012).

Les microorganismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle K naturel. Les microorganismes solubilisant de potassium présent dans le sol pourraient fournir une solution

alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers *et al.*, 1998).

I.2. 1. 1.4. La production des sidérophores

Le fer est connu d'être un élément abondant sur la terre et est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Crichton, 2001). Certains PGPR produisent des sidérophores, composés de faibles poids moléculaire, inférieurs à 1 kDa contenant des groupements fonctionnels capables de capter le fer en le rendant assimilable par les plantes (Kirdi et Zermane., 2010).

Les sidérophores (sidéros = fer ; phoros = transport) (Rossum *et al.*, 1994) sont des chélateurs de fer . Ils augmentent aussi la disponibilité du fer par la complexation forte de Fe^{3+} . Ces complexes restent en solution et augmentent de ce fait la diffusion du fer sur la surface de cellules. Presque 500 structures de sidérophore sont connues jusqu'ici, qui sont produites par des bactéries, des mycètes et des plantes (Boukhalfa et Crumbliss., 2002).

I.2. 1. 1.5. La production des phytohormones

Les PGPR peuvent directement influencer la croissance des plantes, soit par la production de phytohormones (auxines, gibbérellines, etc.) ou par la promotion de l'accès aux nutriments. Les bactéries vivant en association avec les plantes ou dans la rhizosphère sont plus aptes à prospérer à partir des substrats excrétés par les racines des plantes et ainsi convertir les différents substrats en hormones ou autres substances bénéfiques à la croissance des plantes. (Kochar *et al.*, 2011)

Les phytohormones sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes.

Il existe deux sources de phytohormones naturellement disponibles pour les plantes, la production endogène par les tissus de la plante et exogène par des micro-organismes associés. Les PGPR produisent différentes phytohormones comme : l'AIA (Acide indole acétique), l'acide gibbérellique et les cytokinines.(Kloepper *et al.*, 2007 ; Martinezviveros 1 *et al.*, 2010).

I.2. 1. 1.5.1. Production d'acide indole-acétique :

La production de phytohormones par les rhizobactéries pouvant aider à la croissance des plantes, ça représente une caractéristique importante dans l'association plante-rhizobactéries.

L'efficacité de l'AIA bactérien dépend de la sensibilité de la plante pour celui-ci, des niveaux de production par les bactéries ainsi que de l'influence indirecte par l'induction d'autres phytohormones (Sarwar *et al.*, 1992).

Certains intermédiaires de l'AIA (indole-acide pyruvique, indole-acétaldéhyde et indole-acétonitrile) ont une faible activité auxine.

De plus, les niveaux d'AIA produits auront des effets différents sur la plante. Une production optimale d'AIA par les bactéries aura des effets bénéfiques pour la plante, tandis qu'une production supra-optimale aura pour effet de rendre la plante malade ou de développer des symptômes de maladies. De plus, les auxines sont capables de bloquer, au niveau de l'ARNm, plusieurs enzymes liés à la pathogénicité (Spaepen *et al.*, 2007)

I.2. 1. 1.5.2. Mode d'action de l'AIA

La famille des auxines est une importante famille de phytohormones de croissance. L'acide-indole-acétique (AIA) est l'auxine la plus naturellement distribuée chez les plantes vasculaires, les mono et dicotylédones, les filicophyta et les gymnospermes (Srivastava *et al.*, 2002). L'AIA est impliqué dans presque tous les aspects de la croissance et du développement chez la plante (Srivastava *et al.*, 2002) ; il est connu pour être impliqué dans l'initiation des racines, la division et l'élargissement cellulaire (Vessey, 2003).

La production d'AIA a été détectée chez plus de 80 % des bactéries en provenance de la rhizosphère. Parmi les espèces bactériennes capables de produire de l'AIA, on retrouve les genres *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Bacillus* (Yuan *et al.*, 2011)

I.2. 1. 1.5.3. Rôles de L'AIA

L'analyse du rôle de l'AIA montre que les bactéries utilisent cette phytohormone pour établir des interactions avec les plantes dans le cadre de leur stratégie de colonisation notamment la phytostimulation et l'intervention dans les mécanismes de base de défense des plantes (Ryan *et al.*, 2008).

Après sa production, une partie est reprise par la plante qui s'ajoute à l'AIA endogène de la plante pour stimuler la prolifération cellulaire des plantes et l'allongement racinaire (Ahmad *et al.*, 2005).

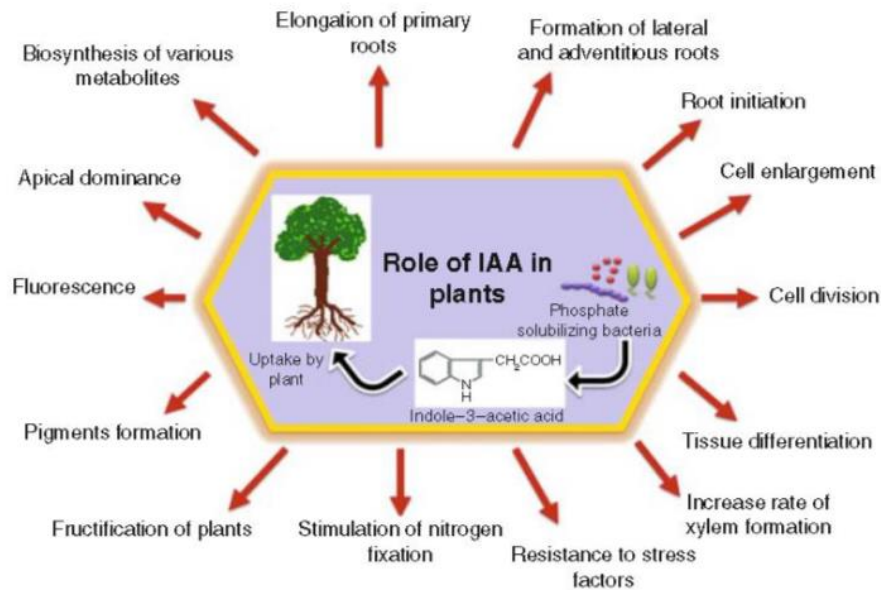


Figure.I.3 : Rôles d'AIA chez les plantes. (Khan *et al.* , 2009)

I.2. 1. 2. Effet indirect des PGPR sur la plante :

Ce mécanisme repose sur la capacité des PGPR à réduire les effets nocifs sur la plante. L'effet phytobénéfiques indirect des bactéries PGPR résulte de l'interactions entre les PGPR et les pathogènes et/ou parasites de la plante, à l'occasion desquelles les effets négatifs de ces derniers sont diminués (Ramette *et al.*, 2006 ; Rezzonico *et al.*, 2007). Ces interactions correspondent souvent à de la compétition ou de l'antagonisme... (Bally et Elmerich, 2007)

I.2. 1. 2.1. Antibiose

L'antibiose est une activité antagoniste provoquée par des antibiotiques, résulte de l'activité de composants toxiques pour le pathogène (tel les phénazines ou le 2,4- diacetylphloroglucinol) synthétisé par les populations microbiennes antagonistes.

L'antagonisme microbien résulte à la fois de la compétition qui s'exerce en particulier pour les composés organiques du fait de la forte densité de microorganismes hétérotrophes dans l'environnement oligotrophe que constitue le sol. Elle s'exerce également pour le fer (Fe^{3+}) qui est essentiel pour le métabolisme des plantes et des microorganismes (surtout ceux qui sont aérobies) alors que sa biodisponibilité est faible dans les sols cultivés (Stengel *et al.*,2009)

I.2.1.2.2. Résistance Systémique Induite (ISR)

Lors du phénomène appelé « résistance systémique induite » (ISR), des rhizobactéries non pathogènes peuvent conférer à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire. Ce phénomène fait appel séquentiellement à la reconnaissance par l'hôte d'éliciteurs produits par l'agent inducteur à l'émission d'un signal requis pour propager l'état induit de manière systémique et à l'expression de mécanismes de défense sensu stricto qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante.

Les événements moléculaires associés à l'ISR sont de mieux en mieux connus. Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (Glazebrook *et al.*, 2003). Cependant, ces voies s'interpénètrent et agissent avec d'autres mécanismes pour former un réseau de régulation modulable permettant à la plante d'initier une réponse défensive spécifique en fonction de la nature du pathogène, qu'il soit virus, bactérie, champignon, insecte ou nématode (De Vos *et al.*, 2005).

I.2.1.2.3. Production au cyanure d'hydrogène :

Le cyanure d'hydrogène (HCN) est un métabolite secondaire qui fait partie des cyanides. Il peut être produit directement de la glycine ou des glycosides cyanogènes (Bakker et Schippers, 1987). La glycine est un acide aminé considéré comme le meilleur précurseur de la production des cyanides chez les microorganismes (Askeland et Morrison, 1983).

L'HCN produit par les PGPR assure un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines (Defago et Haas, 1990). Cette production est largement variable selon les conditions environnementales dans lesquelles les rhizobactéries évoluent, notamment la composition des acides aminés dans la rhizosphère et les exsudats racinaires, les pratiques culturales, la disponibilité du fer ferrique dans le sol et la présence des sidérophores (Knowles et Bunch, 1986).

I. 2.1.2.4. Enzymes lytiques

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique est un autre mécanisme utilisé par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. Les PGPR peuvent produire certaines enzymes telles que les chitinases, la déshydrogénase, la β -glucanase, les lipases, les phosphatases, les protéases, etc (Lanteigne *et al.*, 2012 ; Joshi *et al.*, 2012).

Ils manifestent une activité hyperparasitaire, attaquant les agents pathogènes en excréant les hydrolases de la paroi cellulaire. Grâce à l'activité de ces enzymes, les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en particulier pour les protéger des stress biotiques et abiotiques en supprimant les champignons pathogènes, notamment *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora sp*, *Rhizoctonia solani* et *Pythium ultimum* (Hayat *et al.*, 2010 ; Nadeem *et al.*, 2013).

I.2.1.2.5. La compétition pour l'espace et les nutriments

La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme biologique utilisé par les PGPR pour éliminer les phytopathogènes.

Cette compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance (Dommergues et Mangenot.,1970) Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et, par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997). Mais, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est, dans certains cas, pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle générale (Reyes *et al.*, 2004).

L'idée qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie fut beaucoup discutée. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005).

I.2. 2. Taxonomie des PGPR

Le nombre de PGPR identifiées a augmenté d'une façon significative. Ces microorganismes cultivables, présentant une diversité de genre et d'espèces, appartiennent majoritairement aux trois phyla suivants : Proteobacteries, Firmicutes, Actinobacteries (Hugenholtz, 2002). De nombreux genres bactériens incluent les PGPR des taxons très divers (Kloepper, 1992).

Le phylum des proteobacteria comprend 3 classes :

I.2.2.1. Alpha-proteobacteria

Les PGPR appartenant à cette classe sont classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Ces souches peuvent se comporter comme PGPR quand elles colonisent les racines des plantes non légumineuses dans une relation non spécifique. En effet, le genre *Rhizobium* contient également des souches PGPR (Sawada *et al.*, 2003). Elle comprend de nombreux genres de bactéries phototrophes pourpres non sulfureuses tels que *Rhodovulum*, *Rhodobium*, *Rhodopseudomonas*. (Bertrand *et al.*, 2011).

I.2.2.2. Les Beta-proteobacteria

Elle comprend quelques bactéries phototrophes pourpres non sulfureuses. Elles constituée de 6 ordres. (Bertrand *et al.*, 2011).

I.2.2.3. Les Gamma-proteobacteria

Elle comprend le plus grand nombre de Proteobacteria regroupées dans 13 ordres, parmi ces ordres, les Pseudomonadales comprennent deux familles, les Pseudomonadaceae avec les genres *Pseudomonas*, bactéries communes des sols et des eaux, et les Moraxellaceae avec les genres *Moraxella*, *Acinetobacter*, rencontrés dans les sols (Bertrand *et al.*, 2011).

Dans la famille des Pseudomonadaceae, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer l'azote (Sturz et Christie, 2003).

I.2.2.4. Les Firmicutes

Parmi les bactéries telluriques à Gram positif, les *Bacillus* sont les types les plus communs et les plus prédominants, ils représentent 95% de la flore isolée. Ce sont des bactéries aérobies ou

aéro-anérobies facultatives formant des endospores (Bergey's, 2010). Depuis la découverte de la bactérie (1913) le genre *Bacillus* a subi des changements taxonomiques considérables la réorganisation de ce genre a été initiée en 1992 par la création des 37 nouveaux genres avec *Bacillus* sont inclus dans l'ordre des Bacillales et la famille des Bacillaceae (Govindasamy *et al.*, 2010).

I.2.2.5. Les Actinobactéries

La majorité des espèces sont saprophytes ou commensales et principalement telluriques ; quelques-unes (exp *Mycobacterium*) peuvent être pathogènes chez des individus à résistance affaiblie. Quelques-unes vivent en symbiose à l'intérieur de plantes pour lesquelles elles fixent l'azote atmosphérique (Bergey's, 2010).

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

II. Matériels et méthodes

II.1. Localisation de la zone d'étude et caractéristiques physico-chimiques des sols prélevés :

II.1.1. Délimitation de la zone d'étude

L'ensemble des prélèvements ont été réalisés à partir de la rhizosphère des sols prélevés à différentes cultures dans les régions de Mesra et d'elhadj dj de la wilaya de Mostaganem (Figure II.1)



Figure II. 1: localisation de la zone d'étude

II.1.2. Prélèvement des échantillons du sol

Après l'élimination de la partie superficielle du sol (10-15 cm) ; un poids non déterminé du sol a été prélevé de manière aseptique dans des sachets stériles (figure II. 2). Les prélèvements ont ensuite été ramenés au laboratoire et conservés pour l'analyse. (Aly *et al.*, 2012).



Figure II.2: prélèvement d'échantillon de sol.

II.1.3. Caractères physicochimiques du sol

La diversité de la communauté microbienne du sol est fortement influencée par la structure et les caractères physico-chimiques de ce dernier. Dans cet objectif, il était important de déterminer les paramètres du sol de notre étude tel que le pH, l'humidité.

II.1.3.1. PH du sol

Il est déterminé par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH mètre de type *ADWA AD 1030*. Pour la mesure, 25 g du sol ont été dissouts dans un Bécher contenant 50 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité au vortex pendant quelques minutes ensuite le pH de la suspension a été mesuré avec le pH mètre (Ilyas *et al.*, 2012).

II.1.3.2. Humidité du sol

L'humidité des échantillons a été mesurée par la prise de 50g du sol dans un Becher de 150ml propre, le Becher a été ensuite étuvé à une température de 105 °C pendant 24 heures. Les échantillons ont été pesés pour déterminer la constance du poids de l'échantillon de sol. Le calcul de la teneur en humidité a été fait selon (Ilyas *et al.*, 2012) suivant la formule suivante :

$$\text{Humidité du sol (\%)} = \frac{\text{poids du sol humide(g)} - \text{poids du sol sec(g)}}{\text{poids du sol humide}} \times 100$$

II.2. Isolement et identification des rhizobactéries

II.2.1. Isolement des rhizobactéries

Une solution mère a été préparé par l'ajout de 10 g de sol rhizosphérique à un flacon de 200 ml contenant 90 ml d'eau physiologique, ensuite une série de dilutions décimales ont été réalisées (de 10^{-1} à 10^{-7}). A partir des 3 dernières dilutions, 0,1 ml de chacune a été prélevé et étalé en surface sur gélose LB (annexe I). Ensuite, les boites ont été incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ durant 48 heures. (Figure II.3)

II.2.2. Purification et conservation des isolats

La gélose nutritive (annexe I) a été utilisé pour la purification des isolats par la méthode des quatre cadrans, ensuite les isolats purs sont numérotés puis conservées dans des tubes de gélose inclinée à 4°C pour le reste des tests. (Figure II.03).

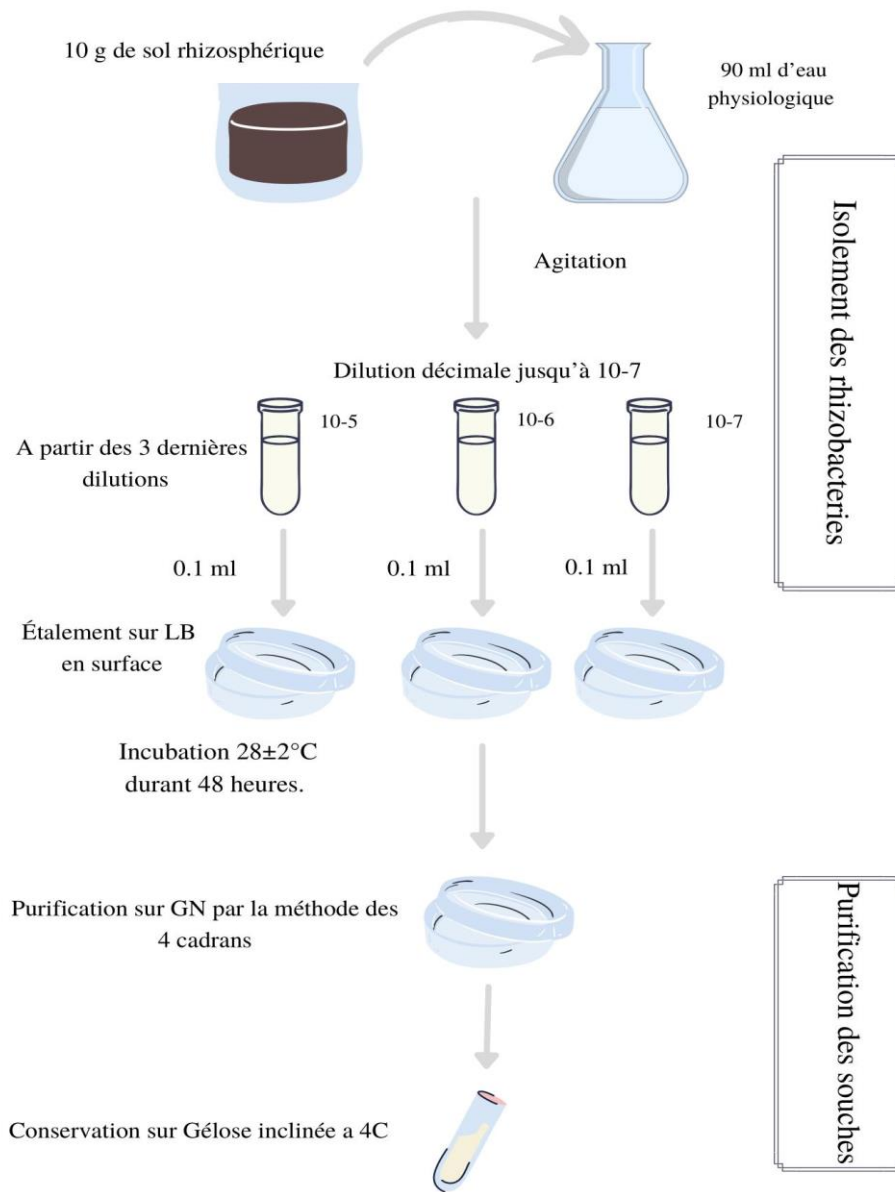


Figure II.3 : isolement et purification des isolats

II.2.3 Identification des isolats

II.2.3.1. Caractérisation macromorphologique des isolats :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. L'examen macroscopique des colonies développées sur gélose nutritive permis de déterminer la forme, le relief, le contour et la couleur des colonies.

II.2.3.2. Caractérisation microscopique des isolats :

La coloration de gram a été faite pour l'ensemble des souches pour avoir le gram, la forme. (Annexe I).

II.2.3.3. Caractères biochimiques

II.2.3.3.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau métabolique (H_2O) et oxygène (O_2), selon la réaction suivante :



La recherche de la catalase se fait en suivant le protocole suivant ; sur une lame propre et sèche, une goutte d'eau oxygénée a été déposée, à l'aide d'une pipette pasteur, une colonie a été prélevée et mélangée avec la goutte d'eau oxygénée. L'observation est immédiate, s'il y aura des bulles, causée par le dégagement gazeux de dioxygène, l'isolat est catalase positive (+), sinon elle est catalase négative (-). (Marchal *et al.*, 1991)

II.2.3.3.2. Test oxydase

C'est une enzyme qui intervient dans divers couples d'oxydoréduction, l'enzyme recherchée est la phénylène-diamine-oxydase, pour cela, un disque d'oxydase est déposé sur une lame, il est imbibé avec une goutte d'eau physiologique stérile. Puis une partie de la colonie à étudier y est étalée (Flandroits et Chomarot, 1988). Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque indiquant une oxydase positive. L'absence de coloration indique que l'oxydase est négative.

II.3. Evaluation de la production d'AIA par les isolats

II.3.1. Réactivation des isolats

Les isolats préalablement conservés dans la gélose inclinée, ont étéensemencées dans des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive, après incubation à $28 \pm 2^\circ C$ pendant 24 heures, les cultures ont été utilisées pour préparer l'inoculum. (Figure II.4)

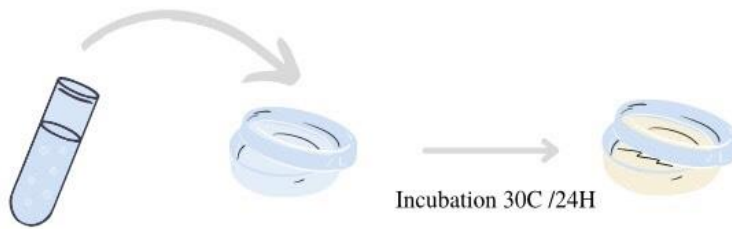


Figure II.4: réactivation des souches

II.3.2. Production de l'acide indole acétique

L'analyse quantitative (dosage colorimétrique) de la production de l'acide indole acétique a été effectuée suivant la méthode décrite par Loper et Schroth (1986). Un Erlenmeyer de 250 contenant 50 ml du milieu de culture Luria Bertani additionné de 100mg/l de tryptophane a étéensemencé par 1 ml de la culture bactérienne dont la densité optique a été réglé à 0.8 (de chaque isolat). Après incubation à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 96 h dans l'obscurité dans une étuve agitée à 160 rpm, 5ml de la culture ont été centrifugés à 6000tr/min pendant 20 min, ensuite 1 ml de surnageant a été additionné de 2 ml du réactif de Salkowski (Annexe I) (figure II.5).

Le développement de la couleur rose observé après 30 min d'incubation à température ambiante dans l'obscurité indique la production de l'AIA. La densité optique a été mesurée à 530 nm (spectrophotomètre *JENWAY 6715*), les concentrations de l'AIA ont été déterminées en utilisant une courbe d'étalonnage (Hamoum, 2017).

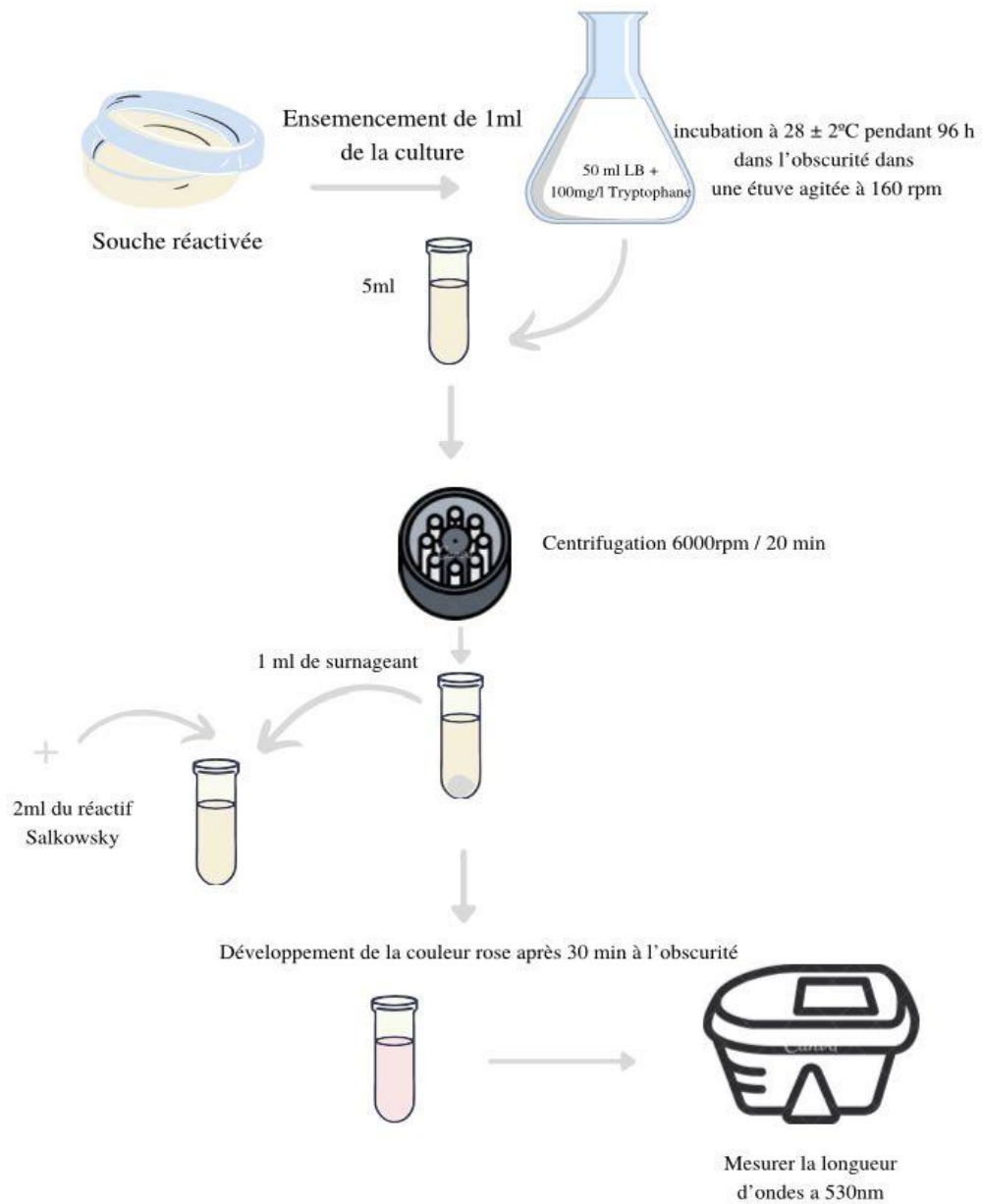


Figure II.5: production d'acide indole acétique par les isolats.

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET

DISCUSSIONS

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Caractérisation physico-chimique des sols

Six prélèvements ont été réalisés à partir de deux zones géographiques différentes (Elhadjadj et Mesra). Les coordonnées cartographiques ainsi que la date d'échantillonnage sont mentionnées dans tableau III. 1. L'analyse des résultats montre que les valeurs de PH varient entre (7,02-7,81) ce qui indique que ces sols sont légèrement alcalins.

Des taux d'humidité faibles ont été enregistrés dans la plupart des échantillons, une valeur minimale d'humidité ($10,88 \pm 0,38$ %) a été obtenue pour l'échantillon prélevé à partir de Mesra, les taux d'humidité les plus élevés ont été ainsi obtenue pour les échantillons 2 et 5 avec des taux de $16,64 \pm 0,62$ et $17,21 \pm 0,12$ respectivement

Tableau.III.1 : Localisation des points de prélèvement des échantillons

Echant N°	Plante	Date d'échantillonnage	PH	Humidité (%)	Isolats bactérienne obtenus
01	Lentille	17/04/2021	$7,31 \pm 0,11$	$15,88 \pm 0,32$	2
02	Artichaut	17/04/2021	$7,73 \pm 0,01$	$16,64 \pm 0,62$	13
03	Pois chiches	17/04/2021	$7,22 \pm 0,44$	$14,33 \pm 0,54$	3
04	Haricot	17/04/2021	$7,81 \pm 0,21$	$15,21 \pm 0,12$	4
05	Fève	17/04/2021	$7,54 \pm 0,25$	$17,21 \pm 0,12$	7
06	Fève	16/04/2021	$7,02 \pm 0,86$	$10,88 \pm 0,38$	2

III.1.2. Caractérisation morphologiques et biochimiques des isolats bactériennes :

L'isolement bactérien à partir du sol rhizosphérique sur le milieu LB a permis d'obtenir 31 isolats. Les études macroscopiques des isolats ont montré la présence de colonies de forme et de taille variable transparente et opaque de couleur blanchâtre et beige. L'examen microscopiques des différents isolats a mis en évidence la présence de bactéries bacillaire de grand et petite taille et des coccobacilles. Tableau III .2. (Annexe II).

Parmi ces isolats, 79,19 % sont à coloration de Gram négative et 25,80 % sont à coloration de Gram positive. L'étude de leur caractère biochimiques a démontré que 83,87% sont catalase positive et 16,13 % sont catalase négative et pour l'oxydase 77,42 % s'est avéré négative et 22,58 % positive. (Figure III.1) (Figure III.2).

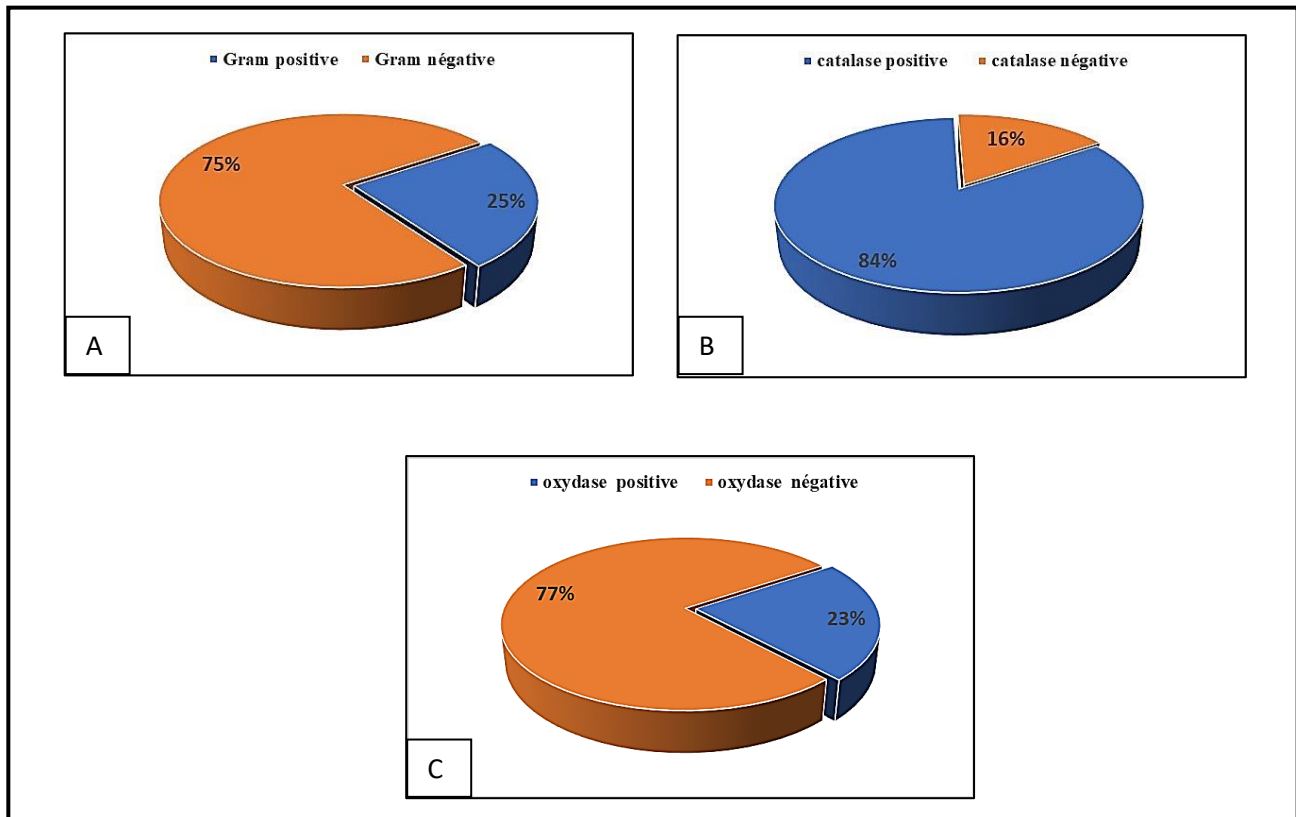


Figure III.1 : caractères des isolats :

A : pourcentage de gram; B : pourcentage de catalase ; C : pourcentage d'oxydase

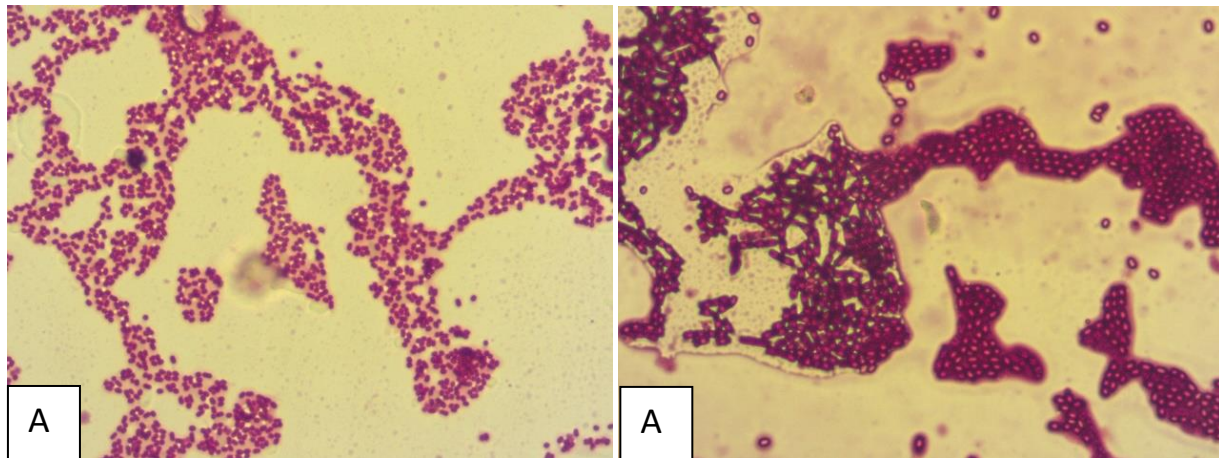


Figure III.2 : Caractères microscopiques des isolats :

A : isolat D2 ; B : Isolat X3

III.1.3. Production de de l'acide indole acétique (AIA)

Les taux de production de l'acide indole acétique observés varié de $3,07 \pm 0,021$ jusqu'au $55,74 \pm 0,028$ $\mu\text{g/ml}$. La comparaison des moyennes deux à deux par le test de Newman et keuls a montré que les trois isolats E2, B4 et C1 ont présenté des taux de production d'AIA les plus élevés par rapport à la majorité des isolats testés avec des valeurs d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) de $55,47 \pm 0,028$, $37,68 \pm 0,021$ et $27,26 \pm 0,021$ respectivement, (tableau III.3) (Annexe III).

Des taux de production moyennes ont été observées chez les cinq isolats B13, C2, B10 et B2 avec des valeurs d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) allant de $16,56 \pm 0,021$ jusqu'à $11,42 \pm 0,035$. Les isolats E6, X1, B12, B8, F2, B1, X3, B3, D2, D4, B6, E3, F1 et E8 ont présenté des taux de production d'AIA faibles avec des valeurs d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) allant de $3,07 \pm 0,021$ jusqu'à $9,78 \pm 0,007$, tandis que les isolats X2, B7, C3, B9, D1, E5, E1, D3, E7 et B5 ont été négatif pour le test de production d'AIA.

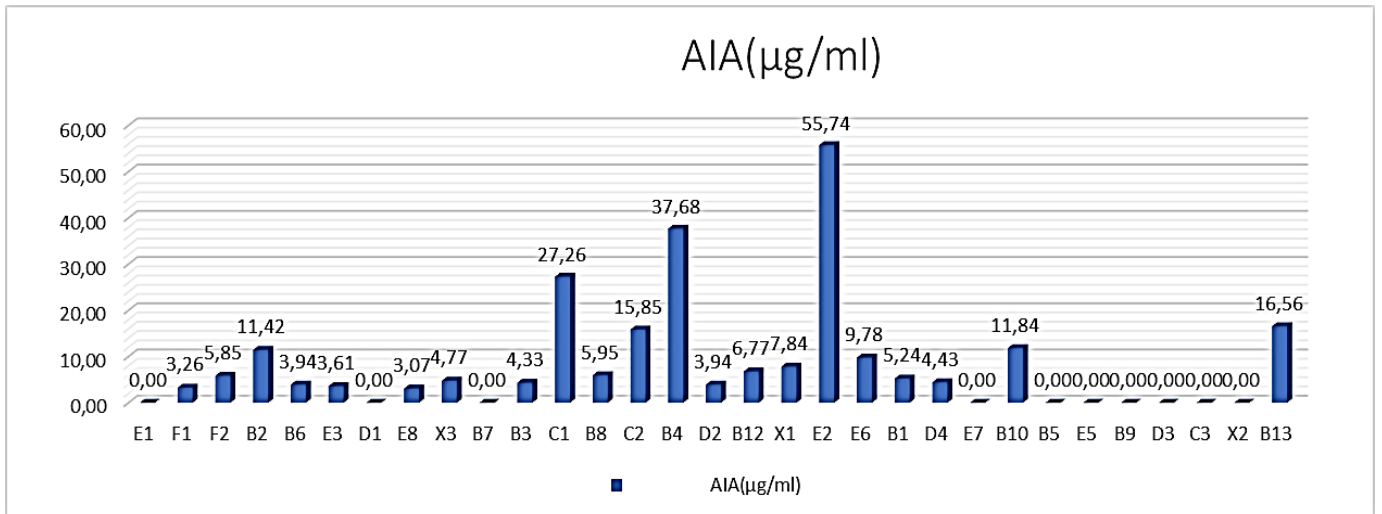


Figure III.3 : Taux de production d'acide indole acétique par les isolats bactériens.

III.2. Discussions

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) représente un groupe hétérogène de bactérie que l'on retrouve dans la rhizosphère, à la surface des racines et en association avec les racines, ce qui peut améliorer la croissance des plantes directement ou/et indirectement.

Au cours de notre travail les régions d'elhadajdj et du Mesra dans la wilaya de Mostaganem ont été choisis comme des lieux d'échantillonnage.

Les caractères physico-chimiques du sol peuvent fortement influencer la distribution, la croissance et la production de métabolites chez les microorganismes (Aurelia *et al.*, 2013), Le pH du sol est considéré comme le plus important facteur influençant la structure de la communauté microbienne (Msimbira et Smith, 2020). En fonction du pH, les sols sont classés en sol acide, neutre ou alcalin. Les sols cultivés sont généralement caractérisés par des pH neutre, faiblement acide ou faiblement alcalin, avec des valeurs qui varient entre 4 et 9. La plupart des sols de jardin sont neutres, c'est-à-dire aux environs de pH 7 (Anonyme, 2014).

Non résultats ont montré des valeurs de pH légèrement alcalins. Des travaux similaires de (Minda *et al.*, 2015) ont rapporté le caractère alcalin du sol rhizosphérique prélevés. La mesure de l'humidité des différents échantillons de sols a montré des valeurs allant de 10,88 à 17,21 confirmant que le sol a une faible humidité, cela est due peut-être aux saisons de prélèvement.

L'identification des isolats a permis de mettre en évidence la présence d'une grande diversité microbienne. Parmi ces isolats 79,19% sont des bactéries à gram négative et 25,80 % à coloration de gram positive. Ces résultats sont d'accord avec la majorité des études sur les bactéries de la rhizosphère qui rapportent que les souches à coloration de gram négative sont plus nombreuses que les souches à gram positive (Kloepper *et al.*, 1992).

(Hayet *et al.*, 2010) ont trouvé plusieurs espèces bactériennes dans la rhizosphère qui ont été qualifiées comme étant des PGPR, notamment des bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*.

L'acide indole acétique (AIA) est l'un des auxines les plus physiologiquement actives, c'est un type de phytohormone connue (Malhotra et Srivastava, 2008). Il fonctionne comme un signal important dans la régulation du développement des plantes (Ryu et Patten, 2008)

Les résultats de notre étude ont démontré que 67,75% de nos 31 isolats ont la capacité de produire l'auxine AIA avec des concentrations qui varient de $3,07 \pm 0,021$ à $55,74 \pm 0,028$. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Zakharova *et al.*, (1999), qui mentionnent qu'environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire cette phytohormone. Au niveau de la rhizosphère.

La production de l'AIA par les microorganismes est effectuée à partir des exsudats racinaires, la production d'auxine par les bactéries augmente lorsque le milieu de culture est additionné de précurseur plus approprié, comme le tryptophane pour la production d'AIA, cette production s'améliore avec l'augmentation de la concentration du précurseur (Barazani et Friedman, 2000 ; Tsavkelova *et al.*, 2006)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Les bactéries qui colonisent la rhizosphère et les racines des plantes améliorent leur croissance par quel que mécanisme sont appelés PGPR (Lynch et Whipps, 1990).

L'objectif de ce travail s'est focalisé sur l'amélioration de la production de l'Acide Indole Acétique par des souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère dans différentes régions de la wilaya Mostaganem.

Un total de 31 isolats ont été isolés à partir de la rhizosphère. Elles ont été soumises à une identification préliminaire par des examens macroscopiques et microscopiques et quelques tests biochimiques. Tous les isolats ont été ensuite évalués pour estimer leurs capacités de production de l'acide indole acétique.

Les résultats obtenus dans ces tests montrent que la plupart des souches produisent l'AIA. Le dosage repose sur la mesure de la densité optique à 530 nm, l'auxine est détectée par une réaction colorimétrique de Salkowski. Les quantités d'auxine produites varient entre $3,07 \pm 0,021$; à $55,74 \pm 0,028$ $\mu\text{g/ml}$.

Ces résultats montrent que la souche E2 est la meilleure productrice de l'auxine, elle atteint son maximum de production avec une valeur de $12,41 \pm 0,73$ $\mu\text{g/mg}$.

Par ces résultats, nous pouvons conclure que les PGPR ont la capacité de produire une quantité importante d'acide indole-acétique et peuvent être utilisées comme bio-fertilisants végétaux pour l'amélioration de la production agricole et être un très bon alternatif aux engrais azotés ce qui va conduire à un meilleur rendement.

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherches, ils seraient intéressants d'approfondir les investigations en :

- Identifier les souches les plus performantes (identification moléculaire par le séquençage de l'ARNr 16s par exemple).
- Tester les autres activités PGP avant et après mutation pour détecter les autres améliorations

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographie

- **Ahmad F, Ahmad I et Khan MS. (2005).** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. Journal. Biology*, 29: 29-34
- **Alori, E.T., Glick, B.R., Babalola, O.O., (2017).** Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.*, 8
- **Aly, M. M., EL Sayed, H E. A., Jastaniah, S. D. (2012).** Synergistic effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces sp.* Isolated from saline soil on seed germination and growth of wheat. *Journal of American science*, 8(5), 667-676.
- **Anoua, M., Jaillard, B., Ruiz, J., Bénet, J. C., et Cousin, B. (1997).** Couplage entre transfert de matière et réactions chimiques dans un sol. Partie 2: Application à la modélisation des transferts de matière dans la rhizosphère. *Entropie*, 33(207), 13-24
- **Anton Hartmann, Michael Rothballer et Michael Schmid, (2008).** « Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », *Plant and Soil*, vol. 312, no 1-2, novembre, p. 7
- **Askeland, R.A., Morrison, S.M., (1983)** . Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 1802-1807
- **Bakker, A.W., Schippers, B., (1987)** . Microbial cyanides production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp. Mediated plant growth stimulation. *Soil biology and soil biochemistry* 19. 451-457
- **Bally, R., Elmerich, C (2007).** Biocontrol of plant diseases by associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria. In: C. Elmerich, W.E. Newton (eds). *Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. Springer. 171-190
- **Barazani Oz, Friedman Jacob. (2000).** Effect of Exogenously Applied L-Tryptophan on Allelochemical Activity of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), *Journal of Chemical Ecology*; 26(2): 343-349

- **Barea, L.M; Pozo, M.J; Azcon, R; Azcon-Aguilar, C. (2005).** Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56: 1761-1778.
- **Beauchamp CJ. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique *Phytoprotection*,74(1) :19-27.
- **Bergey's M. (2010).** Bacillus and Paenibacillus sp In: Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Springer Science & Business Media: 330-336
- **Bernard R. Glick.(2012),** Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications, *scientifica* ;2012:4.
- **Bertrand JC, Caumette P, Lebaron P, Matheron R et Normand P. (2011).** Écologie microbienne: microbiologie des milieux naturels et anthropisés, Ed. *Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour* : 190-194.
- **Bertrand, H., C. Plassard, X. Pinochet, B. Touraine, P. Normand et J.C. Cleyet-Marel (2000).** Stimulation of the ionic transport system in Brassica napus by a plant growth-promoting rhizobacterium (*Achromobacter* sp.). *Can. J. Microbiol.*, **46**:229–236.
- **Bhattacharjya Sudeshna, Tapan Adhikari,Samaresh Kundu, Asha Sahu and Ashok K.Patra.(2019).**Evaluation ofv Microbial solubilisation of Nano Rock phosphate . *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* ;8(1) :1055.
- **Boukhalfa H. and Crumbliss AL. (2002).**Chemical aspects of siderophore mediated irontransport. *BioMetals* 15: 325–339.
- **Bowen G. D., Rovira A. D., (1991),** Microbial colonization of plant roots. *Annual Review of Phytopathology*, 14: 121-144.
- **Chibani Hiba Rahman, Fellahi Soltana, Chibani Abdelwaheb. (2017).**"Enhancement of protease production by Bacillus sp. and Micrococcus varians induced by UV-mutagenesis". *International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology* (ISSN: 2456-1878).2(5):2348-2353.Doi:10.22161/ijeab/2.5.10
- **Crichton R.(2001)** iron and oxidative stress. Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences. Chichester: John Wiley and Sons, , p.235-57.

- **De Vos M, VR. Van Oosten, RMP. van Poecke, JA. Van Pelt, MJ. Pozo, MJ. Mueller, AJ. Buchala, JP. Métraux, LC. Van Loon et M. Dicke (2005).** Signal signature and transcriptome changes of Arabidopsis during pathogen and insect attack. *Mol.plant microbe interact* 18: 923-937
- **Defago , G .,Hass , D., (1990).** Pseudomonas are antagonist of soilborne plant pathogens : mode of action and genetic analysis . *Soil biochemistry* 6, 249-291
- **Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M., (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea L.*) by application of plant growth- promoting rhizobacteria *microbial res.* 159: 371-394
- **Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. Chauhan S.M., (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea L.*) by application of plant growth-promoting rhizobacteria *microbial res.* 159: 371-394
- **Dommergues Y. and Mangenot F. (1970).** *Écologie Microbienne du sol.* Masson, Paris.
- **Dommergues, Y. (1978).** "Mycorrhizes et fixation d'azote". *O.R.S.T.O.M. avril 1978*
- **El-Hamshary, Ola & Soliman, E.A.M. Al-Musalam, H.J.K. & Alhebshi, Alawiah. (2018).** Genetic comparison among high phosphate-solubilizing mutants of enterobacter clocae via RAPD-PCR analysis. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences.* 20. 643-654.
- **Firew Elias, Deleegn Woyessa, and diriba Muleta.(2016).** Phosphate Solubilization potential of rhizosphere fungi isolated from plants in jimma Zone,Southwest Ethiopia. *International Journal of Microbiologie ;3 :1.*
- **Fitriyanti.d, Mubarik.N.R and A Tjahjoleksono. (2017).**Characterization and identification of phosphate solubilizing bacteria isolate GPC3.7 from limestone Mining Region. *Earth and Environmental Science Indonesia ;58 :1*
- **Flandrois J. P., Chomarar M., 1988,** L'examen cytotactériologique des urines. *in : Bactériologie médicale pratique, MEDSI / Mc GRAW-HILL, Paris ; 21, p.3-11.*

- **Geoffroy Villejoubert. (2016)**, Synthèse bibliographique : Conversation dans la rhizosphère – Dialogue moléculaire et diversité des interactions plantes –micro-organismes, université Paul Savatier ,Toulouse
- **Glazebrook J, W. Chen, B. Estes, H-S. Chang, C. Nawrath, J-P. Metraux, T. Zhu, F. Katagiri (2003)** .Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *Plant J.* 31: 217–228.
- **Glick B.R., Penrose D. and Li J. (1998)**. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology.* 190: 63- 68.
- **Glick, B.R., 2012**. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applications. In: *Scientifica.* Octobre 2012. Vol. 2012, p. 1-15.
- **Glick, B.R., Z. Cheng, J. Czarny, et J. Duan (2007)**. Promotion of plant growth by ACC-deaminase producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119:329–339.
- **Goodarzi, Alireza. (2016)**, "UV-induced mutagenesis in lactic acid bacteria." *International Journal of Genetics and Genomics* :1-4.
- **Govindasamy V, Senthilkumar M, Magheshwaran V, Kumar U, Bose P, Sharma V et Annapurna K. (2010)**. Plant Growth and Health Promoting Bacteria, *Ed, Microbiol. Monographs*, p : 346.
- **Gray and L.M. Smith (2005)**. Influence of land use on postmetamorphic body size of playa lake amphibians. *Journal of Wildlife Management.* 69:515-524.
- **Haas, D., et G. Défago (2005)**. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Natra. Rev. Microb.* 1129.
- **Hamoum H., (2017)** - Screening des diazotrophes non symbiotiques associés aux plantes des zones salines de l'ouest algérien : effet phyto-stimulateur sur la croissance du blé dur, *Thèse de Doctorat*, Université de A. Ben badis de Mostaganem, 115p.
- **Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, L (2010)** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann. Microbiol* 60: 579-598.

- **Hayat, R., S. Ali , U.Amara , I. Ahmed .(2010).** Bactéries bénéfiques pour le sol et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes: un aperçu. *Ann Microbiol* 60: 579-598.
- **Herman MAB, Nault BA, Smart CD (2008).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.* 27: 996-1002.
- **Herman MAB, Nault BA, Smart CD (2008).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.* 27: 996-1002.
- **Hinsinger P. (1998).** How do plant roots acquire mineral nutrients?.Chemical processesinvolved in the rhizosphere. *Adv. Agron*, 64: 225-265.
- **Hoysted, G. A., Kowal, J., Jacob, A., Rimington, W. R., Duckett, J. G., Pressel, S., (2018).... & Bidartondo, M. I. .A mycorrhizal revolution. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 1-6.**
- **Hugenholtz P., (2002),.** Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biology* 3(2).
- **ILyas, N., Bano, A., Iqbal, S., N. I. (2012).**physiological, biochemical and molecular characterization of *azospirillum* spp. Isolated from maize under water stress. *Pakistan journal of botany*, 44, 71-80
- **Jie Luo ,Jing-Jing Zhou, Jin-Zhi Zhang.(2018).**Aux/IAA Gene Family in Plants: Molecular Structure, Regulation, and Function,*International Journal of Molecular Sciences,MDPI*;19(259):1.
- **Joshi ,M., R. Shrivastava, A.K. Sharma , A. Prakash (.2012).** Criblage de vérités résistantes et de Fusariumoxysporum antagonistes pour la lutte biologique contre la fusariose du piment. *Plant PatholMicrobiol* 3: 134.
- **Justin, C., Khodursky, A., Peter, B., Brown, P.O.and Hanawalt, P.C. (2001).**Comparative gene expression profilesfollowing UV exposure in wild type and SOS-deficient *Escherichia coli*. *Genetics.*,158: 41-64.
- **Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A., Ahemad M., Oves M. (2009)** Functional Diversity Among Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Current Status. In: Khan M., Zaidi A., Musarrat J. (eds) *Microbial Strategies for Crop Improvement*. Springer, Berlin, Heidelberg.

- **Khan, M. S ., A. Zaidi., et M. Javed (2009).** Microbial Strategies for Crop Improvement. pp: 1-371. Springer-Verlag Berlin
- **Kim J, (1994).**Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation Biochemistry, 33,pp.389–397.
- **Kirdi, B., Zermane, N., (2010).** Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites : Orobanche crenata Forsk. et Cuscuta campestris Yuncker / Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: Orobanche crenata Forsk and Cuscuta campestris Yuncker.
- **Kloepper JW, Gutierrez-Estrada A, McInroy JA. (2007).** Photoperiodregulates elicitation of growth promotion but not inducedresistance by plant growth-promoting rhizobacteria. Can J Microbiol 53(2):159–167.
- **Kloepper JW, Litshitz R et Zablutowicz RM. (1989).** Free living bacterial inoculation for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol*, 7:39-43.
- **Kloepper JW, Schroth MN (1978)** Plant growth- promoting rhizobacteria on radishes. In: Proc Int Conf Plant Pathol Bact Angers, 379-382
- **Kloepper, J. W., Mcinroy. J. A., Bowen, k. L. (1992).** Comparative identification by fatty acid analysis of soil, rhizosphere, and geocarposphere bacteria of peanut (*Arachis hypogaea L*).*plant and soil*, 139(1), 85-90
- **Kloepper, J.W. & Beauchamp, C.J. (1992).** A review of issuesrelated to measuring colonization of plant roots by bacteria. Can, J. Microbiol 38(12):1219-1232.
- **Knowles, C.J ., Bunch , A.W ., (1986) .** Microbial cyanide metabolism . Advances in Microbial physiology 27, 73-111
- **Kochar, M., Upadhyay, A., and Srivastava, S. (2011).** Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas jluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. Res. Microbiol. 162: 426-35
- **Kumar P, Dubey RC ,(2012).**Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolusvulgaris*.J Curr Pers Appl Microbiol.

- **Lanteigne, C., V.J. Gadkar , T.Wallon , A. Novinscak , M. Fillion .(2012).** Production de DAPG et de HCN par *Pseudomonas* sp. LBUM300 contribue au contrôle biologique du chancre bactérien de tomato. *Phytopathology* 102: 967-973.
- **Lee, K. E., Adhikari, A., Kang, S. M., You, Y. H., Joo, G. J., Kim, J. H., ... & Lee, I. J. (2019).** Isolation and characterization of the high silicate and phosphate solubilizing novel strain *Enterobacter ludwigii* GAK2 that promotes growth in rice plants. *Agronomy*, 9(3), 144.
- **LemanceauP, (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp fluorescents*. *Agronomie, EDP Sciences*, 12 (6), pp.413-437.
- **Lepinay C., (2013),** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, *dans un contexte de variation environnementale*, Université de Bourgogne, p.263.
- **Lombi. E, (2001).** Trace Elements in the Rhizosphere. CRC Press. Cité dans *Microbial Health of the Rhizosphere*.
- **Maheshwari Dinesh Kumar, Shrivardhan Dheeman, Mohit Agarwal.(2015).** Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture, In: Maheshwari Dinesh (eds) *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Sustainable Development and Biodiversity, Springer ;12:160*
- **Malhotra M et Srivastava S. (2008).** Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum Brasilense SM* and its ability to modulate plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 45: 73-80.
- **Marchal N., Bourdon J.L.et Richard C.L., (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3ème Ed., *Doin éditeurs*, Paris.
- **Marie Line Faune. (2018).** La rhizosphère: Point de départ d'un vaste Réseau de Communication, *Ag ricultures & Territoires- Chambres d'agriculture des Pays de la Loire*;10:1.
- **Martínez-Viveros 1, O., M.A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora. (2010).** Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10: 293 – 319.
- **Matos-Moreira, M., et al., (2017).** High-resolution mapping of soil phosphorus concentration in agricultural landscapes with readily available or detailed survey data. *Eur. J. Soil Sci.* 68, 281–294.

- **Meryama Moustaine ,Rahal el Kahkahi,Achbani el Hassan ,A Benbouazza,Rachid Benkirane.(2019)**. Beneficial Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Improving the Growth of Salt- Grown Soft Wheat in Morocco ,*Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale* ;13(1): 40 .
- **Michel CG, Christian W, Jean-Claude R, Jacques B et Jean-Louis M. (2005)**. Sols et environnement. *Ed, Dunod, paris*, p : 881.
- **Minda Mahamat Salah,Mariama Dalanda Diallo,Ousmane Ndiaye,Khoudia Niag ,Seyni Sane,Goalbaye Touroumgaye,François Matty,Aliou Guisse.(2015)**.Influence des caractéristiques physico-chimiques des sols sur la flore et la végétation ligneuse de trois stations du tracé de la grande muraille verte du Tchad,*Journal of Applied Biosciences*,95(1):8941.
- **Minorsky PV (2008)**. On the inside. *Plant. Physiol.* 146: 323-324.
- **Mona Nagargade, Vishal Tyagi, M. K. Singh.(2018)**. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: A Biological Approach Toward the Production of Sustainable Agriculture. In: Meena Vijay (eds) *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*. Springer, *Singapore* :205 .
- **Msimbira A.Levini, Smith L.Donald.(2020)**.The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses ,*Frontiers in Sustainable Food Systems*;4(106):4.
- **MuneesAhemad,MulugetaKibret , (2013)**.Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20
- **Nadeem, S.M., M. Naveed , Z.A. Zahir , H.N.Asghar .(2013)**. Interactions plantes-microbes pour une agriculture durable: principes fondamentaux et avancées récentes. In: Arora NK (ed.) *Symbiose microbienne végétale: principes de base et avancées*. Springer, Inde, pp. 51- 103.
- **Odoh Chuks Kenneth .(2017)**.Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Bioprotectant bioinoculant for Sustainable Agrobiolgy,*International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*;4(5):126.
- **Onet Aurelia, Teusdea Alin C., Onet Cristian. (2013)**. Relationships between soil physico-chemical properties and bacteria counts in OAK forest soil , *Natural Resources and Sustainable Development* , 367 –372 .

- **Orozco-Mosqueda, M.d.C.; Flores, A.; Rojas-Sánchez, B.; Urtis-Flores, C.A.; Morales-Cedeño, L.R.; Valencia-Marin, M.F.; Chávez-Avila, S.; Rojas-Solis, D.; Santoyo, G.,(2021)-** Plant-Growth Promoting Bacteria as Bioinoculants Attributes and Challenges for Sustainable Crop Improvement, *Agronomy* ,MDPI, 11(1167): p 1-2.
- **Pallavi Kumari Punam.(2018).**Role of different carbon Source on Phosphate Solubilisation by Psycrotolerant Isolatete. *International Journal of Current Microbiologie and Applied Sciences*, India ;7(10) :2597.
- **Pandey Deepak and Chayanika putatunda.(2018).** Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of potato plant . *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* ;7(1) :968.
- **Parmar P, Sindhu SS ,(2013).** Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J Microbiol Res* 3.
- **Peter H, Georges BJ, Raven KA, Mason JB, Losos SR et Singer. (2015).** *Biologies, 9ème Ed. amirécaïne du Raven*, p: 1406.
- **Piano, S., V. Neyrotti, Q. Migheli et M.L Gullino (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3):131-140.
- **Pravin Vejan,Rosazlin Abdullah ,Tumirah Khadiran ,Salmah Ismail ,Amru Nasrulhaq Boyce.(2016).**Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability, *Molecules*, MDPI;21(573):3.
- **Qin Han,Qun Ma,Yong Chen,Bing Tian,Lanxi Xu, Yang Bai,Wenfeng ChenXia Li.(2020),** Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean, *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 14:1915.
- **Racher Backer, J. Stefan Rokem, Gayathri Ilangumaran, John Lamont,Dana Praslickova, Emily Ricci, Sowmyalakshmi Subramanian, Donald L. Smith.(2018).**Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture, *Frontiers in Plant Science* ;9(1473):4.

- **Ramette, A., Moëgne-Loccoz, Y., and Défago, G (2006).** Genetic diversity and biocontrol potential of fluorescent pseudomonads producing phloroglucinols and hydrogen cyanide from Swiss soils naturally suppressive or conducive to *Thielaviopsis basicola*-mediated black root rot of tobacco. *FEMS Microbiol. Ecol.* 55: 369–381
- **Reyes, I., L. Alvarez, H. El-Ayoubi et A. Valery (2008).** Selection and evaluation of growth promoting rhizobacteria on pepper and maize. *Bioagro.* 20:37–48.
- **Rezzonico, F., Zala, M., Keel, C., Duffy, B., Moëgne-Loccoz, Y. and Défago, G (2007).** Is the ability of biocontrol fluorescent pseudomonads to produce the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol really synonymous with higher plant protection? *New Phytologist*, 173: 861- 872.
- **Rogers J.R., Bennett, P.C. and Choi, W.J., (1998),**Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *American Mineralogy*, 83.
- **Rossum D. V., Muyotcha A.,Verserveld V. W ., Stouthmer. A. H. and Boogerd F. C.(1994).** Siderophore production by Bradyrhizobium spp. Stains nodulating groundnut. *Plant and soil* 163: 177-187.
- **Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ et Dowling DN. (2008).** Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS. Microbiol. Lett*, 278: 19.
- **Ryu Ret Patten CL. (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am Soc Microbiol*, 190: 1-35.
- **Sarwar, M., Arshad, M., Martens, D.A. and Frankenberger, W.T. Jr. (1992)** Tryptophan-dependent biosynthesis of auxins in soil. *Plant Soil* 147: 207-215.
- **Sawada , L., Lloret, K., Martinez-Romero , E.(2003).** *Sinorhizobium americanum* sp . nov. a new *Sinorhizobium speaies* nodulating native acacia spp. In Mexico . *Syst. Appl . Microbiol* 26:54-64
- **Séverine Lopez.(2018).**Déterminisme de la diversité bactérienne rhizosphérique des hyper accumulateurs de nickel, Biodiversité et Écologie , *Thèse doctorat*, Université de Lorraine,22.

- **Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar et R. Sharma (2007).** Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seed sand seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 1: 61-63.
- **Sharon.J.A,Hathwaik.L.T,Glenn.G.M,Imam.H.S and Lee.C.C.(2016).**Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth. *Journal of Soil Science and plant Nutrition, USA ;16(2) :526.*
- **Singh Indranil .(2018),**Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions, *European Journal of Biological Research ;8(4):199.*
- **Souza, R. De, Ambrosini, A. Et Passaglia, L.M.P., 2015.** Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. In : *Genetics and Molecular Biology. 2015. Vol. 38, p. 401 – 419.*
- **Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. (2007)** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425-448
- **Srivastava, L.M. (2002)** Chapter 6: Auxin in Plant Grow/h and Development: Hormones and Environment. CA: Academic Press.
- **Stengel Pierre, Sandrine Gelin.(1998).**Sol interface fragile,I.N.R.A, Paris; 213-283.
- **Stengel, P; Bruckler, L; Balesdent, J. (2009).** Le sol. Paris, France. 182.
- **Sturz AV et Christie BR. (2003).** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil Til, 72: 107- 123.*
- **Suleman Sumera Yasmin , Maria Rasul,Mahreen Yahya, Babar Manzoor Atta, Muhammad Sajjad Mirza.(2018).** Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat, *Plos One ;13(9) :10-11.*
- **Tsavkelova A Elena, S. Yu. Klimova, T. A. Cherdyntseva, Netrusov, I Alexander .(2006).**Microbial producers of plant growth Stimulators and their practical use: *A review, Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiia;42(2):118-120.*
- **Vessey J K (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil .255:571-586.*

- **Vessey J.K. (2003)** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571-586.
- **Xingfeng Han ,Huiru Zeng ,Pietro Bartocci , Francesco Fantozzi ,Yunjun Yan.(2018)**.Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review, *fermentation*,MDPI; 4(25):1.
- **Yuan, C-L., Mou, C-X., Wu, W.-L. and Guo, Y-B. (2011)** Effect of different fertilization treatments on indole-3-acetic acid producing bacteria in soil. *J Soils Sediments* 11: 322-329.
- **Zahir ZA, Arshad M et Frankenberger WT. (2004)**. Plant growth promoting rhizobacteria : applications and perspectives in agriculture. *Adv. Agron*, 81: 97-168.
- **Zhang J, Jiang F, Shen Y, Zhan Q, Bai B, Chen W, Chi Y. (2019)**. Transcriptome analysis reveals candidate genes related to phosphorus starvation tolerance in sorghum. *BMC Plant Biol.* 2019;19:306.