

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCINETIFIQUE UNIVERSITE D'ABDELHAMID
BENBADIS - MOSTAGANEM



Faculté des sciences de la Nature et de
la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Sciences du sol et environnement

THÈSE

PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DE DIPLOME DE
DOCTORAT EN SCIENCES EN BIOLOGIE

Par

IDDER Boubaker

INTITULÉE

**Rôle des *Pseudomonas* rhizosphériques dans la promotion des plantes
stressées à la salinité et au cuivre, cas de la fève (*Vicia faba* L)**

Soutenu publiquement le :

Membres de jury

Pr. MEKHALDI Abdelkader	Président	Université de Mostaganem
Pr. BELKHOUDJA Moulay	Examinateur	Université d'Oran
Pr. BEKADA Ahmed Mohammed Ali	Examinateur	Université de Tissemsilt
Dr. BECHELAGHEM Nadia	Examinatrice	E.S.A. de Mostaganem
Pr. REGUIEG YSSAAD Houcine AH	Co- Directeur de thèse	Université de Mostaganem
Pr. DJIBAOUI Rachid	Directeur de thèse	Université de Mostaganem

Laboratoire de microbiologie et biologie végétale

Année universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Au début, j'adresse mes grandes gratitudees à ALLAH qui m'a créé, m'a donné la force et m'a guidé à tout succès.

Je tiens à remercier ma mère, que Dieu ait son âme, qui a toujours été ma source d'inspiration et mon père, que Dieu le garde, qui a toujours été mon soutien et mon guide.

A Mr Rachid DJIBAOUI mon directeur de thèse, pour sa supervision, , son orientation, sa patience, pour ses nobles qualités et son comportement distingué à mon égard, A monsieur REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim, le codirecteur de thèse pour son rôle et effort dans la réalisation et le perfectionnement de cette thèse. Aux membres de jury, qum'ont honorablement donné l'accord pour juger le travail, Mr MEKHALDI Abdelkaderle président de jury et Messieurs Pr. BELKHOUDJA Moulay, Pr. BEKADA Ahmed Mohammed Aliet Dr Bechelaghem Nadiales examinateurs de la thèse.

Je remercie aussi les membres de laboratoire de microbiologie et de biologie végétale et les membres de laboratoire de conservation des sols et des eaux à l'université de Mostaganem.

Je tiens également à remercier les membres et le personnel de laboratoire pédagogique de la faculté SNV à l'Université d'Adrar,de laboratoire du centre de recherche des énergies renouvelables unité d'Adrar et du laboratoire de l'INRA d'Adrar.

Mes remerciements profonds à la reine de ma petite famille, ma chère femme, ainsi mes enfants qui ont généreusement donné de leur temps pour m'aider à accomplir ce travail.

Mes sincères gratitudees sont également exprimées a tous ceux qui ont contribué dansce travail et à tous ceux qui m'ont enseigné.

Dédicace

A mes chers parents, ma grand-mère,
mes frères et mes sœurs
A ma chère femme, chers enfants...
A tous mes amis

Résumé

La salinité et les résidus de cuivre dans la rhizosphère affectent les plantes et leurs microorganismes associés. Les *Pseudomonas* rhizosphériques sont parmi les plus importantes rhizobactéries pouvant contribuer à la promotion de la croissance des plantes, même dans des conditions de stress.

Ce travail s'inscrit dans le contexte de l'évaluation et de la valorisation des rôles de quelques *Pseudomonas* rhizosphériques sur la fève (*Vicia faba*) en présence de NaCl et de cuivre. Cette étude consiste en l'isolement et la caractérisation phénotypique et moléculaire de quelques isolats de *Pseudomonas* d'une région saharienne d'Adrar. Ces bactéries ont été inoculées sous stress salin et cuprique pour évaluer leur effet sur deux variétés de fève (*Vicia faba*) pendant la germination des graines et sur des plantations de quatre variétés de fève dans des pots. Une autre expérience de plantation a été réalisée pour évaluer et corrélérer l'effet de la salinité et de l'inoculation par *Pseudomonas* sur quelques paramètres chimiques et biochimiques de la fève.

La caractérisation phénotypique a permis de sélectionner 32 isolats bactériens du groupe *Pseudomonas fluorescents*, dont *P. fluorescens* et *P. putida*. L'identification moléculaire de l'isolat OA47 a permis de le rapprocher de *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071. Les phénazines, la pyocyanine et la pyoverdine ont été extraites à partir de ces isolats, puis caractérisées par différentes méthodes analytiques.

Les résultats du test de germination des graines de fève en présence du cuivre montrent une variation entre les deux variétés étudiées, avec une certaine tolérance au cuivre de la variété Aguadulce. Seul l'isolat OB14 a montré un effet positif sur la germination en présence de cuivre. Le stress salin a affecté la germination des graines des deux variétés de fève, qu'elles soient inoculées ou non, et a réduit le pourcentage ainsi que la vitesse de germination des graines de la variété locale, y compris celles inoculées avec des *Pseudomonas*. En revanche, l'inoculation bactérienne a significativement amélioré la germination des graines de la variété Aguadulce sous conditions de stress salin.

Les isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 de *Pseudomonas* ont montré un effet PGPR sur les variétés testées de fève, avec une performance remarquable de l'isolat OA47. Les résultats de plantation révèlent que la salinité a diminué la production de biomasse et la teneur en eau des quatre variétés de fève. L'inoculation par *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071 a clairement augmenté la biomasse et la teneur en eau dans les plantes stressées par le cuivre et la salinité, ainsi que dans les plantes non stressées.

Il a également été constaté que la réponse des plantes aux concentrations de NaCl et de cuivre a varié d'une variété à l'autre, ainsi que leur réponse à l'effet de l'inoculation par *P.aeruginosa*. Les isolats P1, P7 et P15 ont amélioré la teneur en chlorophylle, la concentration en proline et le ratio K^+/Na^+ sous différentes concentrations de NaCl. La régression linéaire montre que la plus forte corrélation a été enregistrée entre Na^+/K^+ et la proline, tandis qu'une corrélation nulle a été observée entre la chlorophylle et la biomasse.

Mots-clés : *Pseudomonas*, PGPR, Salinité, Cuivre, Stress, *Vicia faba*.

الملخص

تؤثر الملوحة وبقايا النحاس في منطقة الجذور على النباتات والكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بها. تعد *Pseudomonas* الريزوسفير من بين أهم البكتيريا الجذرية التي يمكن أن تساهم في تعزيز نمو النبات، حتى في حالات الاجهاد المختلفة. يأتي هذا العمل في سياق تقييم وتثمين أدوار بعض *Pseudomonas* الريزوسفير على نبات الفول (*Vicia faba*) في وجود كلوريد الصوديوم والنحاس. تتلخص هذه الدراسة في العزل والتحديد المظهري والجزيئي لبعض عزلات بكتيريا *Pseudomonas* من منطقة أدرار الصحراوية. أضيفت هذه البكتيريا تحت الاجهاد الملحي والنحاسي لتقييم تأثيرها على صنفين من الفول أثناء إنبات البذور وعلى أربعة أصناف من الفول المزروعة في أصص. كما أجريت تجربة زراعة أخرى لتقييم وربط تأثير الملوحة وفي وجود بكتيريا *Pseudomonas* على بعض المؤشرات الكيميائية والبيوكيميائية لنبات الفول.

أتاح التوصيف المظهري اختيار 32 عزلة بكتيرية من مجموعة *Pseudomonas* المفلورة، بما في ذلك *P. fluorescens* و *P. putida* ومكن التحديد الجزيئي للعزلة OA47 من تقريبيها بالسلالة *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071. وقد تم استخلاص مركبات البيوفيردين و البيوسيانين و الفينازين من هذه العزلات المختلفة وتم تحديد خصائصها بالطرق التحليلية.

أظهرت نتائج اختبار إنبات بذور الفول في وجود النحاس تباينا بين الصنفين المدروسين، مع بعض التحمل لصنف Aguadulce للنحاس. أعطت العزلة OB14 تأثيراً إيجابياً على الإنبات بوجود النحاس كما أثر الإجهاد الملحي على إنبات بذور الفول وقلل من نسبة وسرعة إنبات بذور الصنف المحلي بما في ذلك تلك المدعمة ببكتيريا *Pseudomonas*. من ناحية أخرى، أدت البكتيريا إلى تحسين ملحوظ في إنبات بذور صنف Aguadulce تحت ظروف الإجهاد الملحي. أظهرت عزلات OA44، OA45، OA47، OB13 و OB14 تأثير PGPR على أصناف الفول المختبرة مع أداء ملحوظ لعزلة OA47. وبينت نتائج الزراعة أن الملوحة أدت إلى انخفاض إنتاج الكتلة الحيوية والمحتوى المائي للأصناف الأربعة من الفول. كما انه من الواضح أن السلالة *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 أدت إلى زيادة الكتلة الحيوية ومحتوى الماء في النباتات المجهدة بالنحاس والملوحة وكذلك في النباتات غير المجهدو أن استجابة النباتات لتراكيز كلوريد الصوديوم والنحاس تختلف من صنف إلى آخر، وكذلك استجابة النباتات لتأثير *P. aeruginosa*. حسنت العزلات P1 و P7 و P15 من محتوى الكلوروفيل والبرولين ونسبة K^+/Na^+ تحت تراكيز NaCl. يظهر الانحدار الخطي أن أعلى قيمة ارتباط تم تسجيلها بين K^+/Na^+ والبرولين وعدم وجود ارتباط بين الكلوروفيل والكتلة الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas* ، PGPR ، الملوحة، النحاس، الإجهاد، *Vicia faba*.

Abstract

Salinity and copper residues in the rhizosphere affect plants and their associated microorganisms. Rhizospheric *Pseudomonas* are among the most important rhizobacteria that can help promote plant growth, even under stressful conditions.

The aim of this work was to evaluate and enhance the roles of some rhizospheric *Pseudomonas* in faba bean (*Vicia faba*) cultivation in the presence of NaCl and copper. In this study, some *Pseudomonas* isolates from a Saharan region of Adrar were isolated and characterized phenotypically and molecularly. These bacteria were inoculated under salt and copper stress to evaluate their effect on two varieties of faba bean (*Vicia faba*) during seed germination and on potted plants of four faba bean varieties. Another planting experiment was carried out to evaluate and correlate the effect of salinity and *Pseudomonas* inoculation on various chemical and biochemical parameters of faba beans.

Phenotypic characterization led to the selection of 32 fluorescent bacterial isolates from the *Pseudomonas* group, including *P. fluorescens* and *P. putida*. Molecular identification of isolate OA47 linked it to *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071.

The phenazines, pyocyanin, and pyoverdines were extracted from these isolates, then characterized using various analytical methods.

The results of the germination test of faba bean seeds in the presence of copper show a variation between the two studied varieties, with a certain tolerance to copper in the Aguadulce variety. Only isolate OB14 showed a positive effect on germination in the presence of copper.

Salt stress affected the seed germination of both inoculated and non-inoculated faba bean varieties and reduced the germination percentage and **rate** of seeds of the local variety, including those inoculated with *Pseudomonas*. On the other hand, bacterial inoculation significantly improved the seed germination of the Aguadulce variety under salt stress conditions.

The *Pseudomonas* isolates OA44, OA45, OA47, OB13, and OB14 showed a PGPR effect on the tested faba bean varieties, with isolate OA47 exhibiting remarkable performance.

Planting results reveal that salinity decreased biomass production and water content in the four faba bean varieties. Inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071 clearly increased biomass and water content in copper-stressed and salinity-stressed plants, as well as in non-stressed plants.

It was also found that the response of plants to NaCl and copper concentrations varied among varieties, as did their response to inoculation with *P. aeruginosa*.

Isolates P1, P7, and P15 improved chlorophyll content, proline levels, and the K⁺/Na⁺ ratio under different NaCl concentrations.

Linear regression showed that the highest correlation value was recorded between Na⁺/K⁺ and proline, while no correlation was found between chlorophyll content and biomass.

Key words: *Pseudomonas*, PGPR, Salinity, Copper, Stress, *Vicia faba*.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABA	Acide abscissique
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylate
ACTA	Association de Coordination Technique Agricole (France)
AG	Acide gibberellique
AIA	Acide d'indole-3-acétique
ATFCC	Australian Transport Freight Commodity Classification
CE	Commission Européenne (Règlement)
CEC	Capacité d'Echange Cationique
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas ESPAGNE
Eau milli-Q	Eau purifiée (par un système de filtres/résines/membranes)
EDS	Eau Distillée Stérile
EPS	Exopolysaccharides
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAOSTAT	Base de données statistiques de la FAO
HCN	Cyanure d'hydrogène
ICA	International Copper Association
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
INRAE	Institut national de recherche pour l'agriculture France
ISR	Induction de système de la résistance.
McF	McFarland
OIV- ONIVINS	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
PCA	Acide -1-carboxylique de phénazine
PCN	Phénazine-1-carboxamide
PGPR	Plant growth Promoting Rhizobacteria en anglais, ou les bactéries favorisant la croissance des plantes.
Phl	2,4-diacétyl phloroglucinol
QS	Quorum sensing ou signaux entre la communauté bactérienne
ROS	Reactive Oxygen Species (Espèces Réactives de l'Oxygène)

Liste des tableaux :

Tableau 1: Caractéristiques morphologique et biochimiques des isolats de <i>Pseudomonas fluorescents</i> . _	89
Tableau 2: zone d'inhibition des isolats de <i>Pseudomonas</i> vis-à-vis des souches antagonistes. _____	89
Tableau 3: Croissance des isolats de <i>Pseudomonas</i> (en DO) sous stress salin et au cuivre _____	100
Tableau 4: Effet de salinité sur la production d'AIA par les isolats. _____	101
Tableau 5: Effet de cuivre sur la production d'AIA. _____	101
Tableau 6: Valeurs d'efficacité de solubilisation des isolats. _____	105
Tableau 7: Effet inhibiteur des extraits de pyoverdine des isolats. _____	105
Tableau 8:Caractéristiques des souches _____	118
Tableau 9 : Croissance des isolats de <i>Pseudomonas</i> dans des concentrations de NaCl. _____	118
Tableau 10: Synthèse des résultats de germination de la fève (<i>V. Aquadulce</i>) sous stress salin. _____	122
Tableau 11 : Synthèse des résultats de germination de la fève (<i>V. locale</i>) sous stress salin. _____	123
Tableau 12: Caractérisation des souches bactériennes isolées ; (-) pas de production ou de croissance, (+) faible production ou croissance, (++) production ou croissance abondante. _____	135
Tableau 13: L'effet de salinité et d'inoculation par des souches de <i>Pseudomonas</i> (P1, P7 et P15) sur le poids frais, la teneur en proline, la teneur en chlorophylle et le rapport K^+/Na^+ de <i>Vicia faba</i> . Le traitement SP : non inoculé. Les résultats sont présentés comme la moyenne \pm écart type ; les lettres minuscules désignent des groupes homogènes. _____	139
Tableau 14:Matrice de corrélation de Pearson entre les paramètres mesurées. _____	140

Liste des Figures :

Figure 1: Chaîne de production et d'extraction de pyocyanine. _____	76
Figure 2 :Photo des graines de la fève, variété locale (Noir) et variété d'Aquadulce (rose) _____	82
Figure 3: préparation des graines pour la germination _____	83
Figure 4 Photo de quatre variétés des graines utilisées en expérimentation _____	84
Figure 5: Prégermination des graines des quatre variétés de la fève. _____	85
Figure 6: Dispositif de plantation. _____	86
Figure 7: Expérimentation de plantation de la fève (Variété Otono) sous l'effet de salinité et d'inoculation par <i>Pseudomonas</i> . _____	87
Figure 8: Test de recherché de l'oxydase _____	89
Figure 9: Test d'antagonisme des isolats de <i>Pseudomonas</i> _____	90
Figure 10: Extraits de pyoverdine des isolats _____	91
Figure 11 Extraits de pyocyanine d'isolat OA47 _____	91
Figure 12: Extraits de phénazine des isolats. _____	91
Figure 13: Spectres d'analyse UV-Visibles des pyoverdines des isolats OA44, OA45, OA47 et OA14 _____	92
Figure 14 : Spectre UV-Vis des extraits des métabolites secondaires, A : UV ; B Vis. _____	93
Figure 15 : Parcours de test CCM des métabolites des isolats, a) métabolites d'OA47 ; b) extraits de pyoverdines des isolats OA44, OA45, OA47 et OB14 _____	94
Figure 16: Les spectres d'absorbance infra-rouges des extraits de pyoverdine des isolats OA44 (A), OA45 (B), OA47(C) et OB14 (D). _____	95
Figure 17: Spectre d'absorbance de métabolites produits par isolat OA47 analysées par photomètre infra-rouge (FT-IR). _____	96
Figure 18: Spectre d'analyse RMN de Pyoverdine produite par l'isolat OA47 _____	98
Figure 19: Spectre d'analyse RMN de Pyocyanine produite par l'isolat OA47 _____	99
Figure 20: Effet de la salinité (NaCl) sur la croissance des <i>Pseudomonas</i> _____	99
Figure 21: Effet de cuivre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) sur la croissance des isolats _____	100
Figure 22 : Effet de salinité (A) et du cuivre (B) sur la synthèse d'AIA. _____	101

Figure 23: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 25 C°.	102
Figure 24: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 30 C°.	102
Figure 25: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 39 C°.	103
Figure 26 : Effet combiné de pH, température et concentration de tryptophane sur la synthèse d'AIA.	103
Figure 27: Test de production de l'HCN (a) et de solubilisation de phosphate (b) chez <i>Pseudomonas</i>	105
Figure 28 : Les zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne	106
Figure 29: Activité antibactérienne des métabolites d'isolat OA47	106
Figure 30: Résultats d'électrophorèse d'AND OA47 amplifié	108
Figure 31: Séquences d'ADN d'isolat OA47, séq.1 : Avant/F- séq.2 : Arrière/R.	108
Figure 32: Visualisation et scan des séquences par Sequ scanner	109
Figure 33 : Suppression de portion à faible qualité des séquences F/R par Open Vector Editor	109
Figure 34: Séquence intégrale d'ADNr 16S produite de séquençage.	110
Figure 35: Arbre phylogénétique de la souche OA47	110
Figure 36: Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le temps de germination T50.	111
Figure 37 : Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le pourcentage de germination TG.	112
Figure 38: Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur la longueur d'embryon LE.	112
Figure 39 : Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le rendement de germination (Indice de Vigeur).	113
Figure 40: Effet d'inoculation et du cuivre sur la vitesse de germination	114
Figure 41 : Absorbances de culture de test de résistance à la salinité des souches : P1 : SHA21 ;P2 :PSB3 ; P3 :PSB58 ;P4 :PSB16 ;P5 :PSB66.	118
Figure 42: Effet combiné de salinité et d'inoculation sur le taux de germination de deux variétés de <i>Vicia faba</i> , variété locale et <i>Aguadulce</i> .	119
Figure 43: Effet combiné de salinité et d'inoculation sur la vitesse de germination de deux variétés de <i>Vicia faba</i> , variété locale et <i>Aguadulce</i> .	120
Figure 44 : Efficacité du taux de germination des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.	121
Figure 45 : Efficacité de la vitesse de germination des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.	122
Figure 46: Efficacité du temps de germination (T50) des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.	123
Figure 47: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur le Poids frais de la partie aérienne de la fève	126
Figure 48: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur le Poids frais de la partie racinaire de la fève	127
Figure49: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur le Poids sec de la partie aérienne de la fève	127
Figure 50: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur le poids sec de la partie racinaire de la fève	128
Figure 51: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur la longueur de la partie aerienne de la fève	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Figure 52: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur la longueur de la partie racinaire de la fève	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Figure53: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inoculation P.a. sur le Diamètre de tige de la fève	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.
Figure 54: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inoculation P.a. sur la teneur en eau dans la partie aérienne de la fève	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.

Figure 55: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur la teneur en eau dans la partie racinaire de la fève	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 56: Effet de salinité et d'inoculation des souches de Pseudomonas (P1, P7, P15) sur le poids frais des plantes <i>Vicia faba</i> .		136
Figure 57: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne des souches de Pseudomonas (P1, P7 et P15) sur la teneur en chlorophylle totale dans la plante <i>Vicia faba</i> . (SP : non inoculé).		137
Figure 58: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne des souches de Pseudomonas (P1, P7 et P15) sur la teneur en proline dans la plante <i>Vicia faba</i> . (SP : non inoculé).		138
Figure 59: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne avec les souches de Pseudomonas (P1, P7 et P15) sur le rapport K^+/Na^+ des plantes <i>Vicia faba</i> . (Le traitement SP :non inoculé).		139
Figure 60: Droites de régression de paramètres mesurées.		140

Table des matières

Remerciements.....	A
Dédicace.....	B
Résumé	C
المُلخَص	D
Abstract	E
LISTE DES ABREVIATIONS.....	F
Liste des tableaux :.....	G
Liste des Figures :	G
Table des matières	J
<i>Introduction générale</i>	1
Partie I : Synthèse bibliographique	4
Chapitre 1 : Les <i>Pseudomonas</i> : Dévoiler les mécanismes de promotion de la croissance et de biocontrôle des plantes.....	5
<i>Introduction</i>	6
1. <i>Importance des PGPR dans l'agriculture durable</i>	6
2. <i>Comprendre Pseudomonas comme PGPR</i>	7
2.1. <i>Taxonomie et diversité de Pseudomonas spp.</i>	7
2.2. <i>Interactions Pseudomonas et plantes</i>	8
2.2.1. <i>Colonisation de la rhizosphère : adhésion et formation de biofilms</i>	8
2.2.2. <i>Quorum sensing en interaction</i>	8
3. <i>Mécanismes de promotion de la croissance des plantes par Pseudomonas</i>	8
3.1. <i>Absorption des nutriments dans les plantes</i>	10
3.2. <i>Dans la santé des plantes et la suppression des maladies</i>	10
3.3. <i>Induction de système de Résistance (ISR)</i>	10
4. <i>Rôle de Pseudomonas dans l'amélioration de la croissance et la santé des plantes.</i>	11
4.1. <i>Amélioration de l'absorption des nutriments et de la tolérance au stress</i>	11

4.1.1.	<i>Facilitation de l'acquisition des nutriments</i>	11
4.1.2.	<i>Réduction du stress abiotique : salinité et métaux lourds</i>	12
4.1.2.1.	<i>Stress salin</i>	13
4.1.2.2.	<i>Métaux lourds</i>	14
4.2.	<i>Lutte biologique et suppression des maladies</i>	15
4.2.1.	<i>Antagonisme contre les phytopathogènes</i>	15
4.2.2.	<i>Concurrence pour les nutriments et les niches racinaires</i>	15
4.2.3.	<i>Biosynthèse des antibiotiques</i>	16
4.2.4.	<i>Production de sidérophores</i>	16
4.2.5.	<i>Production HCN</i>	17
4.2.6.	<i>Induction de système de Resistance</i>	17
4.3.	<i>Bioregulation de croissance : stimulation et inhibition</i>	18
4.3.1.	<i>Auxines</i>	18
4.3.2.	<i>Cytokinine</i>	19
4.3.3.	<i>Gibbérellines</i>	20
4.3.4.	<i>Abscissine</i>	20
4.3.5.	<i>Éthylène</i>	20
4.4.	<i>Biofertilisation</i>	21
4.4.1.	<i>Solubilisation du phosphore</i>	21
4.4.2.	<i>Solubilisation du potassium</i>	22
4.4.3.	<i>Solubilisation du Zinc</i>	22
4.4.4.	<i>Assimilation du fer par les sidérophores</i>	22
4.4.5.	<i>Fixation biologique de l'azote</i>	23
5.	<i>Actualités et perspectives d'avenir</i>	23
5.1.	<i>Commercialisation et potentiel biotechnologique</i>	23
5.2.	<i>Défis et contraintes</i>	25
5.3.	<i>Enjeux émergents et orientations futures</i>	25
	<i>Chapitre II :Vicia faba: Un modèle précieux pour la recherche sur le stress abiotique et l'adaptation des plantes</i>	27
1.	<i>Introduction</i>	28

2. Diversité génétique et études de germoplasme :.....	29
2.1. Recherche sur la diversité génétique de <i>Vicia faba</i>	30
2.2. Bref Origine, distribution et Taxonomie de la fève.	30
2.3. Diversité génétique pour le développement de nouvelles variétés.....	31
2.4. Analyse de la diversité par génotypage	31
3. Documentation	32
4. Recherche sur le stress abiotique	33
5. Réponses au stress abiotique sur <i>Vicia faba</i>.	33
5.1. Variation des traits et adaptation aux conditions abiotiques.....	35
5.2. Symbiose sous stress abiotique.....	37
6. Propriétés nutritionnelles.....	38
6. Propriétés antioxydantes.....	39
Chapitre III :Plante et stress salin : Réponses et mécanismes de tolérance.....	41
1. Introduction	42
2. Les effets du stress salin	43
2.1. Sur la germination :	43
2.2. Sur la production biomasse	44
2.3. Sur l'inhibition de la croissance des racines.	44
2.4. Intensité photosynthétique.	46
2.5. Sur l'activité anti-oxydante	47
2.5.1. Récupération des espèces réactives de l'oxygène (ROS).	48
2.5.2. Polyphénols	48
2.5.3. Flavonoïdes.....	49
2.6. Sur le bilan nutritif	49
2.7. Sur le contenu en eau.....	50
2.8. Sur la structure membranaire	51
3. Mécanismes de tolérance au sel.	51
3.1. Tolérance au sel médiée par les phytohormones	51
3.2. Rôle de la vacuole	53
3.3. Inclusion du sel par rapport à l'exclusion.....	53
3.4. Ajustement osmotique	54
3.4.1. Substances organiques	54
3.4.2. Ions inorganiques	56

Chapitre IV :Stress au cuivre: Revue des réponses en plantes et mécanismes de tolérance .57	
1. Introduction:.....	58
2. Présence de Cu dans l'environnement.....	59
3. Effet des microbes du sol sur la biodisponibilité et la spéciation du cuivre	60
4. Effet du stress au cuivre chez les plantes.	62
4.1. Sur les Paramètresmorphologiques.....	62
Sur la paroi cellulaire.....	4.2.
63.....	
4.3. Absorption des nutriments	63
4.4. Sur la croissance des plantes.....	64
4.5. Sur l’Inhibition de la photosynthèse.....	65
5. Mécanismes de d’adaptation et de tolérance du cuivre dans les plantes.....	66
5.1. Transduction du signal de stress par les phytohormones.....	66
5.2. Les exsudats racinaires	68
5.3. Changements ultra-structuraux dans les plantes.....	69
5.4. Implication de la Proline : Libération et métabolisme	69
5.5. Composés phénoliques.....	71
Partie expérimentale	72
CHAPITRE I : Matériel et Méthodes	73
1. Echantillonnage	74
2. Isolement et purification des Pseudomonas	74
3. Caractérisation des isolats.....	74
3.1. Test d’antagonisme.....	74
3.2. Production et caractérisationdes métabolites secondaires.....	75
3.2.1. Production et extraction de pyoverdine	75
3.2.2. Production et extraction de la pyocyanine	75
3.2.3. Production et quantification de phénazine.....	75
3.3. Caractérisation et identification des métabolites secondaires.	76
3.3.1. Par spectrophotomètre UV-Visible :	76
3.3.2. Par chromatographie sur couche mince (CCM).	76
3.3.3. Par Spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier FTIR.....	76

3.3.4.	<i>Analyse RMN des protons des métabolites purifiés.</i>	77
3.4.	<i>Activité antimicrobienne</i>	77
3.4.1.	<i>Effet antimicrobien des extraits de pyoverdines purifiés</i>	77
3.4.2.	<i>Effet antibactérien de pyocyanine et des phénazine extraites de l'isolat OA47.</i>	77
3.5.	<i>Examen de résistance à la salinité :</i>	78
3.6.	<i>Examen de résistance au cuivre :</i>	78
3.7.	<i>Production de l'AIA.</i>	78
3.7.1.	<i>Effet de salinité et de cuivre sur la production de l'AIA dans des milieux liquides :</i>	78
3.7.2.	<i>Effet de tryptophane, du pH et la température sur la production de l'AIA</i>	79
3.8.	<i>Production de l'acide cyanhydrique HCN</i>	79
3.9.	<i>Solubilisation de phosphate:</i>	79
4.	<i>Identification moléculaire de l'isolat OA47.</i>	79
4.1.	<i>Extraction d'ADN :</i>	79
4.2.	<i>Amplification :</i>	80
4.3.	<i>Séquençage :</i>	80
4.4.	<i>Analyses des données de séquençage :</i>	80
1.	<i>Experimentation de germination de Vicia fabasous stress au cuivre.</i>	80
1.1.	<i>Sélection des isolats</i>	81
1.2.	<i>Préparation des inocula</i>	81
1.3.	<i>Préparation du matériel végétal</i>	81
1.4.	<i>Dispositif expérimental</i>	81
	<i>Analyse statistique</i>	81
2.	<i>Effet de salinité et d'inoculation avec des isolats de Pseudomonas sur la germination de la fève Vicia faba</i>	82
2.1.	<i>Description des graines</i>	82
2.2.	<i>Préparation de l'inoculum bactérien</i>	82
2.3.	<i>Préparation des solutions salines d'imbibition</i>	82
2.4.	<i>Préparation de graines</i>	82
2.5.	<i>Dispositif d'Expérimentation de germination</i>	83

1. Effet de la salinité et du cuivre sur le paramètre morphologique de la fève <i>Vicia faba</i> en présence d'une souche de <i>Pseudomonas</i>	84
1.1. <i>Matériel végétal</i>	84
1.2. <i>Matériel bactérien</i> :	84
1.3. <i>Support de plantation</i>	84
1.4. <i>Méthodes de l'expérimentation</i>	84
1.4.1. <i>Préparation des graines</i>	84
1.4.2. <i>Préparation du support de plantation</i>	85
1.4.3. <i>Préparation d'inoculum</i>	85
1.5. <i>Préparation des traitements de stress pour l'irrigation</i> :	85
1.5. <i>Dispositif expérimental</i> :	85
2. Effet de salinité et d'inoculation par <i>Pseudomonas</i> sur les paramètres chimiques et biochimiques de la fève	86
2.1. <i>Échantillonnage de sol</i>	86
2.2. <i>Isolement et identification des isolats de <i>Pseudomonas</i></i>	86
2.3. <i>Sélection des isolats performants</i>	86
2.4. <i>Dispositif d'expérience de plantation</i>	87
Chapitre II : Résultats et Discussion.....	88
1. <i>Isolement et purification</i>	89
2. <i>Caractérisation des isolats fluorescents</i>	89
2.1. <i>Test d'antagonisme des isolats de <i>Pseudomonas</i></i>	89
2.2. <i>Production des métabolites secondaires</i>	90
2.2.1. <i>Production, Extraction et quantification de la pyoverdine</i>	90
2.2.2. <i>Production, extraction et purification de la pyocyanine</i>	91
2.2.3. <i>Production et extraction des phénazines</i>	91
2.3. <i>Caractérisation et identification des métabolites secondaires</i>	91
2.3.1. <i>Par spectrophotomètre UV-Visible</i>	91
2.3.2. <i>Par chromatographie sur couche mince CCM</i>	94
2.3.3. <i>Par photomètre infra-rouge FTIR</i>	94
2.3.4. <i>Par résonance magnétique nucléaire RMN</i>	97

2.4.	<i>Examen de résistance à la salinité et au cuivre :</i>	99
2.5.	<i>Production d'AIA.</i>	100
2.5.1.	<i>Effet de salinité et de cuivre sur la production d'AIA dans des milieux liquides :</i>	100
2.5.2.	<i>Effet des conditions de culture sur la production d'AIA :</i>	102
2.6.	<i>Production de l'acide cyanhydrique HCN.</i>	104
2.7.	<i>Solubilisation de phosphate :</i>	105
2.8.	<i>Activité antimicrobienne des métabolites.</i>	105
2.8.1.	<i>Effet antimicrobien d'extrait de pyoverdines des isolats :</i>	105
2.8.2.	<i>Effet antimicrobien d'extrait de métabolites d'isolat OA47 :</i>	106
3.	<i>Identification moléculaire de l'isolat OA47.</i>	107
3.1.	<i>Purification par électrophorèse sur gel d'agarose et l'extraction au gel.</i>	107
3.2.	<i>Séquençage :</i>	108
3.3.	<i>Analyse de données produites de séquences.</i>	108
3.4.	<i>Recherche dans la base des données NCBI (BLAST)</i>	110
1.	<i>Effet de cuivre et d'inoculation bactérienne sur le temps moyen de germination :</i>	111
1.1.	<i>Résultats.</i>	111
	<i>Sélection des isolats.</i>	111
1.1.1.	<i>Temps moyen à 50 % de germination (T50).</i>	111
1.1.2.	<i>Pourcentage de germination :</i>	111
1.1.3.	<i>Longueur de la racine (LR)</i>	112
1.1.4.	<i>Rendement de germination :</i>	113
1.1.5.	<i>Vitesse de germination :</i>	114
1.2.	<i>Discussion :</i>	114
1.3.	<i>Conclusion</i>	117
2.	<i>Effet de salinité et d'inoculation bactérienne sur la germination des graines de la fève Vicia faba</i>	118
2.1.	<i>Résultats.</i>	118
2.1.1.	<i>Identification et Caractérisation des souches d'inoculum.</i>	118

2.1.2.	<i>Sélection des souches pour l'inoculation.</i>	118
	<i>Les souches : P1 : SHA21 ; P2 : PSB3 ; P3 : PSB58 ; P4 : PSB16 ; P5 : PSB66</i>	118
	<i>*= Absorbance de la suspension bactérienne</i>	118
2.1.3.	<i>Effet combiné de la salinité et de l'inoculation sur la germination des graines de la fève.</i>	119
2.1.3.1.	<i>Taux de germination (TG) :</i>	119
2.1.3.2.	<i>Vitesse de germination (VG) :</i>	119
2.1.3.3.	<i>Temps moyen de germination (T50) :</i>	120
2.1.3.4.	<i>Efficacité du Rendement</i>	121
2.2.	<i>Discussion</i>	123
2.3.	<i>Conclusion</i>	125
III.	<i>Effet de l'inoculation par Pseudomonas sur la promotion de la croissance de Vicia faba, sous stress salin et au cuprique.</i>	126
1.	<i>Effet de salinité et de cuivre sur les paramètres morphologiques de la fève inoculée par Pseudomonas aeruginosa.</i>	126
.1.1	<i>Résultats.</i>	126
1.1.1.	<i>Poids frais de la partie aérienne et racinaire.</i>	126
1.1.2.	<i>Poids sec de la partie aérienne et racinaire</i>	127
1.1.3.	<i>Sur la longueur de la partie aérienne et racinaire.</i>	128
1.1.4.	<i>Sur le diamètre de tige :</i>	129
1.1.5.	<i>Sur la teneur en eau dans la partie aérienne et racinaire :</i>	130
1.2.	<i>Discussion :</i>	131
1.3.	<i>Conclusion :</i>	134
2.	<i>Effet de salinité et d'inoculation par Pseudomonas sur les paramètres chimiques et biochimiques</i>	135
2.1.	<i>Résultats</i>	135
2.1.1.	<i>Isolement, sélection et identification des souches de Pseudomonas spp.</i>	135
2.1.2.	<i>Effet combiné de salinité et d'inoculation par Pseudomonas sur la croissance de la fève.</i>	135
2.1.2.1.	<i>Poids frais.</i>	135

2.1.2.2.	<i>Teneur totale en chlorophylle (a + b)</i>	136
2.1.2.3.	<i>Teneur en proline dans la partie aérienne</i>	137
2.1.2.4.	<i>Rapport K⁺/Na⁺</i>	138
2.1.3.	<i>Analyse de corrélation entre les paramètres mesurées</i>	139
2.2.	<i>Discussion</i>	141
2.3.	<i>Conclusion</i>	145
	<i>Annexe I: Préparation et composition des solutions et milieux de culture</i>	206
1.	<i>Composition de la solution</i>	207
6.	<i>Annexe II : Courbe d'étalonnage des solutions AIA</i>	207
	<i>Annexe III: Tableaux des analyses statistiques (ANOVA)</i>	208

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Sept pourcent (7%) de la superficie mondiale (930 millions d'hectares) sont affectés par la salinité (Munns, 2002). Ce phénomène réduit la superficie des terres exploitables de 1% à 2% par an (FAO, 2002). Dans les régions arides et semi-arides, le manque d'eau et les climats chauds et secs causent fréquemment des problèmes de salinité (Jamil *et al.*, 2005). C'est l'un des facteurs les plus graves limitant la production des cultures en gênant la germination des graines et affectant négativement la croissance et le développement des plantes, en particulier les plus sensibles (Zadeh et Naeini, 2007; Dash et Panda, 2001). La germination des graines est généralement l'étape la plus critique et la plus cruciale pour la survie des plantes en milieu salin ou alcalin (Debez *et al.*, 2001; Qu *et al.*, 2008). La salinité diminue l'absorption des nutriments par les plantes, en particulier l'absorption de phosphate (Grattan et Grieve, 1998). Le stress osmotique peut également être induit en limitant l'absorption d'eau dans le sol, et le stress ionique résultant de fortes concentrations d'ions potentiellement toxiques dans les cellules végétales (Kohler *et al.*, 2009). Ce stress affecte plusieurs processus biochimiques et métaboliques dans les plantes, y compris la synthèse des protéines, la photosynthèse et le métabolisme des lipides, ce qui entraîne une réduction de la croissance et des rendements (Idder *et al.*, 2019; Parida et Das, 2005). L'accumulation d'ions, comme le chlorure de sodium, peut altérer de nombreuses activités physiologiques (Lee *et al.*, 2011), diminuer la productivité et provoquer la mort des plantes (Munnset Tester, 2008). Le stress salin peut affecter la germination, par la variation de l'équilibre hormonal (Debez *et al.*, 2001). Par effet osmotique qui affecte le seuil d'hydratation, nécessaire pour déclencher le processus de germination, et perturbe les enzymes impliquées dans la physiologie de la germination des graines (Rejili *et al.*, 2006). Les effets défavorables de la salinité sur la germination des graines comprennent: (1) la diminution des quantités de produits améliorant la germination des graines, y compris les gibberellines, (2) l'augmentation des quantités d'ABA, et (3) la modification de la perméabilité des membranes et du comportement de l'eau dans les graines (Khan et Ungar, 2002; Zhang *et al.*, 2018).

L'utilisation intensive des pesticides entraîne progressivement l'accumulation de résidus chimiques dans les sols, atteignant des doses toxiques pour les plantes et l'environnement. Cette pratique est largement influencée par la demande incessante de production et de commercialisation agricoles. Par exemple, le cuivre est un métal phytotoxique utilisé comme fongicide et bactéricide, capable d'altérer la structure, la respiration et d'autres processus microbiens (Ranjard *et al.*, 2006; Sauvé *et al.*, 1997). Les sels de cuivre, comme la bouillie bordelaise, utilisé pour lutter contre le mildiou, est à l'origine de l'accumulation de ce métal dans les sols (Oiv-onivins, 1990). En viticulture traditionnelle, la vigne est soumise de quatre à cinq traitements avec 10 à 12 kg de bouillie, équivalant de 50 à 60 kg de sel cristallisé, soit environ 14 kg par hectare par an. Alors que la réglementation en agriculture biologique autorise au maximum 6 kg de cuivre par hectare et par an (CE, 2008).

Le cuivre s'accumule dans les racines, en particulier dans l'apoplasme, et sa phytotoxicité affecte principalement la croissance et la morphologie du système racinaire (Millaleo *et al.*, 2010; Rout et Das, 2009). La réduction de l'élongation racinaire due à la rhizotoxicité du cuivre entraîne une diminution significative de la capacité de la plante à absorber l'eau et les

nutriments, similaire à ce qui se produit avec la rhizotoxicité aluminique dans les sols acides (Kopittke et Blamey, 2016; Marschner, 1991; Michaud *et al.*, 2008).

Face à ces risques de phytotoxicité liés à la salinité et aux métaux lourds de nombreuses recherches ont exploré diverses stratégies, notamment l'utilisation de bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR ou PGPB). Les PGPR ne se contentent pas seulement de stimuler la croissance et le rendement des plantes, mais ils peuvent également atténuer les effets du stress biotique ou abiotique (Lugtenberg et Kamilova, 2009). Ils sont également capables de favoriser la croissance des plantes et la biomasse aérienne, même en présence de concentrations toxiques de sels et de métaux (Rajkumar et Freitas, 2008; Wani *et al.*, 2007), et de faciliter la croissance des plantes dans des sols salins (Kohler *et al.*, 2009; Mayak *et al.*, 2004).

L'augmentation des rendements agricoles attribuée aux PGPR est principalement due à leur capacité à produire des phytohormones de croissance et à solubiliser le phosphate (Kohler *et al.*, 2008). Plusieurs études ont rapporté les effets bénéfiques des interactions entre les plantes et les PGPR en utilisant diverses souches bactériennes bio-inoculantes, telles que *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, et plusieurs souches de *Bacillus* (Berg et Zachow, 2011; Zahir *et al.*, 2008). Par exemple, l'inoculation avec *Pseudomonas putida* Rs198 peut stimuler la croissance et la germination des graines du coton dans des conditions de stress salin (Yao *et al.*, 2010). Les souches *P.trivialis* 3Re27 et *P.extremorientalis* TSAU20 ont une excellente capacité de colonisation racinaire et favorisent la croissance des plantes. Ils montrent également un antagonisme vis-à-vis des pathogènes fongiques des plantes, une tolérance à la salinité et une capacité à atténuer le stress salin des pois, du soja, du blé, du concombre et de la tomate (Berg *et al.*, 2005; Egamberdieva *et al.*, 2011, 2016). Plusieurs études ont indiqué que les micro-organismes PGPR peuvent améliorer le taux de germination des graines (Gholami *et al.*, 2009; Nezarat et Gholami, 2009; Sengupta *et al.*, 2015) et améliorer leurs paramètres physiologiques et leur tolérance au stress abiotique tel que celui induit par le cuivre (Idder *et al.*, 2018).. De nombreux chercheurs ont étudié les effets essentiels du PGPR sur la germination et la croissance des semis (Egamberdiyeva, 2007; Gutiérrez-Mañero *et al.*, 2001; Rodelas *et al.*, 1999; Sturz *et al.*, 2000). Les PGPR pourraient favoriser la croissance des plantes par divers mécanismes, notamment la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la production de substances favorisant la croissance des plantes (PGP) telles que l'acide indole-3-acétique (IAA), les sidérophores et le 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) désaminase (Idris *et al.*, 2004; Kumar et Chandra, 2008). Vessey (2003) et Ashrafuzzaman *et al.* (2009) ont signalé le rôle important de l'acide indole-acétique produit par les rhizobactéries dans l'amélioration de la croissance des plantes et dans l'augmentation de la densité et la longueur des poils racinaires et la germination des graines de riz.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'étude des interactions Plante-Rhizobactérie. Notre objectif était d'examiner l'effet des *Pseudomonas* sur la germination et la croissance de la fève et d'étudier le rôle de ces bactéries dans la tolérance de cette plante au stress salin et cuprique.

Ce manuscrit est composé d'une **synthèse bibliographique**, structuré en quatre chapitres :

- Chapitre I : Les *Pseudomonas* : Dévoiler les mécanismes de promotion de la croissance et de biocontrôle des plantes.
- Chapitre II : *Vicia faba*: Un modèle précieux pour la recherche sur le stress abiotique et l'adaptation des plantes.
- Chapitre III : Plante et stress salin : Réponses et mécanismes de tolérance ;
- Chapitre IV : plantes et stress au cuivre : réponses et mécanismes de tolérance.

Une partie « **Matériel et méthodes** » qui résumera les descriptions du matériel et des méthodes utilisées dans l'isolement, l'identification, la sélection et la caractérisation des souches de *Pseudomonas* utilisées, ainsi que les tests de germination et de plantation de la fève ;

Une partie « **résultats et discussion** » qui présentera les résultats obtenus, les interprétations et les discussions

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble des résultats obtenus.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Les *Pseudomonas* :
Dévoiler les mécanismes de promotion
de la croissance et de biocontrôle des
plantes

Introduction

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, exerçant une influence positive sur la vie végétale. Ces bactéries, qui colonisent les racines des plantes ou leur environnement interagissent avec les plantes pour améliorer leur croissance directement ou indirectement, elles sont connues sous le nom de Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Khan *et al.*, 2019). Les PGPR augmentent le rendement chez les plantes en améliorant la croissance de leurs racines et l'accessibilité des micronutriments à ces racines (Viveros *et al.*, 2010). Les *Pseudomonas* spp. sont connus pour leurs divers rôles dans les interactions plantes-microbes, en particulier en tant que rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Chu *et al.*, 2020). Ces bactéries ont une influence positive sur la croissance et le développement des plantes grâce à divers mécanismes, tels que la modulation de l'architecture du système racinaire, l'amélioration de l'absorption des nutriments et l'induction de la résistance aux stress biotiques et abiotiques (Do *et al.*, 2022). Il a été rapporté que les souches de *Pseudomonas* produisent des acides indoleacétiques, connus pour favoriser la croissance des plantes (Zamioudis *et al.*, 2013). De plus, ils contribuent à la motilité et à l'élicitation immunitaire des plantes, soulignant davantage leur impact multiforme sur la santé des plantes (Luo *et al.*, 2023). Les effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. sur les plantes ont été attribués à leur capacité à produire des phytohormones, telles que les auxines, et à solubiliser le phosphate, à fixer l'azote et à produire des sidérophores (Sah *et al.*, 2021). Ces traits permettent à *Pseudomonas* d'améliorer la disponibilité des nutriments pour les plantes et de conférer une tolérance aux stress environnementaux, tels que la salinité et la sécheresse (Yasmin *et al.*, 2017). De plus, il a été constaté que *Pseudomonas* spp. induisait une résistance systémique chez les plantes, les protégeant ainsi de divers agents pathogènes.

Les interactions entre les *Pseudomonas* et les plantes ont été largement étudiées, en mettant l'accent sur leur capacité à favoriser la croissance des plantes et à supprimer les maladies (Preston *et al.*, 2001). Ces interactions sont influencées par la diversité génétique des souches de *Pseudomonas* et leurs effets spécifiques sur différents génotypes végétaux (Zboralski *et al.*, 2022). De plus, l'utilisation de consortiums microbiens multi-espèces, y compris *Pseudomonas*, s'est avérée avoir un impact plus fiable et efficace sur la croissance des plantes par rapport aux inoculants à souche unique (Zhuang *et al.*, 2020). En plus de leur rôle en tant que PGPR, les *Pseudomonas* spp. ont été étudiés pour leur potentiel dans la biorestauration et le biocontrôle des maladies des plantes (Kumar *et al.*, 2021). Leur capacité à produire des métabolites secondaires, tels que les phénazines, a été liée à la suppression des agents pathogènes du sol, mettant en évidence leur potentiel pour des pratiques agricoles durables (St-Onge *et al.*, 2010).

1. Importance des PGPR dans l'agriculture durable

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) jouent un rôle crucial dans l'agriculture durable en améliorant la croissance des plantes, en améliorant l'absorption des nutriments et en atténuant les stress abiotiques (Vejan *et al.*, 2016). L'application des PGPR a été liée à la production végétale durable par l'induction des caractères racinaires souhaités, ce qui permet une utilisation efficace des ressources du sol (Grover *et al.*, 2021). En outre,

l'utilisation de PGPR comme inoculants pour les céréales à haut rendement, telles que le blé, le maïs et le riz, est apparue comme une stratégie prometteuse pour l'intensification durable de l'agriculture (Haskett *et al.*, 2020). Dans le contexte de l'agriculture dans les sols salins, l'inoculation des cultures avec des PGPR halotolérants a été identifiée comme une stratégie viable pour une production végétale durable dans des environnements arides et semi-arides (Etesami et Beattie, 2018). De plus, l'utilisation combinée du silicium et des PGPR a montré un potentiel pour aider les plantes à faire face aux stress abiotiques, offrant une approche prometteuse pour la durabilité agricole (Song *et al.*, 2020). De plus, les PGPR ont été étudiées pour leur rôle dans l'immobilisation du cadmium dans la rhizosphère, présentant une solution durable pour la détoxification cellulaire des plantes (Halim *et al.*, 2020). Les impacts multiformes des PGPR, en particulier de *Pseudomonas* spp., ont été mis en évidence dans la gestion de diverses maladies des plantes et l'amélioration du rendement des cultures, les positionnant comme des acteurs clés de l'agriculture durable (Mehmood, 2023). L'application ciblée de PGPR a été identifiée comme un facteur clé pour l'agriculture durable future, avec le potentiel de réduire l'application des pesticides et de promouvoir la santé des plantes (Kusstatscher *et al.*, 2020). De plus, l'importance des PGPR et de ses applications dans l'agriculture durable a été reconnue, en particulier dans la gestion des écosystèmes, la gestion du stress et la modulation de la morphologie et de la physiologie des plantes respectueuses de l'environnement (Choudhury *et al.*, 2022).

2. Comprendre *Pseudomonas* comme PGPR.

2.1. Taxonomie et diversité de *Pseudomonas* spp.

La taxonomie et la diversité de *Pseudomonas* spp. ont fait l'objet de recherches approfondies en raison de la nature complexe de ce genre bactérien et de ses implications étendues dans divers domaines. Les *Pseudomonas* spp. présentent une diversité génétique et métabolique remarquable, ce qui fait de leur taxonomie un domaine d'étude difficile mais crucial (Höfte, 2021). La classification de *Pseudomonas* spp. a évolué à l'aide de nouvelles technologies permettant une compréhension plus approfondie de leur diversité et de leurs mécanismes de biocontrôle (Mercado-Blanco, 2014). L'utilisation de méthodes moléculaires a contribué à une délimitation plus claire des espèces de *Pseudomonas*, mettant en lumière leur diversité génétique et leurs fonctions écologiques (Gałązka et Grządziel, 2016). La complexité taxonomique de *Pseudomonas* spp. a été un sujet de recherche important, en particulier dans le contexte de leur application à l'agriculture et à la gestion phytosanitaire (Jani *et al.*, 2015). La diversité génétique au sein de *Pseudomonas* spp. a été liée à leur capacité à produire un large éventail de métabolites, contribuant à la santé des plantes et à la suppression des maladies (Pandya et Desai, 2014). En outre, la classification taxonomique des souches de *Pseudomonas* a des implications pour leur application en tant qu'engrais biologiques et agents de biocontrôle dans la production agricole (Zambrano-Mendoza *et al.*, 2021). La délimitation taxonomique de *Pseudomonas* spp. est essentielle pour comprendre leurs diverses fonctions dans la formation de biofilms, la virulence et la résistance aux antimicrobiens (Das, 2021; Galindo-Méndez, 2020; Skalweit, 2018).

Les progrès récents de la taxonomie intégrative ont fourni des informations sur la biodiversité et la biologie de la conservation de *Pseudomonas* spp., permettant une meilleure compréhension de leurs rôles écologiques et de leur répartition (Mazancourt *et al.*, 2021). Le développement taxonomique de *Pseudomonas* spp. a également été influencé par l'utilisation de données empiriques et de techniques moléculaires avancées, contribuant à une classification plus complète de ce groupe bactérien (Oruc *et al.*, 2019).

2.2. Interactions *Pseudomonas* et plantes

2.2.1. Colonisation de la rhizosphère : adhésion et formation de biofilms

La colonisation de la rhizosphère par des micro-organismes bénéfiques, tels que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), est un processus critique qui implique l'adhésion et la formation de biofilms. Ce processus est essentielle à la colonisation de la rhizosphère, car les bactéries vivant dans les biofilms ont une résistance accrue aux stress environnementaux (Yergeau *et al.*, 2013). La formation de biofilms est un facteur clé dans l'établissement réussi de micro-organismes bénéfiques dans la rhizosphère, car elle assure la protection et la stabilité des bactéries dans l'environnement. Cette est liée à la colonisation de la rhizosphère chez diverses espèces bactériennes, telles que *Bacillus amyloliquefaciens* et les espèces de rhizobiums racinaire (Lopes *et al.*, 2016). La colonisation réussie de la rhizosphère par des inoculants bactériens et la nature compatible des co-inoculants sont des facteurs clés dans la performance constante des bioinoculants (Ansari et Ahmad, 2019). En outre, la formation de biofilm est importante dans l'adhésion aux graines et les racines (Tariq et Ahmed, 2023). La corrélation entre la production de biofilm et l'adhésion bactérienne aux surfaces végétales a été démontrée dans diverses études, soulignant l'importance de la formation de biofilm dans les processus de colonisation de la rhizosphère/des racines (Brambilla *et al.*, 2015).

2.2.2. Quorum sensing en interaction

Chez les bactéries, un niveau majeur de régulation génique implique la communication cellule-cellule via la production de petites molécules de signalisation. De nombreuses molécules signal qui ont été identifiées sont impliquées dans une forme de régulation connue sous le nom de quorum sensing (QS), qui permet aux bactéries de surveiller leur densité de population en répondant à la concentration extracellulaire de la molécule signal qu'elles produisent. Ce type de régulation génique est appelé détection de quorum (Fuqua, 2006). La signalisation QS est principalement affectée par la distribution spatiale, la densité cellulaire et le transfert de masse. Le système QS le plus courant est régulé par les molécules de signalisation de lactone N-acyl homosérine (AHL) trouvées principalement dans les bactéries à Gram négatif. Les flagelles et pili de type IV médient la motilité bactérienne sur les surfaces semi-solides chez les *Pseudomonades* (Overhage *et al.*, 2008).

3. Mécanismes de promotion de la croissance des plantes par *Pseudomonas*

Les espèces de *Pseudomonas*, en particulier les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), ont été reconnues pour leur rôle central dans l'amélioration de la croissance et

de la productivité des plantes grâce à divers mécanismes. Ces mécanismes englobent un large éventail d'activités, notamment l'acquisition de nutriments, la production d'hormones, la suppression des maladies et la tolérance au stress. Les impacts à multiples facettes de *Pseudomonas* spp. sur la croissance des plantes ont été largement étudiés, mettant en lumière leurs divers mécanismes d'action. L'un des principaux mécanismes par lesquels *Pseudomonas* spp. favorise la croissance des plantes est la production de substances favorisant la croissance des plantes, telles que l'acide indole-3-acétique (AIA), une phytohormone connue pour stimuler le développement des racines et améliorer l'absorption des nutriments (Gamez *et al.*, 2016). De plus, *Pseudomonas* spp. synthétisait des sidérophores, qui sont des composés chélateurs du fer qui facilitent l'absorption du fer par les plantes, améliorant ainsi leur état nutritionnel et leur croissance globale (Berendsen *et al.*, 2015). De plus, la sécrétion de vitamines et la production de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase, une enzyme qui dégrade l'ACC précurseur de l'éthylène, contribuent à soulager le stress et à améliorer la croissance des plantes (Jiménez *et al.*, 2019)

En plus de l'acquisition des nutriments et de la production d'hormones, *Pseudomonas* spp. exerce ses effets bénéfiques sur les plantes par l'induction de système de la résistance (ISR) et la production de composés antimicrobiens. Ces bactéries peuvent protéger les plantes contre les microbes pathogènes par la compétition pour les nutriments, la production d'antibiotiques et la stimulation du système immunitaire de l'hôte, améliorant ainsi la résistance aux maladies des plantes (Preston, 2004). De plus, la synthèse des hormones végétales stimulant la croissance et la suppression des micro-organismes pathogènes contribuent à la promotion globale de la croissance des plantes par *Pseudomonas* spp (Léger *et al.*, 2021). La capacité de *Pseudomonas* spp. à améliorer la croissance des plantes a également été associée à leur capacité à améliorer l'absorption des nutriments, à stimuler les mécanismes de résistance naturels de la plante et à concurrencer les agents pathogènes, réduisant ainsi les symptômes de la maladie et favorisant la santé globale des plantes (Maroniche *et al.*, 2016). En outre, la manipulation des régulateurs de croissance des plantes et la production de composés bioactifs bénéfiques pour les plantes ont été identifiées comme des mécanismes importants sous-jacents à la promotion de la croissance des plantes par *Pseudomonas* fluorescent (P. Mishra *et al.*, 2013). De plus, il a été constaté que *Pseudomonas* spp. améliorerait la croissance des plantes en favorisant la germination, en augmentant la longueur des pousses et des racines et en améliorant l'absorption des nutriments par les plantes, contribuant ainsi à l'augmentation du rendement et à la santé globale des plantes (Widnyana, 2019). La colonisation de la rhizosphère par *Pseudomonas* spp. accélère la croissance des plantes et protège les plantes contre les agents pathogènes, soulignant le rôle multiforme de ces bactéries dans la promotion de la croissance des plantes.

Les mécanismes de promotion de la croissance des plantes par *Pseudomonas* spp. sont divers et aux multiples facettes, englobant des activités telles que l'acquisition de nutriments, la production d'hormones, la suppression des maladies, la tolérance au stress et l'amélioration des mécanismes de défense des plantes. Les impacts à multiples facettes de *Pseudomonas* spp. sur la croissance des plantes soulignent leur importance dans l'agriculture durable et la productivité des cultures.

3.1. Absorption des nutriments dans les plantes

La capacité de *Pseudomonas* à améliorer l'absorption des nutriments dans les plantes joue un rôle crucial dans l'amélioration de la croissance et de la productivité des plantes. Il a été rapporté que les espèces de *Pseudomonas* améliorent l'absorption des nutriments chez diverses espèces végétales, contribuant ainsi à leur rôle dans l'agriculture durable (Sharma *et al.*, 2011). L'inoculation de *Pseudomonas* aux plantes améliore l'absorption des nutriments, la fertilité de la rhizosphère et la croissance globale des plantes sans nuire à l'environnement et à la santé humaine (Tsegaye *et al.*, 2022). De plus, la capacité de *Pseudomonas* à améliorer l'absorption des nutriments chez les plantes a été associée à la production de sidérophores, à la solubilisation des nutriments indisponibles et à la modulation des niveaux d'éthylène chez les plantes (Sharma *et al.*, 2011).

3.2. Dans la santé des plantes et la suppression des maladies

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la santé des plantes et la suppression des maladies par divers mécanismes. Le PGPR améliore l'absorption des nutriments, favorise la croissance des plantes et améliore la santé des plantes sans causer de contamination environnementale (Vejan *et al.*, 2016). l'application de PGPR augmentait la croissance des plantes, le rendement et l'absorption des nutriments des céréales en améliorant la disponibilité des nutriments essentiels, des hormones de croissance et la production d'enzymes lytiques et de métabolites secondaires qui inhibent les agents pathogènes des plantes (Tsegaye *et al.*, 2022). En outre, PGPR améliorerait l'absorption des nutriments en modifiant le niveau d'hormones végétales, en augmentant la surface racinaire et en améliorant l'acquisition des nutriments, conduisant finalement à une amélioration de la santé et de la productivité des plantes (Mohanty *et al.*, 2021).

Les effets bénéfiques de la PGPR sur l'absorption des nutriments et la photosynthèse chez les plantes ont été démontrés dans diverses études, soulignant le rôle de la PGPR dans la promotion de la santé et de la productivité des plantes (Park *et al.*, 2017). De plus, la PGPR stimule la croissance des plantes soit directement en améliorant l'acquisition des nutriments ou en modulant les niveaux d'hormones végétales, soit indirectement en diminuant les effets inhibiteurs de divers agents pathogènes sur la croissance et le développement des plantes sous forme d'agents de biocontrôle (Tchiaze *et al.*, 2016). De plus, les PGPR affecte positivement la croissance des plantes par le biais de différents mécanismes, tels que la fixation de l'azote, la production de régulateurs de croissance des plantes et l'augmentation de l'absorption de l'eau et des nutriments par les plantes (Zafar *et al.*, 2011).

3.3. Induction de système de Résistance (ISR)

Induction de système de résistance (ISR) est un phénomène dans lequel les plantes présentent une résistance accrue aux agents pathogènes à la suite d'interactions avec des micro-organismes bénéfiques, tels que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR). Cette résistance est activée par un mécanisme d'amorçage, où le système immunitaire de la plante est sensibilisé pour répondre plus efficacement aux attaques pathogènes ultérieures. L'activation de la ISR par la PGPR a été reconnue comme une stratégie de lutte biologique efficace qui

induit la défense des plantes contre un large éventail d'agents pathogènes (Ryu *et al.*, 2005). *Pseudomonas* peut déclencher la ISR chez les plantes par l'activation des voies de signalisation de défense, telles que la signalisation de l'acide jasmonique (JA) et de l'éthylène (ET). La base moléculaire de la ISR induite par *Pseudomonas* implique l'activation des réponses immunitaires des plantes, conduisant à une défense accrue contre une variété d'agents pathogènes et d'insectes herbivores (Rasool *et al.*, 2021). L'activation de l'ISR par *Pseudomonas* amorce l'ensemble du corps végétal pour une défense accrue contre un large éventail d'agents pathogènes et d'insectes herbivores (Rasool *et al.*, 2021).

L'induction de la ISR par *Pseudomonas* est régulée par une voie de signalisation de défense dépendante de l'acide jasmonique et de l'éthylène, ce qui améliore la défense de la plante contre un large éventail d'agents pathogènes et d'insectes herbivores. Cette réponse d'amorçage est déclenchée par la colonisation des racines d'*Arabidopsis thaliana* par *Pseudomonas*, conduisant à une expression accrue des gènes sensibles à la JA induite par les agents pathogènes et les insectes (Ryu *et al.*, 2005).

4. Rôle de *Pseudomonas* dans l'amélioration de la croissance et la santé des plantes.

4.1. Amélioration de l'absorption des nutriments et de la tolérance au stress

4.1.1. Facilitation de l'acquisition des nutriments

Le rôle de *Pseudomonas* dans l'amélioration de l'absorption des nutriments a été davantage soutenu par des études démontrant les effets positifs de l'inoculation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sur la croissance, le rendement et l'absorption des nutriments de diverses cultures, y compris le teff et le riz (Tsegaye *et al.*, 2022). L'application de *Pseudomonas* en tant que bioinoculant améliore l'absorption des nutriments, la croissance et le rendement des cultures, contribuant à l'amélioration de la fertilité de la rhizosphère et des pratiques agricoles durables (Hajiboland *et al.*, 2009). De plus, la production d'acide indole-3-acétique (AIA) par *Pseudomonas* aurait favorisé l'élargissement du système racinaire, améliorant davantage l'absorption des nutriments, la nodulation et la croissance des pousses de légumineuses (Egamberdieva, Jabborova, *et al.*, 2013).

La capacité de *Pseudomonas* à améliorer l'absorption des nutriments a été liée à son potentiel d'améliorer la croissance et la teneur en nutriments des plantes, en particulier dans des conditions de stress (Egamberdieva *et al.*, 2016). L'application combinée de *Pseudomonas* et de rhizobia améliore la croissance et l'absorption des nutriments des plantes, ainsi que les mécanismes de tolérance au stress salin, grâce à une interaction mutualiste avec les microbes (Egamberdieva *et al.*, 2016). De plus, l'utilisation de *Pseudomonas* solubilisant les phosphates a été associée à une augmentation de l'absorption et de la croissance des nutriments des plantes, soulignant davantage le rôle de *Pseudomonas* dans l'amélioration de la disponibilité et de l'absorption des nutriments dans la rhizosphère (Fasusi *et al.*, 2021).

Pseudomonas, un genre bien connu de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), joue un rôle important dans la facilitation de l'acquisition des nutriments végétaux.

l'interaction entre *Pseudomonas* et les plantes contribue à l'absorption des nutriments, le développement de l'architecture du système racinaire et la tolérance au stress oxydatif, contribuant ainsi à améliorer la santé et la croissance des plantes Verma *et al.*(2021). En outre, les effets du biote du sol, y compris *Pseudomonas*, sur la survie et la croissance des plantes sont essentiels au maintien de la diversité végétale et devraient dépendre de caractéristiques telles que la stratégie d'acquisition des nutriments végétaux (Teste *et al.*, 2017). Les *Pseudomonas* spp. peuvent engendrer le développement racinaire chez les plantes, ce qui améliore l'acquisition des nutriments et le développement du système racinaire (Zamioudis *et al.*, 2013). La sécrétion d'enzymes extracellulaires, telles que les protéases, les lipases et les phosphatases, par *Pseudomonas* est susceptible de faciliter l'acquisition de nutriments chez les plantes (Berendsen *et al.*, 2015). De plus, la facilitation de l'acquisition des nutriments par les plantes en grappe implique une exsudation des carboxylates, ce qui rend plus de phosphore disponible à la fois pour elles-mêmes et pour leurs voisins mycorhiziens (Lambers *et al.*, 2017). Le rôle de *Pseudomonas* dans l'acquisition des nutriments est également soutenu par sa capacité à améliorer l'assimilation des nutriments et la croissance des plantes grâce à diverses interactions microbiennes dans la rhizosphère. Les communautés de *Pseudomonas* sont en corrélation positive avec l'assimilation des nutriments dans les tissus végétaux, ce qui indique leur rôle dans la facilitation de l'acquisition des nutriments (Hu *et al.*, 2017). De plus, *Pseudomonas* a été étudié pour son rôle multifonctionnel dans la promotion et le développement de la croissance des plantes, y compris l'acquisition des nutriments (Singh & Srivastava, 2022)

4.1.2. Réduction du stress abiotique : salinité et métaux lourds

Pseudomonas, un genre bien connu de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), joue un rôle important dans le soulagement du stress abiotique chez les plantes. l'interaction entre *Pseudomonas* et les plantes améliore la tolérance des plantes à divers stress abiotiques, notamment la sécheresse, la salinité et la toxicité des métaux lourds (Chu *et al.*, 2019). Le rôle de *Pseudomonas* dans le soulagement du stress abiotique est également soutenu par sa capacité à induire une tolérance systémique chez les plantes, conduisant à une meilleure résilience au stress et à une croissance accrue des plantes dans des conditions environnementales défavorables. La capacité de *Pseudomonas* à soulager le stress abiotique chez les plantes est attribuée à ses mécanismes à multiples facettes, notamment la modulation de l'expression des gènes des plantes, la production de métabolites sensibles au stress et l'amélioration de la croissance et du développement des plantes dans des conditions de stress (Chu *et al.*, 2019). *Pseudomonas* améliore la tolérance des plantes au stress abiotique grâce à la production de métabolites sensibles au stress, tels que les osmoprotecteurs et les antioxydants, qui aident les plantes à faire face au stress osmotique et oxydatif (Sati *et al.*, 2023). De plus, *Pseudomonas* a été étudié pour sa capacité à améliorer l'absorption et l'assimilation des nutriments chez les plantes, contribuant ainsi à améliorer la résilience des plantes au stress abiotique (V. Kumari *et al.*, 2022). L'atténuation du stress abiotique par *Pseudomonas* est également liée à sa capacité à moduler la signalisation des hormones végétales, telles que les voies de l'acide jasmonique et de l'acide salicylique, qui jouent un rôle crucial dans les réponses et l'adaptation au stress des plantes (F. Cao *et al.*, 2011). En outre, *Pseudomonas* améliore la tolérance des plantes au stress abiotique grâce à la régulation des

niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et au maintien de l'homéostasie redox dans les cellules végétales (Shah *et al.*, 2020).

4.1.2.1. Stress salin

Pseudomonas joue un rôle important dans l'allègement du stress salin chez les plantes. l'interaction entre *Pseudomonas* et les plantes peu promouvoir la tolérance des plantes à la salinité, contribuant à améliorer la santé et la croissance des plantes dans des conditions environnementales défavorables (Chu *et al.*, 2019). Les traits favorisant la croissance des plantes par une analyse génomique comparative de quatre souches PGPR de *Pseudomonas* représentatives. Les gènes qui ont été conservés parmi les différentes espèces de *Pseudomonas* ont fourni des indices sur les caractéristiques communes de *Pseudomonas* PGPR, telles que les traits de compétence de la rhizosphère (catabolisme et transport des nutriments, résistance à divers stress environnementaux et colonisation de la rhizosphère)(Y. Kang *et al.*, 2013). *Pseudomonas* améliore la tolérance des plantes au stress salin grâce à la production de métabolites sensibles au stress, tels que les osmoprotecteurs et les antioxydants, qui aident les plantes à faire face au stress osmotique et oxydatif. De plus, *Pseudomonas* a été étudié pour sa capacité à améliorer l'absorption et l'assimilation des nutriments chez les plantes, contribuant ainsi à améliorer la résilience des plantes au stress salin (Chu *et al.*, 2019). La résistance systémique acquise (RSA) dont la molécule signal est l'acide salicylique. Il agit en augmentant la production d'acide salicylique lors d'une infection microbienne sur le site de contamination ainsi que dans l'ensemble de la plante. Dans certains modèles végétaux/pathogènes, l'acide salicylique, apporté de manière exogène par des *Pseudomonas* fluorescents, confère une protection contre les pathogènes (Maurhofer *et al.*, 1998). L'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase a également été trouvée dans un large éventail d'autres rhizobactéries, telles que les genres *Achromobacter*, *Acidovorax*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Variovorax*, l'enzyme Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase, facilite la croissance et le développement des plantes en abaissant les niveaux d'éthylène, en induisant une tolérance au sel et en réduisant le stress de sécheresse chez les plantes (Benaïssa *et al.*, 2019; Esquivel-Cote *et al.*, 2010; Nadeem *et al.*, 2007) En outre, l'ACC (1-ami-nocyclopropane-1-carboxylate) désaminase a la capacité de diminuer les concentrations d'éthylène dans les plantes, tout en améliorant leur tolérance au sel et en atténuant les effets du stress dû à la sécheresse. Les *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* et *Rhizobium* ne sont que quelques-uns des genres de rhizobactéries favorisant le développement des plantes qui possèdent une activité désaminase ACC (Rafique *et al.*, 2023). L'AIA peut être produite par plus de 80 % des bactéries associées à la rhizosphère, y compris les espèces *Azospirillum*, les espèces *Azoto-bacter*, les espèces *Enterobacter*, les espèces *Pseudomonas* et les espèces *Staphylo-coccus*(Bag *et al.*, 2022; Park *et al.*, 2017). Lorsque des plants de blé ont été inoculés avec des PGPR productrices d'auxine comme *Pseudomonas extremaustralis* IB -13-1A et *Paenibacillus illinoisensis* IB 1087, la biomasse racinaire et la concentration en auxine ont augmenté (Bargaz *et al.*, 2021; Grover *et al.*, 2021; Kudoyarova *et al.*, 2019). Fu *et al.* (2015) ont rapporté une augmentation significative du Ca²⁺ dans les pousses d'aubergines inoculées avec

Pseudomonas par rapport à l'aubergine non inoculée dans des conditions salines. Le stress salin entraîne des dommages à la membrane des cellules végétales et augmente ainsi sa perméabilité, ce qui entraîne une fuite et une accumulation d'électrolytes dans les tissus environnants. L'inoculation de *Rhizobium* et de *Pseudomonas* chez *Zeamays* réduisait la fuite d'électrolyte (N. Khan & Bano, 2015; Sandhya *et al.*, 2010). L'atténuation du stress salin par *Pseudomonas* est également liée à sa capacité à moduler la signalisation des hormones végétales, telles que les voies de l'acide jasmonique et de l'acide salicylique, qui jouent un rôle crucial dans les réponses et l'adaptation au stress des plantes. En outre, *Pseudomonas* améliore la tolérance des plantes au stress salin grâce à la régulation des niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et au maintien de l'homéostasie redox dans les cellules (Chu *et al.*, 2019).

4.1.2.2. Métaux lourds

Les *Pseudomonas* fluorescentes ont reçu l'attention la plus importante en tant que candidats aux agents de biocontrôle et aux biofertilisants en raison de leur capacité à coloniser les surfaces et les tissus internes des racines et des tiges (endo- et exorhizosphère) à des densités élevées. Ces bactéries peuvent concurrencer avec succès les micro-organismes du sol. Deux espèces, *P.fluorescens* et *P.putida* sont bien connues pour favoriser la croissance de plusieurs plantes dont la canne à sucre en raison de leur capacité de production d'acide indole acétique et de solubilisation du (Mehnaz *et al.*, 2009; Rodríguez & Fraga, 1999). Les *Pseudomonas* ont également une énorme capacité de production de métabolites secondaires antifongiques. Plus de vingt espèces de *Pseudomonas* sont connues pour synthétiser plus de 100 antibiotiques aromatiques et composés de type antibiotique (Feklistova & Maksimova, 2008). Certains antibiotiques bien connus sont l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), la phénazine-1-carboxamide(PCN), le 2,4-diacétyl phloroglucinol (Phl), la pyocyanine, le 2-acétamidophénol, la pyrrolnitrine, la pyolutéorine, le viscosinamide et la tensine (Z. Liu *et al.*, 2007). Un certain nombre d'inoculants de lutte biologique à base de *Pseudomonas* ont maintenant été développés commercialement (Mark *et al.*, 2006). Certaines espèces peuvent également réduire ou oxyder les métaux lourds en des formes moins toxiques. *Pseudomonas aeruginosa* réduit le mercure cytosolique (Hg) à HgO, qui diffuse ensuite passivement hors des cellules (Pandhare & Gupta, 2019; C. L. Wang *et al.*, 1997). Lors de l'inoculation de la souche G20-18 de *Pseudomonas fluorescens* productrice de cytokinine, le niveau de tolérance de la plante au stress biotique/abiotique a augmenté (Großkinsky *et al.*, 2014). Jianfeng *et al.*(2017) ont rapporté que l'inoculation de la souche *Bacillus megaterium* productrice de cytokinine induisait de manière significative la morphogénèse racinaire d'*Arabidopsis thaliana*. Ils ont également signalé que l'inoculation de PGPR régulaient le niveau transcriptionnel du récepteur de la cytokinine des pousses et des racines (AHK3/AHK4). Ce processus de remédiation, connu sous le nom de rhizoremédiation, utilise les interactions plante-microbe pour améliorer l'efficacité de la phytoremédiation. L'inoculation de bactéries génétiquement modifiées et résistantes au cadmium (*Pseudomonas putida*) renforcée par une accumulation de cadmium de 40% chez les plantes de tournesol (*H. annuus*) par rapport au groupe témoin (Wu *et al.*, 2006). Les plants inoculés de *P.aeruginosa* CPSB1 avaient 9,5, 11,5 et 8,7 μ moles de proline g⁻¹ FW, à 669, 456 12 et 68 mg kg⁻¹ de Cu, Cd et Cr, respectivement. La diminution des taux de proline suite à l'inoculation de 457 pourrait éventuellement être due à l'atténuation du stress

métallique par la bactérie utilisée dans 458 cette étude (Rizvi & Khan, 2017). L'amélioration des performances des plantes inoculées peut être attribuée aux propriétés favorisant la croissance des plantes (par exemple, production d'auxine et de sidérophore, activités de solubilisation du phosphate, etc.) et à l'élimination du stress (par exemple, production d'ACC-désaminase pour abaisser le niveau d'éthylène chez les plantes stressées) de deux souches de PGPR : *Pseudomonas fluorescens* P22 et *Pseudomonas* sp. Z6 (Abbaszadeh-Dahaji *et al.*, 2021). Pour certains paramètres, les effets de *Pseudomonas* sp. Z6 était plus élevé que *P. fluorescens* P22, par exemple, l'augmentation du diamètre de la tige et de l'indice de chlorophylle dans le maïs, et l'absorption de Zn et de Mn dans les plantes de tournesol (Abbaszadeh-Dahaji *et al.*, 2019). Des études antérieures ont rapporté les effets positifs de différentes souches de PGPR sur la biomasse de plants de citrouille, de maïs et de tournesol cultivés dans un sol contaminé par le cuivre (Abbaszadeh-Dahaji *et al.*, 2019).

4.2. Lutte biologique et suppression des maladies

4.2.1. Antagonisme contre les phytopathogènes

Les espèces de *Pseudomonas* sont connues pour leur capacité à antagoniser les phytopathogènes, ce qui les rend précieuses dans les stratégies de lutte biologique contre les maladies des plantes. Ces bactéries peuvent inhiber la croissance et l'activité de divers agents pathogènes des plantes grâce à une gamme de mécanismes, y compris la production de composés antimicrobiens, la compétition pour les nutriments et l'espace, et l'induction de la résistance systémique chez les plantes. L'activité antagoniste de *Pseudomonas* contre les phytopathogènes a été attribuée à la production de composés antimicrobiens tels que les phénazines, la pyrrolnitrine et le cyanure d'hydrogène, qui peuvent inhiber la croissance des pathogènes fongiques et bactériens (Cezairliyan *et al.*, 2013; Tian *et al.*, 2012). De plus, *Pseudomonas* peut concurrencer les phytopathogènes pour les nutriments et l'espace, limitant ainsi leur croissance et leur établissement dans la rhizosphère (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2012). De plus, *Pseudomonas* peut induire une résistance systémique chez les plantes, activant des mécanismes de défense qui protègent contre les phytopathogènes. Cette résistance systémique est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise (SAR) induite par les agents pathogènes et peut améliorer la capacité de la plante à se défendre contre un large éventail d'agents pathogènes (Loon *et al.*, 1998). La capacité de *Pseudomonas* à antagoniser les phytopathogènes a des implications importantes pour la santé des plantes et la gestion des maladies. En exploitant les propriétés antagonistes de *Pseudomonas*, il est possible de développer des stratégies durables et respectueuses de l'environnement pour lutter contre les maladies des plantes et promouvoir la santé des cultures (Prigigallo *et al.*, 2022).

4.2.2. Concurrence pour les nutriments et les niches racinaires

Les nutriments sécrétés dans la rhizosphère par les plantes sont utilisés par le micro-organisme du sol. La surface entourant la rhizosphère agit comme des puits de carbone (Rovira, 1969) et fournit de nombreux nutriments importants tels que H⁺, l'eau, les enzymes, l'ion oxygène libre, les vitamines antimicrobiennes, les régulateurs de croissance des plantes, le mucilage, etc. Les racines des plantes attirent les micro-organismes, y compris les agents pathogènes, créant ainsi

une concurrence pour les nutriments et les niches (Koza *et al.*, 2022). Les *Pseudomonas* fluorescents s'adaptent à une telle condition et deviennent ainsi compétitifs avec les agents pathogènes. Le mouvement flagellaire est guidé par des réponses chimiotactiques et atteint les surfaces racinaires par le mouvement fourni par les flagelles (de Weert *et al.*, 2002). La souche de *P.fluorescens* WCS417r colonise les racines de la tomate de manière endophytique (Duijff, *et al.*, 1998). La capacité des PGPR à coloniser les racines est liée à leur sécrétion d'une recombinase a site-spécifique (Dekkers, *et al.* 1998). Les lipopolysaccharides bactériens peuvent contribuer à la colonisation des racines. La chaîne latérale O-antigénique de *P.fluorescens* PCL1205 s'est avérée être impliquée dans la colonisation des racines de tomate (Kloepper, 1992). La souche endophytique de *P.fluorescens* ALEB 7B a significativement inhibé la croissance de la souche d'*Atheliarolfsii* SY4 par sécrétion d'exo-enzymes lytiques et d'antibiotiques (Zhou *et al.*, 2022).

4.2.3. Biosynthèse des antibiotiques

Les antibiotiques sont des composés organiques de faible poids moléculaire de nature hétérogène qui nuisent à la croissance ou aux activités métaboliques d'autres microbes. Les antibiotiques sont plus efficaces pour supprimer la croissance de l'agent pathogène *in vitro* ainsi que *in situ*. Il existe six classes de composés antibiotiques qui sont mieux associés au biocontrôle des agents pathogènes des plantes : les phénazines, la pyolutéorine, les cycliclipopeptides, la pyrrolnitrine, le phloroglucinol et le cyanure d'hydrogène (Haas & Défago, 2005). *Pseudomonas* étant un agent de biocontrôle potentiel, montre des interactions compétitives avec les champignons, les bactéries, les protozoaires et les nématodes en produisant des bio-surfactants lipopeptidiques (De Bruijn *et al.*, 2007; Raaijmakers *et al.*, 2010). L'antibiotique 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) produit par *Pseudomonas* a notamment une action inhibitrice contre les zoospores de *Pythium* spp. (de Souza *et al.*, 2003). *Pseudomonas* produit un antibiotique phénazine, qui présente une activité antagoniste contre *Fusarium oxysporum* et *Gaeumannomyces graminis* (Sahu *et al.*, 2018). La phénazine antibiotique joue un rôle vital dans la mobilisation du fer dans les sols à pH neutre, où le fer est présent sous forme ferrique et cela a été prouvé expérimentalement avec la souche PCL1391 de *Pseudomonas chlororaphis* isolée de la zone rhizosphérique de la tomate (Haas & Défago, 2005; Hernandez *et al.*, 2004). Un ou plusieurs gènes responsables de la biosynthèse des antibiotiques ont été manipulés, ce qui montre l'importance de la production d'antibiotiques par des antagonistes bactériens. Par exemple, des souches mutantes incapables de produire des phloroglucinols (Fenton *et al.*, 1992; Keel *et al.*, 1992) et les phénazines (Thomashow et Weller, 1988) se sont révélées également capables de coloniser la rhizosphère, mais beaucoup moins capables de supprimer les maladies des racines transmises par le sol que les types sauvages correspondants. La production de phénazine et de DAPG par les souches WCS358r de *Pseudomonas putida* a montré une meilleure capacité à supprimer les maladies chez le blé (P. A. H. M. Bakker *et al.*, 2002; Glandorf *et al.*, 2001)

4.2.4. Production de sidérophores

Les sidérophores sont des composés chélateurs du fer synthétisés par *Pseudomonas*. Il s'agit d'une caractéristique visible dans certains isolats des sols de la rhizosphère. Le fer, étant très

insoluble, est un micronutriment important requis par les microbes. Un halo jaune-vert peut être observé dans les milieux de culture avec des traces de fer, qui est fluorescent sous la lumière ultraviolette (Budzikiewicz, 1996). Les ligands liant le fer (sidérophores) ont un avantage concurrentiel sur les autres micro-organismes. L'affinité envers le fer ferrique dépend de leur structure, c'est-à-dire des structures de type phénolate/catécholates et hydroxymates, classées comme pseudobactines ou pyoverdines (Weller *et al.*, 2006). La capacité des sidérophores bactériens à supprimer les phytopathogènes pourrait être l'importance agronomique significative (Beneduzi *et al.*, 2013). Kloepper *et al.*, (1980) ont isolé le premier sidérophore de la souche B10 avec l'activité de suppression de la maladie. Une souche de *Pseudomonas* spp. WCS358 fluorescente négative aux sidérophores induite par Tn5 a perdu la capacité de favoriser la croissance de la pomme de terre (Bakker *et al.*, 1986). Par conséquent, il arrête la croissance des microbes nuisibles en limitant la disponibilité du fer (Loper & Buyer, 1991). Fait intéressant, la compétition du fer médiée par les sidérophores par *P.fluorescens* peut également être utile pour prévenir la croissance de l'agent pathogène humain *Escherichia coli* O157:H7 sur les produits alimentaires (McKellar & Nelson, 2003)

4.2.5. Production HCN

Le cyanure d'hydrogène (HCN) est connu depuis longtemps pour la suppression de la maladie (Keel *et al.*, 1989). *Pseudomonas* fluorescent produit de l'HCN qui joue un rôle vital dans la suppression de la maladie (Laville *et al.*, 1992). Certaines souches de *Pseudomonas* fluorescentes sont impliquées dans l'induction de la résistance aux maladies causées par des champignons, telles que *Septoria tritici* et *Puccinia recondita f. sp. tritici* sur le blé (Flaishman *et al.*, 1996), *Thielaviopsis basicola* sur le tabac (Laville *et al.*, 1992). Le taux de production de HCN varie en fonction de l'espèce de culture et peut être dû à une différence dans la composition des acides aminés des exsudats racinaires. HCN inhibe les cytochromes C oxydases terminales (Knowles, 1976, 2007). Le HCN peut également avoir des effets nocifs sur plusieurs plantes (O'Sullivan & O'Gara, 1992; Schippers *et al.*, 1990). Les souches productrices de HCN ont été exploitées pour la lutte biologique contre les mauvaises herbes (Kremer & Souissi, 2001). La production de HCN par *Pseudomonas* spp. était connue pour avoir un effet négatif sur la croissance de la laitue et du haricot (Alström & Burns, 1989). Siddiqui *et al.* (2006) ont examiné le rôle du cyanure d'hydrogène dans le contrôle de la maladie des nœuds racines de la tomate. Une relation étroite est établie entre l'activité de bio-contrôle des *Pseudomonas* fluorescents et la capacité de leur production de HCN (Ellis *et al.*, 2000) Corrélations positives entre la production de HCN *in vitro* et la protection des plantes dans le concombre *Pythium ultimum*, la tomate *Fusarium oxysporum f. sp.* et le radis *Lycopersicon pathosystems* (Ramette *et al.*, 2003).

4.2.6. Induction de système de Résistance

La colonisation des racines des plantes par certaines rhizobactéries induit également une résistance systémique et protège ainsi les plantes contre un large éventail d'agents pathogènes. Le développement de la ISR en réponse à un agent externe rend la plante immunisée. Les mécanismes de ISR comprennent (1) l'induction du renforcement de la paroi cellulaire, (2) la tolérance physiologique, (3) la promotion de la croissance et (4) l'augmentation de la production

d'enzymes de défense, de phytoalexines, de proline, de protéines liées à la pathogénèse (PR), de dépôt de lignine, d'antioxydants et de modulation des phénols ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Jain *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2005). *P.aeruginosa* a supprimé la production d'acide oxalique par *S. sclerotiorum* chez les plants de pois seuls ou en combinaison avec d'autres micro-organismes (Jain *et al.*, 2013). L'implication de l'ISR est étudiée dans l'interaction pathogène fluorescente de *Pseudomonas* (Bakker *et al.*, 2007)•. Les antibiotiques jouent également un rôle vital dans l'induction de la résistance chez les plantes (Weller *et al.*, 2004). (Van Peer *et al.*, 1991) ont constaté que la souche *Pseudomonas WCS417* induisait une résistance aux œillets contre la maladie du flétrissement causée par *Fusarium oxysporum f. sp.dianthi* lorsque les racines étaient inoculées avec des bactéries une semaine avant l'inoculation de la tige avec l'agent pathogène. Cette souche a été particulièrement isolée de la rhizosphère du blé et a également favorisé la croissance de plusieurs cultures. Par la suite, ces souches induisent une résistance du radis contre *F.oxysporum f. sp.raphani* et d'autres agents pathogènes (Hoffland *et al.*, 1996). La chaîne latérale O-antigénique du lipopolysaccharide de la souche WCS374 et WCS417, est apparue comme déterminant principalement responsable de l'induction de la résistance (Leeman *et al.*, 1995). *Pseudomonas* spp. produit de l'acide salicylique qui joue un rôle majeur dans la voie de transduction du signal SA-dépendante dans des conditions de carence en fer. La résistance systémique induite est généralement définie comme l'activation des mécanismes de défense latents chez les plantes avant l'attaque de l'agent pathogène. La ISR est étroitement liée à l'augmentation de la synthèse de quelques enzymes telles que la peroxydase (D. K. Choudhary *et al.*, 2007), à l'accumulation de phytoalexines dans le tissu végétal induit (Van Peer *et al.*, 1991) et à l'augmentation des niveaux de certaines protéines solubles dans l'acide (Zdor & Anderson, 1992). La bactériisation des graines de haricot commun avec la souche *P.fluorescens* S97 a été signalée pour supprimer la brûlure du halo causée par *P. syringe* et *pv. phaseolicola* par le mécanisme de résistance systémique induite (Alstrom, 1991).

4.3. Bioregulation de croissance : stimulation et inhibition.

Les bactéries, à la fois libres et symbiotiques, favorisent la croissance des plantes en produisant des produits chimiques fonctionnellement identiques aux phytohormones générées par la plante. Certaines des substances impliquées dans le contrôle des processus biologiques essentiels à la croissance et au développement des plantes comprennent les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'ABA et l'éthylène (V. Shah & Daverey, 2020).

4.3.1. Auxines

Les auxines sont des composés puissants produits naturellement par les plantes qui participent à presque tous les aspects de la physiologie des plantes, en particulier la division cellulaire, l'expansion, la différenciation et le soulagement du stress (Paque & Weijers, 2016). Alors que les auxines sont des régulateurs essentiels de la croissance des plantes, l'AIA et les gènes qui régissent sa production se trouvent dans les champignons et les bactéries (Matsuda *et al.*, 2018). La voie indole-3-pyruvate (IPyA) est préférée par les rhizobactéries bénéfiques, mais la voie indole-3-acétamide (IAM) est préférée par les bactéries pathogènes liées aux plantes (Ma *et al.*, 2011). À de faibles concentrations, les auxines bactériennes favorisent l'extension des racines

primaires des plantes, tandis qu'à des concentrations plus élevées, les auxines favorisent la production de racines latérales et adventices qui peuvent augmenter l'absorption des minéraux et favoriser le développement d'exsudats racinaires, qui favorisent la croissance bactérienne (Verbon & Liberman, 2016). Patten & Glick (2002) ont trouvé un développement racinaire amélioré chez *Brassic napus* avec la souche GR12-2 de *P.putida* par rapport aux plantes injectées avec un mutant de *P.putida* déficient en IAA. Les auxines produites par les bactéries peuvent également se défendre contre les effets néfastes d'une gamme de circonstances environnementales, y compris le sel, la sécheresse et la pollution du sol (Kudoyarova *et al.*, 2019). Par rapport aux plantes témoins soumises à un stress au Cd, l'herbe de commutation infectée par *P.grimontii* Bc09, *P.veronii* E03 et *P.fluorescens* Oj24 a produit une biomasse et une AIA plus élevées tout en accumulant moins de Cd (Begum *et al.*, 2019). Les plantes de canne à sucre inoculées avec *P.aeruginosa* B18 productrices d'IAA se sont mieux développées sous le stress des agents pathogènes du smut et une étude génomique complète a également révélé la présence de gènes *trpABCDEG* liés à la production d'IAA dans son génome (Singh *et al.*, 2021).

4.3.2. Cytokinine

On sait que certaines parties des plantes sont stimulées par les cytokinines, une sous-classe de phytohormones, pour favoriser la division cellulaire, l'agrandissement cellulaire et la croissance tissulaire (Osugi & Sakakibara, 2015). En plus de répondre continuellement aux signaux environnementaux par l'activité méristémique des racines et des pousses, le développement vasculaire, l'allongement des racines, la racine latérale, la création de nodules et la dominance apicale (G. Chen *et al.*, 2022). Les cytokinines jouent un rôle crucial dans la croissance des plantes en régulant la division et la différenciation cellulaires, souvent en collaboration avec d'autres phytohormones. Des niveaux équilibrés d'auxine et de cytokinine sont souvent considérés comme des régulateurs critiques de l'organogenèse et de l'architecture racinaire des plantes (Hussain *et al.*, 2021). Les cytokinines ont un rôle crucial dans la stimulation de l'activité des méristèmes apicaux et axillaires, ainsi que dans la facilitation de la division cellulaire dans la pousse. De plus, une augmentation des niveaux de cytokinine à l'intérieur de la pousse a été observée en corrélation avec un rendement accru (H. Wang *et al.*, 2023).

Les cytokinines sont impliquées dans de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes, tels que l'embryogenèse, le contrôle de l'activité apicale des racines et des pousses, la croissance vasculaire, l'allongement des racines, la ramification des racines et le développement des nodules, et la domination apicale en réponse aux changements environnementaux (Osugi & Sakakibara, 2015). Sous stress salin, les bactéries productrices de cytokinine comme *Pseudomonas* spp. ont stimulé la croissance des racines et des pousses ainsi que la teneur en proline dans les tissus *Glycine max*, selon Naz *et al.* (2009). Les cytokinines favorisant la croissance des plantes sont produites par des rhizobactéries liées à *Coleus forskohlii*, y compris *P.stutzeri* MTP40 et *P.putida* MTP50 (Patel & Saraf, 2017). En tant qu'agents de lutte biologique chez *Arabidopsis*, les cytokinines ont régulé la souche G20-18 de *P.fluorescens* contre l'infection par *P.syringae*. (Grobkinsky *et al.*, 2016). Les mécanismes de production de cytokinine chez les bactéries sont largement inconnus. MiaA est susceptible de coder pour une ARNt (2) -isopentényl pyrophosphate transférase, similaire aux ARNtIPT, qui

sont impliqués dans la synthèse des cytokinines (Stringlis *et al.*, 2018). Dans des conditions in vitro, 90 % des rhizobactéries produisent et libèrent des stimulants de croissance ressemblant aux cytokinines. Les rhizobactéries associées à *Coleusforskohlii*, y compris *Pseudomonas putida* MTP50, *Stenotrophomonasmaltophilia* MTP42 et *Pseudomonas stutzeri* MTP40, produisent des cytokinines qui favorisent le développement des plantes (Patel & Saraf, 2017). De plus, les cytokinines et les auxines travaillent ensemble pour réguler la croissance des plantes, les cytokinines favorisant le phloème et les auxines développant le xylème à travers une série de composés souvent antagonistes (Hussain *et al.*, 2021). Il y a eu de multiples occurrences de PGPR, qui englobent la synthèse de cytokinines (en particulier la zéatine) par *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Paenibacillus* (J. Kaur & Pandove, 2023; Vaghela & Gohel, 2023).

4.3.3. Gibbérellines

La dormance des graines, la germination, la quiescence, la floraison, la maturation des fruits, la stimulation de la croissance des racines et l'abondance des poils racinaires sont toutes régulées par cet ensemble de composés (Binenbaum *et al.*, 2018). Les AG, similaires aux auxines et aux cytokinines, sont générées par les bactéries et les champignons ainsi que par les plantes. À ce jour, 136 structures chimiques ont été identifiées comme des gibberellins d'origine naturelle, dont la plus répandue est GA3 (acide gibberellique). Dans diverses études, Les gibbérellines produites par des bactéries stimulent la croissance et le rendement des plantes (Oleńska *et al.*, 2020). La production de gibbérelline bactérienne a été affectée par des niveaux plus élevés d'acide glutamique, de thréonine, de glycine phénylalanine, d'arginine et de proline, qui pourraient tous avoir un impact énorme sur la croissance des cultures inoculées (S. M. Kang *et al.*, 2017). Des substances de type gibbérelline ont été trouvées dans les milieux acellulaires de *P.fluorescens* (Lenin & Jayanthi, 2012), *P.aeruginosa* (Katznelson & Cole, 1965), *P.monteilii* (Pandya & Desai, 2014; Sandhya *et al.*, 2010), et *P.koreensis* MU2 (S. M. Kang *et al.*, 2019). L'inoculation de *P.koreensis* MU2 a amélioré la longueur des pousses (27 %), le poids des pousses fraîches (29 %) et sèches (33 %) de Waito-c mutant déficient GA (Kang *et al.*, 2019).

4.3.4. Abscissine

L'acide abscissique (ABA) est une hormone qui inhibe principalement la croissance et les actions métaboliques dans les cultures, telles que la croissance et la maturation des graines, l'initiation de la dormance des graines et des bourgeons, la synthèse des sénescences, des protéines et des osmolytes appropriés, et la régulation de la capacité de la plante à rester en vie dans des situations difficiles et difficiles (K. Shu *et al.*, 2018). La synthèse ABA *P.putida* MTCC5279 couplée à *Cicer arietinum* a donné une tolérance au sel et à la sécheresse à leurs plantes hôtes en modifiant les propriétés morpho-physiologiques et biochimiques et en régulant l'activité des gènes sensibles au stress.

4.3.5. Éthylène

Les bactéries associées aux plantes produisent de l'ACC désaminase, qui diminue les niveaux d'éthylène et d'ACC dans les plantes, ce qui entraîne une augmentation de la

colonisation/compétitivité bactérienne (Conforte *et al.*, 2010), la capacité de nodulation bactérienne (Nascimento *et al.*, 2016), l'amélioration de la croissance des plantes (Glick *et al.*, 2007), et l'endurance des plantes aux stress (Nascimento *et al.*, 2013). Il est reconnu que les genres *Pseudomonas* comprennent le nombre de bactéries utilisant l'ACC (Blaha *et al.*, 2006) tels que *P.brassicacearum* 3Re2-7 (Gupta *et al.*, 2014), *P.koreensis* et *P.entomophila*(L. Li *et al.*, 2017), et *P.putida* (Nelkner *et al.*, 2019)). L'éthylène est une hormone végétale qui joue un rôle dans la germination, la croissance, le développement, la sénescence et la floraison. L'éthylène joue également un rôle dans les voies de signalisation du stress. L'interaction des agents pathogènes, les inondations, les gradients de température, le sel, la sécheresse et les métaux sont quelques-uns des stress biotiques et abiotiques qui pourraient l'amener à augmenter la production (Vacheron *et al.*, 2016). Des concentrations élevées peuvent inhiber l'expansion des racines, la croissance des nodules et la fixation de l'azote par les micro-organismes bénéfiques des légumineuses, provoquant une hypertrophie et accélérant la maturité et la sénescence des feuilles (Singh *et al.*, 2015). L'enzyme ACC désaminase s'est avérée cruciale pour augmenter le développement du riz sous stress salin et métallique lourd en présence de la souche *P.stutzeri* A1501 (Y. Han *et al.*, 2015). Dans les génomes des souches de *P.brassicacearum* 3Re2-7 et *P.putida*, Gupta *et al.* (2014) et Nelkner *et al.* (2019) ont identifié un gène fonctionnel *acdS* (1-ACC deaminase structural)

4.4. Biofertilisation

4.4.1. Solubilisation du phosphore

Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour le développement biologique et la croissance des cultures (Soetan *et al.*, 2010). Il pourrait être trouvé dans le sol en quantités de 400–1200 mg/kg. Malgré un niveau de concentration élevé, il a une concentration soluble très faible, ce qui le rend indisponible pour les plantes. Les micro-organismes solubilisant le phosphate (PSM) sont bien connus pour leur capacité à transférer le phosphore d'un état insoluble à un état soluble, encourageant ainsi la croissance des plantes. L'acidification, la chélation et les réactions d'échange sont tous des mécanismes communs pour cette conversion. Des caractéristiques de solubilisation du P ont été trouvées chez des espèces de *Pseudomonas* obtenues à partir du sol et des rhizosphères de diverses cultures ((X. Liu *et al.*, 2019; P. K. Mishra *et al.*, 2009). Ma *et al.*(2011) ont observé une augmentation du rendement de la biomasse et de l'apport en phosphore chez *Triticumaestivum* qui avait été traité avec *Pseudomonas spp.* Srivastava & Srivastava,(2020) ont révélé qu'*Arabidopsis thaliana* infecté par la bactérie de solubilisation du phosphore *P.putida* MTCC 5279 a prospéré efficacement dans des conditions de stress salin et de déficience P avec une activité des phosphatases acides et alcalines plus élevée, ainsi qu'une biomasse significativement plus élevée. Chez *P.putida*, le transport spécifique du phosphate (*pst*) est utilisé pour le transport libre du phosphate inorganique, et il est constitué de gènes *pstABCS* avec un système de transduction du signal d'absorption du phosphate à deux composants qui comprend *phoP/phoR*(Gupta *et al.*, 2014)J. J. Singh *et al.*(2022) ont signalé la présence de gènes *pstABCS* et *phoBDHRU* dans le génome B18 de *P.aeruginosa*.

4.4.2. Solubilisation du potassium

Le potassium (K) est un nutriment nécessaire au développement des plantes. S'il n'y a pas suffisamment de potassium, les racines des plantes seront sous-développées, elles pousseront plus lentement, les graines seront peu nombreuses et la productivité diminuera (Meena *et al.*, 2016; P. Singh *et al.*, 2022), et les plantes deviendront plus sensibles aux maladies et aux ravageurs (Amtmann *et al.*, 2008)). De nombreux microbes de la rhizosphère sont essentiels à la libération de potassium à partir de différents composants insolubles du potassium présents dans le sol et les systèmes environnants. Plusieurs études ont montré que *Pseudomonas* était une bactérie solubilisant le potassium (Kour *et al.*, 2020; M. Saha *et al.*, 2016; P. Verma *et al.*, 2017).

4.4.3. Solubilisation du Zinc

Chez les plantes, le zinc est directement impliqué dans le métabolisme des glucides, la production de cytochromes et l'élimination des radicaux superoxydes ; il fonctionne également comme cofacteur dans diverses activités enzymatiques, la stabilisation de la fraction ribosomale, la production d'hormones favorisant la croissance, l'intégrité de la membrane cellulaire, la formation de tissus floraux et la croissance des tubes polliniques, etc. (Kamran *et al.*, 2017). La diminution de la croissance des plantes, le flétrissement des parties florales, la réduction de la taille des feuilles et la mauvaise qualité des graines, le développement du pollen et la croissance des racines sont tous des symptômes de la déficience du zinc (Cakmak *et al.*, 2010). La déficience du zinc peut être atténuée en utilisant des rhizobactéries solubilisant le zinc (ZSR), qui sont efficaces pour mobiliser les complexes de zinc dans le sol et ainsi résoudre la déficience du zinc végétal (Karnwal, 2021; R. Yasmin *et al.*, 2021). L'application d'espèces spécifiques de *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Serratia* a entraîné une plus grande mobilisation du zinc dans le blé (7-12 %) et le soja, selon de nombreuses recherches (Lefevre *et al.*, 2014). Dans des expériences en pot, Goteti *et al.* (2013) ont observé que la bactérie des semis de maïs avec une souche de *Pseudomonas* solubilisant le Zn augmentait considérablement l'absorption et la concentration de Zn. Sunithakumari *et al.* (2016) ont rapporté que *Stenotrophomonas*, *Mycobacterium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* et *Xanthomonas*, parmi d'autres rhizobactéries isolées à partir de plantes de banane, de piment, de haricot, d'arachide, de maïs, de sorgho et de tomate, ont des capacités substantielles de solubilisation in vitro du Zn. Des propriétés de solubilisation du zinc et une meilleure absorption du Zn ont été rapportées après l'inoculation de souches de *Pseudomonas* dans des plants de riz (D. Joshi *et al.*, 2013).

4.4.4. Assimilation du fer par les sidérophores

Les bactéries produisent des sidérophores qui sont de petites molécules organiques qui améliorent l'absorption du fer dans des conditions déficientes en fer. Comme PGPR, *Pseudomonas sp.* fait face à ses besoins en ions en consommant des sidérophores formés par plusieurs autres micro-organismes de la rhizosphère. Pour augmenter la quantité de fer disponible dans son habitat naturel, *P. putida* utilise des sidérophores hétérologues produits par d'autres micro-organismes (Rathore, 2015). Chez les plantes hôtes, les sidérophores bactériens influencent l'homéostasie du fer, la fonction immunitaire et la croissance (Hesse *et al.*, 2018).

Par exemple, l'analogue pyoverdine sidérophore (apo-pyoverdine) de la souche C7R12 de *P.fluorescens* a un impact sur l'expression d'environ 2000 gènes chez *A. thaliana* (Trapet *et al.*, 2016). On a découvert que de nombreux gènes impliqués dans la production de composés phénoliques mobilisant le fer étaient activés positivement chez *A. thaliana* colonisé par *P.fluorescens* WCS417. Les souches bactériennes capables de produire un grand nombre de sidérophores étaient moins inhibées par des concentrations élevées de cuivre, et la fraction des souches synthétisant des sidérophores grandissait au même rythme que le gradient ionique (Hesse *et al.*, 2018). De même, *P.aeruginosa* ZGKD3, Cd (II) et Zn (II) ont stimulé la production globale de sidérophores, tels que la pyoverdine (Shi *et al.*, 2017). Gupta *et al.*(2014) ont trouvé des gènes *acrAB*, *fhu*, *fpvA*, *mbtH* et *pvd* dans le génome de *P.putida*. S.-M. Kang *et al.*(2020) ont trouvé des gènes *entFS*, *fepBCDG* et *fes* dans le génome CS51 de *P.psychrotolerans*, participant à la synthèse des sidérophores.

4.4.5. Fixation biologique de l'azote

La fixation biologique de l'azote (BNF) est le mécanisme par lequel les bactéries fixatrices d'azote utilisent un système enzymatique complexe appelé nitrogénase pour convertir l'azote élémentaire atmosphérique en formes utilisables par les plantes (Masson-Boivin & Sachs, 2018). La fixation azotée non-symbiotique, qui implique des membres des genres *Arthrobacter*, *Acetobacter*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Bacillus* (Dinnage *et al.*, 2019), et la fixation symbiotique de l'azote, qui implique des membres de la famille des *Rhizobiacées* avec des légumineuses (Mendoza-Suárez *et al.*, 2021; Moura *et al.*, 2020). Li *et al.*(2017) ont rapporté que les souches de *P.koreensis* et de *P.entomophila* étaient une souche fixatrice d'azote dans la canne à sucre. La fixation de l'azote élémentaire par des microbes bénéfiques du sol comme la PGPR représente une grande partie de l'azote élémentaire qui pénètre dans le sol dans des conditions naturelles (Ke *et al.*, 2019). Ainsi, les interactions plantes-microbes via le BNF jouent un rôle important dans la formation d'engrais organiques (Kuypers *et al.*, 2018). Le gène *nifU* est nécessaire à la fixation de l'azote et est impliqué dans la construction du cluster Fe-S (Guo *et al.*, 2023; Smith *et al.*, 2005). S.-M. Kang *et al.*(2020) ont identifié le gène *norB* dans le génome de *P.psychrotolerans* CS51

5. Actualités et perspectives d'avenir

5.1. Commercialisation et potentiel biotechnologique

Les premiers produits microbiens disponibles dans le commerce en agriculture, les inoculants rhizobiaux pour les légumineuses, sont toujours les inoculants agricoles les plus largement appliqués (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2023). Les progrès génétiques dans la symbiose de fixation de l'azote entre les rhizobiums et les plantes cultivées se sont révélés difficiles à réaliser. En raison de la demande énergétique importante associée à la conversion de l'azote atmosphérique en ammoniac, la cellule bactérienne doit accorder la priorité à la phosphorylation oxydative des sources de carbone par opposition à la production de glycogène, afin d'améliorer le processus de fixation de l'azote (Goyal *et al.*, 2016). Il a été étudié que l'application de mutants de suppression de la glycogène synthase de *Rhizobium tropici* ne survivait pas dans l'environnement du sol, même si les haricots étaient infectés par plus de

nodules et de matière sèche (Albicoro *et al.*, 2023; Redondo-Gómez *et al.*, 2022). Depuis la première décennie du XXI^e siècle, il y a eu un intérêt accru pour les inoculants commerciaux fabriqués à partir de bactéries fixatrices d'azote libres telles que *Azoarcus* sp., *Burkholderia* sp., *Gluconacetobacter*, *Diazotrophicus*, *Herbaspirillum*, les *Azotobacter* sp., *Bacillus polymyxa* et surtout *Azospirillum* sp. (Patra & Mandal, 2022; Z.-J. Wang *et al.*, 2022). Comme le Phosphore, d'autres nutriments essentiels comme le Fe et le Zn, peuvent être abondants dans le sol mais inaccessibles aux plantes, ce qui peut réduire les rendements des cultures (Moon & Ali, 2022). Plusieurs souches bactériennes produisent des sidérophores ou des acides organiques qui agissent comme inhibiteurs d'agents pathogènes nocifs et augmentent la disponibilité de Fe (Roskova *et al.*, 2022; Yankey *et al.*, 2022).

Les espèces de *Pseudomonas* ont démontré un potentiel important pour la commercialisation et les applications biotechnologiques en tant que rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR). Les multiples caractéristiques favorisant la croissance des plantes, le potentiel antagoniste et l'affiliation phylogénétique des rhizobactéries associées aux plants de thé commerciaux cultivés à Darjeeling, en Inde, ont mis en évidence le potentiel commercial de l'application de la PGPR dans différentes cultures agricoles, conduisant à la commercialisation de bio-formulations microbiennes Dutta & Thakur (2017). L'exploration et l'exploitation du potentiel biotechnologique de la PGPR autochtone est une alternative dans le développement de bio-intrants qui complètent la nutrition des cultures, améliorent les sols, se défendent contre les agents pathogènes et réduisent l'impact environnemental des biocides et des produits agrochimiques, permettant la mise en place de systèmes agricoles durables et respectueux de l'environnement (Vanegas *et al.*, 2020). Le potentiel des PGPR et des champignons mycorhiziens arbusculaires (MA) pour améliorer la croissance et le développement des plantes médicinales et aromatiques et l'accumulation de métabolites secondaires à haute valeur thérapeutique a ouvert la voie au développement de nouveaux produits biotechnologiques en tant que biofertilisants (Swamy *et al.*, 2016). Malgré leurs avantages économiques et environnementaux potentiels, les efforts visant à exploiter commercialement la PGPR en tant que biopesticides, biofertilisants ou phytostimulants ont été limités par des résultats incohérents causés en partie par une mauvaise colonisation des racines (Mavrodi *et al.*, 2010). La commercialisation de la PGPR a été entravée par des résultats incohérents causés par une mauvaise colonisation des racines, ce qui a limité leur potentiel en tant que biopesticides, biofertilisants ou phytostimulants (Chapalain *et al.*, 2013). Le potentiel des souches PGPR et leurs relations avec les plantes sont utilisés commercialement de nos jours et ont un potentiel énorme et prometteur pour l'agriculture durable en raison de leurs effets bénéfiques sur les produits agricoles (Mora *et al.*, 2021). La faible viabilité (faible durée de conservation) de la PGPR est un facteur qui nuit à son application commerciale, chevauchant le potentiel d'action de ces PGPR comme décrit par (V. Sharma *et al.*, 2022). L'application conjointe de certains des BCA mentionnés dans cette revue peut servir à développer de nouveaux bioproduits. Ainsi, les biofongicides commerciaux sont principalement composés d'un mélange de différents micro-organismes tels que *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis* Y1336, *Streptomyces* spp., *Trichoderma* spp. ou AMF sont disponibles. L'application de différentes bio-formulations a permis de réduire l'incidence du VWO dans des conditions contrôlées (Hiar *et al.*, 2017). De même, l'efficacité d'un biofongicide commercial a été testée sur le terrain et le processus de

récupération des arbres a été vérifié à l'aide de données de réflectance spectrale (Iatrou *et al.*, 2016).

La modification génétique peut accélérer la commercialisation de la PGPR en tant qu'agents (Hiar *et al.*, 2017) de biocontrôle, ce qui pourrait contribuer davantage au développement durable de l'agriculture (Y. Kang *et al.*, 2013).

L'application commerciale d'inoculants microbiens pour améliorer la croissance et le rendement des cultures dans des environnements salins est une stratégie potentielle pour l'agriculture saline du sol. Il existe actuellement plusieurs inoculants de PGPR commercialisés qui favorisent la croissance ou contrôlent les agents pathogènes ou induisent une résistance systémique contre les agents pathogènes ou entraînent une atténuation de la tolérance au stress par au moins un mécanisme (Paul & Lade, 2014). Les impacts des *Pseudomonas* sur des communautés fongiques et bactériennes du sol, dans des essais au champ ont également été analysés en vue d'une commercialisation potentielle de ces souches génétiquement modifiées (Bakker *et al.*, 2002; Viebahn *et al.*, 2003).

5.2. Défis et contraintes

Les espèces de *Pseudomonas* ont montré un potentiel significatif en tant que rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) en agriculture. Cependant, leur application est confrontée à plusieurs défis et limitations qui doivent être résolus pour une utilisation efficace dans les pratiques agricoles durables. La commercialisation et le potentiel biotechnologique de *Pseudomonas* en tant que PGPR sont entravés par divers facteurs, notamment des résultats incohérents en raison d'une mauvaise colonisation des racines, d'une adaptabilité limitée aux conditions de faible humidité et d'une faible viabilité, ce qui affecte la durée de conservation et le stockage (Chu *et al.*, 2019; Fazeli-Nasab & Sayyed, 2019; Mahanty *et al.*, 2017; Shivashakarappa *et al.*, 2022). Les résultats incohérents causés par une mauvaise colonisation des racines ont limité le potentiel de *Pseudomonas* en tant que biopesticides, biofertilisants ou phytostimulants, limitant leur application commerciale. De plus, la faible adaptabilité des PGPR aux conditions de faible humidité a limité leur utilisation dans les cultures tolérantes à la sécheresse, telles que le millet à queue de renard (Shivashakarappa *et al.*, 2022). De plus, la faible viabilité des souches de PGPR a nui à leur application commerciale, affectant leur potentiel en tant que biopesticides, biofertilisants ou phytostimulants (Chu *et al.*, 2019).

5.3. Enjeux émergents et orientations futures

Les espèces de *Pseudomonas* ont montré un potentiel significatif en tant que rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) dans les systèmes agricoles (P. Singh *et al.*, 2022). Les tendances émergentes et les orientations futures dans les applications biotechnologiques de *Pseudomonas* en tant que PGPR sont essentielles pour l'agriculture durable et la gestion de l'environnement. L'identification des orientations et des tendances futures de la recherche est cruciale pour relever les défis et maximiser le potentiel de *Pseudomonas* en tant que PGPR (Azizoglu *et al.*, 2021). L'avenir de *Pseudomonas* en tant que PGPR implique de relever des défis tels que des résultats incohérents dus à une mauvaise colonisation des racines, une viabilité limitée (mauvaise durée de conservation) de PGPR et la nécessité d'une compréhension

plus approfondie des interactions entre PGPR et les plantes hôtes (Tabassum *et al.*, 2017). Pour surmonter ces défis, il faudra une compréhension approfondie des mécanismes sous-jacents aux interactions entre la PGPR et les plantes, ainsi que le développement de stratégies innovantes pour améliorer la colonisation des racines et la durée de conservation des formulations de PGPR (Al-Turki *et al.*, 2023). Les futures orientations de recherche pour *Pseudomonas* comme PGPR peuvent inclure le développement de nouvelles formulations et méthodes d'administration pour améliorer la colonisation des racines et améliorer la persistance de PGPR dans la rhizosphère (Lobo *et al.*, 2019). De plus, les efforts de recherche axés sur la compréhension des mécanismes moléculaires des interactions entre PGPR et les plantes et l'identification des gènes et des voies clés impliqués dans la promotion de la croissance des plantes seront essentiels pour maximiser le potentiel de *Pseudomonas* en tant que PGPR. En outre, l'intégration des technologies omiques, telles que la génomique, la transcriptomique et la métabolomique, fournira des informations précieuses sur les propriétés fonctionnelles de *Pseudomonas* en tant que PGPR et facilitera le développement d'approches adaptées à des applications agricoles spécifiques (Alberston *et al.*, 2020; Fadji *et al.*, 2022). En outre, l'exploration du potentiel de *Pseudomonas* en tant qu'agents de biocontrôle pour la gestion des maladies des plantes et l'amélioration de la productivité des cultures sera un objectif clé pour les recherches futures (Höfte, 2021; Mehmood, 2023).

Chapitre II : *Vicia faba*: Un modèle précieux pour la recherche sur le stress abiotique et l'adaptation des plantes

1. Introduction

Vicia faba, communément appelée féverole (ou la fève), est une légumineuse de saison fraîche ayant une importance agricole et scientifique (Bangar & Kajla, 2022; Soliman *et al.*, 2023). Cette espèce de légumineuse appartient à la famille des Fabaceae et sert de source de protéines pour la consommation humaine et l'alimentation du bétail (Shavanov, 2021). La fève est connue pour sa diversité génétique, ce qui la rend précieuse pour les efforts d'amélioration des cultures (Mulugeta *et al.*, 2021). La fève (*Vicia faba* L.) est une légumineuse populaire et utilisée dans le monde entier comme source importante de protéines pour la nutrition humaine et animale et pour l'azote dans la biosphère (Cazzato *et al.*, 2012). La fève (*Vicia faba* L.) Parfois appelée fève, fève chevaline ou fève de champ – est une légumineuse alimentaire majeure en raison de la haute valeur nutritionnelle de ses graines, qui sont riches en protéines et en amidon. Les graines sont consommées sèches, fraîches, congelées ou en conserve. La production mondiale de féveroles en 2005 était de 4,9 Mt contre 2,8 Mha, ce qui est faible par rapport à la production mondiale de soja et de pois (220 Mt et 12 Mt respectivement) (Faostat, 2009). C'est l'une des meilleures cultures pouvant être utilisées comme fumier vert et l'une des meilleures bio-usines d'azote en fixant 130 à 160 kg N/ha (Horstet *et al.*, 2007). Car elle contient une teneur élevée en protéines brutes (20%–40%), en glucides (51%–68%), en minéraux (Fe, Zn, P, Ca) et en vitamines (Alghamdi, 2009; Hendawey & Younes, 2013; Shivani, 2015). La fève fixe l'azote de l'air à des niveaux élevés et augmente également la fertilité du sol. Il peut être cultivé avec succès comme culture d'hiver grâce à des systèmes de culture dans des conditions pluviales dans la région méditerranéenne de la Turquie (Türkeri, 2016; Yazar *et al.*, 2017). La fève peut non seulement être cultivée avec succès dans les conditions agro-climatiques du plongeur, mais elle peut également être produite sur l'humidité résiduelle du sol, relativement plus tolérante au stress biotique et abiotique, avec un apport minimal (A. K. Singh & Prevesh, 2009; H. Singh *et al.*, 2021). Les exportations mondiales de graines de féverole sèches en 1998 à 2002 se sont élevées à 475 000 tonnes. Les principaux pays exportateurs étaient l'Australie (201 000 tonnes), le Royaume-Uni (114 000 tonnes), la Chine (63 000 tonnes) et la France (53 000 tonnes). Les principaux importateurs au cours de cette période étaient l'Égypte (197 000 tonnes), l'Italie (169 000 tonnes) et l'Espagne (52 000 tonnes). Les exportations des pays africains et asiatiques sont négligeables (Faostat, 2009). La recherche a démontré le potentiel de *Vicia faba* dans les pratiques agricoles durables, en soulignant son rôle dans l'amélioration des écosystèmes et la santé des sols (Borghi *et al.*, 2019; Ditzler *et al.*, 2021). Les études sur *Vicia faba* se sont penchées sur divers aspects de sa biologie et de ses applications. Par exemple, la recherche sur la réponse de la plante aux facteurs de stress environnementaux, tels que les vagues de chaleur, a fourni des informations sur ses mécanismes d'adaptation (Coninck *et al.*, 2021). Les recherches sur la composition immunocytochimique des fleurs de féverole ont permis d'identifier des protéines d'arabinogalactane dans des structures florales spécifiques, offrant un aperçu de sa biologie reproductive (Espinosa, 2023). De plus, l'évaluation des génotypes de *Vicia faba* à l'aide de techniques de spectroscopie moléculaire vibrationnelle non destructive a fourni des informations précieuses sur les profils de structure moléculaire des protéines en relation avec les caractéristiques nutritionnelles (Sulas *et al.*, 2013). Les ressources phylogénétiques sont vitales pour l'humanité pour la sécurité alimentaire future et jouent un rôle important pour la sélection des cultivars (Biswas *et al.*, 2020; Tuna *et al.*, 2020; Zia-Ul-

Haq *et al.*, 2013). Les éléments minéraux sont très importants pour la nutrition humaine et le système immunitaire (F. S. Baloch *et al.*, 2014; Talukder *et al.*, 2010) et l'augmentation de la quantité d'élément minéral ainsi que du rendement est essentielle pour la reproduction du féverole. La détermination des critères de sélection est essentielle pour la sélection des génotypes souhaitables. Comme on le sait, le rendement est influencé par les conditions environnementales et les facteurs génétiques. La variabilité génétique du rendement et des composants du rendement dans le matériel de sélection doit être estimée pour augmenter le rendement en grains de féverole. Pourtant, la variabilité génétique ne montre pas la partie héréditaire des traits. L'héritabilité indique l'ampleur de l'hérédité des traits, mais n'indique pas l'ampleur du progrès génétique (Georgieva *et al.*, 2016; Hefny, 2013). En milieu agricole, *Vicia faba* a été examiné pour son potentiel en tant que source d'azote dans les systèmes de culture méditerranéens pluviaux, démontrant son rôle dans les pratiques agricoles durables (Krenz *et al.*, 2023). En outre, la recherche sur l'utilisation des sous-produits de la fève a exploré leurs applications dans divers secteurs, y compris les industries alimentaires, fourragères et non alimentaires, mettant en valeur la polyvalence de l'usine (Mohamed & Mirry, 2019). De plus, des études sur les effets allélopathiques de cultures comme le maïs et le sorgho sur les caractéristiques physiologiques du blé et de la féverole ont fourni des informations sur la dynamique des cultures intercalaires.

2. Diversité génétique et études de germoplasme :

L'amélioration de nouveaux cultivars de féveroles à haut rendement et riches en minéraux et en protéines est importante pour l'efficacité de la production de féveroles dans les conditions climatiques méditerranéennes. La féverole à grandes graines est originaire de Turquie et le pays compte de nombreuses races primitives de féveroles qui constituent une ressource génétique précieuse pour la variation génétique. Les ressources phytogénétiques sont vitales pour l'humanité pour la sécurité alimentaire future et jouent un rôle important pour la sélection des cultivars (Biswas *et al.*, 2020; Tuna *et al.*, 2020; Zia-UI-Haq *et al.*, 2013). Les éléments minéraux sont très importants pour la nutrition humaine et le système immunitaire (F. S. Baloch *et al.*, 2014; Talukder *et al.*, 2010) et l'augmentation de la quantité d'élément minéral ainsi que du rendement est essentielle pour la reproduction du féverole. La détermination des critères de sélection est essentielle pour la sélection des génotypes souhaitables. Comme on le sait, le rendement est influencé par les conditions environnementales et les facteurs génétiques. La variabilité génétique du rendement et des composants du rendement dans le matériel de sélection doit être estimée pour augmenter le rendement en grains de féverole. Pourtant, la variabilité génétique ne montre pas la partie héréditaire des traits. L'héritabilité indique l'ampleur de l'hérédité des traits, mais n'indique pas l'ampleur du progrès génétique (Georgieva *et al.*, 2016; Hefny, 2013). Pour cette raison, l'estimation de l'héritabilité associée à l'avance génétique est essentielle pour les programmes de sélection (Fikreselassie & Seboka, 2012; P. P. Sharma *et al.*, 2017). Une héritabilité élevée au sens large a été observée en jours pour la floraison, la hauteur de la plante, le nombre de gousses par plante, le poids de 100 graines et le rendement en graines par plante (Bakhiet *et al.*, 2015; Shivani, 2015).

2.1. Recherche sur la diversité génétique de *Vicia faba*

Certaines études ont rapporté qu'une grande variation génétique de la concentration en minéraux des graines a été trouvée parmi les géotypes de féveroles et de haricots communs en ce qui concerne la teneur en minéraux des graines (F. S. Baloch *et al.*, 2014; Talukder *et al.*, 2010). L'évaluation géotypique est significative pour la concentration en minéraux et peut être augmentée par la sélection parmi les géotypes (K. Baloch *et al.*, 2017; Bozokalfa *et al.*, 2009). Les coefficients de corrélation simples entre les composantes de rendement et de rendement ne sont pas appropriés pour déterminer le critère de sélection dans l'amélioration des cultures. L'effet indicatif et l'effet indirect via d'autres traits sur le rendement des semences en utilisant l'analyse des chemins est une condition préalable. L'analyse du coefficient de trajectoire a montré que le poids de 100 graines, le nombre de gousses par plante et le nombre de branches par plante avaient des effets positifs et directs sur le rendement en graines ; cependant, la hauteur de la plante et les jours précédant la floraison ont eu des effets négatifs directs sur le rendement en graines (P. Kumar *et al.*, 2017).

2.2. Bref Origine, distribution et Taxonomie de la fève.

La fève est affectée aux centres de diversité d'Asie centrale, de Méditerranée et d'Amérique du Sud et semble être originaire d'Afrique du Nord et d'Asie du Sud-Ouest, et largement cultivée ailleurs (Harlan, 1969; Zohary & Hopf, 2000). Cubero(1974) a postulé un centre d'origine du Proche-Orient, avec quatre rayons vers l'Europe le long de la côte nord-africaine jusqu'à l'Espagne, le long du Nil jusqu'à l'Éthiopie et de la Mésopotamie à l'Inde (Hawtin & Hebblethpiat, 1983). Des centres secondaires de diversité sont postulés en Afghanistan et en Éthiopie. Cependant, Hajjar & Hodgkin (2007) ont signalé que l'origine était l'Asie centrale. Les Chinois les utilisaient pour se nourrir il y a près de 5 000 ans, et ils ont été cultivés par les Égyptiens il y a 3 000 ans, par les Hébreux à l'époque biblique, et un peu plus tard par les Grecs et les Romains (Mihailovic *et al.*, 2005; A. K. Singh & Bhatt, 2012). Probablement, il a été introduit par les Européens comme culture de jardin en Inde pendant la période sultane (1206–1555), au cours de laquelle sa culture a été mentionnée (Naqvi, 1984; Razia Akbar , 2000). L'ancêtre sauvage et l'origine exacte de la féverole restent inconnus. Plusieurs espèces sauvages (*Vicia narbonensis* L. et *V. galilaea*Plitmann et Zohary) sont taxonomiquement étroitement liées à la culture, mais elles contiennent $2n = 14$ chromosomes, alors que la féverole cultivée a $2n = 12$ chromosomes (Cubero, 1974).

De nombreuses tentatives de croisement des espèces sauvages pour cultiver la féverole ont échoué (Hajjar & Hodgkin, 2007; Zohary & Hopf, 1973). Bien que, généralement classés dans le même genre *Vicia* que les vesces, certains botanistes le traitent dans un genre monotypique distinct comme *Faba sativa* Moench(Hanelt & Mettin, 1989; Zohary & Hopf, 2000). *V. faba* est une herbe annuelle avec des tiges grossières et verticales, non ramifiées de 0,3 à 2 m de haut, avec 1 tige ou hollower à partir de la base. Les feuilles sont alternes, pennées et se composent de 2 à 6 folioles chacune jusqu'à 8 cm de long et contrairement à la plupart des autres membres du Genre ; elle est sans vrilles ou avec des vrilles rudimentaires. La plante fleurit abondamment mais seule une petite proportion des fleurs produit des gousses.

Les fleurs sont grandes, blanches avec des marques violet foncé, portées sur des pédicelles courts en grappes de 1 à 5 sur chaque racème axillaire généralement entre le 5e et le 10e

nœud ; 1 à 4 gousses se développent à partir de chaque grappe de fleurs, et la croissance est indéterminée bien que des mutants déterminés soient disponibles (Hanelt & Mettin, 1989). Environ 30 % des plantes d'une population sont fertilisées de façon croisée et les principaux insectes pollinisateurs sont les bourdons. Il y a une racine du robinet robuste avec des racines secondaires abondamment ramifiées. En fonction de la taille des graines, deux sous-espèces ont été reconnues, paucijuga et faba. *V. faba* a un nombre chromosomique diploïde ($2n$) de 12, ce qui signifie que chaque cellule de la plante a 12 chromosomes (6 paires homologues). Cinq paires sont des chromosomes acrocentriques et une paire est métacentrique (Alghamdi, 2009; Hanelt & Mettin, 1989).

2.3. Diversité génétique pour le développement de nouvelles variétés

Les semences sont l'unité de base de tout système de production agricole sans semences de qualité, personne ne peut même penser à une bonne récolte. La production de semences de haute qualité de variétés améliorées ayant une haute qualité analytique, couplée à une capacité de germination élevée, à une vigueur et à une taille uniformément grande, nécessite des heures pour améliorer la culture du féverole dans ce pays (Loss, 2006). Une meilleure compréhension du modèle et de la dynamique des ressources génétiques de la fève (*V. faba* L.) est nécessaire pour comprendre et établir la relation entre le germoplasme collecté dans la région du Bihar. L'exploration des plantes et la collecte de germoplasme sont le moyen le plus rapide de collecter une variabilité modeste. À l'heure actuelle, la collection mondiale de germoplasme de féverole conservée dans diverses banques de gènes de semences/champs du pays respectif compte plus de 30 000 accessions (A. K. Singh & Bhatt, 2012). La caractérisation et l'évaluation préliminaire sont l'une des techniques importantes qui aident à élucider l'étendue et le modèle de la diversité agro-morphologique ainsi que moléculaire dans cette culture (A. K. Singh & Bhatt, 2012).

2.4. Analyse de la diversité par génotypage

Au niveau cytoplasmique, aucune variabilité n'a pu être détectée sur l'ADN chloroplastique parmi les génotypes de *V. faba* qui semblaient très conservés lors de la domestication, avec une variabilité étroite à l'origine (Shiran & Mashayek, 2004). En revanche, l'ADN mitochondrial présente une variabilité dans la séquence et la taille des plasmides ; dans certains cas, il est associé à la diversité des génomes nucléaires (Flamand *et al.*, 1993). Le génome nucléaire de *V. faba* est énorme, avec plus de 13 000 Mbp par rapport à l'espèce modèle de légumineuses *M. truncatula*, qui est estimée à 470 Mbp (Young *et al.*, 2003). Cette grande taille peut s'expliquer en grande partie par un nombre élevé de copies de rétrotransposons (Pearce *et al.*, 1996). Ces rétrotransposons, microsatellites et gènes sont à la base de la variabilité de la séquence qui peut être explorée dans les génomes. Des marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Link *et al.*, 1995), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Zeid *et al.*, 2003) et ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) ils ont été utilisés avec succès pour caractériser la variabilité génétique entre les génotypes de féveroles (Terzopoulos *et al.*, 2003). Les marqueurs de base de rétrotransposon à séquence répétée terminale longue ou les marqueurs de polymorphisme d'amplification spécifiques à la séquence. Sanz *et al.* (2007) pourraient faire la distinction entre les origines géographiques des génotypes de *V. faba*, mais pas entre les types *paucijuga*, mineur, *equina* ou majeur. Les marqueurs moléculaires ont été développés avec

succès pour soutenir les stratégies de sélection assistée par marqueurs pour la tolérance au stress biotique ou les traits de composition des graines de *V. faba* au sein des populations reproductrices (Avila *et al.*, 2004; Gutierrez *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2006).

La diversité génétique des races primitives de féveroles de différentes provinces de Chine a été comparée au germoplasme du reste du monde, à l'aide d'analyses AFLP de 459 accessions. Le matériel génétique d'hiver et de printemps a été analysé séparément à l'aide de 12 paires d'amorces (X. Zong *et al.*, 2009). Un dendrogramme des données pour la féverole printanière a montré que l'ensemble le plus diversifié d'accessions provenait du Canada. La féverole d'hiver de Chine s'est avérée distincte des pools de gènes d'hiver dans le reste du monde et des types de printemps en Chine (X. Zong *et al.*, 2009). Les races continentales de féveroles d'Afrique et d'Asie ont montré une certaine affinité dans le regroupement des dendrogrammes, et celles-ci étaient largement associées à des sources européennes. Dans le pool génétique hivernal en Chine, les accessions du Yunnan étaient les plus distinctes, suivies de celles du Sha' anxi (Bao *et al.*, 2006). Un autre type de marqueurs neutres qui sont utiles pour caractériser la variabilité génétique sont les microsatellites génomiques (SSR). Cette stratégie a été lancée dans le cadre du programme Generation Challenge (Sadiki *et al.*, 2006). Une collection composite mondiale de 1000 accessions de féveroles a été développée en collaboration entre ICARDA-Aleppo-Syrie, INRA-Dijon-France et CSIC-Cordoba-Espagne. Un test préliminaire réalisé avec 2 amorces conçues pour des motifs SSR génomiques et appliquées à 750 génotypes, a révélé 127 allèles ce qui indique un haut niveau de polymorphisme entre les accessions de féveroles. Les homologies et les synténies de séquences géniques entre *M. truncatula* et *V. faba* n'ont pas été documentées à ce jour, mais peuvent être prédites à partir de comparaisons déjà effectuées entre les espèces de papilionoidae (Choi *et al.*, 2004; Young *et al.*, 2003). Dans un avenir proche, sur la base de ces similitudes, les connaissances acquises sur les données génomiques de *M. truncatula* aideront à découvrir la diversité allélique de nombreux gènes de *V. faba*, soutenant ainsi les stratégies de génétique d'association. À cette fin, une méthodologie moléculaire appelée « Ecotilling » 2 a récemment été proposée pour révéler une diversité de séquence pour un gène donné, parmi de nombreuses ressources génétiques (Comai *et al.*, 2004).

3. Documentation

En partenariat avec ICARDA, l'ATFCC a aidé à développer une base de données d'interrogation en ligne de recherche/interrogation pour les traits descripteurs de la féverole. Il s'agit d'une adaptation de la base de données du Système international d'information sur les cultures (Portugal *et al.*, 2007). Le « central » de ce système d'information international Faba Bean (IFIS) se trouve à l'ICARDA, avec ATFCC comme nœud secondaire. La base de données permet de multiples requêtes sur les traits sélectionnés par le client (généralement un sélectionneur de plantes, un étudiant ou un universitaire), pour la sélection du matériel génétique qui peut être demandé en ligne. Les IFI effectuent également des recherches dans les bases de données de différentes collections et peuvent être affinées pour cibler les origines géographiques identifiées comme des « points chauds » pour les incidences de stress abiotique/biotique. La mesure dans laquelle les collections de germoplasme ont été caractérisées et évaluées est loin d'être complète dans de nombreux cas. Les utilisations alternatives de la féverole deviennent de plus en plus importantes ; le rapport de la réunion du

comité de coordination du réseau des cultures oléagineuses et protéagineuses de l'ECPGR Ambrose *et al.*(2006) a soutenu la nécessité d'évaluer de nouveaux traits tels que ceux liés à la tolérance au changement climatique, au système d'accouplement et à la relation entre les plantes et les pollinisateurs, ainsi qu'à de nouvelles utilisations telles que les bioréfinitions à des fins non alimentaires.

4. Recherche sur le stress abiotique

Jusqu'à aujourd'hui, l'amélioration de l'adaptation du féverole aux stress abiotiques a été principalement réalisée indirectement via la sélection pour le rendement céréalière. En dépit de ces progrès, une caractéristique commune principale de l'espèce – en dessous de sa tolérance de base au sol légèrement salin (Katerji *et al.*, 2011) et au gel doux – est sa préférence pour des conditions fraîches et humides, telles que le printemps et l'été en Angleterre ou les hivers et le printemps sensibles au stress de la sécheresse, qu'il s'agisse d'un déficit hydrique intermittent ou terminal (McDonald & Paulsen, 1997). Pour découvrir, comprendre et exploiter la variation génétique pour la tolérance au stress, le stress doit être spécifié. À titre d'exemple, le niveau et le schéma du stress de sécheresse appliqué varient considérablement entre les chercheurs (Grzesiak *et al.*, 1997; Nerkar *et al.*, 1981). Sous stress hydrique, la plante peut trouver une quantité d'eau pratiquement illimitée mais difficile à absorber ou une offre limitée d'eau comme lors d'une sécheresse terminale. Avec un stress intermittent, les plantes sont autorisées à récupérer. Néanmoins, les différences génétiques pour la récupération ont été à peine analysées jusqu'à présent (H. R. Khan *et al.*, 2010). Le stress dû à la sécheresse peut ou non être séparé du stress thermique, de la faible humidité de l'air et d'autres caractéristiques intermédiaires (Amede *et al.*, 1999).

5. Réponses au stress abiotique sur *Vicia faba*.

a. Sécheresse. En général, les traits prometteurs à analyser pour la tolérance à la sécheresse sont la morphologie des pousses et des racines et le modèle de développement opmental, l'anatomie à petite échelle telle que les caractéristiques des stomates, les traits physiologiques appartenant à l'ajustement osmotique ou à l'efficacité de l'utilisation de l'eau et les éléments connexes. Dans les climats tempérés et semi-arides, le développement rapide diminue généralement la pénalité de sécheresse. En Allemagne, les féveroles de printemps ont besoin d'environ 12 jours entre le semis et la première photosynthèse, tandis que, par exemple, les pois de printemps n'ont besoin que de 7 jours, principalement parce que les féveroles sont semées plus profondément, ont besoin d'une somme de températures plus élevée ($5700^{\circ}\text{C} > 3300\text{ C}$) que les pois et plus d'eau par graine (environ 3,8 g > 1,5 g) pour germer (Schmidtke, 2012). Les cultures et les mauvaises herbes plus petites réalisent, par rapport à la fève, une longueur d'avance. L'eau qui est transmise par les mauvaises herbes ou perdue par évaporation parce que la couverture du sol n'est pas encore réalisée augmente la menace de sécheresse future. D'autre part, la fermeture rapide de la canopée pour minimiser l'évaporation peut être un sujet mineur pour les haricots semés en automne. Les semis d'automne réduisent la précipitation due à la menace de sécheresse ; la couverture du sol ne se produira de toute façon qu'après l'hiver et beaucoup plus tôt qu'avec les semis de printemps ; et les grosses graines produisent des plantes juvéniles plus vigoureuses et à feuilles plus grandes. Cela peut indiquer que les fèves d'hiver sont plus grosses que les fèves

de printemps. La diversité génétique des réactions à la température et à la durée du jour ne semble pas limiter une approche opportune des féveroles adaptées localement à la floraison dans les nombreuses régions de culture établies (par exemple, la Chine, l'Éthiopie, la vallée du Nil, le bassin méditerranéen, l'Europe centrale, occidentale et du Nord, l'Amérique du Sud andine). Le mode de reproduction particulier du féverole est un autre moment de perte de temps, donc de risque accru de souffrir de la sécheresse. *Vicia faba* est partiellement fertilisé par les abeilles mellifères et les bourdons. Ses environ 40 % à 50 % de croisements sont fortement dépendants du génotype, du statut de consanguinité et de l'environnement réel (Palmer *et al.*, 2009). La sécheresse a considérablement réduit l'autofécondation, réduisant ainsi les possibilités d'évasion par un développement rapide (Stoddard, 1986). Les perspectives de morphologie monogénétique altérée telles que les types d'inflorescence terminale, les types stables (raide-paille) et les types d'approvisionnement vasculaire indépendants pour les environnements secs suscitent peu d'optimisme (Frauen & Sass, 1989; Patrick & Stoddard, 2010). Aucun cultivar à paille raide (Boss, Mythos) n'est plus sur le marché, malgré ce type causant des tiges plus courtes, plus minces et des leaflets plus petits, caractéristiques candidates d'un idéotype tolérant à la sécheresse. Le type « inflorescence terminale » peut promettre une évasion en raison d'une maturité plus précoce, mais il est à peine discuté en relation avec l'évasion par la sécheresse. L'« approvisionnement vasculaire indépendant », inventé par Gates *et al.* (1983) pour réduire la concurrence intra-raceme entre les gousses, a été « discrètement abandonné » (Link, 2009; Patrick & Stoddard, 2010).

Müller & Wilfried (1986) ont comparé le faverole de printemps cv. Diana à l'avoine de printemps cv. Leanda pour les caractéristiques racinaires et stomatiques sur deux ans dans des essais sur le terrain. La majorité des racines du haricot faba ont été trouvées à moins de 1 m de profondeur du sol, tandis que l'avoine a des racines jusqu'à 1,5 m de profondeur. Ces résultats confirment que l'avoine pourrait extraire plus d'eau du sol. De plus, le féverole a montré une conductance des stomates inférieure à 4 g H₂O/(m² s), comparativement à environ 8 g H₂O/(m² s) d'avoine. Ainsi, la féverole se caractérise par une fermeture précoce et très sensible des stomates, évitant une perte d'eau marquée. Un tel comportement réduit la capacité de rendement des fèves. Les éleveurs devraient préparer le développement maximal de la fève d'environ deux semaines – c'est promis par les fèves d'hiver. De plus, la longueur et la profondeur des racines devraient être génétiquement augmentées et l'ombrage mutuel de la canopée de la féverole pourrait être diminué par la reproduction.

En ce qui concerne l'activité de la nitrogénase, on a constaté que le féverole était le plus sensible à la sécheresse au moment de la floraison (Plies-Balzer *et al.*, 1995). Pourtant, la concentration d'azote dans les plantes stressées n'a jamais été réduite par rapport au témoin, de sorte que la fixation de l'azote en cas de sécheresse n'est apparemment pas un facteur majeur limitant le rendement. Dans les légumineuses, nous voyons cette discussion générale de la concurrence entre les éviers végétatifs et les éviers reproducteurs. Une légère pénurie d'eau pendant la floraison est favorable, car elle limite la croissance végétative permettant un indice de rendement et de récolte aussi élevé que dans des conditions non limitatives en eau (Grashoff, 1990).

Karamanos (1978) conclut à partir d'études de terrain qu'un stress léger peut en outre provoquer un durcissement progressif d'une culture de féveroles, démontré par une réponse moindre à la sécheresse future du nombre de feuilles et de la surface foliaire que s'il n'était pas durci. Un stress antérieur peut, comme le montre Davies (1978), diminuer considérablement la sensibilité des stomates à un stress réel. Ainsi, le durcissement à la sécheresse doit être une caractéristique qui améliore l'état de l'eau en période de sécheresse. Amede *et al.* (1999) et Link *et al.* (1999) ont convenu de la corrélation entre une faible hauteur de plante et une tolérance élevée à la sécheresse, de sorte que les sélectionneurs peuvent choisir le modèle de hauteur de plante héréditaire plus élevé comme indicateur des réactions de rendement. Un idéotype simple sous drought pourrait être de type xéromorphe, avec de petites feuilles épaisses, des cuticules épaisses, peu, de petits stomates. Pourtant, Nerkar *et al.* (1981) ont constaté qu'un type grand et à grandes feuilles tel que Wierboon avec une transpiration élevée par surface foliaire et une efficacité élevée de l'utilisation de l'eau serait caractérisé comme tolérant à la sécheresse. Wierboon avait un taux de croissance élevé, un taux d'assimilation net élevé, et les auteurs concluent à partir de leurs données que la sélection pour une efficacité supérieure de l'utilisation de l'eau pourrait bien être effectuée sous une irrigation adéquate ainsi que dans des conditions de stress.

Les avis sont partagés quant à l'ajustement osmotique (Serraj & Sinclair, 2002), basés sur des expériences en serre, ont expliqué les différences génétiques évidentes entre l'accumulation de soluté principalement par l'accumulation différentielle due à la perte d'eau différentielle et non par la synthèse active de soluté. Les auteurs concluent qu'il n'y avait pas de véritable ajustement osmotique dans ce matériau. Semblable à Amede *et al.* (1999), Katerji *et al.* (2011) ont constaté que le cv. Superaquadulce n'a pas répondu avec un ajustement osmotique au stress hydrique. Balko (2005) s'accorde sur une faible capacité d'adaptation osmotique de la féverole. Pourtant, une accumulation élevée de proline allait de pair avec une dépression à faible rendement due au stress. H. R. Khan *et al.* (2010) doutent que la fève puisse activement ajuster la turgescence et le potentiel osmotique en réponse à la sécheresse.

5.1. Variation des traits et adaptation aux conditions abiotiques

En tant qu'ancienne culture domestiquée adaptée à une vaste gamme de latitudes et d'altitudes, cultivée pendant les saisons d'hiver et de printemps, et ayant une diversité d'utilisations pour l'alimentation humaine et animale, *V. faba* offre une énorme variabilité génétique à des fins de reproduction. La sélection pour l'adaptation sur un large éventail d'environnements agro-écologiques a conservé des gènes déterminant la tolérance au stress biotique et abiotique, l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote, le potentiel de rendement et la composition des semences. L'évaluation des collections de germoplasme ex situ des races cultivées (variétés traditionnelles des agriculteurs) est essentielle à l'utilisation des ressources génétiques pour l'amélioration des cultures (Maxted *et al.*, 2000). Les données des passeports décrivant les sites où les races terrestres sont collectées et l'identification des espèces fournissent des données de base sur les accessions dans les collections de germoplasme. Une grande valeur est ajoutée à ces collections lorsque des données sur le stress agronomique, biotique/abiotique, le rendement céréalier et la qualité sont disponibles pour les accessions individuelles, permettant aux

sélectionneurs de mieux cibler et exploiter les ressources génétiques dans les programmes de sélection végétale (Redden *et al.*, 2007).

D'importants investissements dans la découverte de la variabilité génétique et également dans l'activité d'élevage pour des caractères d'intérêt agronomique ont été réalisés pour la féverole à la fin du XXe siècle dans les pays européens et également à l'ICARDA Syrie (Ambrose *et al.*, 2006; Bond *et al.*, 1985; Duc, 1997; Link, 2006). Les déterminismes cytoplasmiques et nucléaires de la stérilité masculine, diverses architectures ou couleurs de fleurs et divers niveaux d'autofertilité et d'attractivité pour les insectes pollinisateurs ont été décrits ; cela pourrait aider à manipuler les niveaux de croisement (Duc, 1997; Link, 2006; Link *et al.*, 1994).

Une grande diversité de précocité et de durée de floraison, d'architectures de tiges (longueur entre-nœuds, ramification, croissance déterminée, tige raide) offrent la possibilité d'adapter la culture à diverses pratiques agronomiques (par exemple, semis hiver/printemps, intercultures) et zones climatiques. Des niveaux élevés de tolérance au gel ont été trouvés chez les races terrestres françaises *et* allemandes (Arbaoui *et al.*, 2008; Arbaoui & Link, 2006) ; cela a été utile pour l'élevage de cultivars d'hiver, réduisant le stress de la sécheresse à la floraison grâce à une maturité plus précoce et augmentant les zones de culture vers des zones plus continentales. Des génotypes tolérants à la sécheresse ont également été décrits - il s'agit d'une exigence cruciale dans les régions méditerranéennes confrontées à un changement climatique important. La variabilité de l'activité de fixation de l'azote a été révélée pour certains génotypes ou certaines interactions génotypes souche Rhi-Rhizobium (Duc *et al.*, 1987; El-Sherbeeney *et al.*, 1977).

Les géniteurs de résistance ou de tolérance aux stress biotiques majeurs ont été examinés par Duc(1997), Torres *et al.*(2006) et Link (2006). La résistance aux principaux champignons pathogènes a été décrite (*Botrytis fabae*, *Ascochyta fabae*, *Uromyces viciae-fabae*, *Fusarium sp.*, *Microsploa erapennicillata*, *Erysiphe polygoni*) et certains d'entre eux ont été utilisés dans des programmes d'élevage. Il existe des niveaux modérés de résistance au virus du rouleau de feuilles de haricot et au virus de la mosaïque jaune de haricot. La tolérance au balai (*Orobanche crenata* Forsk.) a été identifiée, ce qui est précieux dans les programmes d'élevage dédiés à la zone méditerranéenne (Rubiales *et al.*, 2006). *V. faba* peut être infesté par des nématodes (*Ditylenchus dipsaci*), et quelques génotypes se sont révélés résistants (Caubel & Leclercq, 1989). Parmi les principaux ravageurs attaquant la culture de la féverole, une certaine résistance partielle à *Aphis fabae* a été identifiée (Holt & Wratten, 1986) alors qu'aucune variabilité n'a été décrite pour *Sitona lineatus* ou *Bruchus raphanus*, bien que des résistances à des ravageurs similaires aient été trouvées dans d'autres légumineuses (Redden *et al.*, 2005; P. P. Sharma *et al.*, 2017; Stevenson *et al.*, 2007).

Selon le génotype, le poids d'une seule graine varie de 0,2 à 2,6 g et une seule gousse porte 2 à 10 ovules. La composition de la graine est également variée pour la teneur en protéines, allant de 25 à 37% de la matière sèche de la graine avec un héritage quantitatif, tandis que les déterminations oligogéniques du caractère zéro tanin et des faibles teneurs en vicine et convicine dans la graine ont été identifiées (Duc, 1997; Stevenson *et al.*, 2007).

5.2. Symbiose sous stress abiotique

Les légumineuses sont capables d'établir une symbiose intime avec les bactéries du sol qui fixent l'azote, collectivement appelées rhizobiums. Cette interaction symbiotique entraîne la formation d'un organe unique, le nodule, où le N₂ atmosphérique est réduit en ammonium sous une forme différenciée des bactéries rhizobium (bactéroïdes) via une fixation symbiotique de l'azote (SNF). Cette N réduite est exportée du nodule vers la plante entière, de sorte que la plante obtient une source d'azote et que les bactéries sont fournies en échange avec des photoassimilats. Pour qu'une interaction de symbiose réussie se produise, les exigences environnementales des deux partenaires doivent être satisfaites. Tout stress abiotique qui altère les conditions du sol, comme la sécheresse, la température élevée, le sel ou l'acidité du sol, affecte également la communauté microbienne du sol, compromettant ainsi l'interaction symbiotique (Tate, 2000). En général, les rhizobiums sont plus tolérants au stress que leur hôte végétal respectif (Zahran, 1999), présentant différentes stratégies d'adaptation, y compris les processus d'osmorégulation et d'entretien de l'homéostasie (Ghittoni & Bueno, 1996; Priefer *et al.*, 2001). Par exemple, (Domínguez-Ferreras, Munoz, *et al.*, 2009; Domínguez-Ferreras, Soto, *et al.*, 2009) ont montré l'importance de l'absorption du potassium et du métabolisme du tréhalose pour l'osmotolérance à *Sinorhizobium meliloti*. D'autres réponses telles que la modification de la morphologie cellulaire ou le patron polysaccharidique extracellulaire ont également été observées (Vriezen *et al.*, 2007). Le rôle du microsymbionte conférant une tolérance au stress à l'hôte a été démontré pour les souches de *Sinorhizobium* surproduisant des cytokines (J. Xu *et al.*, 2012). Cependant, la tolérance de l'hôte légumineux détermine fortement l'efficacité de l'interaction symbiotique dans des conditions de stress (Zahran, 1999). Les différentes étapes de l'interaction plante-bactérie, du frisage des poils racinaires, de la colonisation bactérienne, de la formation du fil infectieux et du développement des nodules sont fortement réduites dans des conditions de stress, influençant le succès du processus de l'ans (Zahran & Sprent, 1986). La réduction du taux d'ans a été décrite à la fois dans le modèle (Gil-Quintana *et al.*, 2013; Larrainzar *et al.*, 2009) et dans les légumineuses cultivées (Gil-Quintana *et al.*, 2013; Palma *et al.*, 2013) lorsqu'elles sont exposées à la sécheresse et aux stress salins. Dans ce contexte, il convient de noter que les études sur *L. japonicus*, le modèle génétique des légumineuses formant des nodules déterminés, sont rares et que l'état de l'art est principalement basé sur le pois, le soja, le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) et *M. truncatula*. Malgré des efforts de recherche considérables, le ou les mécanismes moléculaires responsables de l'inhibition des ans restent largement inconnus. La complexité du processus des ans et l'environnement particulier où il se produit augmentent le nombre de facteurs possibles altérant ce processus sous stress abiotique. Parmi eux, plusieurs facteurs inhibiteurs ont été proposés, notamment la limitation de l'oxygène, la pénurie de carbone et la régulation par le métabolisme de l'azote. Bien que la sécheresse, à l'instar d'autres stress abiotiques, provoque une augmentation de la résistance nodulaire à la diffusion de l'oxygène (Durand *et al.*, 1987), l'augmentation de la concentration d'oxygène autour de la rhizosphère des nodules soumis à la sécheresse ne rétablit pas complètement les taux d'ans, ce qui suggère que d'autres

des facteurs peuvent être impliqués (Del Castillo L. D. & Layzell, 1995). Plusieurs études réalisées sur des légumineuses à grains (c.-à-d. pois, soja, haricot commun) soumises à la sécheresse ont montré que la réduction des taux d'ans était liée à une inhibition concomitante

de l'activité de la saccharose synthase, suivie d'une accumulation de saccharose et d'une diminution du malate pour alimenter la respiration des bactéroïdes (Ramos *et al.*, 1999). Néanmoins, une cause différente a été suggérée pour la luzerne légumineuse fourragère (*Medicago sativa*) (Naya *et al.*, 2007) et *M. truncatula* (Larrainzar *et al.*, 2009), car l'inhibition du SNF s'est produite avant toute baisse mesurable du taux d'activité ou de la concentration des enzymes du métabolisme du carbone des nodules. À cet égard, le niveau de malate n'a pas montré de changements significatifs dans ces légumineuses fourragères (Larrainzar *et al.*, 2009; Naya *et al.*, 2007), ce qui suggère qu'un mécanisme de régulation différent peut avoir lieu dans les légumineuses fourragères par rapport aux légumineuses à grains. En ce sens, une importante accumulation d'acides aminés a été observée à l'origine chez *M. sativa* exposée au stress salin (Fougere *et al.*, 1991) et, plus récemment, López-Gómez *et al.* (2012) ont identifié plusieurs osmoprotecteurs de nodules ayant un rôle putatif sur le stress salin chez *L. japonicus* par rapport à *M. truncatula*. Dans les feuilles de légumineuses modèles et fourragères du genre Lotus, Sanchez *et al.* (2012) ont noté la grande diversité des réponses entre les différentes espèces et des similitudes partielles entre les métabolites sensibles au sel et à la sécheresse. Néanmoins, les informations sont encore limitées et d'autres études sont nécessaires pour bien comprendre le rôle du métabolisme du carbone sur la régulation des ans dans les différents modèles et légumineuses cultivées.

6. Propriétés nutritionnelles.

Dans de nombreux pays, seules dix-huit espèces de cette plante ont été largement cultivées. Mais, globalement, plus de 80 espèces différentes de *V. faba* ont été rapporté. Cette plante a été largement cultivée par les agriculteurs car le rendement de la culture est plus élevé et elle peut être stockée pendant une longue période. Le transport est très facile, où les agriculteurs obtiennent plus de bénéfices que toute autre culture. Pour les agriculteurs, indépendamment de ces avantages commerciaux, la plante a la faculté de régler l'azote atmosphérique, ce qui augmente finalement la fertilité du sol. Elle est également connue pour être une culture couverte car elle évite l'érosion du sol. En dehors de ceux-ci, la particularité de *V. faba* est son coût économe et une bonne source de protéines. La teneur en protéines était équivalente à la teneur en protéines de la viande et de la viande. Par conséquent, il est couramment verbalisé comme « la viande du pauvre » (Macarulla *et al.*, 2001). Dans la région méditerranéenne, en raison de son rendement supérieur et de sa valeur nutritive, le fruit est un aliment riche en protéines pour l'homme et il est largement utilisé comme aliment pour animaux. En Égypte, *V. faba* est l'une des cultures primordiales et elle est consommée par la population sous forme de gâteaux, de pâte et de soupe (Hendawey & Younes, 2013).

Les données analytiques du fruit *V. faba* ont révélé que le fruit contient une valeur nutritionnelle élevée et qu'il est opulent en protéines, en glucides, en vitamines volutes, en acide folique, en niacine et en vitamine C, en fibres alimentaires et en macro et micro nutriments. Principalement, la partie miteuse du *V. faba* était opulente en glucides (51-68%), suivie des protéines (20-41%). Les fractions de protéines ont été isolées à partir des composants du *V. faba*, et il était composé de globulines (79%), d'albumines (7%) et de glutélines (7%). Les protéines ont été extraites des graines de *V. faba* à l'aide de divers solvants. Parmi ceux-ci, un maximum de 92 % de protéines a été extrait de la graine par extraction alcaline. Là où, une plus petite quantité

de teneurs antinutritionnelles comme la vicine et la covicine, l'activité anti-radicalaire de l'ABTS, des teneurs élevées en lipides ont également été trouvées. De plus, des quantités élevées de polyphénols étaient abondantes dans l'extraction de l'hexane (Vioque *et al.*, 2012). Les graines étaient riches en polyphénols (PASTOR-CAVADA *et al.*, 2011). Outre la nutrition majeure, des micronutriments étaient également présents dans le fruit. Les minéraux conséquents étaient tels que Ca, P, K, Mg, Na, S, Al, B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn. Ces données de *V. faba* sont une désignation que *V. faba* était un régime opulent pour la consommation des humains et ainsi que pour les animaux (Giménez *et al.*, 2012; R. Yang *et al.*, 2011). L'amélioration sera plus bénéfique dans les cas comme la maladie de Parkinson. Récemment, 134 composés bioactifs étaient des composés biologiquement actifs nouvellement identifiés. C'est une découverte importante qui peut également avoir un impact sur la nutrition et la médecine (M. A. Ibrahim *et al.*, 2017).

Les aspects nutritionnels ont également été confiés aux régions, au temps de germination et à la variété. Dans une étude récente, de nombreuses variations du contenu nutritionnel ont été observées dans les caractéristiques des graines, les propriétés phénoliques, phytates, phytases et antioxydantes de treize fèves à faible teneur en tanin. Ces géotypes n'ont été trouvés qu'à deux endroits dans le centre-nord de l'Alberta. En détail, l'analyse des données multivariées a été réalisée en utilisant l'analyse en composantes principales (ACP) sur 19 composantes de *V. faba*. Cette analyse a montré une composante phénolique élevée, qui était relativement identique à la quantité de tanin, une activité phytase élevée et une faible teneur en acide phytique (Oomah *et al.*, 2011). Alors que les graines en germination de *V. faba* contiennent une activité phytase élevée. La teneur en phytase de *V. faba* était plus élevée que celle d'autres céréales telles que le blé, l'orge et l'épeautre (Greiner & Jany, 1997).

Les niveaux de lipides biologiquement importants étaient abondants dans les graines de *V. faba*. Les huiles de graines se sont avérées opulentes en teneur lipidique totale (2,30 à 3,91%). Alors que des acides adipeux saturés comme l'acide pamiitique, l'acide stéarique et les acides adipeux insaturés myristiques, pentadécanoïques, arachidiques, béhéniques, oléiques, linoléiques et linoléniques étaient présents. Les valeurs de teneur élevée en lipides étaient utilisables pour générer des calories à haute énergie pour les humains (Akpınar *et al.*, 2001).

6. Propriétés antioxydantes

Les antioxydants jouent un rôle très crucial chez l'homme, qui engloutit les radicaux libres et protège de diverses maladies (H. Saha *et al.*, 2015). Le fruit *V. faba* enrichi en antioxydants et ces antioxydants diffusent les radicaux libres réactifs de l'oxygène en l'engloutissant. Dans une étude, la forme la plus pure de composés polyphénoliques a été isolée de *V. faba* afin d'évaluer ses propriétés chimio-préventives contre les topoisomérases. Alors que, l'effet de neuf composés polyphénoliques a été évalué, parmi neuf composés polyphénoliques, peu de composés inhibaient toutes les activités enzymatiques et certains des composés inhibaient une enzyme catégorique parmi les topoisomérases de germes de blé (IC 50 :120-350 µg), la topoisomérase humaine (IC 50: 110-260 µg) et la topoisomérase humaine (IC 50 : 240-600). Cette faculté d'inhibition des topoisomérases par les composés polyphénoliques de *V. faba* indique son potentiel en tant qu'agent anticancéreux (Tselepi *et al.*, 2011).

L'activité antioxydante phénolique et la lévo-dihydroxy phénylalanine (L-DOPA) présentes dans les graines de *V. faba* peuvent être stimulées en les exposant à une courte impulsion de micro-ondes ainsi qu'à un stress thermique. Dans une étude, Les teneurs phénoliques, la glucose-6-phosphate déshydrogénase, la gaïacol peroxydase, la superoxyde dismutase étaient augmentées, lorsque les graines étaient exposées à de courtes pluses de micro-ondes avec un stress thermique pendant huit jours. En intégration, une augmentation de 59% de la L-DOPA, une augmentation de 700% du contenu phénolique ont été observées (Randhir & Shetty, 2003). La L-Dopa est un composant majeur des médicaments, qui est utilisé pour traiter la maladie de Parkinson. Par conséquent, *V. faba* peut être recommandé comme complément alimentaire majeur pour les personnes atteintes de la maladie de Parkinson ((H. Ray & Georges, 2010). En outre, la synthèse de L-DOPA par la voie du pentose phosphate peut être améliorée dans les pousses de *V. faba* par des éliciteurs comme H₂O₂, l'acide ascorbique, la poudre de jus de canneberge, l'acide ellagique et l'acide rosmarinique(Randhir *et al.*, 2006; Randhir & Shetty, 2007; Vattem *et al.*, 2005). L'amélioration sera plus bénéfique dans les cas comme la maladie de Parkinson(Khazdair *et al.*, 2021).

Chapitre III : Plante et stress salin : Réponses et mécanismes de tolérance

1. Introduction

La salinité excessive dans le sol est l'un des principaux facteurs qui limitent la propagation des plantes dans leurs habitats naturels. C'est un problème toujours croissant dans les régions arides et semi-arides (Shannon & Grieve, 1998). Fischer & Turner (1978) estiment que les terres arides et semi-arides représentent environ 40 % de la superficie de la terre. Les stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse et les températures élevées ont des effets indésirables sur la productivité et la qualité des cultures, ainsi que des tendances négatives en matière d'agriculture durable (Shrivastava & Kumar, 2015). La salinité en particulier est un facteur limitant important, provoquant un faible rendement avec une qualité inférieure. Le changement climatique est considéré comme l'un des principaux facteurs contribuant à la salinisation des sols, conduisant à la dégradation des terres et à la désertification (Rogel *et al.*, 2013). Un défi majeur pour l'agriculture mondiale implique la production de 70% de cultures vivrières supplémentaires pour 2,3 milliards de personnes supplémentaires d'ici 2050 dans le monde (Faostat, 2009). La salinité est un stress majeur limitant l'augmentation de la demande de cultures vivrières. Plus de 20 % des terres cultivées dans le monde (environ 45 hectares) sont affectées par le stress salin et la quantité augmente de jour en jour. Les plantes sur la base de l'évolution adaptative peuvent être classées grossièrement en deux grands types : les halophytes (qui peuvent résister à la salinité) et les glycophytes (qui ne peuvent pas résister à la salinité et éventuellement mourir). La majorité des principales espèces cultivées appartiennent à cette deuxième catégorie. Ainsi, la salinité est l'un des stress environnementaux les plus brutaux qui entravent la productivité des cultures dans le monde (Flowers, 2004; Munns & Tester, 2008). Le stress salin implique des changements dans divers processus physiologiques et métaboliques, en fonction de la gravité et de la durée du stress, et inhibe finalement la production végétale (James *et al.*, 2011; Rozema & Flowers, 2008).

Selon Flowers *et al.* (1997), une forte concentration de sel est responsable d'impacts négatifs sur 7% de la surface totale des terres et 5% des terres cultivées. La mauvaise qualité de l'eau d'irrigation est un autre facteur important contribuant à la salinisation du sol (Rubio *et al.*, 2010). Pour ces raisons, la salinisation du sol est une cause majeure de réduction de la productivité des terres irriguées et pluviales du monde (Ghassemi *et al.*, 1995; Shahid *et al.*, 2020). La propriété de tolérance à la salinité n'est pas un attribut simple, mais elle est le résultat de diverses caractéristiques qui dépendent de différentes interactions physiologiques, qui sont difficiles à déterminer. L'aspect morphologique présenté par la plante en réponse à la salinité peut ne pas être suffisant pour déterminer son effet, il est donc important de reconnaître d'autres facteurs physiologiques et biochimiques, notamment les ions toxiques, le potentiel osmotique, le manque d'éléments et d'autres troubles physiologiques et chimiques, ainsi que les interactions entre ces divers stress (Hasegawa *et al.*, 2000; Munns, 2002; Neumann, 1997).

Les traits complexes, tels que les tolérances au stress abiotique, sont difficiles à sélectionner pour l'utilisation de la sélection classique. Par conséquent, une approche prometteuse consiste à intégrer les traits de tolérance à la sécheresse/au sel par le biais du génie génétique dans les variétés existantes afin d'améliorer la tolérance à la sécheresse/au sel. Les gènes porteurs de ces traits sont maintenant en ligne et, appliqués conjointement avec la sélection traditionnelle, peuvent offrir aux agriculteurs de nouvelles variétés durables capables de répondre à des

conditions de disponibilité limitée en eau. L'ingénierie des plantes cultivées tolérantes à la sécheresse/au sel est un objectif de longue date et intensément recherché. Un large éventail de gènes codant pour différentes protéines structurales et régulatrices ont été rapportés et/ou ont été utilisés au cours des dernières décennies pour développer des plantes transgéniques tolérantes au stress abiotique (Bhatnagar-Mathur *et al.*, 2008).

Une forte concentration d'ions Na et Cl, par exemple, peut conduire à des processus biochimiques qui peuvent s'avérer mortels pour les plantes (Flowers *et al.*, 2015; J.-K. Zhu, 2000). La toxicité du sodium et du chlorure induit non seulement des troubles nutritionnels, mais provoque également une sécheresse physiologique en réduisant le potentiel osmotique des solutions du sol (A. Khan *et al.*, 2023). La salinité du sol empêche la plante d'absorber l'eau du sol, ce qui entraîne une diminution de l'eau cellulaire, affectant ainsi la turgescence cellulaire. La salinité du sol affecte également négativement l'activité photosynthétique de la plante et encourage la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), réduisant ainsi la croissance des plantes (N. Khan & Bano, 2015). Une concentration élevée de Na⁺ inhibe l'absorption des ions K⁺, ce qui est un élément essentiel pour la croissance et le développement qui entraîne une baisse de la productivité et peut même entraîner la mort (James *et al.*, 2011). En réponse au stress salin, la production de ROS, tels que l'oxygène singulet, le superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène, est augmentée (Apel & Hirt, 2004). La formation de ROS induite par la salinité peut entraîner des dommages oxydatifs dans divers composants cellulaires tels que les protéines, les lipides et l'ADN, interrompant les fonctions cellulaires vitales des plantes. L'influence néfaste de la salinité sur le nombre de feuilles augmente également avec l'augmentation de la concentration (Gama *et al.*, 2007; Ha *et al.*, 2008; Jamil *et al.*, 2005; Raul *et al.*, 2021). De nombreuses études ont montré que les poids frais et sec du système de pousses sont affectés, négativement ou positivement, par des changements dans la concentration de salinité, le type de sel présent ou le type d'espèces végétales (Jamil *et al.*, 2005; Memon *et al.*, 2010; Rahimi *et al.*, 2018; Saffan, 2008; Taffouo *et al.*, 2010; Turan *et al.*, 2009). Des changements dans les relations de l'eau des plantes stressées par la salinité peuvent être observés dans certaines études qui confirment que de nombreuses plantes subissent une régulation osmotique lorsqu'elles sont exposées au stress salin en augmentant la négativité du potentiel osmotique de la sève foliaire (Gama *et al.*, 2007, 2009; Kaymakanova, 2009; Kaymakanova & Stoeva, 2008; Rodriguez *et al.*, 1997).

2. Les effets du stress salin

2.1. Sur la germination :

Le stress salin a un impact significatif sur la germination des graines dans diverses espèces végétales. Des études ont indiqué que le stress salin peut entraîner une diminution du pourcentage de germination et de la vitesse des graines (Gorai & Neffati, 2007). L'effet inhibiteur de la salinité sur la germination des graines est souvent associé à l'induction de la synthèse de l'ABA, ce qui peut entraver le processus de germination (Li *et al.*, 2016). De plus, le stress salin affecte la germination des graines par des effets osmotiques et ioniques, ce qui peut retarder ou réduire la germination (J. Lin *et al.*, 2011). Des niveaux élevés de stress salin ont été trouvés pour inhiber la germination des graines, tandis que des niveaux plus faibles

peuvent induire la dormance (Papastylianou *et al.*, 2018). En outre, l'impact de la salinité sur la germination des graines peut être influencé par des facteurs tels que la température. Les effets négatifs de la salinité sur la germination des graines sont moins graves à des températures optimales, suggérant une interaction potentielle entre la salinité et la température pour affecter la germination (Zhang, *et al.*, 2021). De plus, la présence de sels spécifiques dans la composition du sol peut avoir des effets variables sur la germination des graines, les chlorures étant plus nocifs que les sulfates (Belovolova, 2020). L'amorçage des graines a été identifié comme une stratégie potentielle pour atténuer les effets du stress salin sur la germination. Des études ont montré que l'amorçage des graines avec des substances comme le chlorure de calcium peut améliorer les pourcentages de germination dans des conditions de stress salin (Mohanrao *et al.*, 2023). De plus, l'utilisation de régulateurs de croissance comme l'acide gibbéréllique et l'acide salicylique a été trouvée pour améliorer la germination sous stress salin, indiquant le potentiel des traitements hormonaux pour atténuer les impacts négatifs de la salinité sur la germination des graines (Sahil, 2016).

2.2. Sur la production biomasse

Le stress salin a été identifié comme un facteur important affectant la production de biomasse chez diverses espèces végétales. Des études ont montré que l'augmentation des niveaux de salinité peut entraîner une réduction de la biomasse des pousses, de la longueur des racines, du rendement des tubercules, du taux de photosynthèse, de la conductance stomatique et du potentiel hydrique des feuilles, tout en augmentant la concentration d'acide abscissique (Akhtar *et al.*, 2015). L'impact de la salinité sur la production de biomasse a été observé sur différents types de plantes, y compris les graminées bioénergétiques comme *Miscanthus × giganteus*, où une diminution progressive de la biomasse sèche a été observée avec des niveaux de salinité croissants (Stavridou *et al.*, 2016). En outre, le stress salin avait un impact négatif sur la production de biomasse dans des cultures comme l'orge, les modèles indiquant une diminution de la production de biomasse attendue par rapport aux conditions non salines (Hammami *et al.*, 2020). Le stress salin peut également affecter la production de biomasse de cultures sensibles au sel telles que les haricots, en particulier dans des régions comme le sud de la Floride où les sols salins sont répandus (Garcia *et al.*, 2019). En outre, la combinaison de la salinité avec d'autres facteurs de stress tels que la sécheresse et les températures élevées réduit davantage la biomasse végétale et le rendement en céréales (Abbas *et al.*, 2023). L'atténuation des effets de la salinité sur la production de biomasse a été explorée à travers diverses approches. Par exemple, l'application de biochar atténue le stress salin dans des cultures comme la pomme de terre, ce qui améliore la biomasse et le rendement des pousses dans des conditions salines (Akhtar *et al.*, 2015). De même, l'utilisation de régulateurs de croissance comme l'acide salicylique augmentait la biomasse dans des conditions non salines (Wasti *et al.*, 2022).

2.3. Sur l'inhibition de la croissance des racines.

Comme mentionné ci-dessus, les plantes ont développé des stratégies pour coordonner les signaux hormonaux afin de moduler dynamiquement leur croissance spatiale et de remodeler leur architecture en réponse aux changements environnementaux. Les racines sont les organes de première ligne en contact avec le sel dans le sol, et elles doivent s'adapter afin de maintenir la croissance et l'absorption des nutriments et de l'eau. Le stress salin réduit généralement la

masse racinaire et modifie la distribution des différents composants de l'architecture du système racinaire, affectant différemment le taux de croissance de la racine principale et des racines latérales et inhibant la formation de racines latérales. Des plates-formes de phénotypage automatisées ont été développées pour les systèmes d'imagerie en deux et trois dimensions, permettant la capture de la croissance dynamique des racines en réponse à des facteurs environnementaux (Julkowska *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2017; Rellán-Alvárez *et al.*, 2015).

L'inhibition par le sel des racines principales et latérales a été observée après 4 à 8 jours (Julkowska *et al.*, 2014; Pfister *et al.*, 2014). Le sel réduit l'élongation latérale des racines chez *Arabidopsis Col-0*, mais ne semble pas affecter la densité latérale des racines lorsqu'il est observé macroscopiquement, en comptant les racines latérales émergées (Julkowska *et al.*, 2014). Pourtant, le développement des racines latérales est partiellement bloqué par le stress salin aux stades de développement V–VI juste avant l'émergence (Duan *et al.*, 2015; McLoughlin *et al.*, 2012). La croissance des racines latérales est modulée principalement par l'auxine (Lavenus *et al.*, 2013). Les FRA sont des médiateurs cruciaux pour le développement des racines latérales en réponse aux facteurs de stress abiotiques, y compris le sel. À titre d'exemple, l'ARF4 post transcriptionnellement ciblé par le microARN390 est impliqué dans le développement des racines latérales sous sel chez le peuplier, tandis que l'ARF7 est SUMOylé post-traductionnellement sur le côté sec des racines d'*Arabidopsis* (He *et al.*, 2018; Orosa-Puente *et al.*, 2018). La SUMOylation affecte négativement l'activité de liaison de l'ADN d'ARF7 au promoteur de la LBD16, affectant l'initiation latérale des racines lors de l'hydropatterning (Orosa-Puente *et al.*, 2018). Bien qu'il ait été rapporté que la SUMOylation affecte également les réponses salines (Conti *et al.*, 2008), son rôle dans l'architecture racinaire affectée par le sel est inconnu. Outre l'auxine, la signalisation de l'ABA endodermique est nécessaire pour la quiescence de la croissance des racines latérales induite par le sel (Duan *et al.*, 2015). Une étude a montré que la voie de signalisation centrale ABA-SnRK2.2/SnRK2.3/SnRK2.6 favorise la quiescence de la croissance des racines latérales induite par le traitement ABA (Y. Zhao *et al.*, 2014). Fait intéressant, la même étude a montré que PYL8 favorise la récupération de la croissance des racines latérales en interagissant avec MYB77 pour améliorer la signalisation de l'auxine et que l'auxine est capable de restaurer le phénotype des racines latérales des mutants knock-out de *pyl8*. D'autre part, la SnRK2.10 indépendante de l'ABA affecte l'émergence des racines latérales sous le sel, probablement via la voie de signalisation PA (McLoughlin *et al.*, 2012). Bien que l'influence du sel sur les différents stades de développement des primordiums racinaires latéraux soit encore largement inconnue, ces données suggèrent une interaction entre l'ABA et l'auxine dans la médiation de la modulation de la croissance des racines latérales par le sel.

Le phénotypage de l'architecture du système racinaire de 31 accessions *Arabidopsis* différentes sous Salt a révélé une variation naturelle dans l'équilibre de la croissance entre les racines primaires et latérales. Par exemple, certaines accessions présentent une plus grande réduction de l'allongement de la racine primaire que de l'allongement de la racine latérale ainsi que des changements dans le nombre de racines latérales, tandis que d'autres réagissent de manière similaire en termes de réduction de la longueur de la racine primaire, de la longueur de la racine latérale et de l'altération du nombre de racines latérales. Ces différentes stratégies d'architecture du système racinaire en réponse au sel sont associées en partie à des différences de sensibilité

à l'ABA et de rapport Na^+ / K^+ de shoot (Julkowska *et al.*, 2014). En outre, les GWAS ont exploité la variation naturelle du remodelage de l'architecture racinaire sous les réponses salines et halotropes à la salinité pour découvrir les contrôles génétiques sous-jacents aux réponses racinaires (Deolu-Ajayi *et al.*, 2019; Julkowska *et al.*, 2017; Kawa *et al.*, 2016). À ce jour, peu d'études se sont concentrées sur les cultures, et beaucoup peut encore être appris de la variation interspécifique entre les réponses architecturales au sel et à d'autres stress abiotiques (Koevoets *et al.*, 2016).

2.4. Intensité photosynthétique.

Le stress salin a une influence énorme sur l'intensité photosynthétique chez les plantes. Des études ont indiqué que l'exposition à des niveaux de salinité élevés peut entraîner une réduction de l'efficacité et de l'activité photosynthétiques. Par exemple, des recherches sur les plants de *Xanthocerassorbifolium* Bunge ont démontré que si de faibles concentrations de NaCl induisaient une augmentation de la capacité photosynthétique, l'exposition à haute intensité à la salinité entraînait une diminution de l'efficacité photosynthétique (J. Zong *et al.*, 2021). De même, chez les semis de *Robiniapseudoacacia* L., des prétraitements avec 24-epiBL ont permis d'atténuer les limitations de la capacité photosynthétique induites par le stress, comme en témoignent les niveaux élevés de fluorescence et de pigment de la chlorophylle (J. Yue *et al.*, 2018). De plus, l'impact de la salinité sur la photosynthèse a été observé chez diverses espèces végétales. La salinité affecte considérablement la photosynthèse chez les plants d'avocat (Berkessa, 2020). Dans les arbres *Liquidambar styraciflua* L., la sécheresse et le stress salin ont diminué de manière significative la photosynthèse, la transpiration et la conductance stomatique, tout en augmentant l'extinction non photochimique (Baraldi *et al.*, 2019). De plus, chez *Miscanthus × giganteus*, la salinité a réduit l'activité et la régénération de la carboxylase PEP, entraînant une réduction significative du taux d'assimilation du carbone et de la production de biomasse (Stavridou *et al.*, 2020). Des stratégies d'atténuation ont été explorées pour contrer les effets négatifs de la salinité sur la photosynthèse. Par exemple, l'application de mélatonine régula à la hausse l'expression des gènes liés à la photosynthèse et aux activités antioxydantes dans *Limonium bicolor*, améliorant ainsi les capacités photosynthétiques et antioxydantes dans des conditions de stress salin (J. Li *et al.*, 2022). De plus, les ascorbates améliorent les impacts négatifs de la salinité sur la photosynthèse chez les plantes *Phaseolus vulgaris* L. (Hamed & AbdElgawad, 2018).

En plus de la réaffectation des ressources pour l'ajustement osmotique, une diminution de la photosynthèse réduit les ressources disponibles et donc la croissance en réponse au sel. La fermeture des stomates réduit la quantité de CO_2 disponible pour la fixation, bien que l'augmentation de la concentration de CO_2 ne puisse récupérer que partiellement le taux de photosynthèse (Cheeseman, 2013). Ce résultat suggère qu'il existe également un effet ionique, ou du moins un effet indépendant de la fermeture stomatique, du sodium sur la photosynthèse. L'activité des enzymes fixant le CO_2 diminue lors du stress salin, et il est intéressant de noter que la tolérance de ces enzymes au Na^+ in vitro diffère selon les espèces (Bose *et al.*, 2017), bien que la pertinence de cette observation pour la capacité photosynthétique in planta n'ait pas été abordée. La force motrice protonique nécessaire à la production d'énergie dans les chloroplastes dépend d'une coordination étroite entre les changements de pH et de potentiel

électrique sur les membranes thylakoïdes (Bose *et al.*, 2017). Les ions sodium peuvent perturber cet équilibre en raison de leur charge positive et de leur effet sur le pH. Les canaux ioniques et les transporteurs ayant un rôle potentiel dans le maintien de la fonction des chloroplastes pendant le stress salin ont récemment été examinés (Bose *et al.*, 2017). Par exemple, un mutant dépourvu de K⁺ Efflux Antiporter 1 (KEA1) et KEA2 localisés dans les chloroplastes montre une diminution de la capacité photosynthétique, et l'application de sodium peut sauver ce phénotype. En outre, les chloroplastes produisent des signaux rétrogrades pour communiquer le statut chloroplastique, affectant les voies de signalisation pertinentes pour les réponses au stress salin. Dans l'ensemble, le Na⁺ influence la photosynthèse en perturbant la force motrice des protons et la fonction des chloroplastes et en interférant avec les enzymes fixant le CO₂(Crawford *et al.*, 2018).

En outre, le stress salin affecte la photosynthèse en affectant les substances apparentées, en particulier les enzymes et les protéines structurelles impliquées dans l'absorption de l'énergie lumineuse, le transfert d'électrons photosynthétiques et la fixation du CO₂. Gao *et al.* (2016) ont constaté que la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) a une relation étroite avec le processus photosynthétique. Ils ont émis l'hypothèse qu'il pourrait fournir du NADPH pour le flux d'électrons circulant autour du psi sous stress salin chez *Physcomitrella patens*(S. Gao *et al.*, 2016). Le stress salin altère la fonction du complexe dégageant de l'oxygène (Ji *et al.*, 2018), entrave le transfert d'électrons de la plastoquinone A (QA) à la plastoquinone B (QB) et altère la fonction du complexe pigment-protéine sur la membrane thylakoïde (Ioannidis *et al.*, 2006), ce qui entraîne une diminution de l'efficacité du transfert d'électrons. Le rubisco, en tant qu'enzyme limitant la vitesse de la photosynthèse, est également affecté par le stress salin. Le stress salin réduit l'activité de Rubisco et restreint la régénération du ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP), réduisant ainsi l'absorption et l'utilisation du CO₂ par les plantes (S. Shu *et al.*, 2014). En conclusion, des études antérieures ont montré que le stress salin entrave la photosynthèse des plantes intolérantes au sel par des restrictions stomatiques et des restrictions non stomatiques.

2.5. Sur l'activité anti-oxydante

Le stress salin a un impact significatif sur l'activité antioxydante des plantes en induisant un stress oxydatif et en perturbant l'équilibre redox cellulaire. L'exposition à des niveaux de salinité élevés peut entraîner une augmentation du stress oxydatif, entraînant la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des dommages ultérieurs aux composants cellulaires. Recherche sur *Pennisetum glaucum* (L.) Les géotypes R. Br. ont montré que le stress oxydatif et la peroxydation membranaire dans des conditions de salinité et de sécheresse peuvent affecter la viabilité des semis, entraînant une diminution de la biosynthèse de la chlorophylle et des caroténoïdes (Toderich *et al.*, 2018). De même, des études sur les plantes de quinoa et de pois chiches irriguées avec de l'eau saline ont démontré que le stress salin peut avoir un impact sur le taux de semis et la conductance stomatique, perturbant potentiellement les mécanismes de défense antioxydants (Hirich *et al.*, 2014). Diverses espèces végétales ont montré une modification de la distribution des ions et des propriétés de croissance sous stress salin, affectant les activités enzymatiques antioxydantes dans les géotypes de blé panifiable (Rahnama *et al.*, 2011). De plus, chez les plantes *Phragmites karka* dans des conditions de salinité et de

sécheresse, la production de biomasse et le rendement en éthanol se sont avérés liés à une photosynthèse optimale, suggérant un rôle pour une activité photosynthétique efficace dans l'amélioration des réponses antioxydantes (Abideen *et al.*, 2022). Des stratégies d'atténuation ont été explorées pour contrer les effets négatifs de la salinité sur l'activité antioxydante. Par exemple, l'application de silicium s'est avérée améliorer le stress salin et le rendement du blé en renforçant les activités enzymatiques antioxydantes (M. Ibrahim *et al.*, 2016). De plus, la réponse des plantes d'*Aloe vera* à des niveaux de salinité et de sodicité appropriés a indiqué un impact toxique sur la réduction de la croissance, soulignant l'importance de maintenir des défenses antioxydantes optimales dans des conditions salines (Ullah *et al.*, 2018). Les plantes déclenchent des mécanismes face au stress oxydatif induit par la salinité :

2.5.1. Récupération des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Au cours du processus métabolique, l'oxygène sera activé en ROS radicaux libres et en ROS non radicaux. Les radicaux libres comprennent généralement le radical superoxyde ($O_2 \bullet^-$), le radical hydroxyle ($OH\bullet$) et le radical alcoyle ($RO\bullet$), tandis que les non-radicaux comprennent généralement le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2) (Mittler, 2017). En tant que sous-produits du métabolisme aérobie, les ROS sont générés naturellement dans les plantes. Dans des conditions normales, il existe un équilibre entre la production et le piégeage des ROS maintenus par l'action du système de défense antioxydant au sein des plantes. Dans le même temps, les ERO sont également des signaux qui régulent de nombreux processus biologiques importants. En particulier, ils peuvent être utilisés comme molécules de signalisation des blessures pour induire une réponse des plantes au stress (Baxter *et al.*, 2014). Cependant, lorsqu'elle est exposée à un environnement stressant, la surgénation de ROS perturbe l'équilibre entre l'accumulation de ROS et le piégeage, provoquant des dommages oxydatifs des cellules (Miller *et al.*, 2008). Dans l'évolution à long terme des plantes, ils ont développé un réseau de défense antioxydant à multiples facettes pour réduire la surgénation des ROS sous différents stress abiotiques. Le système de défense antioxydant se compose de deux types d'antioxydants différents, à savoir les antioxydants enzymatiques (SOD, superoxyde dismutase ; CAT, catalase ; POD, peroxydases ; APX, ascorbate peroxydase ; MDHAR, monodéshydroascorbate réductase ; DHAR, déhydroascorbate réductase ; GR, glutathion réductase ; GPX, glutathion peroxydase ; GST, glutathion S-transférase) et les antioxydants non enzymatiques (AsA, acide ascorbique ; GSH, glutathion ; CAR, caroténoïdes ; α -tocophérol ; certains alcaloïdes ; certains flavonoïdes) (Bose *et al.*, 2014).

2.5.2. Polyphénols

La littérature a énormément rapporté l'impact de stress salin sur la production de composés polyphénoliques chez les plantes, affectant divers processus physiologiques et biochimiques. La recherche a démontré que le stress salin peut entraîner des changements dans la synthèse et l'accumulation de polyphénols dans les tissus végétaux. Par exemple, des études sur des plantes médicinales comme *Glycyrrhizaglabra* L. ont révélé des altérations de la photosynthèse et de la fluorescence de la chlorophylle dans des conditions de stress salin, soulignant l'influence de la salinité sur la production de métabolites secondaires tels que les polyphénols Mousavi *et al.* (2022). De plus, le stress salin influence la synthèse des composants pigmentaires chez des halophytes comme *Salicornia prostrata* Pall. et *Suaeda prostrata* Pall. subs *P. prostrata*, entraînant

des variations de la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes (Akcin & Yalçin, 2015). De plus, l'impact de la salinité sur l'activité antioxydante des plantes est étroitement associé à la régulation des composés polyphénoliques. Le stress salin déclenche un stress oxydatif chez les plantes, entraînant la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des dommages ultérieurs aux composants cellulaires. Les polyphénols, connus pour leurs propriétés antioxydantes, jouent un rôle vital dans l'élimination des ROS et la protection des cellules végétales contre les dommages oxydatifs dans des conditions de stress salin. Des études ont indiqué que l'application de composés comme la glycinebétaine peut ajuster les activités des antioxydants chez les plantes de maïs confrontées au stress salin, soulignant l'importance des antioxydants dans l'atténuation des effets de la salinité sur la physiologie des plantes (Nawaz & Ashraf, 2010). De plus, la relation symbiotique entre les plantes et les champignons mycorhiziens arbusculaires (FMA) a un impact sur la capacité photosynthétique et les systèmes de défense antioxydants chez les plantes de maïs soumises à un stress salin. La colonisation par l'AMF améliore la tolérance au sel chez le maïs en atténuant le stress oxydatif et les dommages membranaires, améliorant ainsi les performances photosynthétiques et les réponses antioxydantes chez les plantes exposées au stress salin (H. Wang *et al.*, 2020).

2.5.3. Flavonoïdes

Le stress salin affecte de manière significative la production de composés flavonoïdes chez les plantes, influençant divers processus physiologiques et biochimiques. Recherche sur Pegagan (*Centellaasiatica* (L.) Urban) a montré des changements dans le composé phénolique, la teneur totale en flavonoïdes et l'activité antioxydante dans des conditions de stress salin NaCl(Hanifah & Purwestri, 2021). Les flavonoïdes jouent un rôle protecteur contre le stress salin en protégeant les plantes du rayonnement UV-B (Chowdhary *et al.*, 2022). Des études sur *Ocimum basilicum* L., *Artemisia annua* et *BrassicaJuncea* ont démontré que l'application exogène de traitements au sélénium peut augmenter les composés phénoliques, les flavonoïdes et les anthocyanes, indiquant un impact positif sur la production de métabolites secondaires sous stress salin (Ghanbari *et al.*, 2023). De plus, la recherche sur *Echinacée purpurea* cultivée à divers niveaux de salinité a révélé des changements dans les caractéristiques morphologiques et l'accumulation de flavonoïdes en réponse au stress salin (Choirunnisa *et al.*, 2021). Des stratégies d'atténuation ont été explorées pour contrer les effets de la salinité sur les composés flavonoïdes chez les plantes. Par exemple, l'application foliaire de nano-zinc et de fer s'est avérée augmenter les composés phénoliques totaux et la teneur totale en flavonoïdes dans les plantes *Rosmarinusofficinalis* soumises à un stress salin (Hassanpouraghdam *et al.*, 2019). De plus, L'application d'oxyde nitrique influence la synthèse des acides phénoliques et des flavonoïdes chez *Brassicanapus* sous stress salin (Rezayian & Zarinkamar, 2023).

2.6. Sur le bilannutritif

La croissance des plantes en absence de salinité est généralement représentée par la « courbe dose-réponse généralisée » (Berry & Wallace, 1981) par rapport aux concentrations d'éléments nutritifs essentiels dans le milieu racinaire. La croissance des plantes sous des niveaux sous-optimaux de nutriments autour de la zone racinaire peut être entravée en raison d'une déficacité ou d'une toxicité induite par les nutriments. La difficulté de l'acquisition des nutriments minéraux dans des conditions de stress salin peut être attribuée de manière prédominante à la

réduction de la disponibilité des nutriments en raison de la concurrence avec les majorions (Na^+ et Cl^-). Une telle interaction entraîne fréquemment des déficiences en Ca^{2+} , K^+ et Mg^{2+} (Grattan & Grieve, 1992). La relation entre le stress salin et les nutriments minéraux essentiels tels que l'azote, le phosphore et le potassium est complexe. L'azote est un élément minéral essentiel et un constituant des composants cellulaires des plantes. Dans des conditions salines, une absorption et une accumulation accrues de Cl^- peuvent diminuer l'absorption totale d'azote par la pousse en raison de l'antagonisme $\text{Cl}^- / \text{NO}_3^-$ (Munns & Termaat, 1986). Le stress salin affecte également l'absorption du phosphore, qui est nécessaire à la photosynthèse, au stockage et au transfert d'énergie. Lorsque le sol contient du Cl^- et du SO_4^{2-} excessifs, l'absorption de phosphore est réduite, probablement en raison de la force ionique élevée du milieu et de la faible solubilité des minéraux $\text{Ca} \pm \text{P}$. Le potassium est un soluté inorganique vital nécessaire à la synthèse des protéines et aux relations avec l'eau. Dans des conditions salines, il existe une concurrence intense entre K^+ et Na^+ . L'équilibre cellulaire entre le sodium et le potassium est essentiel à la survie des plantes dans les sols salins. Cependant, ils ont tous deux une similitude moléculaire, ce qui provoque le remplacement du potassium par du sodium même s'il ne peut pas prendre en charge la fonction du potassium dans les processus cellulaires. Une concentration accrue de Na^+ diminue les concentrations de K^+ et de Ca^{2+} , car Na^+ et K^+ sont en concurrence aux sites d'absorption racinaire. La réduction de l'absorption de K^+ dans les plantes causée par Na^+ est un processus concurrentiel, que la solution soit dominée par des sels de Na^+ , Cl^- ou des sels de SO_4^{2-} (Grattan & Grieve, 1992). Un corpus important d'informations dans la littérature, y compris *Manihot esculenta* et *Zeamays*, indique que la salinité provoque des déséquilibres nutritifs et réduit la productivité des cultures (Cruz *et al.*, 2018; Grattan & Grieve, 1998).

2.7. Sur le contenant eau

L'absorption rapide des ions entraîne l'accumulation d'ions dans les cellules végétales, ce qui affecte négativement les relations plante-eau. Sous stress salin, le potentiel osmotique des cellules végétales devient plus négatif en raison de la présence d'une forte concentration de sel dans le sol, ce qui crée un gradient osmotique qui chasse l'eau des cellules végétales et diminue la pression de turgescence (Betzen *et al.*, 2019). Les recherches sur *Corchorus olitorius* par Chaudhuri & Choudhuri (1997) ont montré une diminution de divers paramètres, tels que la teneur relative en eau, l'absorption d'eau et le taux de transpiration, lorsque les plantes sont exposées à un stress salin à court terme. Des études récentes ont approfondi les résultats susmentionnés (Álvarez & Sánchez-Blanco, 2014; Sheldon *et al.*, 2017). Le potentiel osmotique dans le milieu d'enracinement et le mode de stress de salinité imposé déterminent l'ampleur du déclin des cellules végétales dans le potentiel hydrique foliaire et le potentiel osmotique. Le maintien de la pression de turgescence à l'état d'équilibre est obtenu chez les plantes en réduisant leur potentiel osmotique par rapport au potentiel total de l'eau sous stress salin progressif (Rajasekaran *et al.*, 2001). En ce qui concerne le mouvement de l'eau, en général, l'eau se déplace du sol au xylème racinaire via un chemin apoplastique entraîné par un gradient de pression hydrostatique dans des conditions de transpiration. Cependant, lorsque la transpiration est limitée par la salinité, l'eau coule à travers les membranes principalement par le chemin de cellule à cellule (Álvarez & Sánchez-Blanco, 2014; Mirfattahi *et al.*, 2017; Shaheen *et al.*, 2013).

2.8. Sur la structure membranaire

La membrane cellulaire, en tant que barrière protectrice importante des cellules végétales, joue un rôle important dans le transport de substance, la transmission d'énergie et la transduction de signal. La perméabilité sélective de la membrane cellulaire lui permet de réguler l'homéostasie ionique et d'assurer les activités physiologiques des plantes. Cependant, sous contrainte saline, la production de ROS excessifs provoque de grands dommages à la membrane, augmentant la perméabilité relative de la membrane et réduisant sa fluidité. D'une part, elle affecte la sélectivité, le débit et le transport des ions. D'autre part, elle conduit également à l'exosmose d'un grand nombre d'électrolytes, entraînant un stress osmotique (Ganie *et al.*, 2019) En tant que l'un des principaux produits de la peroxydation lipidique membranaire, le MDA peut inactiver les protéines et les enzymes sur la membrane, détruisant ainsi la structure et la fonction du biofilm. La teneur en MDA est un indice important pour refléter le degré de lésion de la membrane plasmique. Les expériences de M. Li *et al.* (2018) ont illustré que la teneur en MDA dans *Carex rigescens* augmentait de manière significative après le traitement contre le stress salin. la teneur en AMM a montré une augmentation évidente du soja sous stress salin (Du *et al.*, 2018). De plus, l'augmentation des ROS peut également détruire les structures des organites dans les cellules, telles que l'expansion du réticulum endoplasmique, la fragmentation de la membrane vacuolaire. En un mot, le stress salin entraîne une production excessive de ROS dans les cellules végétales, provoquant un stress oxydatif et nuisant à la croissance et au développement des plantes (Hasanuzzaman *et al.*, 2021).

La destruction de la structure cellulaire des plantes, l'accumulation de ROS et la perturbation de l'homéostasie ionique entraînent une diminution du taux de synthèse des protéines. Incapable de synthétiser des protéines, l'accumulation d'acides aminés conduit à la production de nombreuses substances toxiques. Par exemple, un grand nombre d'intermédiaires dans le métabolisme de l'azote, y compris NH₃ et certains acides aminés libres (isoleucine, ornithine et arginine), sont convertis en certaines polyamines toxiques (par exemple, butane diamine, glutamine, etc.). Ces polyamines toxiques, en particulier la putrescine, sont à leur tour oxydées en NH₃ et H₂O₂. Si la concentration de ces substances toxiques s'accumule à un certain niveau, elles peuvent causer des dommages aux plantes (Leshem *et al.*, 2006).

3. Mécanismes de tolérance au sel.

3.1. Tolérance au sel médiée par les phytohormones

Les hormones végétales ou phytohormones sont des molécules régulatrices endogènes vitales qui régulent la croissance et le développement des plantes. Il existe neuf groupes d'hormones végétales bien caractérisés et diversifiés qui jouent des rôles sophistiqués dans la tolérance au stress médiée par les phytohormones chez les plantes (V. Verma *et al.*, 2016). Parmi eux, l'ABA, l'éthylène, la SA et la JA sont classés dans la catégorie des hormones sensibles au stress, tandis que l'auxine, l'AG, les cytokinines, les brassinostéroïdes (BR) et les strigolactones (SL) sont considérés comme des hormones de croissance (V. Verma *et al.*, 2016; Z. Yu *et al.*, 2020). Les phytohormones sont étroitement interconnectées ; par conséquent, les mécanismes de réponse au stress ne se limitent pas à une hormone particulière (Y. S. Ku *et al.*, 2018). Dans ce contexte,

la régulation de l'adaptation de la croissance des plantes via la tolérance au stress salin médiée par les phytohormones est discutée brièvement.

L'ABA est une hormone irremplaçable, et elle fonctionne comme un intégrateur central pour activer une cascade de signalisation adaptative et réguler l'expression des gènes en réponse au stress salin. Les taux d'ABA endogènes augmentent immédiatement pour activer une cascade de kinases lors de l'exposition au stress salin (K. Chen *et al.*, 2020) La fermeture stomatique se produit en raison de l'augmentation des taux d'ABA pour réguler l'homéostasie de l'eau et de l'osmose. Le stress osmotique induit par le stress salin conduit à des voies de transduction de signalisation ABA améliorées, qui impliquent un composant primaire connu sous le nom de protéines kinases liées au saccharose non fermentantes 1 (SnRK2s) (Umezawa *et al.*, 2009). Dans des conditions de stress salin, les activités kinases de SnRK2.2/2.3/2.6 et les activités des facteurs de transcription ABA-responsive Plants 2023, 12, 2253 9 de 22 element (ABRE)-binding protein/ABRE-binding factor (AREB/ABF) favorisent davantage la fermeture stomatique (Cai *et al.*, 2017). Ces facteurs de transcription maîtres régulent également la transcription médiée par ABRE et expriment les gènes cibles en aval pour la tolérance au sel. De plus, l'acide abscissique insensible 1 (ABI1) régule négativement la tolérance au sel en inhibant l'activité kinase de SnRK2 et médiant ainsi la croissance des racines primaires (Krzywińska *et al.*, 2016). Lors de l'exposition au stress salin, les niveaux de transcription de plusieurs gènes de biosynthèse de l'ABA sont régulés à la hausse, provoquant la production d'ABA par la voie du méthylérythritol 4-phosphate (MEP). La zéaxanthine oxydase (ZEP), le 9-cis-époxy-caroténoïde (NCED) et l'alcool déshydrogénase à chaîne courte (SCAD) sont des enzymes induites dans des conditions de stress salin et jouent un rôle essentiel dans la régulation de la voie de biosynthèse de l'ABA (K. Chen *et al.*, 2020; S. Zhao *et al.*, 2021). En outre, les voies Ca²⁺ et SOS se coordonnent également avec la signalisation ABA en empêchant la suractivation de SOS2 (Ohta *et al.*, 2003).

Par conséquent, l'ABA utilise un mécanisme complexe dans la médiation de la réponse sel-stress. Les plantes utilisent un mécanisme adaptatif d'inhibition de la croissance pour survivre aux environnements de forte salinité. L'auxine régule la plasticité de la croissance des racines sous l'effet du stress salin. Une réduction du transport de l'auxine polaire et l'accumulation d'auxine inférieure associée dans les racines (Jiang *et al.*, 2016) et la régulation négative des gènes codant pour les récepteurs auxiniques (Réponse de l'inhibiteur de transport et signalisation de l'auxine & F-BOX) (Iglesias *et al.*, 2014) provoquent une signalisation de l'auxine inférieure et donc une régulation négative de la croissance des racines médiée par l'auxine. Les niveaux de gibbérelline bioactive sont ajustés à différents stades de croissance des plantes pour améliorer la tolérance au sel par un retard de croissance. LA protéine DELLA SLR1, un inhibiteur de la signalisation de l'AG (Achard *et al.*, 2006), et plusieurs autres gènes liés au métabolisme de l'AG (Magome *et al.*, 2008) provoquent une réduction des niveaux d'AG ou de la signalisation de l'AG après la germination, ce qui est nécessaire pour améliorer la tolérance des plantes au stress salin. La cytokinine favorise la croissance, le développement et la différenciation cellulaires et est impliquée dans de nombreux processus physiologiques et biochimiques chez les plantes. La cytokinine s'auto-sacrifie pour aider à la tolérance au stress salin car elle joue des rôles opposés dans l'adaptation de la plante au stress salin. Par exemple, une perte de l'isopentényl transférase (IPT, une enzyme critique dans la voie de synthèse de la

cytokinine) ou une surexpression de la cytokinine oxydase (CKX, une enzyme qui inactive la cytokinine) provoque une tolérance élevée au sel (Nishiyama *et al.*, 2011). En tant qu'hormone sensible au stress, l'éthylène s'accumule sous le stress salin et intervient dans plusieurs processus biologiques critiques. De plus, la signalisation de l'éthylène module également les réponses de salinité. Par exemple, dans une étude, la perte de fonction des récepteurs de l'éthylène, la réponse à l'éthylène 1 (ETR1) et l'insensibilité à l'éthylène 4 (EIN4), ont provoqué une tolérance accrue au sel. En revanche, la perte de fonction dans les régulateurs positifs à l'éthylène, EIN2 et EIN3, conduit à une hypersensibilité au stress salin (J. Peng *et al.*, 2014). Par conséquent, les phytohormones et leurs cristaux croisés sophistiqués sont essentiels à la signalisation du stress salin et maintiennent un équilibre entre la croissance des plantes et les réponses au stress.

3.2. Rôle de la vacuole

Il existe deux mécanismes utilisés par la plante pour exclure le sel atteignant la feuille du cytoplasme. Les ions de sel peuvent s'accumuler dans l'apoplaste ou se déplacer vers la vacuole. L'accumulation d'ions sel dans l'apoplaste entraîne une augmentation du gradient osmotique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Pour ajuster un équilibre thermodynamique, l'eau à l'intérieur de la cellule diffuse dans les espaces intercellulaires, entraînant une déshydratation cellulaire progressive et, éventuellement, la mort cellulaire. Par conséquent, les traits tolérants au sel sont davantage associés à la quantité d'ions sel qui s'accumulent dans la vacuole cellulaire (Volkmar *et al.*, 1998). Les ions sel traversent la membrane cellulaire et le cytoplasme pour entrer dans la vacuole. La quantité d'ions de sel qui traversent la membrane cellulaire ne doit pas être supérieure à la quantité déposée dans la vacuole pour minimiser le risque de danger de sel (Volkmar *et al.*, 1998). La quantité de flux de sel est contrôlée par la capacité de stockage de la racine et la concentration de sel dans la solution du sol. Par conséquent, les plantes tolérantes au sel nécessitent une capacité de compartimentation vacuolaire active pour stocker la grande quantité d'ions sel délivrée par le xylème à la feuille (Lauchli & Epstein, 1990).

3.3. Inclusion du sel par rapport à l'exclusion

Étant donné que les membranes cellulaires ont des processus de sélection pour l'absorption des ions, l'entrée du sodium devient limitée. Par conséquent, les niveaux d'ions sel dans les racines et les tiges des plantes sont parfois plus élevés que dans les feuilles. En raison des variations de la sélectivité des membranes parmi les espèces végétales, elles peuvent être divisées en exclusifs de sel et non exclusifs de sel (Hale & Orcutt, 1989). L'exclusion du sodium par les racines se produit pour prévenir les concentrations toxiques de Na^+ dans les feuilles. L'accumulation de Na^+ manifeste ses effets toxiques après des jours ou des semaines, selon les espèces, et provoque la mort prématurée de feuilles plus âgées (Munns & Tester, 2008). Les plantes tolérantes au sel ont montré des signes d'exclusion du Na^+ de la feuille. Cela est particulièrement vrai pour de nombreuses espèces glycophytiques, y compris les plantes cultivées telles que le blé et l'orge, le maïs, les pois chiches et les haricots, ainsi que certains halophytes (Volkmar *et al.*, 1998). Étant donné que chez la plupart des espèces, le Na^+ semble atteindre une concentration toxique avant le Cl^- , de nombreuses études se sont concentrées sur les mécanismes d'exclusion du Na^+ au sein de la plante. Cependant, pour certaines espèces telles que le soja, Cl^- est considéré comme l'ion le plus toxique. En général, les plantes

toléraient des quantités élevées de Na^+ et de Cl^- arrivant dans leurs feuilles en utilisant certaines altérations anatomiques et des mécanismes de partition intracellulaire (Munns & Tester, 2008). Il existe certaines différences entre les quantités de Na^+ et de Cl^- dans les cellules racinaires et foliaires. Les racines avaient la plus faible concentration de Cl^- par rapport aux feuilles, qui augmentait avec l'augmentation de la salinité, tandis que le Na^+ dans les feuilles était beaucoup plus faible que le Cl^- (Chartzoulakis & Klapaki, 2000).

Chez certains halophytes dicotylédones, il y a une augmentation de la taille des cellules induite par le sel en raison de l'augmentation du volume de la vacuole (succulence), et chez d'autres, l'excrétion de Na^+ et de Cl^- crée des glandes salines ou des vessies à la surface des feuilles ou des tiges. Certaines preuves ont montré que les glandes salées sont les seules adaptations anatomiques qui se produisent chez certains halophytes monocotylédones (Munns & Tester, 2008). Les cultures d'orge qui prospèrent dans des conditions salines ont montré, contrairement à K^+ , une plus grande accumulation de Cl^- dans l'épiderme par rapport aux cellules du mésophylle (Munns & Tester, 2008). La plupart des halophytes utilisent des ions sel comme osmoticum pour contrôler la concentration d'ions externes. Dans de nombreux glycophytes, il n'y a pas de relation évidente entre l'exclusion du sel et la tolérance au sel. Alors que l'exclusion de Na^+ est une caractéristique générale rapportée dans certaines lignées de blé tolérantes au sel, une lignée sensible au sel avait des niveaux de Na^+ de pousse beaucoup plus faible que les lignées plus tolérantes. Dans une expérience similaire, les cultivars de maïs tolérants transportaient plus de Na^+ vers la pousse que les cultivars intolérants. Par conséquent, il semble que, au moins chez certains glycophytes, l'exclusion du sel n'est pas nécessairement associée à des caractéristiques de tolérance au sel (Volkmar *et al.*, 1998).

3.4. Ajustement osmotique

L'ajustement osmotique fait référence au processus par lequel les plantes maintiennent leur capacité à absorber l'eau en augmentant la concentration de solutés dans leurs cellules. Il existe deux mécanismes d'ajustement osmotique sous stress osmotique. D'une part, le soluté lui-même agit comme un osmolyte. D'autre part, les solutés jouent un rôle protecteur en stabilisant la structure des macromolécules biologiques. Une hypothèse peut expliquer le mécanisme : les régions hydrophobes à la surface de la protéine sont faibles dans la liaison aux molécules d'eau, en particulier dans les environnements hypertoniques. Les cellules perdent d'abord cette partie de l'eau dans un environnement hypertonique (Schobert & Tschesche, 1978). Les régulateurs osmotiques peuvent être dissous dans l'eau de liaison sur la surface des protéines et la polarité de surface des protéines peut être améliorée en formant des liaisons hydrogène, pour améliorer leur adhésion à l'eau (Arakawa & Timasheff, 1985). Les régulateurs osmotiques comprennent principalement deux catégories : (1) les substances organiques et (2) les ions inorganiques. Sous stress osmotique, la teneur en ces substances augmentera à différents degrés dans les cellules.

3.4.1. Substances organiques

Les solutés organiques peuvent généralement être classés en trois catégories. (1) Acides aminés libres, principalement la proline. La proline a une forte capacité d'hydratation. Son extrémité hydrophobe peut se lier aux protéines, tandis que son extrémité hydrophile peut se lier aux molécules d'eau. Les protéines attachées à la proline peuvent lier plus d'eau,

empêchant ainsi la déshydratation et la dénaturation des protéines sous stress osmotique. Les plantes peuvent accumuler de la proline en augmentant la synthèse de la proline et en diminuant la dégradation de la proline pour répondre au stress (Liang *et al.*, 2013). De plus, la proline peut également agir comme antioxydant pour éliminer les ROS excessifs produits sous stress. En tant que source d'azote et de carbone à compensation rapide, elle peut aider les plantes à se remettre du stress. En tant que signal de stress, il active de multiples réponses liées au stress (Per *et al.*, 2017). De nombreuses expériences ont montré qu'une application externe de proline peut réduire les dommages causés par le stress salin aux plantes. Par exemple, l'expérience de Wani *et al.* a suggéré que le traitement avec la proline à deux cultivars contrastés de *Brassicajunce* pourrait en quelque sorte contrecarrer les effets néfastes de la salinité sur la photosynthèse et le rendement en graines (A. S. Wani *et al.*, 2019).

La glycine bêtaïne est également un régulateur osmotique. La bêtaïne est obtenue par oxydation de la choline par la choline monooxygénase (CMO) et la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (BADH). Il existe 12 types de bêtaïne dans les plantes, la plus simple et la plus étudiée est la glycine bêtaïne. Il pourrait aider les cellules végétales à maintenir l'intégrité de la membrane et l'activité enzymatique sous le stress salin, réduisant ainsi les dommages causés par le stress salin. De nombreuses plantes supérieures, en particulier les plantes de chenopodiaceae et de gramineae, ont été trouvées pour accumuler de la bêtaïne sous stress salin. La régulation à la hausse de la biosynthèse de la glycine bêtaïne a été trouvée dans le paspalum halophytique du littoral sous le stress salin induit par la choline (Y. Gao *et al.*, 2020). De nombreuses expériences ont également prouvé l'intérêt de l'application externe de bêtaïne sur la plante sous stress salin. Les expériences de K. Chen *et al.* (2020) ont montré que la glycine bêtaïne exogène atténuait le stress salin chez les semis de maïs. De plus, la bêtaïne est impliquée dans de nombreux processus métaboliques. Par exemple, la bêtaïne méthylée est impliquée dans la synthèse d'autres alcaloïdes végétaux selon Byerrum *et al.* (1956). La bêtaïne peut également stabiliser le polypeptide périphérique du PS II, ce qui est bénéfique pour maintenir la fonction physiologique du chloroplaste à faible potentiel hydrique (Byerrum *et al.*, 1956).

Les glucides solubles et les polyols peuvent également être utilisés comme régulateurs osmotiques. Les glucides non structurels (tels que le glucose, le saccharose, le fructane, l'amidon, etc.) sont des substances importantes impliquées dans le métabolisme des plantes. En particulier, la production, le transport, le stockage et la consommation de saccharose sont étroitement liés au développement des plantes et à la réponse environnementale. Lorsque les plantes sont soumises à un stress osmotique, la synthèse du saccharose est augmentée en augmentant l'activité de la saccharose phosphate synthase (SPS). Dans l'étude de Peng *et al.*, ils ont constaté que lorsque les teneurs en saccharose et en amidon de la feuille principale de coton (*Gossypium hirsutum* L.) et de sa bosse foliaire sous-jacente augmentaient, les activités de la saccharose phosphate synthase (SPS) et de la saccharose synthase (SuSy) augmentaient également (J. Peng *et al.*, 2016). Une forte diminution de la synthèse de l'amidon pourrait également maintenir la teneur en saccharose des cellules végétales de *Phaseolus vulgaris*. Bien que le stress osmotique ait réduit l'activité de la saccharose phosphate synthase (SPS), il a provoqué une plus grande réduction de la synthèse de l'amidon afin que la concentration de saccharose puisse maintenir un niveau relativement élevé (Al Hassan *et al.*, n.d.). Par conséquent, le métabolisme du saccharose chez les plantes est souvent utilisé pour mesurer le

degré de stress environnemental et l'adaptabilité des plantes à l'environnement. En outre, le tréhalose (L. Li *et al.*, 2017) et le fructane (Livingston, 2009) se sont également accumulés dans les plantes soumises à un stress salin. Plus important encore, les sucres solubles sont impliqués en tant que substances de signalisation dans la réponse des plantes à l'environnement, et la signalisation du sucre est devenue un domaine de recherche précieux (Ruan, 2014). Les polyols, en particulier le mannitol et l'inositol, jouent également un rôle dans l'ajustement osmotique, améliorant la tolérance au sel des plantes (Conde *et al.*, 2014).

3.4.2. Ions inorganiques

Les ions inorganiques, principalement K^+ , Na^+ et Cl^- , se composent de 80 % à 95 % de la présence osmotique des cellules dans les dicotylédones (Shabala & Shabala, 2011). Le K^+ est un élément essentiel pour la croissance des plantes et joue un rôle important dans la prévention des dommages cellulaires causés par le stress salin. Chakraborty *et al.* ont démontré que l'application de K^+ exogène améliorerait l'état hydrique des plantes, entraînant une biomasse plus élevée et une meilleure tolérance au sel sous stress chez les arachides (Chakraborty *et al.*, 2016). Pour les halophytes, l'absorption de Na^+ est beaucoup plus importante que celle de K^+ . La majeure partie du Na^+ absorbé par les cellules végétales n'existe pas dans le cytoplasme mais est isolé dans les vacuoles en tant que régulateur osmotique pour maintenir la pression de turgescence cellulaire (Keisham *et al.*, n.d.). Par exemple, les plants d'un cultivar de chou sensible au sel et d'un cultivar de chou tolérant le sel ont été exposés au NaCl pendant 30 jours. Les résultats ont indiqué que la séparation du Na^+ en vacuoles était la principale stratégie d'adaptation au sel chez le chou chinois (J. Wang *et al.*, 2019).

En termes de Cl^- , l'absorption rapide de Cl^- par les plantes au stade précoce du stress salin a favorisé la régulation osmotique du système racinaire chez les non-halogénophytes. Cependant, Cl^- s'appuie toujours sur Na^+ ou K^+ pour compléter la régulation de la pression osmotique (C. L. Wang *et al.*, 1997). Le Ca^{2+} dans le cytoplasme est une composante importante de la transduction du signal. Lorsque les plantes sont soumises à un stress salin, les canaux Ca^{2+} sont induits à s'ouvrir. Ensuite, le Ca^{2+} est libéré de la vacuole. La liaison du Ca^{2+} avec la calmoduline ou d'autres protéines de liaison calciques régule le métabolisme cellulaire et l'expression des gènes, favorisant l'adaptation des plantes à l'adversité. En un mot, les plantes conservent leur capacité à absorber l'eau de l'environnement en augmentant la concentration d'ions inorganiques comme K^+ et de substances organiques comme la proline et la bétaine sous stress salin.

Chapitre IV : Stress au cuivre: Revue des réponses en plantes et mécanismes de tolérance

1. Introduction:

La toxicité des métaux lourds dans le sol, en particulier le cuivre (Cu), est une préoccupation majeure des agriculteurs dans les environnements contaminés et elle affecte l'économie ainsi que la productivité agricole de ces nations (Tjalf E. De *et al.*, 2011). La pollution par les métaux lourds provient à la fois d'événements géologiques naturels et d'activités anthropiques. Les sources anthropiques comprennent les gaz d'échappement des automobiles, la corrosion des pièces automobiles et les déversements d'hydrocarbures (Malinowska *et al.*, 2015). Application extensive de certains herbicides et fongicides dans les pratiques agricoles isamajor source anthropique de contamination du sol par le Cu (Panou-Filotheou & Bosabalidis, n.d.). Des quantités excessives de métaux lourds, y compris le Cu, sont signalées dans les champs agricoles chimisés (Sahodaran *et al.*, n.d.). Le cuivre est également utilisé comme additif dans la fabrication des pneus (Malinowska *et al.*, 2015) et est un contaminant courant en bordure des routes (J. G. Ray & George, 2010). Le cuivre (Cu) est un élément micronutriment essentiel abondant dans diverses roches et minéraux et est nécessaire à divers processus métaboliques chez les procaryotes et les eucaryotes (Sun *et al.*, 2014). Une grande partie du cuivre contient des enzymes fonctionnant comme transporteurs d'oxygène (hémocyanine) ou catalyseur redox (cytochrome oxydase, nitrate réductase) (P. A. A. Ferreira *et al.*, 2015; Whitacre, 2011). Le cuivre est un métal de transition avec trois états de valence : Cu^0 , Cu^{I} et Cu^{II} . En outre, il a été classé comme métal lourd en raison de sa densité plus élevée (5 g/cm^3) (R. Singh *et al.*, 2011). Le cuivre, cependant, est un micronutriment essentiel pour le métabolisme normal des plantes et joue un rôle dans plusieurs processus physiologiques tels que la photosynthèse, la respiration, la distribution des glucides et le métabolisme des protéines. Cependant, l'excès de Cu peut perturber le développement normal en affectant négativement les réactions biochimiques et les processus physiologiques chez les plantes (Guzel & Terzi, 2013). Nous discuterons des effets du cuivre sur les plantes et de leurs réponses au stress du cuivre dans ce chapitre et aborderons comment les plantes font face au stress du cuivre et quels types de changements se produisent dans la morphologie, la physiologie et le métabolisme des plantes. Globalement, les valeurs normales de Cu dans les sols non contaminés variaient de 2 à 109 mg kg^{-1} (Baize, 1994). Les principales sources anthropiques de Cu comprennent l'exploitation minière, la raffinerie, la combustion de combustibles fossiles, l'incinération des déchets, le trafic, les engrais, les amendements du sol, etc. (Brunetto *et al.*, 2019). L'extraction de minerais contenant du Cu et les activités industrielles sont responsables de l'amélioration du niveau de Cu dans l'environnement. (V. Kumar *et al.*, 2019) ont suggéré une limite admissible de 20 mg kg^{-1} pour le Cu dans les échantillons de sol. Dans la couche arable naturelle, le niveau de base de Cu rapporté est de 5 mg kg^{-1} (P. A. Ferreira *et al.*, 2018). Le cuivre joue également un rôle clé dans l'assimilation du CO_2 et la production d'ATP (Marques *et al.*, 2018). C'est le principal constituant de diverses protéines comme la plastocyanine du système photosynthétique et la cytochrome oxydase de la chaîne de transport d'électrons (Zeng *et al.*, 2019). La concentration de Cu dans les plantes au-delà des limites critiques affecte la croissance des plantes, favorise la chlorose des feuilles et provoque une cytotoxicité (M. H. Saleem, Fahad, Khan, Din, Ullah, Sabagh, others, *et al.*, 2020). Dans les cultures vivrières, la valeur recommandée de Cu est de 30 mg kg^{-1} (R. Sharma *et al.*, 2016). De plus, l'excès de Cu dans les plantes favorise le stress oxydatif en

généralisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont nuisibles pour les plantes et celles-ci sont piégées par la superoxyde dismutase et la peroxydase, qui jouent un rôle impératif dans la diminution de la toxicité du Cu dans les plantes (Huang *et al.*, 2020). Le stress oxydatif par peroxydation lipidique entraîne la perturbation de nombreuses voies métaboliques et cause des dommages aux macromolécules essentielles (Juang *et al.*, 2019). L'absorption et le transport du Cu dans les plantes dépendent principalement du niveau de Cu et des facteurs de croissance (M. H. Saleem, Kamran, *et al.*, 2020). Néanmoins, leur concentration dans les cellules, condition préalable au maintien à un niveau faible en tant que Cu élevé, persuade les modifications de l'ADN, de la photosynthèse, de l'intégrité de la membrane cellulaire, de l'activité enzymatique et de la respiration conduisant à une réduction de la croissance et à une existence menacée des plantes (Nair et Chung, 2015). Le déclin de la biomasse végétale est l'indication la plus courante chez les plantes soumises à un stress élevé en Cu (Nazir *et al.*, 2019).

À l'échelle cellulaire, la toxicité du Cu peut se référer à (1) sa liaison aux groupes sulfahydryles dans les protéines, empêchant ainsi les activités enzymatiques ou le fonctionnement des protéines ; (2) signifiant la déficience d'autres éléments essentiels ; (3) des signes d'altération des processus de transport cellulaire ; et (4) des dommages par oxydation (Meharg, 1994). Ainsi, il est impératif que les plantes possèdent une homéostasie du Cu strictement pilotée, un équilibre logique tirant parti de leurs modifications tissulaires et développementales spécifiques (Printz *et al.*, 2016). En d'autres termes, une croissance et un développement sains des plantes impliquent l'acquisition directe de Cu à partir du sol, le transport de Cu dans toute la plante, la distribution et la compartimentation de Cu dans différents tissus végétaux et une régulation minutieuse de sa concentration dans de nombreuses cellules et organites différents.

2. Présence de Cu dans l'environnement

Le Cu est fortement associé aux matières organiques et aux minéraux argileux dans les sols et les zones humides, et forme des complexes insolubles et/ou solubles avec le carbone organique. L'abondance naturelle de Cu dans la croûte terrestre est supposée être d'environ 60 mg La concentration de fond moyenne dérivée de Cu pour les sols agricoles européens est comprise entre 11,4 et 17 mg Cu/kg (Alloway, 2013). Le pH du sol s'est avéré être le principal composant du contrôle de la disponibilité du Cu pour les plantes. En augmentant le pH du sol, la disponibilité du Cu est réduite (Alloway, 2013). L'effet néfaste du chaulage sur la réduction de la disponibilité du Cu est facilement attribué à l'augmentation de la capacité d'échange cationique du sol (CEC) qui repose sur la présence de charges variables influencées par le pH dans l'écosystème du sol (Farajzadeh *et al.*, 2017). Après l'élévation du pH, une série de changements interdépendants se produisent, notamment une augmentation des charges non positives liées au pH et de leur densité à la surface colloïdale, ainsi qu'une diminution de la disponibilité du Cu pour les plantes (Schwer, 2010). Il est donc important de se rendre compte de l'impact du pH sur la distribution du Cu dans les différentes fractions du sol (Ginocchio *et al.*, 2002).

L'apport recommandé en Cu pour les humains varie généralement de 0,2 mg/jour/personne

pour les nourrissons à 1,3 mg/jour/personne pour les femmes en lactation (Trumbo *et al.*, 2001). Bien que les besoins humains en Cu soient faibles, une carence en Cu peut survenir en raison de sa faible concentration dans les tissus végétaux comestibles, en particulier lorsque les plantes sont cultivées sur des sols calcaires ou alcalins dans des environnements arides et semi-arides(White & Broadley, 2009). L'amélioration de la phytodisponibilité du Cu en modulant les processus moléculaires et physiologiques impliqués dans l'absorption, la distribution et l'accumulation du Cu a donc été intégrée dans les programmes de biofortification(White & Broadley, 2009). En revanche, l'utilisation du Cu comme fongicide est généralisée en agriculture depuis la fin du XIXe siècle (Alloway, 2013). En viticulture, les fongicides à base de Cu sont utilisés dans des applications typiques de 2 à 4 kg de Cu/ha/an, conduisant à des concentrations de Cu dans le sol pouvant atteindre des valeurs supérieures à 3000 mg de Cu/kg de sol, dépassant ainsi la plage de concentration tolérable pour la plupart des cultures cultivées et empêchant ainsi leur croissance (Alloway, 2013).

L'intégration de la phyto-disponibilité accrue du Cu avec les programmes de biofortification en cours a été réalisée principalement grâce à la modulation récente des machines moléculaires et/ou physiologiques impliquées dans (ou traitant de) l'acquisition et la distribution du cuivre (White & Broadley, 2009). L'application progressive de Cu en tant que fongicide agricole la plus ancienne remonte à la fin du 19ème siècle (Prior *et al.*, 2017) lorsqu'il a été lancé pour être largement appliqué dans la viticulture/agriculture intégrée et biologique. Par exemple, les fongicides à base de Cu utilisaient généralement 2 à 4 kg de Cu/ha/an en viticulture, ce qui contribuait à une forte concentration de Cu dans le sol (> 3000 mg de Cu/kg) ; franchissant ainsi la plage de concentration tolérable de Cu pour la plupart des cultures en croissance, inhibant leur croissance (Alloway, 2013).

3. Effet des microbes du sol sur la biodisponibilité et la spéciation du cuivre

Labiodisponibilité et la spéciation du cuivre ont conduit à un risque imminent pour le sol et sa fertilité, ainsi que les processus du sol médiés par les microbes tels que le cycle minéral, ce qui en fait un aspect essentiel pour mesurer la toxicité du Cu dans le sol (Y. Cao *et al.*, 2020). Dans ce dilemme, il reste très peu d'alternatives aux fongicides Cu, mais le système repose principalement sur des micro-organismes bénéfiques qui forment des associations aux interfaces plante-sol. Il est rapporté que la toxicité du Cu provoque un effet antagoniste sur le microbiote du sol, diminuant la biomasse, les niveaux de carbone, le taux de respiration, les activités microbiennes et les altérations du quotient métabolique et de la communauté structurale des microbes (W. Li *et al.*, 2016; C. Zhang *et al.*, 2016). Mais au contraire, il existe de nombreux microbes qui ont des mécanismes de résistance bien développés contre les contraintes des métaux lourds et qui sont capables de se multiplier et de proliférer sous des concentrations de Cu plus élevées(Naik & Dubey, 2013), peut-être en raison de leur capacité à mobiliser, convertir ou séquestrer les ions métalliques affectant leurs mobilités(Keiblinger *et al.*, 2018). De plus, ils peuvent également affecter la spéciation des métaux, la biodisponibilité grâce à une production efficace de matière organique et à des réactions d'oxydation/réduction (Cui *et al.*, 2019).

Des études ont montré que la souche DBM de *Bacillus subtilis* isolée à partir de rizières réduisait la biodisponibilité du Cu à partir du sol par biosorption, bioaccumulation ou transformation enzymatique des ions Cu en formes stables (Bai *et al.*, 2017). Les interactions des microbes dans le sol et des métaux lourds sont très complexes, dans lesquelles près de 90 % de la biomasse totale du sol est constituée de nutriments minéraux qui s'ajoutent au constituant inorganique du sol (Bai *et al.*, 2019). Il a été remarqué que 90% des microbes du sol forment des complexes avec les minéraux et la matière organique et l'adsorption des ions métalliques avec ces complexes permet de comprendre le rôle de l'immobilisation (Nannipieri *et al.*, 2017). Les microbes contiennent divers sites fonctionnels sur leurs surfaces tels que carboxyle, amide, amine, hydroxyle, exopolysaccharides (EPS), protéines, acides nucléiques, poly-saccharides pour se lier et former des complexes par des liaisons hydrogène (Fang *et al.*, 2012; Shehata *et al.*, 2019).

Récemment, il existe un large éventail d'études associées à la transformation du Cu induite par les microbes dans les sols rhizosphériques. Comme les études associées à l'accumulateur de Cu ont été répandues, le potentiel d'*Elsholtziasplendens* tant qu'hyperaccumulateur de Cu et de *Trifolium repens* en tant qu'accumulateur non-hyper a été mené en association avec les activités microbiennes du sol et leur composition (Y. Wang *et al.*, 2008). On a remarqué que les niveaux de Cu dans les pousses d'*Elsholtziasplendens* étaient 2.1e2.4 fois plus élevés que ceux de *Trifolium repens* sous l'influence de différentes concentrations de Cu. La composition totale du microbiome du sol et l'activité de l'enzyme phosphatase dans la zone rhizosphérique ont été rapportées comme étant maximales chez *Elsholtziasplendens* que chez *Trifolium repens*. Il a en outre été vérifié à l'aide d'un examen d'empreinte numérique par électrophorèse sur gel à gradient dénaturant par PCR (PCR-DGGE) qui a évalué qu'après l'ajout de Cu (200e500 mg kg⁻¹) dans le sol avec *Elsholtziasplendens*, le nombre de bandes était considérablement réduit. Par rapport aux sols non contaminés, les microbes appartenant aux genres Firmicutes n'étaient présents que dans la rhizosphère d'*Elsholtziasplendens* des sols contaminés par le Cu et très peu d'espèces telles que Deinococci- Thermus ont été observées, indiquant que la pollution par le Cu modifiait les communautés microbiennes dans la rhizosphère (Shi *et al.*, 2018). Cependant, la disposition spatiale des communautés microbiennes a été étudiée dans différents sols par PCR en temps réel en étudiant les niveaux d'expression génique de la flagelline (fliC) et du gène de chimiotaxie (cheA) et leurs niveaux d'expression ont été altérés par la toxicité du Cu dans différentes zones du sol (X. Yuan *et al.*, 2014). *Elsholtzia splendens* as a hyperaccumulator governs microbial activity and bacterial composition in the rhizospheric zone under Cu toxicity. En outre, les bactéries résistantes au Cu *Pseudomonas putida* CZ1 isolées de la rhizosphère d'*Elsholtziasplendens* ont montré une CMI (concentration inhibitrice minimale) plus élevée en présence de Cu (3 mmol l⁻¹) et ont pu éliminer 87,2 % de Cu avec des capacités de biosorption (24,2 mg l⁻¹) (X. C. Chen *et al.*, 2005). Le pH optimal pour l'élimination du Cu (II) était de 4,5e5,0 et, dans ces conditions, la biosorption du Cu (II) était augmentée de manière dose-dépendante. Environ 50% du Cu a été absorbé par la bactérie, tandis que le reste a été passivement facilité dans la bactérie. De plus, l'efficacité de désorption du Cu (II) était de 72% en cas de cellules vivantes par accumulation intracellulaire (X. C. Chen *et al.*, 2005). La capacité de liaison du Cu par la bactérie a été favorisée par les modifications chimiques de la biomasse du sol telles qu'étudiées par analyse d'absorption infrarouge et de rayons X (S. Kumari

et al., 2017; H. Lin *et al.*, 2020). Enfin, nous pouvons révéler que les communautés microbiennes résidant dans la rhizosphère jouent un rôle essentiel dans la régulation des motilités de Cu dans l'écosystème du sol.

4. Effet du stress au cuivre chez les plantes.

4.1. Sur les Paramètres morphologiques

Les concentrations excessives de Cu ont des effets significatifs sur la croissance des plantes. La toxicité du Cu affecte en grande partie la croissance et la morphologie des racines, car il a tendance à s'accumuler dans le tissu racinaire et peut être transmis aux pousses (Z. Yang *et al.*, 2015). Les symptômes visuels généraux de la toxicité du Cu, en dehors de l'inhibition de la croissance racinaire, comprennent la chlorose foliaire interveinale, les feuilles flétries, les extrémités des feuilles nécrotiques et les malformations racinaires (J. Chen *et al.*, 2015; Jung *et al.*, 2015). Plus précisément, les niveaux excessifs de Cu sont dommageables pour les racines des plantes, avec des symptômes allant de la perturbation de la cuticule racinaire et de la réduction de la prolifération des poils racinaires à une déformation sévère de la structure des racines (Sheldon & Menzies, 2005). Selon les espèces végétales, des concentrations supérieures à 20 e 30 mg g⁻¹ peuvent provoquer une toxicité, tandis que des concentrations de 1 e 5 mg g⁻¹ sont essentielles à la croissance des plantes (Khatun *et al.*, 2008; Marschner, 1995). Les effets sur la croissance et la forme des racines sont significatifs souvent avant tout effet sur la croissance au-dessus du sol (Minnich *et al.*, 1987). Cependant, à de faibles concentrations, le Cu est un micro-élément nutritif pour les plantes et les symptômes visibles peuvent être moins évidents ou détectables, bien que la réduction du rendement des cultures et de la biomasse puisse persister (Marschner, 1995; Yruela, 2005). M. S. Hossain *et al.*(2020) ont étudié les paramètres morphologiques sous stress de Cu chez les lentilles et ont observé qu'un traitement élevé de 3,0 mM de CuSO₄. 5H₂O réduit la racine, la pousse, la croissance des semis et la biomasse des plantes. Lalau *et al.* (2015) dans leurs études, ont évalué l'impact des nanoparticules de CuO sur la plante *Landoltia punctata* et en ont déduit que la morphologie était affectée de manière plus importante que le taux de croissance. Marques *et al.* (2018) dans une autre étude ont souligné l'effet toxique du Cu sur les plantes d'*Hymenaea courbaril*. De leurs résultats, il a été obtenu qu'en dessous de 200 mg kg⁻¹ de traitement, Cu préférait la croissance et la morphologie racinaire de cette plante, alors qu'en dessous de 800 mg kg⁻¹, il a un impact néfaste sur la croissance ainsi que sur la morphologie racinaire de cette plante. Sous les environnements de micronutriments, le Cu a une influence positive sur la croissance des racines des tomate *Solanum lycopersicum* (C. Wang *et al.*, 2021). En outre, la surface racinaire est principalement associée à l'absorption des nutriments, et l'amélioration du volume racinaire conduit à une meilleure capacité d'absorption des nutriments et a finalement un effet positif sur l'avancement de la plante. La baisse du volume racinaire sous traitement de Cu indique la réduction significative de la biomasse racinaire, qui est directement liée à la division cellulaire (Bochicchio *et al.*, 2015; Cai *et al.*, 2014). (Batoool *et al.*, 2015) ont souligné que le déclin apparent de la croissance racinaire était également lié à une diminution de la division cellulaire, entraînant une augmentation de l'épaisseur de la paroi cellulaire des racines sous le stress des métaux lourds. La chlorose foliaire interveinale est un symptôme précoce

courant de la toxicité du Cu (Reckova *et al.*, 2019), tandis que la chlorose a également été observée chez les plantes supérieures, par exemple *Eucalyptus eximia*(bois de sang jaune) et *Casuarina distyla*(chêne) (Mitchell *et al.*, 1988). La toxicité du cuivre peut également être associée à un pourpre du feuillage (MostofaetFujita,2013), mais cela n'est pas apparent chez toutes les espèces (Sinha *et al.*, 2015). Le déclin de la surface foliaire sous Cu peut être attribué à l'accrétion de lignine dans le xylème et conduit finalement à l'épaississement et au durcissement de la paroi cellulaire, ce qui a des effets pessimistes sur le développement cellulaire et l'élargissement des feuilles en diminuant son élasticité (García Sanjuán *et al.*, 2018). Sous toxicité Cu, aucune nécrose n'a été observée chez *Zeamays*et l'herbe de Rhodes (Reckova *et al.*, 2019; Sheldon & Menzies, 2005). De toutes ces études, nous pouvons conclure que le traitement du Cu réduit les paramètres morphologiques tels que la longueur des racines, la longueur des pousses et la surface foliaire, etc. De plus, la chlorose foliaire interveinale, la nécrose, le pourpre du feuillage et le chlorosis ont également été trouvés sous stress de Cu.

4.2. Sur la paroi cellulaire.

Les principaux sites d'accumulation de Cu dans les plantes sont le chloroplaste, la vacuole, le cytoplasme et la paroi cellulaire (Bernal *et al.*, 2006; Burkhead *et al.*, 2009). La paroi cellulaire est le principal site de contact pour les minéraux et est caractérisée par une structure composite composée de cellulose, d'hémicellulose et de protéines intégrées dans une matrice de pectines avec un degré variable de starification de méthyle. Au pH de l'apoplaste, les résidus de pectine non méthylés sont chargés négativement et interagissent ioniquement avec les cations. La paroi cellulaire joue ainsi un rôle important dans la réponse des métaux lourds en tant que séquestrateurs d'ions, mais sa synthèse et sa composition peuvent être gravement affectées en retour (Parrotta *et al.*, 2015).

4.3. Absorption des nutriments

Les métaux lourds inhibent l'absorption et l'absorption des nutriments, perturbent leur composition et induisent une phytotoxicité en affectant le métabolisme des nutriments dans les plantes (Chibuike & Obiora, 2014). Avec l'augmentation du niveau de Cu, il y a eu une diminution de la quantité de phosphore (racines et feuilles) et de potassium (racines, tiges et feuilles), ce qui signifie qu'un excès de Cu a causé une altération de l'absorption des nutriments (Ambrosini *et al.*, 2018). La moindre absorption de nutriments est un indicateur distinctif de la toxicité du Cu, tandis que la perméabilité membranaire et le rôle des transporteurs sont influencés négativement (Cambrolle' *et al.*, 2015). Le degré de disproportion des nutriments est basé sur les espèces végétales, le niveau de Cu dans la rhizosphère, le temps de traitement et les environs de croissance (Adrees *et al.*, 2015). La baisse du niveau de phosphore dans les feuilles et les racines est liée à la production de complexe métal-phosphate insoluble dans les racines. Dans des études antérieures, (Guimara, 2016) a découvert ce complexe, tout en indiquant l'impact du phosphate sur la diminution de l'absorption du Cu des racines aux pousses, de sorte que le complexe arrête le Cu et le phosphore, diminuant leur absorption par les pousses. Sous un stress excessif en Cu, divers rapports chez les jeunes vignes ont également observé une diminution de l'absorption des nutriments. Par exemple Melo *et al.* (2008), Toselli *et al.* (2009) et Oliveira

et al. (2015) ont signalé une réduction de l'accrétion d'azote, de potassium, de calcium, de magnésium et de fer dans les plantes de Sangiovese et les vignes de Red Niagara. Shams *et al.*(2019) ont étudié l'accumulation de nutriments minéraux dans *Lactuca sativa* sous stress de Cu et leurs conclusions ont montré que sous le traitement à 400 mM de CuSO₄, l'accumulation d'azote, de potassium, de phosphore, de magnésium, de sodium, de zinc et de bore est diminuée de manière significative dans les racines, tandis que le fer, le silicium, le calcium et le chlorure restent inchangés dans les feuilles sous le traitement à 200 et 400 mM de CuSO₄. Zeng *et al.* (2019) ont également étudié l'absorption de minéraux dans les semis de canne à sucre sous stress de Cu et leurs conclusions ont révélé qu'à une concentration de 200 mmol/l de Cu 2p, les niveaux de Zn, Fe, Ca, Mg et Mn étaient améliorés dans les pousses, tandis que Zn et Mg étaient réduits dans les racines. Li *et al.*, (2019) ont également évalué l'accumulation de nutriments dans les plantules d'agrumes sous stress de Cu et leurs résultats ont indiqué que les teneurs en fer, bore, azote, phosphore, potassium, calcium, magnésium et soufre étaient diminuées avec le stress de Cu. La dynamique complexe de l'absorption et du transport des nutriments sous stress de Cu pourrait être due à la concurrence entre Cu et les nutriments pour les transporteurs, aux altérations de l'expression des gènes qui ont participé à l'absorption des nutriments au niveau transcriptionnel ou post-transcriptionnel et aux variations de la perméabilité de la membrane plasmique (Andre´s-Bordería *et al.*, 2017; Q. Li *et al.*, 2017; Roy *et al.*, 2017). Le niveau varié de nutriments dans les plantes situées dans les environs de Cu peut être élucidé par diverses approches de tolérance adoptées par plusieurs plantes(Yruela, 2005). De ces études, nous pouvons conclure qu'un excès de Cu entraîne une altération de l'absorption des nutriments.

4.4. Sur la croissance des plantes.

L'excès de Cu peut affecter des processus physiologiques importants chez les plantes et causer des problèmes de croissance et de développement des plantes. Le cuivre prélevé dans le sol doit être transporté, distribué et compartimenté dans différents tissus et organites pour une croissance et un développement sains des plantes (Habiba *et al.*, 2015) . D'autre part, l'excès de Cu est caractérisé par une biomasse végétale réduite, une chlorose foliaire, une croissance racinaire inhibée, une bronzage et une nécrose. L'effet de la toxicité du Cu est en grande partie sur la croissance et la morphologie des racines, ce qui a une importance particulière pour l'ensemble de la plante. Parce que l'eau et les nutriments pénètrent dans les plantes par les racines, tout défaut ou malformation des racines crée des problèmes pour la croissance et le développement des plantes. Le cuivre a tendance à s'accumuler dans le tissu racinaire avec peu de translocation vers les pousses (Marschner, 2011). Un retard de croissance racinaire des plantes *Festucaarudinacea et Loliumperennea* été observé après 7 jours d'application de cuivre (S. Zhao *et al.*, 2010). Kolbert *et al.*, (2012)ont rapporté qu'un excès de cuivre à long terme entraîne une inhibition du développement de la tige et des racines d'*Arabidopsis thaliana*. L'élongation, la division et l'expansion cellulaires ont également été affectées. L'homéostasie altérée de l'auxine dans les deux organes s'est avérée être une cause des altérations de la croissance en raison de la production élevée d'oxyde nitrique (NO) qui inhibe le transport de l'auxine médié par PIN1. Liu *et al.* (2014)ont signalé qu'une diminution continue des activités racinaires du maïs et des troubles physiologiques

ont été observés lors d'une augmentation du stress du cuivre, ce qui a entraîné des dommages à la membrane des cellules racinaires. L'ion intracellulaire et la substance organique ont fui après que le Cu^{2p} soit entré dans les cellules racinaires.

L'excès de cuivre inhibe l'expansion foliaire, l'élongation cellulaire et la division cellulaire (Maksymiec, 1997; Panou-Filotheou & Bosabalidis, 2004). Une longue exposition au stress du cuivre provoque le repliement de la lame foliaire, une augmentation du nombre de poils sur la surface inférieure des lames foliaires, une augmentation du nombre de stomates et une diminution de la taille des stomates, ainsi qu'une réduction du volume des espaces intercellulaires du mésophylle. Tous ces changements dans l'anatomie et la morphologie des feuilles sont des troubles dus à l'exposition des racines au stress du cuivre qui entraîne une diminution de la transpiration (Panou-Filotheou *et al.*, 2001).

La chlorose foliaire est un symptôme typique des plantes soumises à des concentrations élevées de Cu dans le sol (Miotto *et al.*, 2014). Au cours de la chlorose foliaire, certaines altérations morphologiques et physiologiques se produisent dans les chloroplastes. Les chloroplastes du mésophylle dans les plants d'origan traités au cuivre sont réduits en volume et en nombre (Panou-Filotheou *et al.*, 2001). Cette observation est conforme à celles d'autres plantes sous stress Cu, comme le riz (Lidon & Henriques, 1993), les haricots (Maksymiec *et al.*, 1994) et le blé (Quartacci *et al.*, 2000). Sanchez-Pardo *et al.* (2014) ont rapporté que sous contrainte de cuivre, la structure des thy-lakoïdes dans le lupin blanc et le soja a montré des changements. La désintégration des membranes chloroplastiques, la dégradation de l'empilement des grana, le gonflement des thylakoïdes et l'augmentation du nombre de plastoglobules ont également été observés chez les plants de soja.

4.5. Sur l'Inhibition de la photosynthèse

Le Cu excessif interfère avec la composition des membranes chloroplastiques et thylakoïdes, ce qui peut induire un stress oxydatif dans les cellules végétales et réduire la teneur en pigments photosynthétiques et en porteurs d'électrons, inhibant ainsi le transfert d'électrons dans la photosynthèse (González-Mendoza *et al.*, 2013; Vassilev *et al.*, 2003). Le jaunissement des feuilles est l'un des principaux signes d'empoisonnement au Cu, et Hossain *et al.* (2020) ont observé une diminution significative de la teneur en pigments photosynthétiques, tels que la chlorophylle a, la chlorophylle b et les caroténoïdes, après le traitement des lentilles (*Lens culinaris*) avec 3 mM de sulfate de Cu (CuSO_4). (Panou-Filotheou *et al.*, 2001) ont rapporté que la toxicité du Cu (17-25,5 mM) réduisait significativement le volume et le nombre de chloroplastes. De plus, les thylakoïdes du grana dégénèrent et gonflent sous le stress du Cu, et il y a souvent une teneur élevée en globuline dans les plastes.

Le Cu joue un rôle important dans le transport d'électrons médié par le photosystème II (PSII) des plantes, qui est impliqué dans la photolyse des molécules d'eau dans les cellules photosynthétiques. Cependant, des concentrations élevées de Cu peuvent affecter l'efficacité du complexe de récupération de la lumière II (LHCII) ou PSII. Des concentrations élevées de Cu dans l'argousier (*Hippophaerhamnoides*) ont principalement affecté la photosynthèse en inhibant le centre de réaction PSII. Le traitement avec 23 mM de Cu a inhibé l'activité du PSII en réduisant directement la teneur en chlorophylle, ce qui a entraîné une photosynthèse inefficace (Cambrollé *et al.*, 2015). Cu a inhibé le transport d'électrons de PSII à une concentration

de 75–150 μM , ce qui, à son tour, a affecté la composition de la membrane thylakoïde des algues noires (*Audouinella* spp.) (Q. Xu *et al.*, 2013). Par conséquent, des quantités excessives de Cu peuvent réduire la photosynthèse des plantes en inhibant la biosynthèse de la chlorophylle et le PSII, affectant ainsi négativement les plantes. Par conséquent, il est crucial de contrôler strictement l'équilibre du Cu dans les plantes.

5. Mécanismes de d'adaptation et de tolérance du cuivre dans les plantes.

Le mécanisme de détoxification et de tolérance du Cu chez les plantes se produit principalement par l'induction de l'expression de gènes fonctionnels spécifiques et la production d'anti-oxydants (Kapoor *et al.*, 2019). Sous le stress du Cu, une grande quantité de ROS sera produite dans les plantes, et il existe trois mécanismes pour maintenir le niveau optimal d'homéostasie du Cu et des ROS (C. Zhang *et al.*, 2016). La première consiste à réduire ou à empêcher les racines d'absorber le Cu en chélatant ou en précipitant les ions Cu par les exsudats de racines de plantes. La seconde consiste à induire l'expression de gènes liés à l'absorption et au transport du Cu pour réduire la concentration d'ions Cu intracellulaires, contrôlant ainsi la production de ROS médiée par le Cu. Enfin, différents types d'antioxydants éliminent les ROS excédentaires pour diminuer les effets toxiques du Cu.

5.1. Transduction du signal de stress par les phytohormones.

Les plantes synthétisent une variété d'hormones telles que l'acide abscissique (ABA), les brassinostéroïdes, la mélatonine ou l'acide indole acétique (IAA) lorsqu'elles sont soumises au stress du cuivre (Vázquez *et al.*, 2013). Ces hormones végétales sont liées aux réactions de signalisation et de défense induites par les métaux. Pendant l'exposition au cuivre, une augmentation de l'émergence des pousses et de la production de biomasse végétale a été observée chez les plants de moutarde, qui sont traités avec du 24-épi-brassinolide (EBL ; 10⁻⁷, 10⁻⁹ et 10⁻¹¹ M) pendant 8 h (P. Sharma et Bhardwaj, 2007). De plus, l'EBL a bloqué l'absorption et l'accumulation de Cu dans les plants de moutarde.

Les semis de radis génèrent une résistance au cuivre après un traitement EBL de 10⁻⁷ M sur les graines. De plus, la croissance des racines et des pousses augmente (S. P. Choudhary *et al.*, 2010). Les concentrations endogènes d'AIA et d'ABA augmentent chez ces plants de radis traités par EBL. Les activités enzymatiques antioxydantes, la proline, l'AsA, le phénol total et la phytochimélatine sont augmentés ; ainsi, le stress oxydatif est soulagé. La capacité antioxydante et l'activité de piégeage des radicaux libres des plants de radis traités par EBL ont également été étudiées (S. P. Choudhary *et al.*, 2012). Le traitement par EBL améliore la croissance des semis, les niveaux d'antioxydants et les activités enzymatiques (GPOX, CAT, SOD et GR) et les capacités de piégeage des radicaux libres et réduit les dommages membranaires chez les semis. Le rôle de l'application combinée de l'homobrassinolide et de l'H₂O₂ sur les feuilles des plants de haricot mungo soumis au stress du cuivre a été étudié (Fariduddin *et al.*, 2014). L'homobrassinolide et/ou l'H₂O₂ appliqués de manière exogène atténuent la toxicité du cuivre chez le haricot mungo et suggèrent leur rôle dans le maintien de l'homéostasie du cuivre chez ces plantes.

De plus, la biosynthèse de la putrescine est améliorée sous les feuilles de blé stressées au cuivre (Groppa *et al.*, 2007). L'augmentation de la concentration de putrescine est due à

l'activité accrue des enzymes ornithine décarboxylase et arginine décarboxylase. Chen *et al.* (2013) ont rapporté que la putrescine exogène agissait comme un messenger chimique, induisait plusieurs enzymes antioxydantes (CAT, APX et POD) et piègeait l'H₂O₂ chez *Populus cathayana* qui était exposé au stress du cuivre. La co-application d'EBR et de Spd est très efficace pour détoxifier le Cu chez les plantes (S. P. Choudhary *et al.*, 2012) L'application combinée d'EBL et de spermidine sur des plants de radis affecte l'expression génique des enzymes de synthèse de l'acide phosphatidique, le métabolisme de l'AIA et de l'ABA ; ainsi, la tolérance au stress du Cu dans les plants de radis est améliorée. (Munzuroglu *et al.*, 2008) ont enregistré des augmentations significatives de la teneur en ABA des graines de blé soumises à la toxicité du cuivre. Dans une autre étude, Zengin & Kirbag, (2007) ont enregistré que le stress du cuivre augmente la teneur en ABA dans les plants de tournesol. L'augmentation de l'ABA diminue la transpiration ; ainsi, le transport des ions cuivre des racines aux pousses est entravé. De même, Ku *et al.* (2012) ont rapporté que l'augmentation de l'ABA dans les feuilles de tabac, induite par le Cu, réduit le transport de l'eau et diminue l'efficacité de l'absorption des métaux. La mélatonine est l'une des hormones qui s'accumule pendant le stress. La mélatonine joue un rôle dans de multiples processus de développement des plantes et diverses réponses au stress (Tan *et al.*, 2012). Posmyk *et al.* (2008) ont rapporté que l'application de mélatonine exogène améliorerait le stress du cuivre chez les semis de chou rouge. Les plants de pois traités à la mélatonine survivent sous toxicité du cuivre par rapport aux plants non traités (Tan *et al.*, 2007).

L'auxine contrôlant l'allongement primaire des racines augmente la formation de racines latérales et le nombre de poils radiculaires affectant les réponses des plantes aux contraintes métalliques (Yuan *et al.*, 2013). La contrainte du cuivre inhibe l'élongation primaire des racines. La redistribution de l'auxine médiée par le Cu est responsable de l'inhibition de l'élongation primaire des racines qui est médiée par PIN1, mais pas par PIN2 ou AUX1 (H. M. Yuan *et al.*, 2013). Pendant le stress du cuivre, une réduction du gène DR5 promoteur sensible à l'auxine est observée au niveau des mérites racinaires primaires d'*A. thaliana*, qui sont exposés à des concentrations élevées de cuivre. Cependant, l'accumulation de DR5 juste au-dessus de l'apex racinaire pourrait provoquer la formation de racines latérales. Cela pourrait également être impliqué dans la formation de poils racinaires dans la zone adjacente aux extrémités racinaires traitées au Cu 2p d'*A. thaliana* (Lequeux *et al.*, 2010).

Les plantes synthétisent l'éthylène, en fonction de l'intensité des contraintes des métaux lourds (Schellingen *et al.*, 2014). Mertens *et al.* (1999) ont signalé une augmentation de la production d'éthylène chez des plants d'*A. thaliana* âgés de 7 jours exposés à 25–500 mM de Cu pendant jusqu'à 6 h. Cependant, Lequeux *et al.* (2010) n'ont observé aucun effet du stress de 24 h sur le cuivre (50 mM) sur la production d'éthylène dans les usines d'*A. thaliana*. Ils ont suggéré que l'éthylène n'est pas impliqué dans la réorganisation de l'architecture racine à long terme.

De plus, Groppa *et al.* (2003) ont signalé une augmentation de la production d'éthylène dans les feuilles de blé et de tournesol âgées de 4 semaines après 14 h d'exposition à 1 mM de Cu.. L'exposition à des concentrations élevées de cuivre (50–400 mM) pendant une courte période (24 h) induit différemment la production d'éthylène dans diverses parties de la plante d'*A. thaliana* (Arteca et Arteca, 2007). Hego *et al.* (2014) ont rapporté que certaines protéines impliquées dans la biosynthèse de l'éthylène, par exemple la 1-aminocyclopropane-1-

carboxylate synthase, la protéine de type ETO et la S-adénosylméthionine synthétase (SAMS) sont surexprimées dans les racines d'*Agrostis capillaris*, en particulier à des expositions de 5 mM Cu et 1 mM Cu.

Les expressions géniques de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS) qui catalyse la production de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique à partir de la S-adénosyl-L-méthionine et de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxydase qui catalyse la conversion de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase en éthylène ont été étudiées dans des semis de *Brassicaoleracea* exposés au stress du cuivre. Les expressions des deux enzymes importantes de la biosynthèse de l'éthylène, l'ACS1 et la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxydase 1, sont induites par 2,5 mM de traitement au CuCl₂. Par conséquent, les ions cuivre se sont révélés être un inducteur très efficace de la biosynthèse de l'éthylène (Jakubowicz *et al.*, 2010). L'éthylène, ainsi que d'autres hormones végétales, peuvent contribuer à l'inhibition de la croissance et à des malformations de l'architecture racinaire pendant le stress lié au Cu. Ces réponses régulées par l'éthylène sont médiées à la fois par l'accumulation de ROS et/ou la signalisation de ROS. Les plantes ont des barrières antioxydantes contre les attaques ROS. Un système antioxydant est connu pour être induit par l'éthylène sous différents stress de métaux lourds tels que Ni et Zn (M. I. Khan & Khan, 2014), cependant, il n'y a pas d'étude sur les effets de l'éthylène sur les enzymes antioxydantes des plantes stressées par le cuivre (Iqbal *et al.*, 2013).

5.2. Les exsudats racinaires

Les exsudats racinaires font référence à diverses substances sécrétées par les plantes dans les substrats de croissance à travers le système racinaire au cours du processus de croissance. Les exsudats racinaires peuvent modifier les propriétés physiques, chimiques et biologiques de la rhizosphère et améliorer ou atténuer l'état de croissance des plantes dans des conditions d'empoisonnement aux métaux lourds, ce qui permet aux plantes de s'adapter aux changements de l'environnement extérieur. Les exsudats racinaires sont à peu près divisés en trois catégories : (1) les substances qui diffusent ou fuient des cellules racinaires, telles que les sucres, les acides aminés et les vitamines ; (2) les métabolites qui sont activement sécrétés par les cellules racinaires, telles que les enzymes, les hormones, les phénoliques et les acides organiques ; et (3) les substances qui sont produites par la décomposition bactérienne après que les résidus végétaux ont été éliminés (Liu *et al.*, 2007).

Lyubenova *et al.* (2013) ont constaté une augmentation des teneurs en acide oxalique, en acide malique, en acide acétique et en acide tartrique sécrétées par les racines de la queue de chat à feuilles larges (*Typha radix*) sous stress Cu. La teneur en ions Cu dans les tissus végétaux était proportionnelle à la teneur en acides organiques de faibles poids moléculaires dans le sol de la rhizosphère. Les métaux lourds peuvent également former des composés stables avec des groupes fonctionnels, tels que les groupes amino, carboxyle et hydroxyle, de l'histidine et de la proline (Pro), qui les détoxifient de manière agressive (Jin & Wang, 2019). Une analyse des profils d'acides aminés a montré que sous stress Cu, les teneurs en acides aminés libres, tels que Pro, cystéine (Cy), alanine et acide aspartique, augmentaient chez les plants de moutarde (*Brassicasp.*) (P. Yadav *et al.*, 2018). Une étude réalisée par Zhu a révélé que l'application exogène d'acide β -aminobutyrique activait le système enzymatique antioxydant du tabac (*Nicotiana spp.*), augmentait la teneur en glutathion,

régulait l'expression des gènes transporteurs d'ions métalliques et améliorait la capacité du tabac à résister au stress du Cu (Zhu, 2014).

5.3. Changements ultra-structuraux dans les plantes.

L'interaction des métaux végétaux au niveau cellulaire est devenue inévitable pour comprendre la distribution et les changements ultra-structuraux induits par les métaux lourds à l'intérieur de la cellule. La microscopie électronique à transmission (Met) est une technique merveilleuse pour comprendre la toxicité et la tolérance des plantes aux métaux lourds dans les sols ou le milieu de leur croissance (J. Chen *et al.*, 2014, 2015; Hong-yun *et al.*, 2005). Chen *et al.* (2015) ont observé une paroi cellulaire irrégulière et épaissie chez *Phyllostachyspubescens* sous contrainte de Cu dans les milieux en solution. Dans la même espèce, en réponse à la toxicité du Cu, les auteurs observent une distorsion des mitochondries, du noyau et du cytoplasme moins dense. Des changements ultrastructuraux induits par le Cu sont également signalés chez *Brassicinapus* L. (L. Li *et al.*, 2018). Un changement dans la structure des cellules du mésophylle foliaire apparaît également dans la plante sous stress Cu. Une distorsion de la thylakoïde se trouve dans la plante lors de l'exposition au Cu avec un chloroplaste gonflé contenant de gros granules d'amidon. En général, les plantes exposées aux métaux ont plus de plastoglobules que les plantes témoins non exposées. Les modifications ultra-structurales observées dans les extrémités des racines comprennent des organites endommagés, un noyau déformé, des vacuoles élargies et une paroi cellulaire rugueuse. Lee *et al.* (2008) ont appliqué la met pour visualiser les dépôts denses en électrons de particules de Cu nano dans les vacuoles des tissus racinaires et la même chose comme moyen de séquestration de Cu par les plantes. L'analyse met révèle des changements ultra-structuraux dans les tissus racinaires d'*Allium sativum* exposés au Cu (Liu et Kottke, 2004). Les études TEM ont permis aux auteurs de révéler que la formation accrue de vésicules et de vacuoles, la lyse membranaire, le noyau déformé, les nucléoles, la disparition des ribosomes et la réduction des crêtes mitochondriales en tant que caractéristiques structurelles internes dans les cellules corticales des plantes exposées à un excès de Cu. De même, les études TEM démontrent que le métal cause des dommages prononcés au chloroplaste foliaire et aux organites racinaires d'*ElsholtziaSplendens* exposés à un excès de Cu dans le milieu de croissance (Hong-yun *et al.*, 2005). L'imagerie TEM révèle une désorientation du chloroplaste avec des réseaux thylakoïdes perturbés dans les cellules foliaires d'*Eclipta alba* (L.) Hassk(Chandrasekhar et Ray, 2017) et *Salix purpurea* (Hakmaoui *et al.*, 2007), Kang *et al.* (2015), en utilisant l'imagerie met, décrit la capacité d'hyperaccumulation de Cu des semis de ricin. Dans l'ensemble, le test met semble être un moyen important de comprendre les changements ultra-structuraux des plantes en relation avec la toxicité des métaux lourds et le mécanisme de détoxification.

5.4. Implication de la Proline : Libération et métabolisme

La proline, un acide aminé, est un indicateur permettant d'évaluer la réponse métabolique de la plante au stress lié au Cu. La proline agit comme un osmorégulateur chez les plantes soumises à un stress abiotique, y compris les métaux lourds. *Colobanthusquitensis* présente une augmentation dose-dépendante de la teneur en proline lorsqu'il est exposé au Cu dans

des milieux en solution (Cuba-díaz *et al.*, 2017). L'accumulation de proline est une réponse adaptative des plantes aux stress. On pense que la proline est une molécule régulatrice ou signal activant certaines réponses physiologiques et moléculaires (Szabados & Savoure, 2010). Les plantes exposées à un excès de cuivre accumulent de la proline dans leurs tissus (Ku *et al.*, 2012). Selon ces auteurs, le rôle fonctionnel de la proline comprend une défense antioxydante en atténuant les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène formées dans les cellules en raison de la présence de métaux lourds. De plus, la proline aide à la détoxification des métaux en fournissant une protection par chélation du Cu dans le cytoplasme et osmorégulation (Cuba-díaz *et al.*, 2017). Le mécanisme d'accumulation de la proline est lié à une synthèse accrue, à une diminution du catabolisme ou à une dégradation accrue des protéines (Kavi Kishor *et al.*, 2005). La proline est synthétisée dans les plantes supérieures à partir du glutamate via des réactions, qui sont catalysées par la pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS) et la pyrroline-5-carboxylate réductase. La proline peut également être formée par transamination de l'ornithine en proline-5-carboxylate par l'ornithine amino transférase. Le catabolisme de la proline dans les cellules végétales se produit par la proline déshydrogénase (PDH) et la pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase (Monteoliva *et al.*, 2014). Une activité accrue de P5CS et une accumulation de proline ont été rapportées dans des plants de tabac stressés au cuivre cultivés en pots (H. M. Ku *et al.*, 2012) . De plus, une activité pyrroline-5-carboxylate réductase plus élevée dans les feuilles de riz détachées exposées au Cu a été observée (Chen *et al.*, 2001). La stimulation de l'activité de P5CS chez les plantes de *Triticumaestivum* sous un excès de cuivre provenait de l'activation du gène P5CS (Tripathi *et al.*, 2013). L'accumulation de proline dans les plantes de *T.aestivum* sous toxicité du cuivre provient principalement de la contribution de la synthèse de proline à base de glutamate, car l'activité relativement plus lente de l'ornithine amino transférase par rapport aux activités de la P5CS et de la pyrroline-5-carboxylate réductase a été déterminée dans les feuilles de *T. aestivum* sous excès de cuivre. La contribution du catabolisme de la proline à l'accumulation de proline dans les plantes traitées au cuivre a également été démontrée par certaines études évaluant l'activité de la PDH. Une inhibition de l'activité de la PDH dans les plantes de *T. aestivum* traitées au cuivre a été rapportée (B. N. Tripathi *et al.*, 2013). Il est suggéré que la diminution du catabolisme de la proline contribue à l'accumulation de proline chez diverses plantes (Mani *et al.*, 2002). De même, Wen *et al.* (2013) ont également signalé que le prétraitement au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) augmentait l'accumulation de proline dans les semis de maïs doux sous stress de cuivre. L'augmentation de la teneur en proline était liée à l'induction des voies de l'ornithine et du glutamate et à la réduction de la voie de la PDH. L'augmentation induite par le stress du cuivre des niveaux de proline et de NO chez *Chlamydomonas reinhardtii* indiquent que cette génération de NO intracellulaire était impliquée dans l'accumulation de proline induite par le Cu et la signalisation basée sur une activité accrue de P5CS et une expression régulée à la hausse du gène P5CS dans les algues traitées au Cu après un traitement au nitroprussiate de sodium (SNP) (Rejeb Ben *et al.*, 2014). La proline est également connue pour être un piègeur de ROS comme les enzymes antioxydantes et les antioxydants non protéiques (acide ascorbique (AsA) et glutathion (GSH)). Un résultat bien connu de la contrainte du cuivre est la formation de ROS. Les plantes sont équipées d'un système de défense antioxydant pour faire face aux ROS. Cette partie du chapitre abordera les effets du cuivre sur un système

antioxydant. La proline joue divers rôles dans des conditions de stress des métaux lourds chez les plantes, telles que la stabilisation des protéines cellulaires, des membranes et des structures sous-cellulaires contre les dommages oxydatifs et l'activité de piégeage des radicaux libres (Kaur et Asthir, 2015; Rejeb Ben *et al.*, 2014). De plus, le taux accru de biosynthèse de la proline à l'intérieur de la cellule stabilise l'équilibre redox et l'homéostasie cellulaire. Selon Lin et Kao (2007), une augmentation de l'accumulation de proline peut également être due à l'hydrolyse des protéines, à une diminution de l'activité de la proline déshydrogénase ou à une diminution de l'utilisation de la proline. Un rapport similaire sur l'augmentation de l'accumulation de proline est rapporté chez les plantes, y compris les clones de peuplier (Kebert *et al.*, 2017). L'effet de l'augmentation de l'offre de Cu dans le milieu de croissance a un effet stimulant sur la teneur en proline des plantes (Al-hakimi et Hamada, 2011; Chandrasekhar et Ray, 2017). En général, l'évaluation de la proline aide à comprendre la capacité des plantes à tolérer la toxicité des métaux lourds.

5.5. Composés phénoliques

Les flavonoïdes et autres composés phénoliques servent de bio-indicateurs chez les plantes exposées au Cu. Selon Manan *et al.* (2015), les flavonoïdes et les composés phénoliques ont un rôle bénéfique dans les plantes pour atténuer la toxicité du Cu. Ils agissent comme de bons piègeurs du peroxyde d'hydrogène hautement toxique en raison de son potentiel de réduction. Manan *et al.* (2015) ont également observé une augmentation de la teneur en flavonoïdes et en phénols chez *Nephrolepis biserrata* exposée à un excès de Cu dans les sols. Chez *Salix viminalis* L. cultivé en conditions hydroponiques, la teneur phénolique totale augmente avec une augmentation de l'exposition au Cu. Cela peut être dû au fait qu'à de faibles concentrations de Cu, les composés phénoliques étant des composés structuraux, améliorent la lignification de la paroi cellulaire chez les plantes. Ainsi, la production de composés phénoliques sert de mécanisme de défense supplémentaire dans les plantes pour surmonter le stress métallique obtenu par immobilisation des ions métalliques. Dans Cu exposé *Withania somnifera* L. les composés phénoliques jouent un rôle positif dans le soulagement de la toxicité du Cu (Khatun *et al.*, 2008). Les changements induits par le cuivre dans la teneur phénolique de *Pinus sylvestris* L. montrent une réponse antagoniste additive du Cu dans la plante (Roitto *et al.*, 2005). Diaz *et al.* (2001) décrivent une augmentation de la teneur phénolique de *Capsicum annuum* sous stress de Cu dans les milieux nutritifs.

Partie expérimentale

CHAPITRE I : Matériel et Méthodes

Plan de travail

Ce chapitre est composé de plusieurs expérimentations élémentaires rapportées en quatre parties.

Partie I : Isolement et caractérisation des *Pseudomonas* rhizosphériques des sols oasiens.

Partie II : Effet de cuivre et d'inoculation par *Pseudomonas* sur la germination de la fève *Vicia faba*.

Partie III : Effet de salinité et d'inoculation avec des isolats de *Pseudomonas* sur la germination de la fève *Vicia faba*.

Partie IV : Rôle de l'inoculation par des *Pseudomonas* Rhizosphériques dans la promotion de croissance de *Vicia faba* sous conditions de stress salin et cuprique.

I. Isolement et caractérisation des *Pseudomonas* rhizosphériques des sols oasiens

1. Echantillonnage

Quatorze échantillons du sol ont été prélevés à partir des rhizosphères des céréales (Blé, orge et Sorgho) à partir des oasis et palmerais d'Adrar (27°56'23.1"N 0°19'09.5"W). 250g de sol et racines ont été prélevés dans des conditions aseptiques, puis transportés au laboratoire pour l'analyse.

2. Isolement et purification des *Pseudomonas*

Des isolats bactériens ont été obtenus à partir des échantillons de sol parla technique de suspension-dilutions. 0.1 ml de chaque dilution a été ensemencéen surface sur milieu King B gélosé (King *et al.*, 1954) mis dans des boites de Pétri . Après l'incubation à une température de 28± 2 °C pendant 48h, les colonies présentant unpigment fluorescent diffusible dans le milieu ont été sélectionnées, ensuite purifiées surgélose King B.

3. Caractérisation des isolats

Les isolats sélectionnés ont été identifié par une étude macroscopique des colonies (aspect, forme, taille et couleur) puis par une étude microscopique après une coloration de Gram. Les bactéries de formesbacillaires à coloration de Gram négative ont subi un test de recherche d'oxydase et de catalase pour sélectionner legroupe de *Pseudomonas*.

Un ensemencement sur un milieu gélosé King A a été réalisé pour distinguer les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* des autres espèces fluorescentes de *Pseudomonas*.

3.1. Test d'antagonisme

Afin d'examiner le pourvoir antagoniste des isolats fluorescents de *Pseudomonas*, la souche antagoniste de *Pseudomonas* a été ensemencée en un seul trait à la surface de gélose nutritive.

Après incubation pendant 48h à 28 ± 2 °C. Les souches cibles (4 bactéries et 2 champignons) ont été ensemencées perpendiculairement à *Pseudomonas*. La lecture des résultats se fait en mesurant la distance d'inhibition entre les bordures de la souche cible et de *Pseudomonas* (Vidhyasekaran *et al.*, 1997 in MEZAACHE, 2014).

3.2. Production et caractérisation des métabolites secondaires

Les isolats de *Pseudomonas* fluorescents ont été mis en culture pour la production de trois types de métabolites secondaires : la pyoverdine, la pyocyanine et la phénazine.

3.2.1. Production et extraction de pyoverdine

Des cultures de *Pseudomonas* ont été effectuées en tubes à essai contenant 10 ml de milieu King B liquide, puis incubées à une température de 28 ± 2 °C pendant 72 heures. L'extraction a été faite suivant la méthode décrite par Meyer et Abdallah (1978), après l'incubation, les cultures ont été centrifugées à 6000 tr/min pendant 15 min à 4°C, puis acidifié à pH=2 avec de l'HCl 6N, et les surnageants ont été récupérés. La phase organique a été ensuite mélangée avec du diéthyl-éther (2 volumes/3 volumes), soigneusement agitée et laissée à décanter pendant environ 3 heures. La phase organique contenant la pyoverdine a été filtrée à travers un filtre en nitrocellulose de 45 µm. Ensuite, le filtrat a été mélangé avec du phénol/chloroforme (2 volumes/1 volume) et évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

3.2.2. Production et extraction de la pyocyanine

Les cultures de production ont été placées dans des tubes à essai contenant 10 ml de milieu King A liquide, puis incubées à une température de 30 ± 2 °C pendant 72 heures. Après l'incubation, la culture a été centrifugée à 10000 tr/min pendant 15 minutes. Le surnageant contenant la pyocyanine a été soigneusement mélangé avec un volume égal de chloroforme pour l'extraction du pigment bleu. La pyocyanine extraite au chloroforme a été purifiée avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N, suivie de soude caustique 1 N, jusqu'à ce que la couleur de la solution passe du rose foncé au bleu-vert. Ensuite, la solution a été filtrée pour obtenir une solution bleu-vert claire de pyocyanine, qui a été à nouveau extraite dans le chloroforme. Après l'extraction, le chloroforme a été évaporé et la pyocyanine a été recueillie (Raji El Feghali et Nawas, 2018).

3.2.3. Production et quantification de phénazine

Pour la production de phénazine, l'isolat a été ensemencé et incubé dans des tubes à essai contenant 5 ml de milieu King B liquide à 30°C pendant 24 h, puis versés dans des Erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml de milieu NBY (Nutrient broth yeast extract) liquide afin de stimuler la production des substances phénaziniques *in vitro*. Les cultures ont été mises en incubation à 30°C pendant 72 h, sous agitation permanente de 180 tr/min. Après 48 h d'incubation, l'extraction des phénazines, a été faite selon la méthode décrite par (. Smith et Willis, 1970). Les cultures ont été centrifugées à 10000 tr/min pendant 20 mn, le

surnageant a été acidifié à pH 2 par l'HCl concentré afin d'éliminer les protéines, puis additionné de l'acétate d'éthyle (1v/1v). 100 ml de phase organique, a été additionnée de 0,5g de sulfate de magnésium et filtrée à travers un papier Waltman, ensuite évaporée sous vide. Le substrat extrait sous forme de gomme a été dilué dans le méthanol pour des analyses ultérieures.

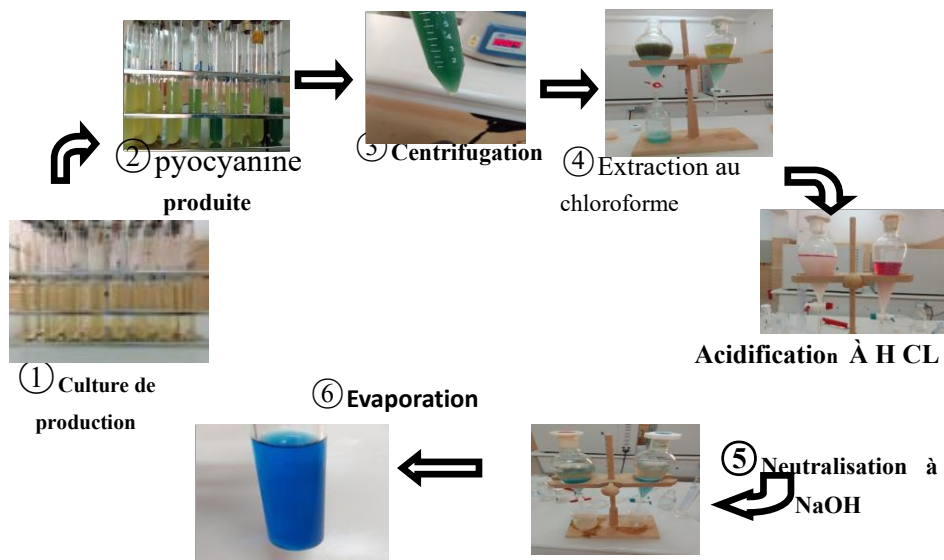


Figure 1: Chaîne de production et d'extraction de pyocyanine.

3.3. Caractérisation et identification des métabolites secondaires.

3.3.1. Par spectrophotomètre UV-Visible :

Un volume de 20 μl de l'extrait de chaque métabolite a été dilué dans 2 ml d'un solvant puis analysé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde allant de 800 à 200 nm.

3.3.2. Par chromatographie sur couche mince (CCM).

L'analyse des extraits par chromatographie en couche mince (CCM) est faite pour fractionner l'extrait et vérifier sa pureté. Un volume de 20 μL a été déposé sur la plaque à gel de silice, et la phase mobile a été composée de chloroforme/acétate d'éthyle (1:1). Après la migration et l'évaporation du solvant, les plaques ont été examinées sous UV à 365 nm. Les bandes ont été identifiées et les rapports frontaux (R_f) ont été calculés suivant l'équation au-dessous :

$R_f = \text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le front du solvant}$

3.3.3. Par Spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier FTIR

La technique de l'analyse infrarouge à transformation de Fourier (FTIR) a été utilisée pour reconnaître la structure des groupes des fonctions des extraits.

Principe: La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse spectrale qui se fonde sur

l'étude des vibrations des atomes et des molécules lorsqu'ils interagissent avec des rayons infrarouges. Cette approche permet de caractériser les groupes fonctionnels présents dans des composés organiques, inorganiques, cristallisés ou amorphes. Elle offre également la possibilité d'identifier des substances inconnues en les comparant aux spectres d'absorption infrarouge de références.

Une quantité de 0,1 mg de chaque échantillon (l'extrait de phénazine, la pyocyanine et la pyoverdine) dissoute dans du méthanol a été minutieusement mélangée avec 180 mg de bromure de potassium (KBr). Par la suite, le mélange a été chauffé dans une étuve à 110°C afin de supprimer toute trace d'humidité, avant d'être transformé en pastilles très fines d'un diamètre de 13 mm grâce à l'utilisation d'une presse hydraulique uni-axiale (pression : 0,5 tonne/cm²). Un rapport de 0,1/180 entre l'échantillon et le KBr a été maintenu pour obtenir des spectres bien définis et prévenir le chevauchement des pics. Les spectres d'absorption ont été enregistrés dans la plage du moyen infrarouge, couvrant des nombres d'ondes ($\nu = 1/\lambda$) compris entre 400 cm⁻¹ et 4000 cm⁻¹.

3.3.4. Analyse RMN des protons des métabolites purifiés.

Les résultats en spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire), sont représentés par un spectre RMN, un graphique qui illustre l'intensité des signaux de résonance magnétique nucléaire en relation avec la fréquence ou la chimie des noyaux atomiques présents dans un échantillon. Chaque pic ou pic doublet, etc., dans le spectre RMN représente un ensemble de noyaux atomiques ayant des caractéristiques chimiques et magnétiques similaires.

L'analyse d'RMN des protons a été réalisée en utilisant le solvant diméthylsulfoxyde (DMSO). Chaque échantillon de métabolite a été dissous dans 0,75 ml de DMSO et injecté à travers un tube RMN de 5 mm de diamètre extérieur pour enregistrer la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons (1H) à 70 eV. (Hussien *et al.*, 2013).

3.4. Activité antimicrobienne

3.4.1. Effet antimicrobien des extraits de pyoverdines purifiés

Pour vérifier l'effet inhibiteur des extraits de pyoverdine des isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14, Un volume de 20 µl de l'extrait a été utilisé pour imbiber des disques de diffusion de 5 mm. A l'aide d'une pince, les disques ont été placés aseptiquement sur des géloses nutritives ensemencées précédemment en surfaces par six souches antagonistes.

3.4.2. Effet antibactérien de pyocyanine et des phénazine extraites de l'isolat OA47.

Des disques de diffusion ont été imbibés avec deux concentrations (10 et 50mg) des extraits de pyocyanine ou de phénazine de l'isolat le plus antagoniste OA47 afin d'examiner leur effet antibactérien. Les disques ont été déposés sur une gélose nutritive en boîte de Pétri ensemencées préalablement par les souches sur une des six souches cibles.

3.5. Examen de résistance à la salinité :

Les isolats de *Pseudomonas* fluorescents OA44, OA45, OA47, OB13, OB14, PSB66, PSB16, PSB3, PSB58 et SHA21 ont été cultivés dans un milieu King B liquide additionné de différentes concentrations de NaCl (0 mM, 50 mM, 100 mM et 150 mM). Après une incubation à une température de 28 ± 2 °C durant 48 h, la quantification de la croissance a été mesurée par spectrophotométrie à 620 nm (Rojas-Tapias *et al.*, 2012).

Pour les isolats PSB66, PSB16, PSB3, PSB58 et SHA21 Les résultats ont été analysés par Statbox 6.4. en ANOVA avec un plan bifactoriel, la comparaison des moyens a travers le test de Studer et Fischer avec une valeur de $P=0.05$.

3.6. Examen de résistance au cuivre :

Le test de résistance au cuivre a été réalisé par l'ensemencement des isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 dans des tubes contenant 10 ml de milieu King B liquide additionné par différentes concentrations de CuSO_4 (0, 2,5, 5 et 10 mM), et incubées à une température de 28 ± 2 °C pendant 48h. La croissance bactérienne a été exprimée en valeur d'absorbance à 620 nm (Rojas-Tapias *et al.*, 2012).

3.7. Production de l'AIA.

Suivant la méthode décrite par Loper et Schroth (1986), des cultures de *Pseudomonas* ont été réalisées dans des tubes contenant 5 ml de milieu King B liquide additionné de 0.1% de tryptophane, ensuite incubées à 28 ± 2 °C pendant 24 h. Après incubation, les cultures ont été centrifugées à 10000 *tr/min* pendant 15 minutes, puis filtrés à l'aide d'un filtre millipore de 0,22 μm . 1 ml du surnageant a été ajouté à 2 ml de solution de Salkowski (2% de solution Fe_3 à 0.5M + 98% d'acide perchlorique à 35%, 1v :50v). Les solutions ont été mises à l'obscurité pendant 25 minutes, le changement de la couleur vers le rose indique la production de l'AIA.

3.7.1. Effet de salinité et de cuivre sur la production de l'AIA dans des milieux liquides :

Des tubes contenant 5ml de milieu KB liquide ont été additionnés de 1% de tryptophane et de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100 et 150 mM) ou de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,2,5,5 et 10 mM). Ces tubes ont été ensemencés par des cultures de 24 h des isolats de *Pseudomonas* : OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 ajustées à 0.5 McF, Après l'incubation à une température de 28 ± 2 °C pendant 48 h, les cultures ont été centrifugées à 10000 *tr/min* pendant 15 minutes et filtrés à l'aide d'un filtre millipore de 0,22 μm . Ensuite 1ml du surnageant est ajouté à 2ml de solution de Salkowski et mises à l'obscurité pendant 25 minutes. Les mesures des concentrations de l'AIA ont été effectuées par un spectrophotomètre UV-Visible, à 530 nm. L'estimation de concentration a été faite à travers l'établissement d'une courbe d'étalonnage dans un intervalle de 0 à 100 mg/l d'AIA.

3.7.2. Effet de tryptophane, du pH et la température sur la production de l'IAA

Une culture de 24 heures de l'isolat OA47 a été ajustée à 0,5 McFarland, puis inoculées dans des tubes contenant 5 ml de milieu liquide King B, additionné de trois concentrations de tryptophane 50, 100 et 150 mg/l. Les tubes de chaque groupe de tryptophane ont également été ajustés sur trois niveaux de pH 5.8, 7 et 8.2. Les tubes ont été incubés aux trois classes de température 25, 30 et 39 °C pendant 48 heures. Après l'incubation, les cultures ont été centrifugées à 10 000 tr/min pendant 15 minutes et filtrées à l'aide d'un filtre Millipore de 0,22 µm. Ensuite, 1 ml du surnageant a été mélangé avec 2 ml de solution de Salkowski et maintenu dans l'obscurité pendant 25 minutes. La quantification des concentrations d'IAA a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à DO 530 nm, en se référant à une courbe d'étalonnage établie dans une plage allant de 0 à 100 mg/l d'IAA.

3.8. Production de l'acide cyanhydrique HCN

La potentialité de production de l'acide cyanhydrique (HCN) a été testée par la méthode de Soltani *et al.* (2012), les isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 ont été ensemencés par étalement en surface d'une gélose nutritive additionnée de 4,4 g/l de glycine. Un papier filtre wattman imbibé dans une solution de détection (Na₂CO₃ à 2% et l'acide picrique à 0,5%) a été déposé sur le couvercle de la boîte, ensuite les boîtes ont été scellées avec du parafilm et incubées à 28± 2 °C pendant 72 h. Le changement de la couleur en orange-marron indique la production de l'acide cyanhydrique.

3.9. Solubilisation de phosphate:

La capacité des isolats à solubiliser le phosphate a été évaluée par l'ensemencement en touches des isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 sur le milieu gélosé de Pikovskaya (Pikovskaya, 1948) (Annexe II). Après l'incubation à 28± 2 °C pendant 7 jours, l'apparition d'un halo transparent autour des colonies indique le pouvoir de solubilisation du phosphate par l'isolat bactérien. Les diamètres des colonies et des halos ont été mesurés, les résultats ont ensuite été exprimés en efficacité de solubilisation (ES) calculé selon Nguyen *et al.* (1992) en utilisant la formule suivante :

$$ES = \text{diamètre de solubilisation} + \text{diamètre de croissance.}$$

4. Identification moléculaire de l'isolat OA47.

4.1. Extraction d'ADN :

L'**extraction** de l'ADN a été réalisé en utilisant un Kit d'extraction d'ADN : Tampon de lyse bactérienne du kit de code-barres d'ADN bactérien (1st BASE, KIT-1100-50)

4.2. Amplification :

L'ADNr 16S bactérien, d'une longueur complète de 1,5 kb, a été amplifié à l'aide des amorces universelles 27F et 1492R. Le volume total de réaction de 25 µl contenait de l'ADN génomique purifié, 0,3 pmol de chaque amorce, des désoxynucléotides triphosphates (dNTP, 400 µM chacun), 0,5 U de polymérase d'ADN thermostable, le tampon de PCR fourni, et de l'eau

La PCR a été réalisée comme suit : 1 cycle (94°C pendant 2 minutes) pour la dénaturation initiale ; 25 cycles (98°C pendant 10 secondes ; 53°C pendant 30 secondes ; 68°C pendant 1 minute) pour la dénaturation, l'hybridation et l'extension. Les produits de PCR ont été purifiés selon une méthode standard de purification de PCR.

4.3. Séquençage :

Les produits de PCR purifiés ont été soumis à un séquençage bidirectionnel avec les amorces universelles : Amorce 785F : 5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3' et l'Amorce 907R : 5'-CCGTCAATTCCTTTRAGTTT-3', en utilisant le kit de séquençage cyclique BigDye® Terminator v3.1 (AppliedBiosystems).

4.4. Analyses des données de séquençage :

Le produit de séquençage Sanger a été traité et analysé par des logiciels spécialisés, tel que Séquence scanner : pour la lecture des fichiers 'abi' et vérification de la pureté des séquences, ainsi que Open vector editor pour la purification des séquences (par découpage de portions de séquence à faible qualité) avant de procéder à l'alignement/contig, qui va se reproduire une séquence complète à un fichier FASTA. Cette séquence sera soumise à l'interprétation dans le BLAST sous la base de données NCBI. Après l'ouverture de la fenêtre BLAST dans le site de base de données web NCBI, sous la barre de recherche cliquer sur Microbe, puis insérer la séquence soit manuellement (copier et coller) à la case de soumission, soit en chargeant le fichier FASTA portant la séquence finale, et cliquer sur le bouton BLAST après la personnalisation des paramètres de recherche. Le site aura offert une liste de similarités des souches triées en fonction de pourcentage d'identité (longueur de référence /longueur de séquence requêtée).

I. Effet de cuivre et d'inoculation avec *Pseudomonas* sur la germination de la fève *Vicia faba*.

1. Experimentation de germination de *Vicia faba* sous stress au cuivre.

Un test de germination *in vitro* a été mis en place dans le laboratoire, des graines de deux variétés de la fève ont été testées pour la germination sous l'effet de stress au cuivre et d'inoculation des isolats de *Pseudomonas* fluorescents.

1.1. Sélection des isolats

Trois isolats OA44, OA45 et OA47 les plus producteurs de pyoverdine, de l'AIA et les plus tolérants à la salinité et au cuivre, ont été sélectionnés pour l'inoculation.

1.2. Préparation des inocula

Des cultures bactériennes entubées à essai contenant 5 ml de King B liquide ajustées à 0.5 McF ont été versées dans des Earlen-mayer contenant 120 ml de King B liquide. Ces cultures ont été incubées à 28°C sous agitation permanente à 180 tr/min pendant 24 h,

1. Préparation des solutions de cuivre.

Des solutions de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) à des concentrations de 2.5, 5 et 10 mM ont été aseptiquement préparées.

1.3. Préparation du matériel végétal

Des graines de deux variétés de la fève *Vicia faba* ont été utilisées dans cette expérimentation, une variété commercialisée appelée Aguadulce et une autre locale de la région d'Adrar (des graines violettes à noires de petit calibre) (**Fig 5**). Les graines ont été bien nettoyées et désinfectées par une solution d'ypoclorite de sodium à 25 % et une autre solution d'eau oxygénée (H_2O_2) à 50%. Les graines ont été submergées dans chaque solution pendant 10 minutes, puis lavées 3 fois avec de l'eau distillée stérile.

1.4. Dispositif expérimental

L'expérimentation a été faite en trois répétitions dans des conditions aseptiques. Les graines ont été mises (16 graines par boîte) entre deux couches de papier filtre stérile dans des boîtes pétri, puis inoculées avec les solutions bactériennes et imbibées par les solutions de cuivre. Les boîtes ont été incubées pendant 12 jours à une température de 25°C. L'addition de la solution de cuivre est répétée plusieurs fois pendant l'expérience.

Le nombre des graines germées a été quotidiennement compté pour calculer :

- Le total des graines germées (TG),
- le pourcentage de germination (PG),
- la vitesse de germination (VG) et
- le temps de germination des 50% des graines germées (T50).

Analyse statistique

Ce test de germination a été réalisé en deux expérimentations indépendantes pour chaque variété de fève, avec un dispositif expérimental bifactoriel, en randomisation complète, avec un seuil de probabilité $P=0.05$. L'analyse des résultats suit le modèle ANOVA avec une comparaison des moyennes selon le test de Student et Fisher, réalisés par le logiciel STATBOX 6.40 et confirmés par statistica 7. Le programme Excel 2016 a été utilisé pour l'établissement des graphes.

2. Effet de salinité et d'inoculation avec des isolats de *Pseudomonas* sur la germination de la fève *Vicia faba*

Cette expérience vise à examiner le rôle de quelques souches de *Pseudomonas* rhizosphériques dans l'amélioration de la germination des graines de deux variétés de la fève sous des conditions de stress salin.

2.1. Description des graines

Des graines de deux variétés de la fève ont été utilisées, Une variété locale d'une couleur beige au violet foncé vers le noir, La deuxième variété est une variété commercialisée demi-précoce appelée Aguadulce, d'origine espagnole (**Fig 2 à droite**).



Figure 2 :Photo des graines de la fève, variété locale (Noir) et variété d'Aguadulce (rose)

2.2. Préparation de l'inoculum bactérien

Trois souches (P1, P2 et P3) ont été sélectionnées pour l'inoculation des graines en fonction de leur résistance à la salinité, les souches ont été cultivées dans des tubes à 5 ml de milieu king B à une température de 28 ± 2 C° pendant 24 h, puis versées dans des Erlenmeyers de 250ml contenant 120 ml de king B liquide, les cultures ont été incubées à 28 ± 2 C° sous une agitation à 180 tr/min pendant 24 h. .

2.3. Préparation des solutions salines d'imbibition

Trois traitements salins d'imbibition 0, 100 et 200mM de NaCl ont été préparés, autoclavés, et conservés dans des flacons à 250 ml.

2.4. Préparation de graines

Les graines ont été désinfectées par l'eau de javel à 25% pendant 10 min, puis rincées cinq fois à l'eau distillée stérile, et déposées dans des boîtes Petri sur une couche de coton compacte et stérile.

2.5. Dispositif d'Expérimentation de germination

Cette expérimentation a été réalisée dans des conditions aseptiques en deux parties indépendantes, afin d'examiner la germination des graines de deux variétés de la fève sous trois traitements salins à base de NaCl 0, 100 et 200 mM. Chaque groupe de traitement salin a été inoculé avec trois souches de *Pseudomonas* présélectionnées et un contrôle sans inoculation bactérienne.



Figure 3: préparation des graines pour la germination

Les graines de la variété locale ont été déposées dans 36 boîtes de Petri à raison de 16 graines par boîte avec un nombre de trois répétitions, alors que les graines de la variété d'Aguadulce ont été déposées dans 72 boîtes avec un nombre de 8 graines par boîte (2 boîtes par répétition). Ce dispositif a été placé à l'incubateur à 25 °C durant 9 jours.

L'évaluation de la germination a été effectuée par un comptage quotidien de graines germées présentant une radicule de 2 mm et plus. La durée, la vitesse, le taux et l'indice de germination ont été calculés à la fin de l'expérimentation comme suit :

La durée de germination est exprimée par le temps moyen pour 50% des graines germées.

La vitesse de germination est le rapport de nombre des graines germées sur le temps, est calculé comme suite : $Vg = \frac{n1}{t1} + \frac{n2}{t2} + \dots + \frac{n9}{t9}$. n : nombre des graines germées chaque jour ; t : numéro de jour.

- Taux de germination est le rapport de graines germées sur le nombre total des graines.

Méthode statistique

Le dispositif expérimental est de type de randomisation complète bifactoriel avec trois répétitions. L'analyse statistique ANOVA a été faite par le logiciel Statbox v 6.4, les moyennes ont été comparées selon le test de Student et Fisher basée sur la plus petite valeur significative au seuil de probabilité P=5%. L'Excel 2016 est utilisé pour l'établissement des graphes.

II. Effet de la salinité et du cuivre sur la plante et le rôle de l'inoculation par *Pseudomonas*

1. Effet de la salinité et du cuivre sur le paramètre morphologique de la fève *Vicia faba* en présence d'une souche de *Pseudomonas*

Objetif : Le but de cette expérimentation est de vérifier l'effet de la salinité et du cuivre sur la croissance et la morphologie de la fève, ainsi que le rôle de l'inoculation des plantes avec une souche de *Pseudomonas* présélectionnée dans la stimulation de la croissance, et la tolérance de la fève à la salinité et au cuivre.

1.1. Matériel végétal

Des graines de quatre variétés de la fève (**Figure 4**) ; deux variétés locales de la région d'Adrar, une variété appelée Hmyane venue de nord d'Algérie et la quatrième est une variété commercialisée d'origine espagnole appelée Aguadulce.



Locale 1 **Aguadulce** **Locale 2** **Hmyane**

Figure 4 Photo de quatre variétés des graines utilisées en expérimentation

1.2. Matériel bactérien :

La souche bactérienne OA47 de genre *Pseudomonas* a été caractérisée tant que PGPR plus performante, cette souche a été sélectionnée à travers plusieurs tests dans le premier chapitre.

1.3. Support de plantation

La plantation a été faite dans des pots de plastique contenant du sable des dunes.

1.4. Méthodes de l'expérimentation

1.4.1. Préparation des graines

Les graines ont été désinfectées par submersion en eau de javel 20% pendant 15 minutes, puis lavées avec l'eau distillée stérile trois fois. Les graines ont été mises dans des conditions aseptiques pour la prégermination sous une température de 25 C°



Figure 5: Prégermination des graines des quatre variétés de la fève.

1.4.2. Préparation du support de plantation

Le sable des dunes utilisé dans cette expérience a été lavé par une solution d'esprit-de-sel, puis lavées trois fois par l'eau de source, en suite, il a été désinfecté par une solution d'eau de javel à 15% pendant 5 minutes, puis lavée deux fois par l'eau distillée stérile. Après son séchage un kg a été mis dans chaque pot en plastique.

1.4.3. Préparation d'inoculum

La solution d'inoculation a été préparée à partir d'une culture fraîche de l'isolat OA47, dans des Erlenmeyers de 250 contenant 120 ml de bouillon nutritif sous une agitation de 180 tr/min et une température de 31 C° pendant 24 h.

1.5. Préparation des traitements de stress pour l'irrigation :

Les plantes ont été irriguées par cinq solutions :

- Un témoin : eau distillée stérile ;
- Deux solutions salines de NaCl : 100 mM et 300 mM ;
- Deux solutions de sulfate de cuivre Cu
- SO₄, 5(H₂O) : 7.5mM et 15mM.

1.5. Dispositif expérimental :

L'expérimentation (fig 6) a été réalisée en quatre plans (chaque variété représente une partie) statistiquement indépendantes l'une de l'autre, chacune d'eux a été planifiée en randomisation complète bifactoriel, avec trois répétitions.

Les graines prégermées ont été semées dans les pots après l'inoculation de la souche bactérienne (la moitié des pots n'ont pas été inoculés pour servir de témoins), la deuxième inoculation a été faite le 10^{ème} jour après la semée. Les pots ont été irrigués pendant trois semaines avec la solution d'irrigation Hoglond (Annexe I). Dès la quatrième semaine, la solution d'Hoaglond a été additionnée des quatre traitements de stress. Les plantes ont été récoltées après cinq semaines de plantation pour mesurer leurs poids frais et sec, la longueur et le diamètre de leurs tiges et leur teneur en eau.

L'analyse statistique ANOVA a été fait par le logiciel Statbox v 6.4., les moyennes ont été comparées selon le test de Student, Fisher et Newman et Keuls (Dagnelie, 1999), basé sur le seuil de probabilité $P=5\%$, l'établissement des graphes a été réalisé à l'aide de l'Excel 2016.



Figure 6: Dispositif de plantation.

2. Effet de salinité et d'inoculation par *Pseudomonas* sur les paramètres chimiques et biochimiques de la fève

2.1. Échantillonnage de sol

Dix échantillons de sol ont été prélevés à partir deux sources de sol rhizosphérique potentiellement contaminés : le sol salin de Metmar (Relizan) et le sol du vignoble de Wreiah Mostaganem, en Algérie.

2.2. Isolement et identification des isolats de *Pseudomonas*.

L'isolement a été réalisé par la méthode de suspension-dilution décrite par Vidhyasekaran *et al.* (1997). 1 g de chaque échantillon de sol rhizosphérique a été suspendu dans 9 ml d'eau distillée ensuite une série de dilutions est effectuée. 0.1 ml de chaque dilution est ensemencé en surface du milieu King B King *et al.* (1954). Après incubation 28°C pendant 48 h les colonies avec pigment fluorescent jaune verdâtre ont été purifiées sur le même milieu (Tamietti et Pramotton, 1990). Les isolats sélectionnés ont été identifiés par la méthode biochimique par des galeries API 20NE.

2.3. Sélection des isolats performants

Les souches de *Pseudomonas* fluorescents ont subi des tests de tolérance à la salinité, la production d'acide indole acétique (IAA) et la production de pyoverdine. Les isolats de *Pseudomonas* fluorescents ont subi un test de tolérance à la salinité. Chaque isolat a été incubé pendant 48 h dans un milieu King B à 7 %, 8 %, 9 % et 10 % de NaCl.

Les isolats les plus résistants à la salinité ont été examinés pour leur capacité à produire la pyoverdine suivant la méthode décrite par (Meyer et Abdallah, 1987) et à produire l'IAA

suivant la méthode décrite par Ioper et Schroth, (1986). Ces deux méthodes ont été décrites précédemment.

2.4. Dispositif d'expérience de plantation

L'expérience a été réalisée dans une serre à l'atelier d'agronomie de Mazzagan, Université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem, Algérie (x : 35° 53 ' 05.79"N, y : 0° 02 ' 41.54"E) avec une température moyenne de 28 °C le jour et de 23 °C la nuit, et une hygrosocopie de 55 % à 75 %.

Des graines de *Vicia faba* Otono ont été mises en germination après une désinfection avec une solution d'hypochlorite de sodium à 25% pendant 15 min, puis transplantées dans des pots contenant 5 kg de sable lavé par une solution d'esprit-de-sel, puis lavées trois fois par l'eau de source, en suite désinfecté par une solution d'eau de javel à 15% pendant 5 minutes, puis lavée deux fois par l'eau distillée stérile et séché.

Les trois isolats sélectionnés, sont ensemencés dans des flacons de 250 ml contenant 100 ml de bouillon nutritif et incubés à 30 °C pendant 48 h. 50ml de chaque suspension bactérienne est introduite dans chaque pot. Cette inoculation est répétée 4 semaines après.

Les pots sont régulièrement irrigués avec la solution de Hoagland (Hoagland et Di., 1938). À partir de la cinquième semaine les solutions d'irrigation (les solutions de Hoagland) sont additionnées de 0 mM·l⁻¹, 100 mM·l⁻¹ et 150 mM·l⁻¹ du NaCl et appliquées pendant trois semaines,

En fin de l'expérience le poids frais total des plantes a été mesuré à l'aide d'une balance de précision. La teneur en chlorophylle a été mesurée selon la méthode de Francis *et al.* (1970), la teneur en proline selon Bergman et Loxley (1970), et les cations K⁺ et Na⁺ ont été mesurés selon la méthode décrite par Lagerkvist *et al.* (1996).

L'expérience a été menée selon un plan complètement randomisé avec 4 répétitions. Le STAT BOX v6.40, a été utilisé pour effectuer une ANOVA basée sur le test de Student–Newman–Keuls avec un seuil de signification de P=0,05, ainsi qu'une analyse de régression linéaire a été faite entre les paramètres, L'Excel Microsoft Office 2013 a été utilisé pour les graphiques.



Figure 7: Expérimentation de plantation de la fève (Variété Otono) sous l'effet de salinité et d'inoculation par *Pseudomonas*.

Chapitre II : Résultats et Discussion

I. Isolement et caractérisation des *Pseudomonas* rhizosphériques des sols oasiens

1. Isolement et purification

Vingt-cinq isolats portent des caractéristiques du groupe de *Pseudomonas* fluorescent ont été déterminés après une série de tests (tab.1 et fig 11), les isolats de ce groupe se sont distingués par une forme bacillaire à coloration de gram négative, oxydase positive et catalase positive.

Tableau 1: Caractéristiques morphologique et biochimiques des isolats de *Pseudomonas* fluorescents.

Isolat	OA21	OA23	OA24	OA27	OA36	OA44	OA45	OA47	OA11	OB13	OA14	OB31	BA	BA	BA	BA	BA	S1	S2	S4	S5	S7	S8	S9	S25
Forme	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille
Coloration de Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyoverdine	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyocyanine	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

La nomination des isolats est dérivé de leur origine de prélèvement, OA et OB : rhizosphère de l'orge ; B : rhizosphère de blé, et S : rhizosphère de sorgo.



Figure 8: Test de recherche de l'oxydase

2. Caractérisation des isolats fluorescents.

2.1. Test d'antagonisme des isolats de *Pseudomonas*.

Tableau 2: zone d'inhibition des isolats de *Pseudomonas* vis-à-vis des souches antagonistes.

	S1	S3	S4	S6	C1	C2
OA47	6.333 ± 1.893	4.667 ± 0.289	6.667 ± 2.082	10.33 ± 2.021	8.667 ± 0.764	6.5 ± 0.5
OA45	2.333 ± 1.443	5 ± 0	0 ± 0	4.333 ± 0.764	0 ± 0	0 ± 0
OA44	1 ± 0.5	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 2.179	0 ± 0	0 ± 0
OB14	3.167 ± 1.258	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

S1: *Bacillus cereus*, S3: *Escherichia coli*, S4: *Staphylococcus aureus*, S6: *P. aeruginosa*; C1: *Fusarium oxysporum f. albedinis*, C2 : *Fusarium oxysporum f. ciceris*

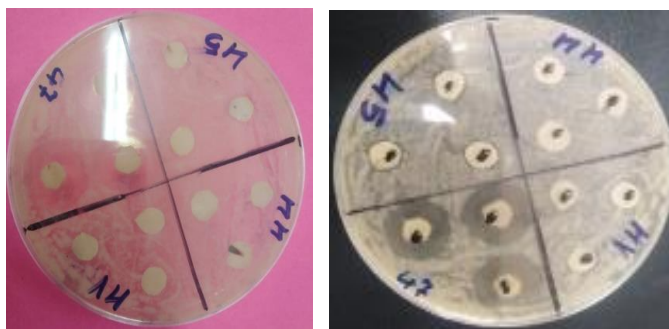


Figure 9: Test d'antagonisme des isolats de *Pseudomonas*

Le tableau n° 02 et fig.12 présentent les résultats du test d'antagonisme des isolats OA44, OA45, OA47 et OB14. L'isolat OA47 a montré un pouvoir antagoniste plus important par rapport aux autres isolats devant toutes les souches microbiennes, y compris la souche C1 : *Fusarium oxysporum* f. *sp. albedinis* l'agent du bayoud. Ceci confirme le rôle protecteur de *Pseudomonas* notamment devant cette souche fongique qui est connue par sa résistance à tout type de lutte *in-planta* provoquant des dégâts énormes aux palmerais.

Des recherches dans ce domaine ont aidé à mieux comprendre des mécanismes impliqués dans l'effet antagoniste de *Pseudomonas* contre les souches pathogènes et au développement de stratégies de biocontrôle des maladies plantent. Dans un test *in vitro*, il a été observé que la souche de *P.fluorescens* AAUPF62 présentait un pouvoir antagoniste élevé contre la souche pathogène *Fusarium solani*, contribuant potentiellement à la lutte contre la pourriture noire des racines chez la fève (Dugassa *et al.*, 2021). Bakker *et al.* (2007) ont observé que ces souches de *Pseudomonas* étaient capables d'améliorer les réponses de défense et de lutter contre les maladies des plantes telluriques. Cela indique l'effet antagoniste de *Pseudomonas* contre les souches pathogènes en induisant une résistance systémique chez les plantes. Haney *et al.*, (2017) ont découvert que certaines souches de *Pseudomonas* ont un pouvoir remarquable contre les agents pathogènes bactériens.

D'autres études ont indiqué que le traitement des graines avec l'isolat 63-28 de *P.fluorescens* a inhibé l'entrée de *F. oxysporum* f. *sp. lycopersicidans* dans les tissus vasculaires en renforçant les structures de paroi cellulaire et l'accumulation de substances phénoliques et de chitinases (M'Piga *et al.*, 1997). *Pseudomonas* sp. RSB29, a montré une inhibition significative des agents pathogènes fongiques tels que *F. oxysporum* f. *sp. ciceri* RS1, *Macrophomina phaseolina* RSB9 et *Fusarium udum* RSB19 Boer *et al.* (2003)

2.2. Production des métabolites secondaires

2.2.1. Production, Extraction et quantification de la pyoverdine

Cinq isolats ont montré la production des pigments fluorescents (fig 10) à couleur jaune-verdâtre : OA44, OA45, OA47, OB13 et OA14. L'extraction et la purification de la pyoverdine a été faite suivant la méthode de Smith et Willis (1970), l'extrait final est un substrat sous forme d'une gomme brune ou vert foncé.



Figure 10: Extraits de pyoverdine des isolats

2.2.2. Production, extraction et purification de la pyocyanine

Seulement l'isolat OA47 a montré la production de la pyocyanine de couleur bleu sur un milieu King A gélosé (fig 11).



Figure 11 Extraits de pyocyanine d'isolat OA47

2.2.3. Production et extraction des phénazines

Suivant la méthode de Bonsall *et al.*, (1997), des substrats phénaziques ont été extraits à partir des isolats étudiés (fig 12)



Figure 12: Extraits de phénazine des isolats.

2.3. Caractérisation et identification des métabolites secondaires

2.3.1. Par spectrophotomètre UV-Visible

L'analyse spectrophotométrique des extraits des métabolites présentent des spectres à large variation d'absorbance, cette variation a été enregistrée en fonction de type de métabolite, et en fonction de l'isolat de *Pseudomonas*. Cette variation interspécifique et intraspécifique a été

présentée en nombre et en position des pics. Il a été observé une différence en nombres des pics dans les spectres des quatre isolats (**Fig.13**) avec deux pics maxima similaires à 410-415 nm et 651-657 nm, et d'autres pics différents ce qui reflète l'effet de la souche sur les propriétés structurales de molécule synthétisé. Les spectres des différents types des métabolites produits par la souche OA47 (*Pseudomonas aeruginosa*) ont également montré une variation de leurs 'absorbances (**Fig.14**).

La spectroscopie UV-Vis est une technique utilisée pour étudier les propriétés d'absorption de divers composés, y compris les pyoverdines. Les spectres d'absorption des pyoverdines peuvent fournir des informations précieuses sur leurs propriétés structurales. Plusieurs études ont utilisé la spectroscopie UV-Vis pour caractériser les pyoverdines et leurs complexes avec des ions métalliques. Une multitude des pics d'absorption caractérisent les transitions électroniques et les propriétés des pyoverdines et d'autres composés. Les longueurs d'onde spécifiques à ces pics peuvent varier en fonction de la structure moléculaire et de l'environnement des composés étudiés et leur interaction avec les métaux et nanoparticules. Leng *et al.* (2013) ont observé de nouveaux pics d'absorption UV-vis dans la région de 360-460 nm pour la pyoverdine liée au Cr(VI), Cu⁽²⁺⁾, Co⁽²⁺⁾, Ni⁽²⁺⁾, et Mn⁽²⁺⁾. La variation spectrale constatée dans cette étude a été rapporté par plusieurs études. Barsainya et Singh (2018) ont rapporté que le pic d'absorbance caractéristique de la pyoverdine en solution aqueuse était à 362 nm. L'ajout de solution de nitrate de zinc a entraîné l'apparition d'un nouveau pic d'absorption à 416 nm, attribué aux nanoparticules de ZnO. D'autres études ont analysé les spectres d'absorption UV-Vis des surnageants de culture de souches de *Pseudomonas* pour détecter la présence de pyoverdine, ils ont étudié l'extinction de fluorescence d'un sidérophore de pyoverdine par le NTO (5-nitro-1,10-phénanthroline) (Kulkarni *et al.*, 2020; Matuszewska *et al.*, 2021; Parker *et al.*, 2014). Chernyshev *et al.* (2019) ont observé une bande d'absorption de longueur d'onde élevée avec un maximum à 525 nm pour le complexe SPP 1 –Zn. Le complexe du gallium(III) avec la pyoverdine G4R a montré un maximum d'absorption à 408 nm à pH 5.0 (Andrejević *et al.*, 2023). Sugue *et al.* (2022) ont détecté et identifié la pyoverdines en complexe avec laferribactine à l'aide de la bande spectrale d'absorbance 300-450 nm. Une absorption dans la région du proche infrarouge (NIR), indiquant la présence de nanoparticules d'or synthésés en utilisant la pyoverdine (Patil *et al.*, 2022). Monowar *et al.* (2021) ont caractérisé les nanoparticules d'argent synthétisées à l'aide d'une souche bactérienne endophyte par un pic d'absorbance intense à 418 nm.

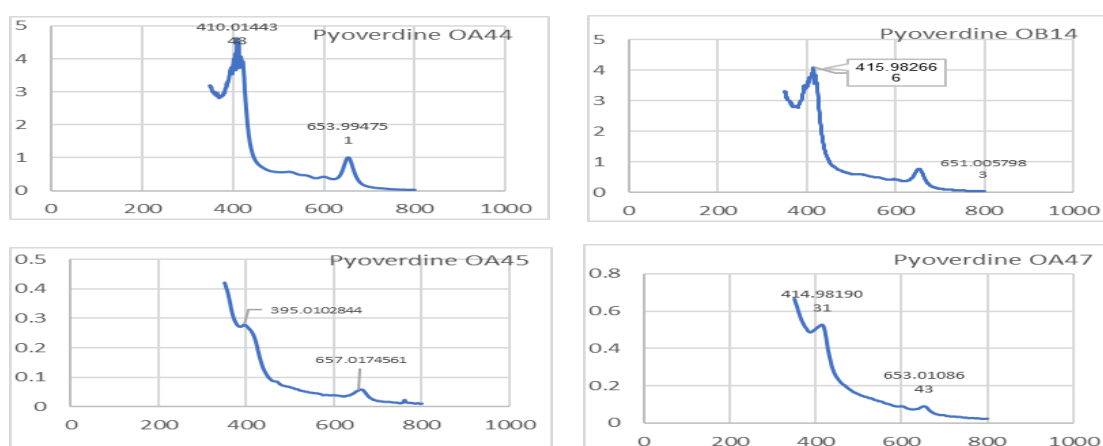


Figure 13: Spectres d'analyse UV-Visibles des pyoverdines des isolats OA44, OA45, OA47 et OA14

Des pics d'absorbance à 690 et 691 nm ont été fréquemment rapportés pour la détection de la pyocyanine (Bodelón *et al.*, 2017; García-Lojo *et al.*, 2020), et utilisé pour le calcul de sa concentration (Nguyen *et al.*, 2018). Ward *et al.* (2014) ont observé des pics d'absorbance à 315 nm, 368 nm et 698 nm pour la pyocyanine, et Aljuhani *et al.* (2023) a observé le troisième pic à 690 nm. V. Q. Nguyen *et al.* (2023) ont observé des pics d'absorbance dans la plage de 274-280 nm pour la pyocyanine. Plusieurs d'autres pics caractéristiques d'absorbance ont été rapportés sur différentes études tel que 270, 300, 382, 388, 407, 413, 518, 520, 521, 544, 547, 592 nm. (Al-Mahdi *et al.*, 2023; Ashar *et al.*, 2021; Bodelón *et al.*, 2017; Chai *et al.*, 2021; Gossuin *et al.*, 2023; Laxmi et Bhat, 2016; Thi *et al.*, 2020). Diego *et al.* (2018) ont observé un pic dans la plage de longueurs d'onde de 500-600 nm correspondant à la résonance plasmonique de surface des nanoparticules d'or synthétisées par des bactéries.

Les phénazines sont une classe de pigments hétérocycliques contenant de l'azote produits par les bactéries par le biais de la voie d'acide shikimique (Anjaiah, 2004). Ces pigments présentent des spectres d'absorption caractéristiques avec deux pics dans la gamme des UV et au moins un pic dans la gamme visible, ce qui détermine leur couleur (Mavrodi *et al.*, 2010). Les phénazines ont des spectres d'absorption caractéristiques avec des pics dans les gammes UV et visible. Les longueurs d'onde spécifiques de ces pics d'absorption peuvent varier en fonction de la structure chimique, des groupes fonctionnels et des modifications des molécules de phénazines.

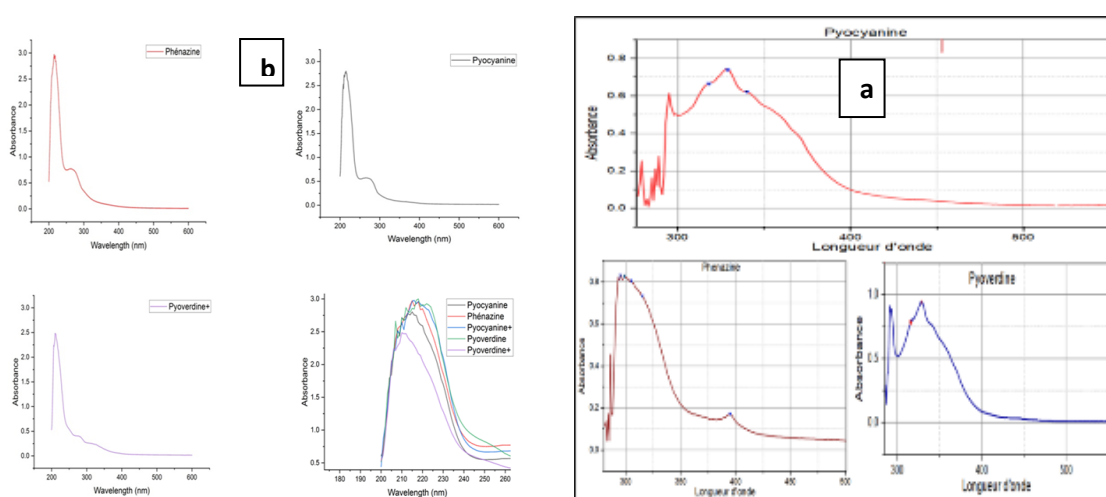


Figure 14 : Spectre UV-Vis des extraits des métabolites secondaires, A : UV ; B Vis.

Les spectres des phénazines purifiés ont montré des maxima d'absorption caractéristiques à 250 et 375 nm, qui sont cohérents avec les rapports précédents (Brisar *et al.*, 2018). Les spectres d'absorption des phénazines présentent un pic caractéristique à 365 nm (Krishnan *et al.*, 2007). Le diazopentacène 2,7,11,16-tétra-tert-butyl-diphénanthro[4,5-abc:4',5'-hij]phénazine (BDPP) présente des pics d'absorption centrés à 350 nm et 460 nm, avec un pic d'épaule à 434 nm (Li *et al.*, 2012). La substitution sur les atomes d'azote formant la structure de molécules phénaziniques peut entraîner une absorption caractéristique à 500-540 nm (Ding *et al.*, 2010). Les variations chimiques introduites au niveau de la position R-imino du noyau phénazine peuvent également affecter le comportement d'absorption (Min *et al.*, 2015).

2.3.2. Par chromatographie sur couche mince CCM.

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique largement utilisée pour la séparation et l'identification de composés dans des mélanges complexes. Dans notre cas, la CCM a été utilisée pour caractériser et analyser des métabolites secondaires extraits des isolats de *Pseudomonas*, dont des pigments de pyoverdine, de pyocyanine et de phénazine. Les plaques affichent des taches uniques (fig.15) pour toutes les molécules analysées indiquant leur pureté. Il a été également constaté une légère variation en valeur de rapport frontal (Rf) des taches des pyoverdines extraits des isolats OA47, OA45, OA44 et OA14, les valeurs sont 0.79, 0.81, 0.81 et 0.82 respectivement, et se conforment avec la valeur standard (0.7-0.81).

L'analyse des métabolites purifiés de l'isolat a montré une seule tache pour la pyoverdine, la pyocyanine et les phénazines avec des valeurs de Rf de 0,82, 0.76 et 0.81 respectivement (Fig.18). Raji El Feghali et Nawas (2018) ont rapporté que l'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) de la pyocyanine purifiée a montré une seule tache avec un rapport frontal (Rf) de 0.8, pendant que le Rf établi pour le pigment standard de pyocyanine se situe généralement entre 0.70 et 0.81. Ce rapport frontal de pyocyanine a atteint le 0.83 dans les études Abdul-Hussein et Atia (2016), et 0.71 en cas où il est dissout au chloroforme Saosoong *et al.*, (2009). Le profil du pigment de pyoverdine sur la plaque CCM a montré une seule tache avec un Rf de 0,8 selon Unni *et al.* (2014).

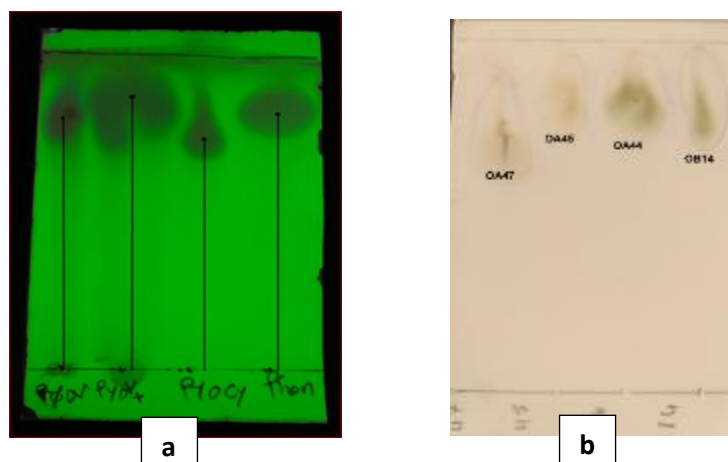


Figure 15 : Parcours de test CCM des métabolites des isolats, a) métabolites d'OA47 ; b) extraits de pyoverdines des isolats OA44, OA45, OA47 et OB14

Trung *et al.* (2020) ont montré que le composé antifongique produit par *Pseudomonas aeruginosa* DA3 avait un rapport frontal (Rf) de 0,86 en chromatographie sur couche mince. Laphénazine produite par l'isolat PS33 présentait une bande avec une valeur Rf de 0,7 selon Ali et Mussa, (2020). La valeur de Rf de 0,7 correspondait à l'antibiotique phénazine mentionné par Orlandi *et al.* (2015), et similaire à celle détectée par Saosoong *et al.* (2009).

2.3.3. Par photomètre infra-rouge FTIR

L'analyse FT-IR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) est une technique spectroscopique utilisée pour la prospection de la composition chimique et la structure d'un échantillon en se basant sur l'absorption du rayonnement infrarouge. Dans cette étude, on a procédé à cette analyse pour vérifier la présence des groupes fonctionnels spécifiques et de liaisons caractéristiques de la pyoverdine.

Les quatre spectres d'analyse (A, B, C et D) des extraits de pyoverdine des isolats OA44, OA45, OA47 et OB14 (**Fig.16**) ont montré une série de bandes d'absorption caractéristiques à la structure de pyoverdine. Ces spectres montrent la présence d'une liaison d'étirement dans les groupe hydroxyle et carbohydrates (O-H) avec une bande d'absorbance énorme située de 3341 à 3430 cm^{-1} avec un déplacement de pic de spectre d'un isolat à l'autre, puis une forte absorption à 2946-2996 cm^{-1} indiquant une liaison d'étirement aliphatique (CH et CH₂). A 1704-1730 cm^{-1} une vibration de liaison de groupe aromatiques (C=C), des amide I (C=O) à 1650 et de groupe des amide II (C=N) à 1455 cm^{-1} . Les spectres ont également présenté une liaison de flexion dans le groupe aliphatique (C-H) au tour de 1400 cm^{-1} , une absorption à 1205-1230 cm^{-1} représente une liaison des amide III (C-N), la liaison des carbohydrates (C-O) a été bien présenté dans tous les spectres de pyoverdine à l'intervalle des nombres d'onde 1038-1046 cm^{-1} . A 980-990 cm^{-1} des bandes d'absorption ont été capturés indiquant des liaisons de groupe aromatiques (C-H). Une autre étude a rapporté des pics d'absorption à 747, 1194 et 1566 cm^{-1} à une structure d'un phénazine (S. Chen *et al.*, 2019)

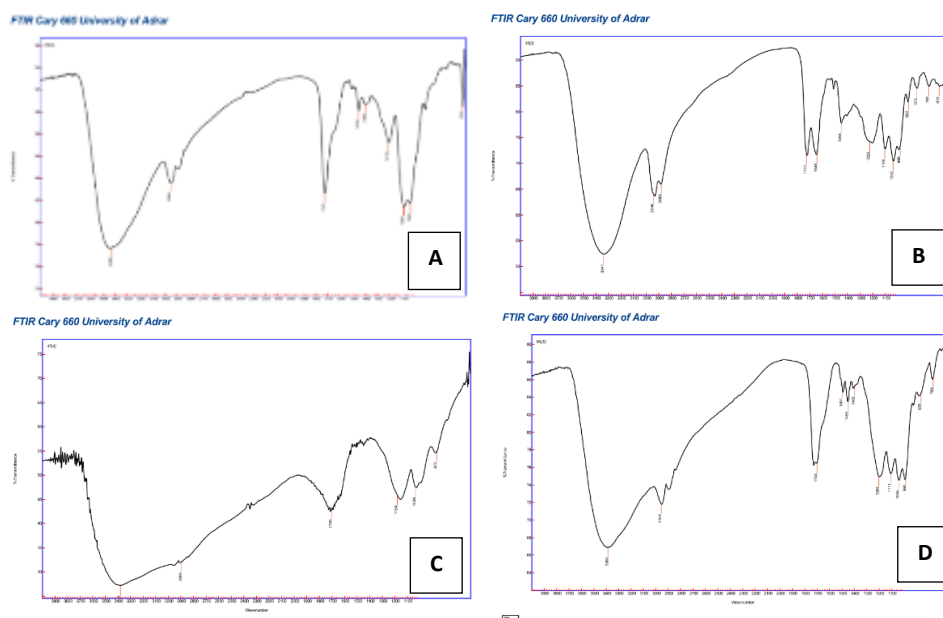


Figure 16: Les spectres d'absorbance infra-rouges des extraits de pyoverdine des isolats OA44 (A), OA45 (B), OA47(C) et OB14 (D).

Les spectres d'analyse des métabolites (Pyoverdine, pyocyanine et phénazine) produits par l'isolat OA47 (**fig.17**), montre une gamme des bandes d'absorbance commune entre les trois types des métabolites. Des signes de vibration aux nombres d'onde 3450, 2924-2850, 2360, 1715, 1655,

1550, 1455, 1370, 1220, 1125, 1005 et 787 cm^{-1} ont été enregistrés, ces signes indiquent respectivement la présence de liaison des groupes fonctionnels de carbohydrate (OH), d'étirement des groupes aliphatiques (CH et CH_2), de cycle aromatique (C-C), des composés insaturés ($\text{C}=\text{C}$), des amides I et II ($\text{C}=\text{O}$, C-N), des alcanes et des alkyles (CH, CH_3).

Les résultats d'analyse FTIR présentés par les spectres des pyoverdines des isolats OA44, OA45, OA47 et OB14 montrent leur concordance avec celles rapportés par des études précédentes. Les quatre spectres présentent des bandes d'absorbance caractéristiques à l'analyse spectral de molécules de la pyoverdine, avec un léger déplacement en nombre d'onde des pics entre les extraits des isolats, ce déplacement est probablement due à la réduction des molécules de la pyoverdine par des ions des métaux, comme il a été rapporté par Patil *et al.* (2022) où une variation significative des bandes de vibration a été enregistrée en raison de la réduction des ions d'argent et la formation de Pv-AgNPs (complexe pyoverdine- Argent). Tout comme une bande proéminente à 1 563 cm^{-1} indiquant l'amide I dans la pyoverdine a été déplacé vers un nombre d'onde inférieur à 1 533 cm^{-1} après la réaction avec les ions d'argent et la formation de Pv-AgNPs.

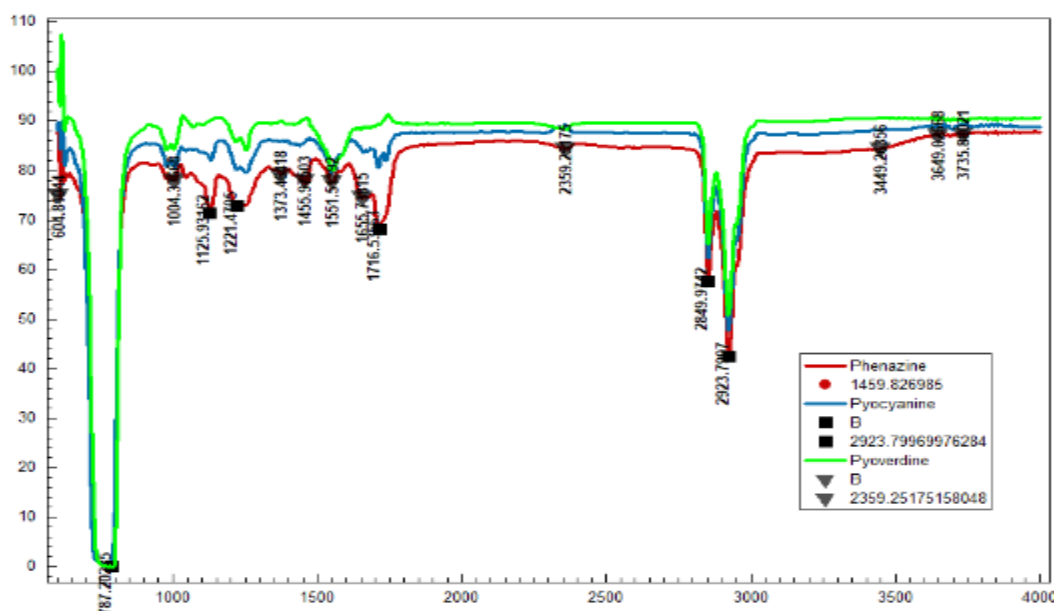


Figure 17: Spectre d'absorbance de métabolites produits par isolat OA47 analysées par photomètre infra-rouge (FT-IR).

Les résultats par l'isolat OA47 montrent la structuration de ces molécules à travers la présence de bandes de vibrations authentiques aux groupes fonctionnels caractéristiques (fig.20). Cette identification a été menée par plusieurs études précédentes. Nos résultats sont similaires à celles de Jennings, (1991) et Hailes, (1998) qui ont rapporté que ces bandes correspondent aux différents groupes fonctionnels présents dans la pyocyanine. Mahmoud *et al.* (2016) ont rapporté qu'une recherche dans la base de données en ligne a indiqué que la molécule est la 5-Méthylphénazine-1-carboxylate (pyocyanine). DeBritto *et al.* (2020) ont rapporté que L'analyse FTIR d'un standard de la pyocyanine a montré une vibration de la liaison alcényle $\text{C}=\text{C}$ à 1604 cm^{-1} , une vibration $\text{C}=\text{O}-\text{H}$ à 1405 cm^{-1} , suggérant la présence d'un aldéhyde, et une vibration de la liaison $\text{C}-\text{C}-\text{C}$ à 1169 cm^{-1} . Les échantillons analysés ont présenté des groupes fonctionnels moléculaires enregistrés aux signes 1625 cm^{-1} , 1405 cm^{-1} et 1168 cm^{-1} , similaires à normes de standard de pyocyanine établie

par Shouman *et al.* (2023). Barsainya & Singh (2018) ont rapporté que l'analyse FTIR d'un mélange réactionnel de pyoverdine et de solution de nitrate de zinc a montré des pics d'absorption IR forts aux nombres d'onde de 3408,7 cm^{-1} , 1581,1 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} , 1339 cm^{-1} et 1120 cm^{-1} , indiquant l'implication de groupes hydroxamate et amino dans la transformation réductrice du nitrate de zinc en nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs). Dans une étude de Koyun *et al.* (2022) le spectre FT-IR de la phénazine-1-carboxamide (PCN) pure a montré des pics caractéristiques dans la plage de 2900 à 3000, en particulier à un nombre d'onde de 2922 cm^{-1} , qui est attribué à l'étirement des liaisons CH aromatiques.

2.3.4. Par résonance magnétique nucléaire RMN.

L'analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique utilisée pour déterminer la structure chimique d'une molécule en se basant sur les réponses des noyaux atomiques avec un champ magnétique et des ondes radiofréquence. Les spectres RMN sont générés en fonction de la fréquence de résonance des noyaux atomiques. Les signaux observés dans les spectres RMN sont appelés pics, et leur position (déplacement chimique), leur intensité et leur forme fournissent des informations intéressantes sur la molécule analysée.

Dans notre étude, les spectres RMN du proton ^1H de la pyoverdine (fig. 21) et de la pyocyanine (fig. 22) produite par l'isolat OA47 montrent un ensemble des pics, sur le spectre de la pyoverdine, les pics sont liés aux déplacements (δ) : 0.92-1.26d, 1.30-1.32d, 2.84s, 3.32-3.33t, 3.44-3.48t, 3.55-3.60t, 3.63s, 4.93s, 5.29s, 7.43-7.75m, 8.39-8.58ppm (s : pic singulet ; d : doublet ; t : triplet et m : multiplet). Ainsi que les pics sur spectre de la pyocyanine ont été enregistrés sur les chiffres (δ) : 0.12s, 1.23-1.25d, 1.28-1.32t, 2.01-2.10 m, 2.84s, 3.31-3.33m, 3.44-3.49 t, 3.53-3.63m, 4.08-4.13m, 4.92-5.07m, 6.70s, 6.37s, 6.91-6.94m, 7.04-7.07d, 8.10s.

La section spectrale de la pyoverdine (fig.18(A)) et de la pyocyanine (fig.19(C)) montrent un ensemble des pics successifs dans la région 6.4-8.2 ppm, cette région est fréquemment rapportée par la littérature comme une région des pics caractéristiques pour la structure de pyocyanine et de pyoverdine indiquant la présence d'un anneau aromatique lié à l'atome d'azote. Karpagam *et al.* (2013) ont rapporté que les six pics condensés apparaissant à δ 7 à 9 ppm représentent la région de l'anneau aromatique. Le pic à 7.3 à 8.3 ppm indique la présence d'un noyau aromatique condensé contenant de l'azote. Les multiples pics situés autour de δ 7.64 à 8.21 ppm sont indicatifs de la région aromatique de la pyocyanine (Cheluvappa *et al.*, 2008; El-Fouly *et al.*, 2015). De Britto *et al.* (2020) ont observé des protons dans la région aromatique, avec des déplacements chimiques compris entre 7.221 et 7.547. Cette région a été également détectée dans une autre étude de Hamad *et al.* (2020). Laxmi & Bhat (2016) ont rapporté que les pics à la région 7.5 -7.7 ppm représentent un anneau azoté aromatique condensé.

La section spectrale RMN du proton ^1H de la pyoverdine (fig.18(A)) et de la pyocyanine (fig.19(C)) de déplacement 3 à 4.4 ppm comprend plusieurs pics multiples. Cette région est connue dans les rapports comme région authentique au groupe de méthyle rattaché avec un atome d'azote. El-Fouly *et al.* (2015) ont montré que les pics caractéristiques de δ 3,3 à 4,3 ppm dans un spectre RMN du proton ^1H sont indicatifs du groupe méthyle lié à la molécule d'azote. Les protons N-CH₃ ont été observés à 3,363 ppm en tant que pic singulet (Priyaja *et al.*, 2014). Et un pic singulet a été également observé à δ 4,14 ppm correspondant au groupe méthyle dans la pyocyanine Cheluvappa

et al. (2008). Karpagam *et al.*, (2013). Le pic à δ 3,3 à 4,3 représente la présence d'un groupe méthyle lié à un atome d'azote aromatique. Le pic à δ 2,7–3,4 ppm indiquait la présence d'un groupe méthyle lié à un atome d'azote aromatique (Laxmi et Bhat, 2016).

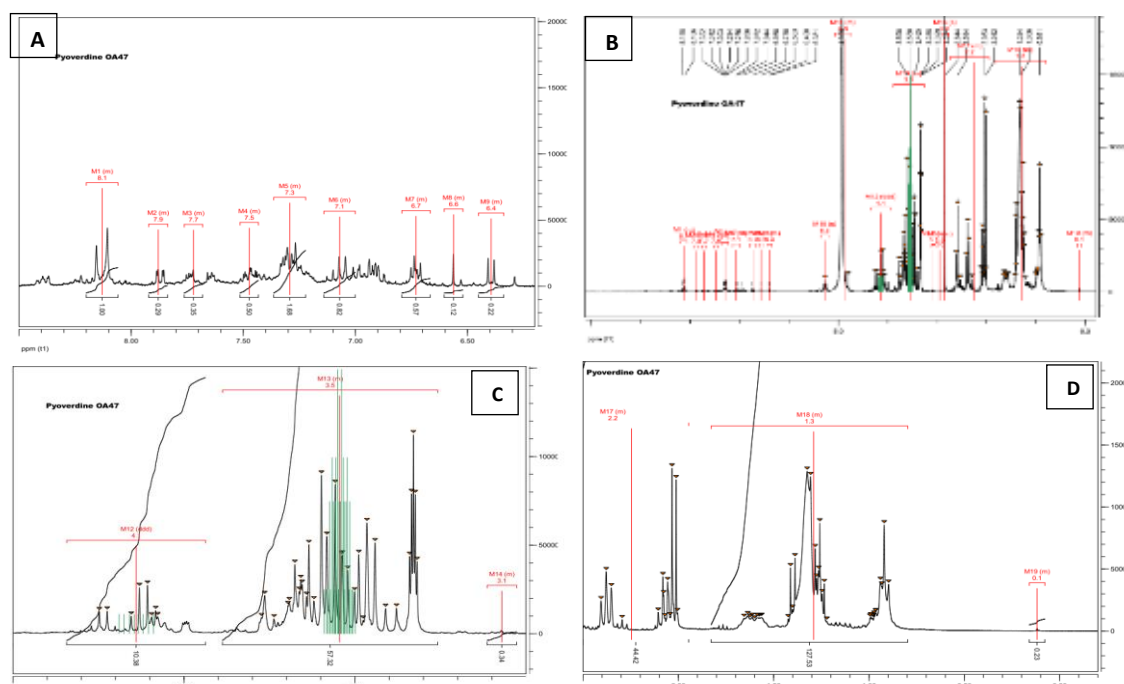


Figure 18: Spectre d'analyse RMN de Pyoverdine produite par l'isolat OA47

La littérature rapporte également quelques groupes aminés en liaison avec un groupe de méthyle présentés sur le spectre RMN du proton 1H en quelques pics caractéristiques, Budzikiewicz *et al.* (2006) ont rapporté que les valeurs de déplacement des groupes CH₂ de la sérine (3,93 ppm) et du β -CH de la thréonine (4,13 ppm) indiquent que les groupes OH ne sont pas estérifiés. Alors que la valeur de déplacement (4,57 ppm) du β -CH de l'OHAspest en concorde avec les données de la littérature. Les signaux du α -CH, du ϵ -CH₂ et du NH de Lys 1, comparés à ceux de Lys 2, suggèrent que Lys 1 n'est pas lié de manière α -peptidique, mais plutôt de manière ϵ -amidique à l'acide. Hussien *et al.*, (2013) ont montré que trois acides aminés AcOHorn, Asp et Orn étaient présentés avec un déplacement chimique (δ) 3.345/1.232, 2.508 et 2.084 ppm respectivement. L'analyse RMN montre que Orn est comme AcOHorn. De plus, les valeurs de décalage des groupes -CH de AcOHorn (3,345 et 1,232 ppm) ont montré que les groupes OH ne sont pas estérifiés. Mohan *et al.* (1990) et Barelmann *et al.* (2002) ont prouvé des résultats similaires pour une suggestion de structure de pyoverdine.

Das *et al.*, (2023) ont prouvé que les deux résonances NH à 8,45 et 6,89 ppm et les deux résonances à 2,97 et 2,80 ppm, présentent le même nombre de croisements avec les protons aliphatiques, correspondent au même résidu. Il en va de même pour les deux protons NH à 8,22 et 7,94 ppm, qui sont connectés aux signaux à 3,34 et 3,14 ppm. Les deux signaux triplets à 6,89 et 7,94 ppm sont attribués aux protons NH liés respectivement aux groupes latéraux CH₂~ et CH₂ de l'arginine et de la lysine. Demange *et al.*, (1990) a suggéré que la pyoverdine est un peptide cyclique avec un chromophore lié à une chaîne peptidique linéaire et que le chromophore de la pyoverdine est dérivé de la 2,3-diamino-6,7-dihydroxyquinoline.

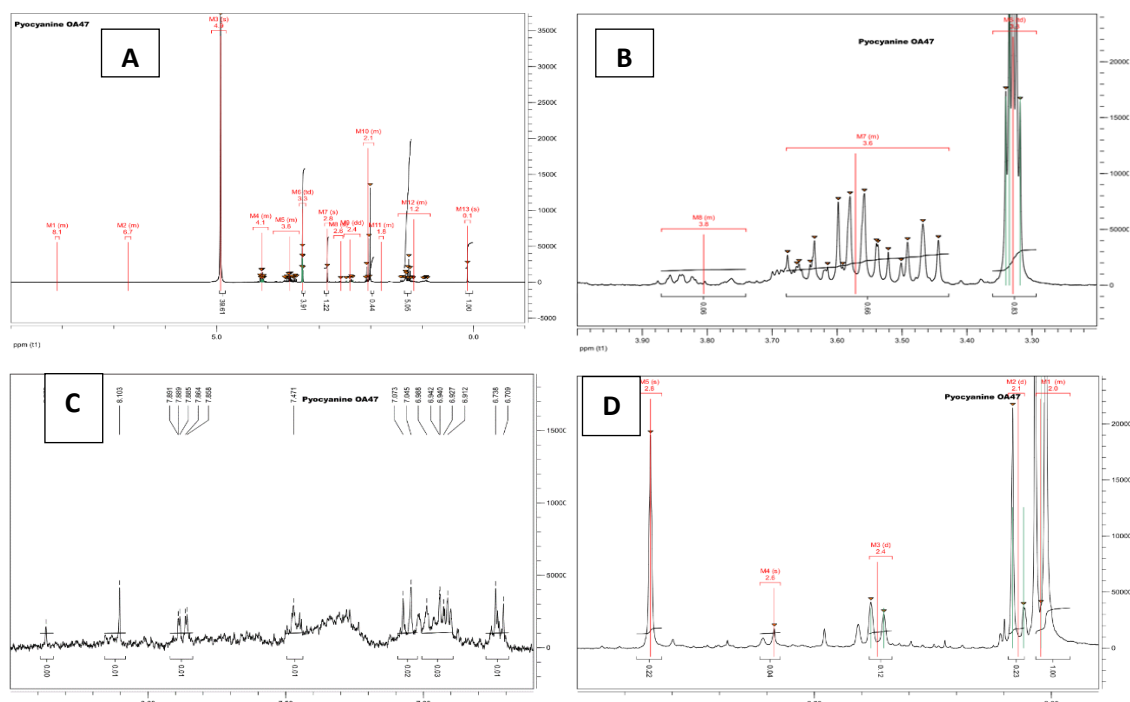


Figure 20: Spectre d'analyse RMN de Pyocyanine produite par l'isolat OA47

En conclusion, les caractéristiques spectrales RMN du proton ^1H de la pyoverdine et de la pyocyanine ont prouvé la présence de leurs structures squelettiques en peptides basants sur la signification rapportée par la vaste littérature. Néanmoins, les deux spectres affichent quelques pics inabordés et inexpliqués par le rapport similaire, tel que ceux liés la région plus basse de déplacement chimique (inférieur à 1.2 ppm).

2.4. Examen de résistance à la salinité et au cuivre :

Les résultats de croissance des isolats ont été présentés par densité optique. La figure 20 montre un effet inversement proportionnel de la concentration de NaCl dans le milieu de culture sur la croissance bactérienne de l'ensemble des isolats, sauf que on a enregistré une augmentation de la croissance de l'isolat OA44 et OA47 sous le traitement salin S1 (50 mM de NaCl). il a été constaté aussi que l'isolat le plus résistant à la salinité était OA47, puis OB14 et OA44.

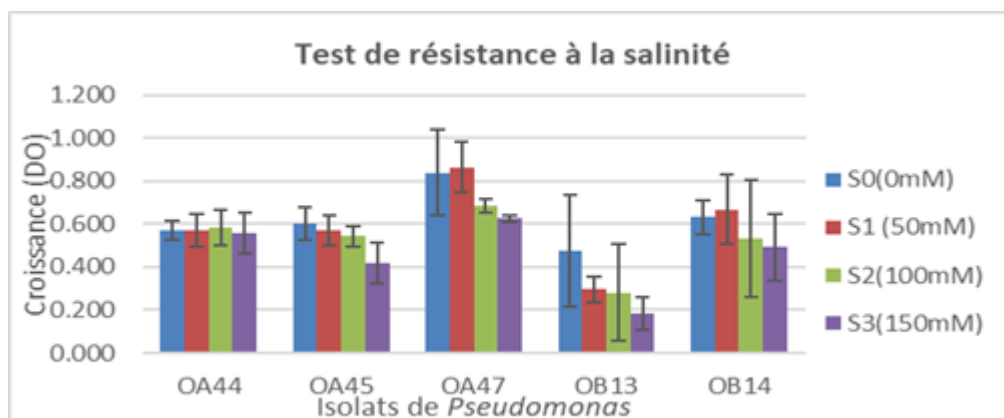


Figure 1: Effet de la salinité (NaCl) sur la croissance des Pseudomonas

Cette réduction de croissance bactérienne sous l'effet de salinité a été démontré par plusieurs études, Daoud *et al.*, (2017) a montré que *Halobacillus* sp. CJ4 a atteint sa croissance maximale à la concentration saline de 50 mg.L⁻¹, Azeem *et al.* (2022) a trouvé que *Bacillus safensis* PM22 a montré

une diminution de croissance progressive avec l'excès en NaCl. Le même résultat a été rapportée par *Ali et al. (2022)* pour *Enterobacter cloacae PM23*.

Tableau 3: Croissance des isolats de *Pseudomonas* (en DO) sous stress salin et au cuivre

ISOLATS	NACL				CUSO ₄ ,5(H ₂ O)			
	S0 (0mM)	S1 (50mM)	S2 (100mM)	S3 (150mM)	C0 (0mM)	C1 (2.5mM)	C2 (5mM)	C3 (10mM)
OA44	0.569	0.570	0.584	0.558	0.931	1.067	0.560	0.403
OA45	0.604	0.570	0.543	0.420	0.742	0.601	0.495	0.462
OA47	0.839	0.865	0.684	0.626	0.822	1.118	0.573	0.522
OB13	0.474	0.295	0.282	0.185	0.811	0.183	0.161	0.151
OB14	0.631	0.669	0.534	0.492	1.061	0.998	0.881	0.411

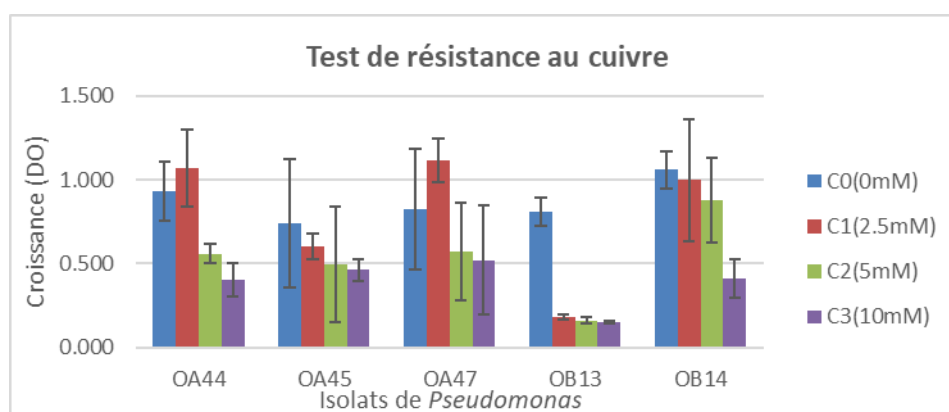


Figure 23: Effet de cuivre (CuSO₄,5H₂O) sur la croissance des isolats

La figure 21 présente l'effet de différentes concentrations de cuivre sur la croissance des isolats de *Pseudomonas*. Cet effet est inversement proportionnel avec la concentration de cuivre pour l'ensemble des isolats, tandis que les isolats OA44 et OA47 ont montré une légère augmentation avec la concentration C1 (2.5 mM). *Kumar et al. (2021)* ont aussi rapporté qu'une diminution significative en croissance bactérienne a été observée dans les cultures traitées au Cuivre par rapport aux cultures témoins. Une diminution de croissance bactérienne avec l'augmentation de la concentration de Cuivre de 10 à 100 mg/L a également été signalée par *Guo et al. (2010)*.

2.5. Production d'AIA.

2.5.1. Effet de salinité et de cuivre sur la production d'AIA dans des milieux liquides :

Le tableau 4 montre l'effet de concentration saline sur la production d'AIA dans des milieux liquides. Dans ce tableau les isolats OA44, OA47 et OB13 ont montré une augmentation en synthèse d'AIA sous la concentration de 50 mM de NaCl, alors que les autres isolats ont montré une réduction progressive avec l'augmentation de la concentration de NaCl. Généralement les isolats OA44 et OA47 ont montré une production d'AIA relativement élevée dans les conditions salines et non salines (**fig. 22(A)**).

Tableau 4: Effet de salinité sur la production d'AIA par les isolats.

	S0 (0mM)		S1 (50mM)		S2 (100mM)		S3 (150mM)	
OA44	5.1	0.09	6.1	1.18	2.1	0.47	2.1	0.5
OB13	1.1	0.44	1.1	0.62	1.1	0.86	1	0.66
OA45	2	1.04	2.1	0.81	0.1	0.2	0.1	0.12
OA47	5.1	0.88	5.1	1.25	4.1	0.31	2.1	0.42
OB14	1.1	0.71	0.1	0.14	0.1	0.21	0.1	0.07

Zhang *et al.* (2019) ont montré que la production d'AIA augmentait initialement sous la concentration saline (10 mg/ml), alors que des niveaux plus élevés de NaCl (20 mg/ml) réduisaient la production d'AIA. Ces résultats ont également été confirmés par Ansari et Ahmad, (2019), où les concentrations de 500 250 et 125 mM de NaCl ont entraîné une réduction progressive de production d'AIA. Alors que Saleem *et al.* (2021) ont trouvé que deux des souches bactériennes parmi dix souches tolérantes au sel ont montré une diminution progressive de la production d'AIA avec l'augmentation de la concentration en sel, tandis que les autres souches ont augmenté la production d'AIA jusqu'à la concentration de 500 mM de NaCl,

Tableau 5: Effet de cuivre sur la production d'AIA.

	C0 (2.5 mM)		C1 (5 mM)		C2 (10 mM)		C3 (20 mM)	
OA44	3.5	0.418	4.0	0.335	4.2	0.205	4.0	0.639
OB13	3.2	0.91	4.8	0.857	5.1	1.1	5.1	0.738
OA45	3.0	0.455	3.2	0.353	3.4	0.299	2.9	0.346
OA47	9.1	0.743	10	0.784	11.1	0.495	11.1	1.1
OB14	4.6	0.063	5.4	0.899	5.3	0.187	5.1	0.886

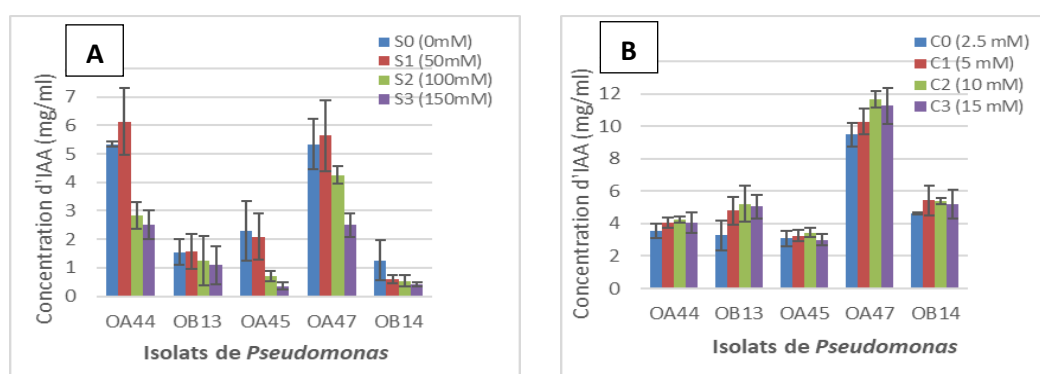


Figure 24 : Effet de salinité (A) et du cuivre (B) sur la synthèse d'AIA.

La Figure 22(B) présente les teneurs en AIA produits par les isolats de *Pseudomonas* sous des concentrations de cuivre, l'ensemble des isolats montrent une augmentation proportionnelle en AIA avec les concentrations de cuivre aux milieux, puis une régression avec la concentration C2 (20 mM). Il a également été constaté que l'isolat OA47 était la plus productif d'AIA en présence et en absence du cuivre. Plusieurs études rapportent des résultats similaires, Kumar, Voropaeva, *et al.*, (2021) ont enregistré une valeur maximale d'AIA produite par *Pseudomonas lurida* EOO26 sous la concentration de cuivre de 50 mg.L⁻¹, puis la production a été abaissée sous 100 mg.L⁻¹ de cuivre. Les concentrations 0, 10, 20, 50mg.L⁻¹ additionnées aux milieux ont montré une

augmentation progressive en quantité d'AIA produite par *Mesorhizobium loti* SEMIA806 et SEMIA816 (Vieira *et al.*, 2017). Un effet positif de l'ion de cuivre sur la production d'AIA par *Pseudomonas chlororaphis* O6 a été signalé par Tatsukami et Ueda, (2016). La production d'AIA a augmenté de 50 % sous stress au Cu^{2+} par la souche GKSM6 (Majhi *et al.*, 2021). Alors qu'une réduction de l'AIA sous stress au Cu^{2+} a été observée chez *Pseudomonas* sp d'après Dimkpa *et al.*, (2012).

2.5.2. Effet des conditions de culture sur la production d'AIA :

La fig.23 montre qu'à 25°C l'effet de la concentration de tryptophane sur la synthèse d'AIA est clairement proportionnel aux différents pH étudiés, tandis qu'une légère régression en quantité d'AIA a été enregistrée à la concentration de 150 mg/L au pH 8.2. La courbe de l'effet de pH sur la production d'AIA, indiquant que le pH optimal de synthèse d'AIA pour toutes les concentrations de tryptophane était le pH neutre autour de 7.

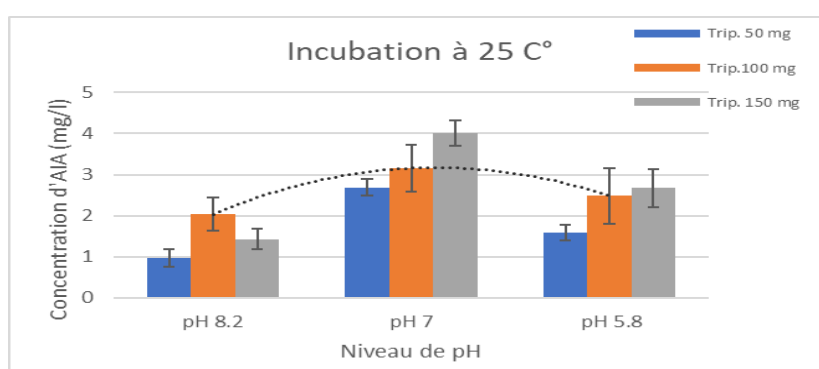


Figure 25: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 25°C.

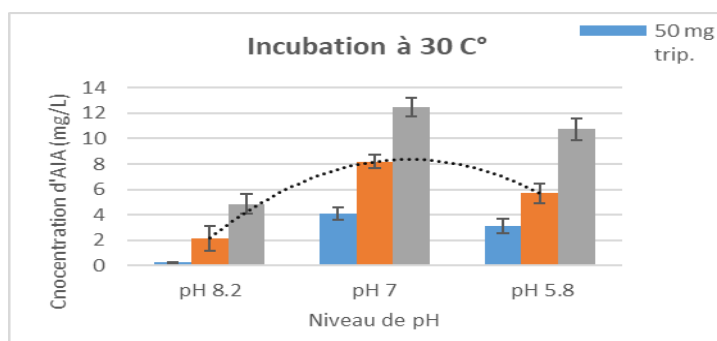


Figure 26: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 30°C.

Les résultats indiqués sur la fig.24 montrent que la production d'AIA a progressivement augmenté avec l'augmentation de la concentration du tryptophane dans tous les pH étudiés. Aussi le pH 7 a donné une production d'AIA optimale.

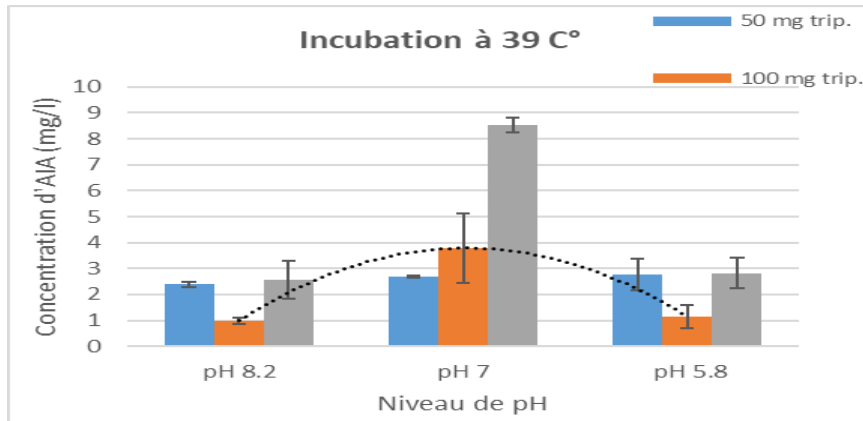


Figure 27: Effet de pH et tryptophane sur la synthèse d'AIA à une température de 39 C°.

Les concentrations de tryptophane ont montré un effet variable sur la production d'AIA à la température 39 C° (fig.25). Au pH 8.2 et 5.8, la valeur d'AIA a diminué avec la concentration de 100 mg/L, puis remonte à 150 mg/L. la production d'AIA dans à pH 7 a augmenté progressivement en fonction de la concentration de tryptophane.

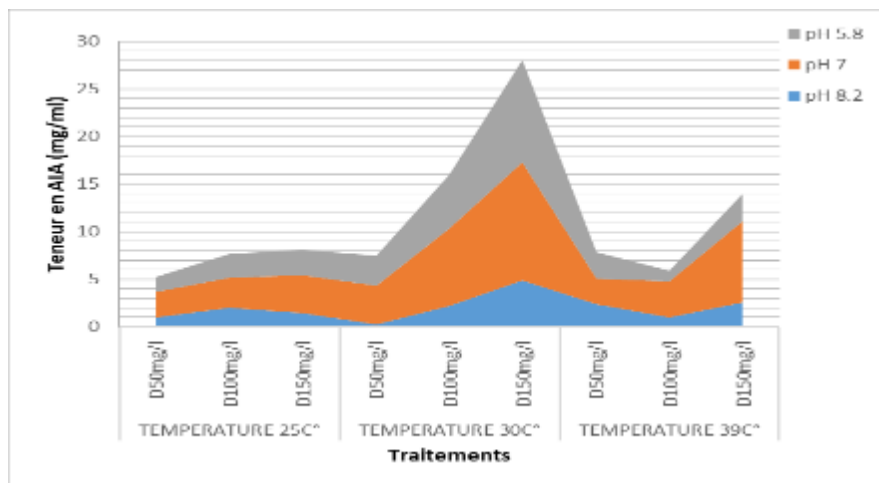


Figure 28 : Effet combiné de pH, température et concentration de tryptophane sur la synthèse d'AIA.

La **Figure 26** représente l'interaction des facteurs de production d'AIA. Ceci montre que la production optimale de l'AIA se trouve à 30°C dans un milieu riche en tryptophane et dans un pH 7 ou légèrement acide.

Discussion :

Cette expérimentation a pour objet d'examiner l'effet combiné des concentrations de tryptophane, de pH de milieu et de température d'incubation sur la production d'AIA dans des conditions in-vitro. Plusieurs études précédentes présentent des résultats similaires avec ceux de cette étude. Fu *et al.*, (2015) ont rapporté que l'acide indole-3-acétique AIA est une hormone végétale de croissance qui fait partie des auxines, sa synthèse est impliquée dans divers processus physiologiques. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie couramment utilisée pour étudier la

synthèse de l'AIA car elle est capable de produire de grandes quantités de cette hormone (Sasirekha et Shivakumar, 2012). Plusieurs facteurs influencent la synthèse de l'AIA par *P.aeruginosa*, tels que la température, le pH et la dose de tryptophane (Jasim *et al.*, 2014).

La production d'AIA augmente avec l'augmentation de dose de tryptophane ajoutée au milieu. Des études ont montré que l'addition de tryptophane entraînait une augmentation de la production d'AIA par *Pseudomonas aeruginosa* (X. Lee *et al.*, 2013; Spaepen *et al.*, 2007). De même, une étude sur *B. pyrrocinia* JK-SH007 a montré que la production d'AIA est significativement influencée par la dose de tryptophane (Idris et Iglesias, 2007). Parvin *et al.*, (2020) ont rapporté que la production d'AIA par *P. aeruginosa* UPMP3 a augmenté avec l'augmentation de concentration de tryptophane. Aussi, la même remarque a été indiquée par Ahmed et Hasnain (2020).

Dans ce présent travail, le pH 7 (neutre) ou légèrement acide favorise la production d'AIA. Une autre étude a conclu que la production d'AIA par *Pseudomonas aeruginosa* était optimale à un pH compris entre 6,8 et 7,2 (Spaepen *et al.*, 2007). Lebrazi *et al.*, (2020) ont cité que le pH neutre est optimal pour une production plus élevée de l'AIA par *P. aeruginosa*. Parvin *et al.* (2020) a également signalé la même remarque avec *P. aeruginosa* UPMP3. Ahmed et Hasnain (2020) ont enregistré que le pH 7 est le meilleur pH pour une production plus élevée d'AIA par le genre *Pseudomonas*. Boonmahome et Mongkolthanasarak (2023) ont montré que les bactéries rhizosphériques produisent une quantité maximale à pH 7.

La température la plus adéquate pour la biosynthèse d'AIA selon la présente étude est 30°C. Une étude a montré que la température avait un effet significatif sur la production d'AIA par une souche de *Pseudomonas putida* (Sethia *et al.*, 2015). Mohite (2013) a également rapporté que la production maximale d'AIA a été observée à 30°C. En plus Patil *et al.* (2011) ont indiqué que la productivité optimale de la souche *Acetobacter diazotrophicus* a été observée à la température de 30°C. Khamna *et al.* (2010) ont montré que 30°C est optimale pour *Streptomyces* pour produire un maximum d'AIA. Bessai *et al.* (2022) ont également dit la chose sur les bactéries telluriques.

2.6. Production de l'acide cyanhydrique HCN.

Les isolats OA44, OA45, OA47, OB13 et OB14 ont montré une couleur marron-orange sur la surface de boîtes à culture (**fig.27(a)**), ceci indique la production d'HCN. Cette molécule et sa synthèse par les bactéries est largement abordé par les auteurs. Ryall (2008) a mentionné que le cyanure d'hydrogène (HCN) est un métabolite secondaire produit par de nombreuses espèces de *Pseudomonas*, et que la production de HCN par *Pseudomonas* est régulée par la disponibilité en oxygène. De plus, il a été démontré que la production de HCN par *Pseudomonas* peut avoir des effets toxiques sur d'autres organismes vivants (Chen *et al.*, 2016). Un modèle de *Pseudomonas aeruginosa* antagoniste a été isolé et caractérisé par son potentiel de synthèse de HCN (Uzair *et al.*, 2018). Bien que le HCN soit rarement un composé antagoniste responsable du biocontrôle chez les souches de *Pseudomonas* (Paulin *et al.*, 2017). La production de DAPG et de HCN par *Pseudomonas* sp.LBUM300 contribue dans le contrôle biologique d'une maladie bactérienne de la tomate (Lanteigne *et al.*, 2012).

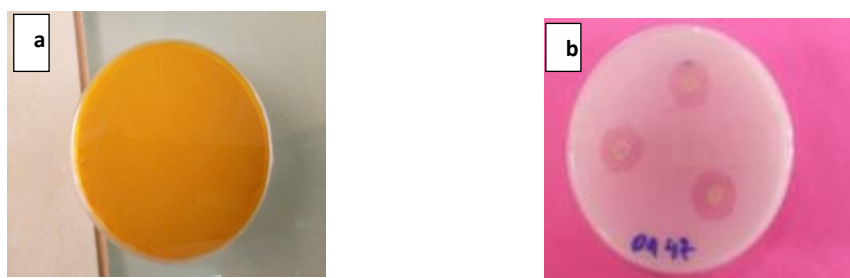


Figure 29: Test de production de l'HCN (a) et de solubilisation de phosphate (b) chez *Pseudomonas*

2.7. Solubilisation de phosphate :

Les isolats OA44, OA45, OA47, OB14 ont montré leurs potentialités à solubiliser le phosphate sur le milieu gélosé (fig.27.b), avec une différence entre les valeurs d'efficacité de solubilisation, tandis que l'isolat le plus puissant est OA47 avec une ES= 245.83 ± 36.08 . (Tab. 6).

Tableau 6: Valeurs d'efficacité de solubilisation des isolats.

Souche	OA44	OA45	OA47	OB14
Efficacité de solubilisation	138.89 ± 9.62	150.00 ± 16.67	245.83 ± 36.08	177.78 ± 19.25

La potentialité en solubilisation de phosphates des bactéries rhizosphériques en qualité de PGPR est évalué comme un facteur très important pour la promotion des plantes, une étude menée par Vyas *et al.* (2009) met en évidence le potentiel des *Pseudomonas* pour améliorer la disponibilité du phosphore dans les sols et favoriser la croissance de maïs, ces bactéries sont capables de solubiliser les phosphates par la production d'acides organiques. Une autre étude de Saber *et al.* (2015) et Ghorbanzadeh *et al.* (2020) ont caractérisé des isolats de *Pseudomonas* fluorescents qui ont présenté une forte activité de solubilisation de phosphates. Cela indique la capacité de ces souches à améliorer la disponibilité du phosphore pour l'absorption par les plantes. Blanco-Vargas *et al.* (2020) ont étudié l'inoculation des plantes par des souches de *Pseudomonas* solubilisatrices de phosphate pour la promotion de la croissance des plants d'oignon (*Allium cepa*). Sanchez-Gonzalez *et al.* (2022) ont prouvé la solubilisation du phosphate par des souches bactériennes dans un milieu de Pikovskaya.

2.8. Activité antimicrobienne des métabolites.

2.8.1. Effet antimicrobien d'extrait de pyoverdine des isolats :

Les résultats affichés dans le tableau 7 montrent que l'extrait de pyoverdine de l'isolat OA47 présente un effet inhibiteur très important sur toutes les souches microbiennes testées

Tableau 7: Effet inhibiteur des extraits de pyoverdine des isolats.

	S1	S3	S4	S6	C1	C2
OA47	9.8 ± 2.255	2.1 ± 0.289	7.3 ± 4.725	2.3 ± 0.577	3.7 ± 2.136	± 0
OA45	± 0	± 0	± 1	± 0	± 0	6.6 ± 4.04
OA44	± 0	± 0	1.3 ± 0.289	± 0	± 0	3.6 ± 2.08
OB14	1.3 ± 0.289	± 0	± 1	± 0	± 0	2.3 ± 1.53

S1: *Bacillus cereus*, S3: *Escherichia coli*, S4: *Staphylococcus aureus*, S6: *P.aeruginosa*, C1: *Fusarium oxysporum fsp albedinis*, C2: *Fusarium oxysporum fsp ciceris*

Des études ont indiqué que la pyoverdine, produite par de nombreuses souches de *Pseudomonas*, peut inhiber la croissance des champignons et des oomycètes (. Kang *et al.*, 2018; Santoyo *et al.*, 2012; L. Zhang et Gallo, 2016). Il a été constaté dans cette étude que la pyoverdine produite par l'isolat OA47 a un effet inhibiteur sur les deux types des bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives, comme il a été signalé par Liu *et al.* (2021) qui ont rapporté que la pyoverdine produit par *Pseudomonas chlororaphis* YL- a pu inhiber des Gram-positives et Gram-négatives, dans des conditions de carence en fer.

2.8.2. Effet antimicrobien d'extrait de métabolites d'isolat OA47 :

Les résultats de de la présente etude montre que pour la concentration 10 mg, les trois extraits présente un effet différent sur l'ensemble des souches. avec un pouvoir remarquable de la phénazine, où il a inhibé toutes les souches sauf *E. faecalis*. Seulement la phénazine a inibé Pa, C'est aussi le métabolite quidonné la plus grande zone dinibtion sur *B.subtilis* avec 8.27 mm.

Les extraits de métabolites à la concentration 50 mg (fig.29B) ont significativement inhibé l'ensemble des souches bactériennesY comprisPa .Aussi la phénazineprésente la zone d'inibtion la plus élvé sur la souche de *B. subtilis* avec un diametre de 8,9 mm. En revanche, les souches *B. cereus* et *E. faecalis* ont présenté une résistance minimale à l'ensemble des métabolites testés, même à la concentration10 mg. Alors que la souche *E. coli*était la seule qui a montré une résistance a tous les extraits à la concentration 10 mg.

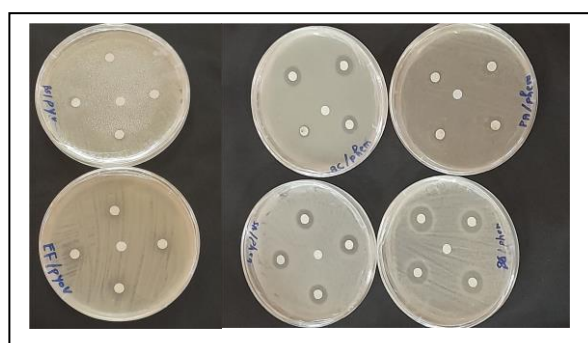


Figure 30 : Les zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne

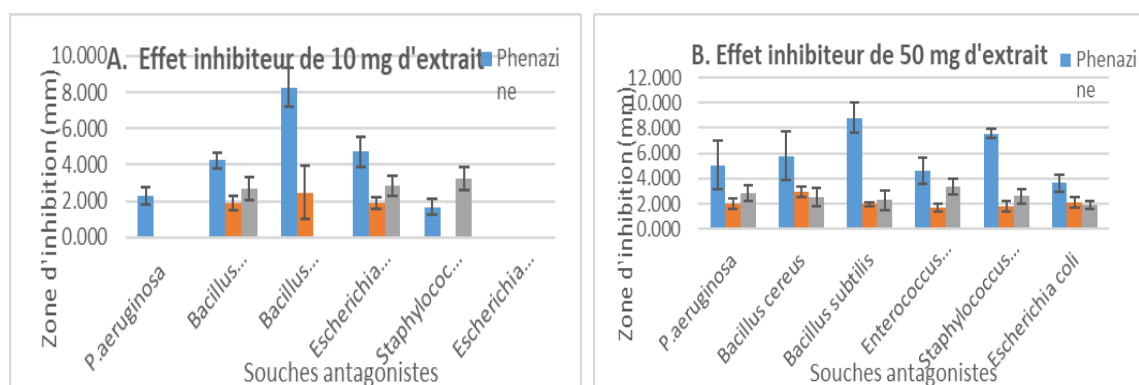


Figure 31: Activité antibactérienne des métabolites d'isolat OA47

Les résultats de notre étude sur l'effet des métabolites produits par l'isolat OA47 viennent dans le même contexte de celles de plusieurs études similaires. La littérature a bien rapporté l'effet inhibiteur de pyoverdine, de pyocyanine et de phénazine. Selon les recherches menées par Kloepper *et al.* (1980), la pyoverdine présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*. Ces résultats concordent avec les études menées par plusieurs auteurs, qui ont démontré l'activité antibactérienne de la pyocyanine (Barakat, 2012; George *et al.*, 2015; Preetha *et al.*, 2010). Baron et Rowe (1981) ont étudié l'activité antibiotique de la pyocyanine et ont observé qu'elle inhibait la croissance de diverses bactéries, notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*, ce pouvoir antibactérien de la pyocyanine était attribué à sa capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à perturber les membranes bactériennes. Dans une étude menée par Das et Ma (2013) il a été démontré que la production de pyocyanine par *Pseudomonas aeruginosa* inhibait la formation de biofilms par d'autres bactéries, telles que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Cette inhibition était médiée par la capacité de la pyocyanine à perturber les systèmes de communication (quorum sensing) de ces bactéries, qui sont essentiels à la formation de biofilms. DeBritto *et al.* (2020) ont constaté que la pyocyanine a inhibé *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) à l'antibiotique vancomycine, et cela par la perturbation de la paroi cellulaire de MRSA, permettant à la vancomycine de pénétrer et de tuer les bactéries de manière plus efficace (DeBritto *et al.*, 2020). La pyocyanine a un effet inhibiteur sur la formation de biofilms, qui est un facteur de virulence majeur de *Pseudomonas aeruginosa* (P. Das et Ma, 2013).

Autrement, les phénazines sont une classe d'antibiotiques redox actifs produits par diverses espèces bactériennes, notamment *Pseudomonas chlororaphis* et *Rhizobium* qui ont été utilisés pour inhiber la croissance des bactéries (Hernandez *et al.*, 2004; Krishnan *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2018). L'étude faite par Morales *et al.* (2013) a révélé que les phénazines produits par *Pseudomonas aeruginosa* inhibaient la croissance de *Candida albicans* et perturbaient ses voies métaboliques, ce qui réduisait la formation de biofilms. Cela suggère que les phénazines peuvent interférer avec la virulence de *Candida albicans*, un pathogène fongique courant (Morales *et al.*, 2013). Les dérivés de phénazines font partie des classes de composés fréquemment isolés avec une activité antimicrobienne (Indraningrat *et al.*, 2016). Les phénazines et leurs dérivés ont une large action inhibitrice sur les bactéries, ce qui en fait des candidats potentiels pour le développement d'antibiotiques (Sousa *et al.*, 2023).

3. Identification moléculaire de l'isolat OA47

3.1. Purification par électrophorèse sur gel d'agarose et l'extraction au gel.

Les produits de PCR sont soumis à une démarche de purification d'ADN par une méthode standard, l'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode couramment utilisée à cet effet. Des aliquotes de 1 μ L de PCR d'OA47 ont été électrophorésés sur un gel d'agarose à 1% dans un tampon TAE à 100 V pendant 60 minutes. .

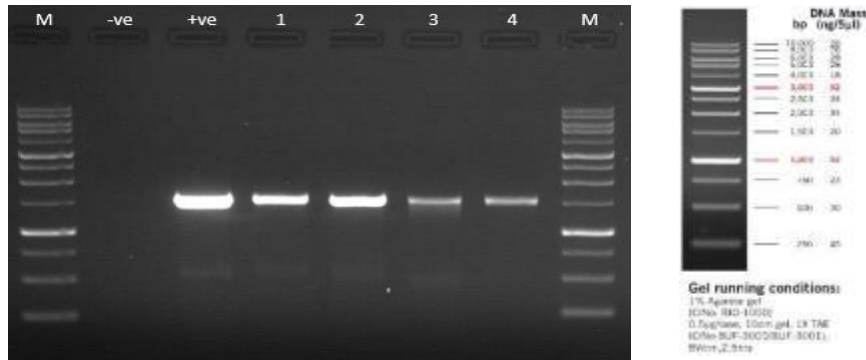


Figure 32: Résultats d’électrophorèse d’AND OA47 amplifié

La **figure30**présente les résultats d’électrophorèse. Cette figure (gel d’agarose) montre que ce produit PCR d’isolat OA47 positionné à la colonne 3 s’aligne avec l’échantillon de témoin positif présentant le gene 16S ARNr,. Apres la récupération de l’extrait purifié, il a été passé au séquençage.

3.2. Séquençage :

Le séquençage d’ADN de l’isolat OA47 nous a donné deux séquences inverses avant et arrière, les séquences ont séparément été enregistrées dans deux fichiers « abi. »



Figure 33: Séquences d’ADN d’isolat OA47, seq.1 : Avant/F- seq.2 : Arrière/R.

3.3. Analyse de données produites de séquences

Les séquences produites ont été visualisées et analysés avec le logiciel *Sequence Scanner* classifiant séquences nucléotides en fonction de leur qualité (affichées en couleur rouge par exemple (fig.32)).



Figure 34: Visualisation et scan des séquences par Seq scanner

A l'aide de logiciel *Open Vector Editor*, la suppression des séquences de qualité médiocre déterminées de séquençage avant et arrière a été effectuée. Puis il a été procéder à l'alignement ou à l'assemblage (contig) à l'aide de logiciel *BioEdit*, pour produire la séquence intégrale.

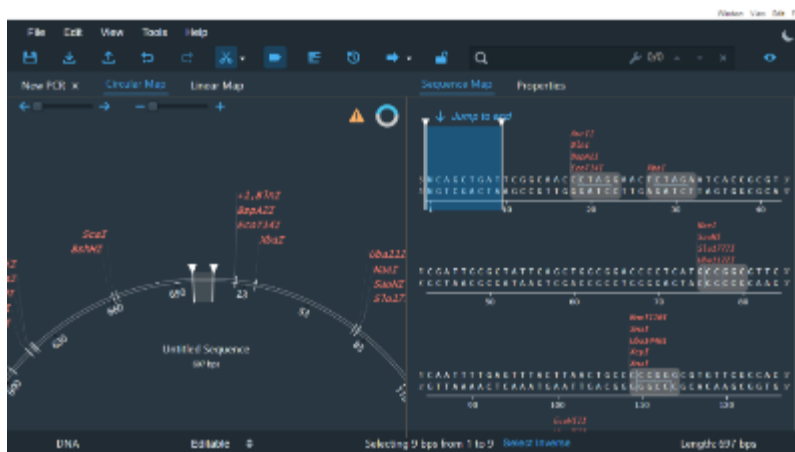


Figure 35 : Suppression de portion à faible qualité des séquences F/R par Open Vector Editor

L'alignement ou l'assemblage des deux séquences Avant -Arrière purifiées nous a produit une séquence intégrale avec une longueur de 1485pb enregistrée sur un fichier FASTA (**fig.34**) prête à la soumission pour la requête dans la plateforme en ligne NCBI.

LOCUS 47_1485pb 1485 pb ADN linéaire SYN 05 OCT 2023 ORIGINE

```

1 ggctcagatt gaacgctggc ggcaggccta acacatgcaa gtcgagcggg tgaaggg agc
61 ttgctccttg attcagcggc ggacgggtga gtaatgccta ggaatctgcc tggtagtggg
121 ggatacgtc cggaaacggg cgctaatacc gcatacgtcc tgaggagaa agtggggg at
181 ctctggacct cagcctatca gatgagccta ggtcggatta gctagtggg ggggtaagg
241 cctaccaagg cgacgatccg taactgtctt gagaggatga tcagtcacac tggaaactag
301 acacgggtcca gactcctacg ggagggcagca gttgggaa ta ttgacaatg ggcgaaagcc
361 tgatccagcc atgocgctgt ttgaaagaag gtcctggat ttgaaag cac ttaagtgg
421 gaggaagggc agtaagtaa tacctgctgt tttgacgtt accaacagaa taagcacggg
481 ctaacttgt gccagcagcc gcggtaaac gaagggtgca agcgttaac ggaattactg
541 ggctaaagc gcgctagggt gttcagcaa gttggatgtg aaatcccgg gctcaactg
601 ggaactgcat ccaaaactac tgaactag ag tacggtaga ggtgggtgaa ttctctgtt
661 agcggtagaa tgcgtagata taggaaggaa caccagtggc gaaggcgaac acctgactg
721 atactgacac ttaggtgca aagcgtggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtc
781 acgocgtaa cgaatgac tagcgttg gatccttag atcttagtg cgacgtaac
841 gcgataagtc gacgcctgg ggagtaggc cgcaggta aactcaaat gaattgacgg
901 gggcccgcac aagcgttga gcatgtggt taa ttgaaag caacgcgaag aacctacct
961 ggocctgaca tctgagaac ttccagaga tggattggt ccctgggaa ctgacaca
1021 ggtctgcat ggcctgctc agctgctc gtagatgtt gggtaagtc cgttaacgag
1081 cgcaacctt gctctagt accagcaact cgggtggca cttaaggag actgocggtg
1141 acaaacgga ggaagggtg gatgacgca agtcatcatg cccttacgg ccaggcctac
1201 acacgtgcta caatgttgg tacaagggt tgcaggcgc agagggtgag ctaatccat
1261 aaaccgatc gtagtcgga tcgagctg caactgact gcgtgaagtc ggaatgccta
1321 gtaatgtga atcagaatg caggtgaat agttccgg gcctgtaca caccgccgt
1381 cacaccatg gagtgggtg ctccagaagt agctagtc ta accgcaagg ggacggttac
1441 cacggagtga ttcattact gggtaagtc gtaacaggt aaccg

```

Figure 36: Séquence intégrale d'ADNr 16S produite de séquençage.

3.4. Recherche dans la base des données NCBI (BLAST)

Après la soumission de la séquence intégrale à la requête dans la base de données NCBI, dix souches authentiques ont été suggérées en fonction de similarité par ordre de pourcentage d'identité, le tableau (annexe4) présente les meilleures 10 similarités suggérés pour interprétation.

La liste présentée montre une correspondance significative des séquences de références avec notre séquence requêtée, une haute similarité a été présentée chez la séquence à numéro d'accèsion NR_117678.1 décrite en tant que *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071 16S ribosomal RNA. Cette similitude très élevée est dû à son scores très élevé, sa valeur E très faible (0.0), son pourcentage d'identité atteint 99.93% et à la couverture de la requête maximale à 100 %.

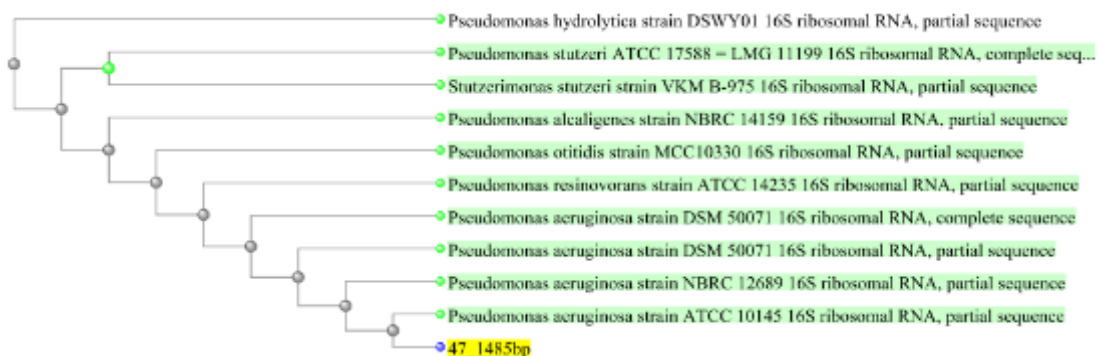


Figure 37: Arbre phylogénétique de la souche OA47

II. Effet de cuivre et d'inoculation bactérienne sur la germination de la fève *Vicia faba*.

1. Effet de cuivre et d'inoculation bactérienne sur le temps moyen de germination :

1.1. Résultats.

Sélection des isolats.

Ense basant sur les tests de résistance au cuivre et de production d'AIA, (Partie précédente), les isolats OA47 et OB14 ont été sélectionnés comme les plus résistants au cuivre et les plus productifs d'AIA.

1.1.1. Temps moyen à 50 % de germination (T50)

Dans le groupe des graines de la variété Aguadulce non inoculées (fig.36), il a été observé que le traitement au cuivre a progressivement diminué le temps moyen de 50 % de germination (T50), mais pour la variété locale, le T50 a montré une légère diminution. Alors que le T50 des graines de la variété Aguadulce inoculées par OB14 et OA47 a proportionnellement augmenté en fonction des concentrations du cuivre, jusqu'au traitement 5mM. Alors que, le T50 des graines de la variété locale inoculée avec OB14 et OA47 a augmenté sous traitements de cuivre. L'inoculation par OB14 et OA47 a clairement réduit le T50 des graines d'Aduadulce sous les traitements 0, 2.5 et 5mM, alors que sous 10 mM les isolats OB14 et OA47 ont augmenté le T50. Les isolats OB14 et OA47 ont également augmenté le T50 des graines de la variété locale en présence ou en absence du cuivre sauf pour les graines inoculées par OA47 et les non traités au cuivre où le T50 a été diminué.

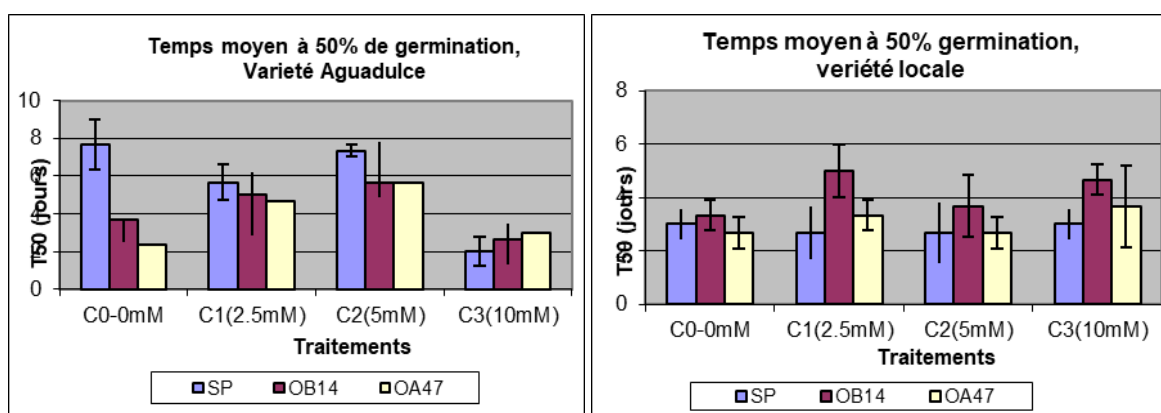


Figure 38: Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le temps de germination T50.

1.1.2. Pourcentage de germination :

La Figure 37 montre que les traitements par 2.5 et 5 mM de cuivre ont augmenté le pourcentage de germination des graines non inoculées et inoculées par OA47 chez la variété locale. Alors que le traitement par 10 mM a provoqué une diminution en PG et que le PG des graines inoculées par OB14 a diminué en présence de cuivre. Il a été constaté aussi que chez la variété Aguadulce les traitements au cuivre ont diminué le PG des graines inoculées et non inoculées sauf par l'isolat OB14. L'inoculation par l'isolat OA47 et OB14 ont augmenté le PG des graines de la variété locale pendant que l'isolat OA47 a provoqué une diminution en PG sous tous les traitements au cuivre sauf le traitement 10mM où le PG a augmenté par rapport à celui des graines non inoculées.

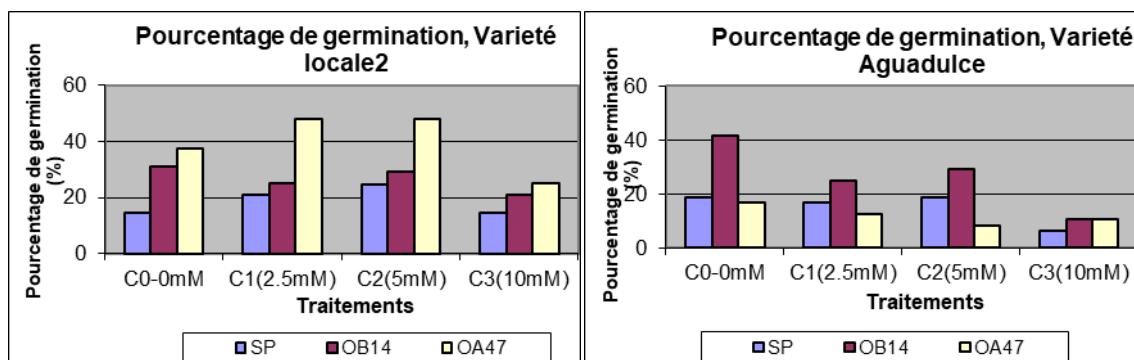


Figure 39 : Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le pourcentage de germination TG.

. En comparant entre les deux variétés de fève examinées, il apparaît que les graines de la variété locale ont montré une augmentation de PG sous tous les traitements en cuivre inoculés ou non inoculés sauf dans le cas du traitement 0 mM. Pour les graines de la variété Aguadulce seul le traitement par OB14 a augmenté le PG des graines.

1.1.3. Longueur de la radicule (LR)

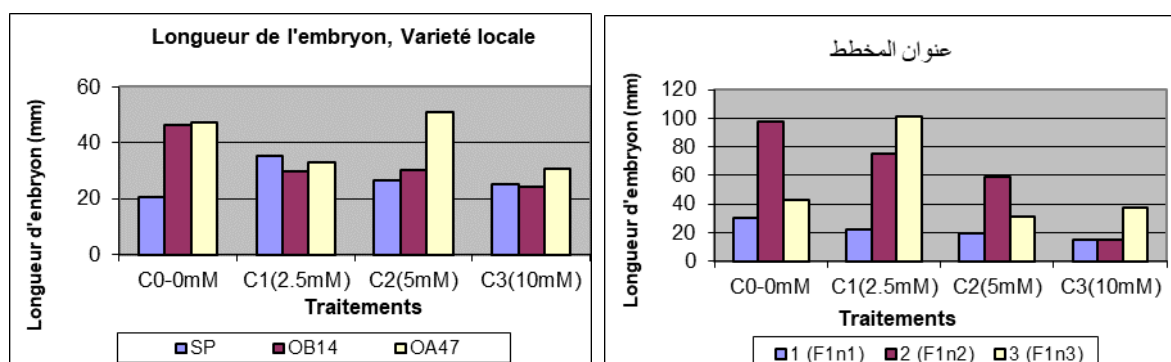


Figure 40: Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur la longueur d'embryon LE.

Les résultats de la variété locale (fig.38) montrent que les traitements au cuivre ont relativement augmenté la longueur de radicule (LR) des graines non inoculées avec une élévation optimale de radicule des graines traitées par 2.5 mM de cuivre. La longueur de radicule des graines inoculées a diminué sous l'effet des traitements au cuivre, sauf celles inoculées par l'isolat OA47 et traitées par 5 mM du cuivre ont montré une augmentation de LR. L'inoculation par l'isolat OA47 a augmenté la LR des graines en absence et en présence de cuivre sauf les graines traitées par 2.5 mM du cuivre qui a montré une diminution en LR, alors que l'isolat OB14 a provoqué une augmentation de LR des graines traitées avec une concentration nulle et 5 mM du cuivre, et une diminution en LR des graines traitées par 2.5 et 10 mM.

Pour la variété Aguadulce, les traitements au cuivre ont diminué la longueur de radicule des graines non inoculées et celles inoculées par OB14. Les graines inoculées par OA47 ont également montré une diminution sous les traitements au cuivre sauf le traitement à 2.5 mM où la LR a enregistré une valeur maximale. Les isolats OB14 et OA47 ont induit une augmentation en LR des graines traitées et non traitées au cuivre sauf celles inoculées par OB14 et traitées par 10 mM du cuivre.

La comparaison des valeurs de la longueur de radicule des graines chez les deux variétés, a permis de constater que l'inoculation par OA47 et OB14 sans traitement au cuivre a augmenté cette longueur chez la variété Aguadulce. Alors chez la variété locale, les graines non inoculées et traitées au cuivre ont montré une élévation d'embryon plus importante. L'interaction de l'inoculation des bactéries et le cuivre a affecté la longueur de radicule uniquement chez la variété Aguadulce par rapport à la variété locale sauf dans le cas des graines inoculées par OA47 sous 5 mM de cuivre, ainsi que les graines inoculées par OB14 et traitées avec 10 mM de cuivre.

1.1.4. Rendement de germination :

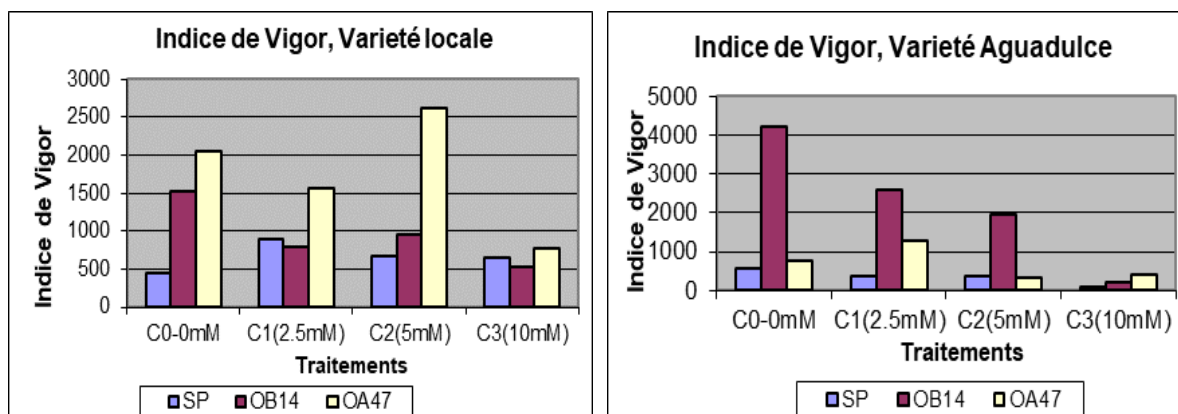


Figure 41 : Effet d'inoculation bactérienne et de cuivre sur le rendement de germination (Indice de Vigor).

Les résultats montrés dans la **Figure39**, indique que pour la variété locale, les traitements au cuivre ont augmenté l'indice de Vigor chez les graines non inoculées avec une valeur optimale sous le traitement 2.5 mM de cuivre. Cet indice a été diminué sous l'effet du cuivre chez les graines inoculées par OA47 et OB14 et a augmenté avec celle inoculées par OA47 sous le traitement 5 mM de cuivre. L'inoculation par OA47 et OB14 a provoqué une augmentation de IV des graines en absence et en présence de cuivre sauf celles inoculées par OA47 et traitées par 2.5 et 10 mM de cuivre qui ont montré une légère diminution.

Les graines de la variété Aguadulce ont montré une diminution de l'indice de Vigor sous l'effet du cuivre chez les graines non inoculées. L'IV des graines a augmenté seulement par l'isolat OA47 dans 2.5 mM de cuivre. L'inoculation par OA47 et OB14 ont provoqué une augmentation en IV des graines traitées et non par le cuivre.

Les graines de la variété locale non inoculées et celles inoculées par OA47 en présence et en absence de cuivre ont montré des valeurs d'IV plus importantes que celles de la variété Aguadulce. Par contre, les graines de la variété Aguadulce inoculées par OB14 ont montré des valeurs d'IV plus importantes comparativement avec celles de la variété locale.

1.1.5. Vitesse de germination :

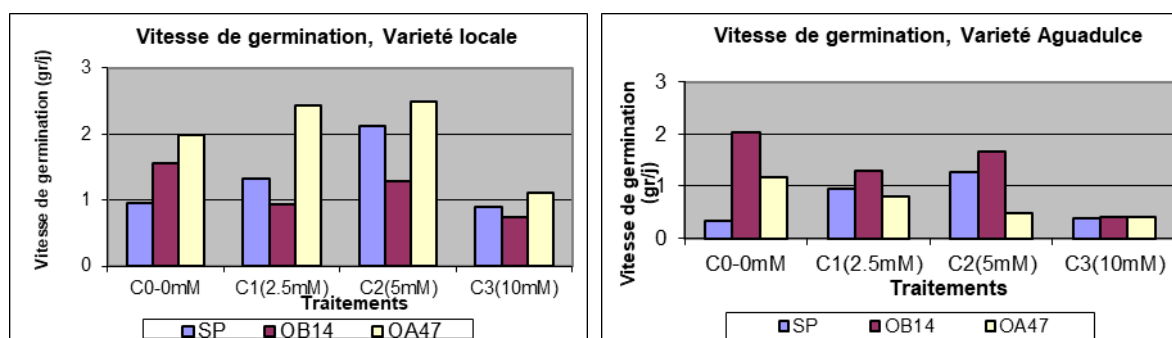


Figure 42: Effet d'inoculation et du cuivre sur la vitesse de germination

La Figure 40 présente les résultats de la vitesse de germination (VG) qui exprime le nombre moyen des graines germées par jour. La vitesse de germination des graines de la variété locale non inoculées et celles inoculées par OA47 a augmenté sous l'effet de traitement par 2.5 et 5 mM du cuivre, Alors que les traitements au cuivre ont diminué la VG des graines inoculées par OB14. L'inoculation par OA47 a augmenté la VG des graines de la variété locale en présence et en absence de cuivre. Alors que l'isolat OB14 a augmenté la VG sauf en absence de cuivre

La VG des graines de la variété Aguadulce non inoculées a été augmenté par les traitements du cuivre avec une valeur maximale dans la concentration 5 mM, Alors que pour les graines inoculées, les concentrations de cuivre ont diminué la VG, et d'une manière inversement proportionnelle avec l'inoculation de OA47. L'inoculation de OB14 a augmenté la VG des graines alors que l'isolat OA47 a augmenté VG des graines non traitées au cuivre et a diminué celles traitées avec 2.5 et 5 mM.

En comparant les deux variétés, il a été constaté que la VG des graines de la variété locale non inoculées et celles inoculées par OA47 a augmenté en présence et en absence de cuivre. L'isolat OB14 a augmenté la VG chez la variété Aguadulce sous tous les traitements au cuivre sauf à 10 mM où la VG a diminué.

1.2. Discussion :

Les résultats de la présente étude, montrent une grande variation entre les réponses des deux variétés étudiées, ce qui peut impliquer l'effet de leur variation génétique sur la tolérance au stress abiotique et l'interaction avec les bactéries d'inoculation. Senberga., (2018) a aussi rapporté cette variabilité en pourcentage de germination de différents cultivars de *Vicia faba*.

Les résultats de la présente étude révèlent l'effet des hautes doses du cuivre sur la germination. Houshmandfar et Moraghebi, (2011) ont montré que les hautes doses de cuivre retardent proportionnellement la germination, la vitesse et le temps de germination. Siqueira *et al.*, (2020) et Yang *et al.* (2011) ont constaté que le temps de germination influençait l'activité de la DAO, une enzyme impliquée dans la dégradation des polyamines, et la teneur en GABA, un acide aminé non protéique.

Nous avons également observé un effet d'inoculation sur la prolongation du temps de germination, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par Paredes-Páliz *et al.* (2016) qui ont constaté que l'inoculation avec des isolats bactériens sélectionnés de la rhizosphère de *S. densiflora* pouvait

prolonger la période de germination. Dans cette étude, l'application de concentrations faibles a augmenté à la fois le pourcentage de germination et la croissance de l'embryon. Cependant, avec l'augmentation de la concentration, une inhibition partielle de la germination et de la croissance a été observée. Les graines traitées avec de faibles concentrations de cuivre ont montré un pourcentage de germination plus élevé, tandis que dans les doses moyennes, ce pourcentage a diminué, pour ensuite augmenter à nouveau dans les concentrations les plus élevées (Muccifora et Bellani, 2013). Sullivan *et al.*, (2022) ont prouvé l'effet bénéfique de certaines faibles concentrations de cuivre sur l'amélioration de taux de germination des graines de *Heterozestera nigricaulis*. L'exposition au stress des métaux lourds a été associée à une baisse du taux de germination et de la mobilisation de la biomasse. Sfaxi-Bousbih *et al.* (2010) ont constaté que le traitement au cuivre a entraîné une inhibition de 37 % du taux de germination des graines de haricots. La germination des graines, particulièrement sensibles à leur environnement, est régulée par des modifications de l'état redox cellulaire. L'ajout de métaux aggrave ce microenvironnement, entraînant la dégradation des protéines et, par conséquent, une germination réduite, comme le soulignent (El-Maarouf-Bouteau et Bailly, 2008). Le cuivre, l'un des métaux les plus toxiques, est connu pour induire des changements néfastes dans les cellules végétales (Janas *et al.*, 2010), provoquant ainsi un stress oxydatif au niveau des tissus (Monferrán *et al.*, 2009; Sharma et Dietz, 2008). Dans cette étude, les résultats concernant la variété locale sans inoculation révèlent une diminution du pourcentage de germination des graines. Ce résultat est en accord avec ceux de Singh *et al.* (2007), qui ont également observé une réduction du pourcentage de germination sous l'effet du stress cuprique. L'effet de cuivre se varie avec la concentration, le pourcentage de germination a été diminué avec les basses concentrations puis augmenté par les moyenne concentration, alors que les concentration excessives ont affecté négativement la germination ainsi que l'élongation de germe des plantules (Siqueira *et al.*, 2020). Une étude antérieure a démontré que le traitement au cuivre retarde la germination des graines de haricot et la croissance des embryons en perturbant la libération d'azote des protéines cotylédonaire (Karmous *et al.*, 2014). De même, Khan *et al.* (2019) ont observé une réduction progressive du pourcentage de germination et de la longueur des embryons avec l'augmentation des concentrations de cuivre. Par exemple, une dose de 10000 mg/kg de cuivre a réduit le pourcentage de germination de *Schinus terebinthifolius*, (Siqueira *et al.*, 2020). Cette diminution peut s'expliquer par l'accumulation accrue de métaux lourds (Bezini *et al.*, 2019), entraînant une diminution de l'absorption d'eau par la graine et des modifications dans la mobilisation des réserves dans l'embryon (Caroli *et al.*, 2020). Il a été observé que le pourcentage de graines germées diminue avec les concentrations plus élevées de cuivre (Siqueira *et al.*, 2020). Bien que les graines d'Aguadulce aient montré une certaine tolérance au cuivre, cette variété peut être néanmoins affectée négativement dans ces conditions. Cependant, les concentrations élevées de cuivre n'ont pas influencé les paramètres étudiés, ce qui suggère une certaine tolérance à des concentrations élevées (CETESB, 2016). La réduction de la germination des graines causée par un excès de métaux lourds pourrait être attribuée à une diminution de l'absorption d'eau par les graines, en raison de la toxicité et des effets osmotiques de la solution (Bezini *et al.*, 2019), à des interférences dans la perméabilité de la membrane cellulaire (Caroli *et al.*, 2020) et à des changements dans la mobilisation des réserves dans l'embryon, tels que la diminution de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon, affectant l'apport de sucre à l'embryon en développement (Karmous *et al.*, 2015). La toxicité due au cuivre inhibe l'activité des isoenzymes alpha-amylase et invertase, responsables de la dégradation de l'amidon et du saccharose dans les tissus de réserve, réduisant ainsi la disponibilité des nutriments pour les graines pendant la

germination (Mittal *et al.*, 2015). Le stress causé par un excès de cuivre réduit les activités protéolytiques dans les cotylédons, altérant la mobilisation des nutriments et empêchant ainsi la formation des plantules (Karmous *et al.*, 2012). L'absorption du cuivre se produit via le système racinaire en raison de son affinité avec les parois cellulaires des racines, et l'excès inhibe la transcription des gènes liés à la division cellulaire avec des effets néfastes sur le système racinaire (Ambrosini *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2017). De plus, à des concentrations élevées, le cuivre peut être toxique pour les plantules, induisant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), principalement le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), pouvant causer des dommages oxydatifs aux cellules végétales (M. H. Saleem, Fahad, Khan, Din, Ullah, Sabagh, & Liu, 2020).

L'effet bénéfique de l'inoculation avec OB14 a été observé chez la variété Aguadulce, augmentant de manière significative le pourcentage de germination, que ce soit en présence ou en absence de cuivre. Cependant, pour la variété locale, cet effet n'a été remarqué que pour les graines traitées avec de faibles doses de cuivre. Cette différence peut être attribuée à une altération de la fonction enzymatique dans les cellules racinaires. La toxicité des métaux peut être atténuée par les plantes grâce à l'introduction de bactéries résistantes aux métaux lourds (PGPR). L'inoculation conjointe avec ces bactéries PGPR a été associée à une amélioration de la biomasse des plantes (Y. Wang *et al.*, 2023). De plus, l'inoculation avec des isolats bactériens appropriés de la rhizosphère de *S. densiflora* a été suggérée comme une approche pour améliorer le taux de germination (Paredes-Páliz *et al.*, 2016).

La diminution de la croissance des racines et des tiges observée chez les graines de la variété locale traitées avec des concentrations élevées de cuivre en l'absence d'inoculation bactérienne est similaire aux résultats trouvés par (Nanda et Agrawal, 2016), qui ont montré une réduction significative de divers facteurs de croissance, tels que la germination, la longueur des racines et des cotylédons, en réponse au stress causé par le cuivre et le zinc. Les résultats sur la croissance des racines et des tiges indiquent que le cuivre à faible concentration favorise l'élongation des racines et des tiges avant de devenir nuisible au développement embryonnaire. Les différences observées dans les valeurs de la longueur des racines suggèrent une plus grande résistance au cuivre chez les plantes inoculées, tant aux concentrations faibles que élevées, car les fonctions biologiques des racines ont changé progressivement sous l'influence des ions de cuivre (Sfahi-Bousbih *et al.*, 2010).

En outre, l'inoculation avec OB14 a significativement augmenté la croissance des racines et des tiges en présence ou en absence de cuivre. De même, l'inoculation conjointe avec des bactéries PGPR a été associée à une amélioration de la biomasse des plantes (Fatnassi *et al.*, 2015). L'inoculation bactérienne peut potentiellement atténuer les effets négatifs du stress du cuivre sur la germination des graines, ce qui peut se traduire par un temps de germination plus court pour les graines de *Vicia faba* (Fernández-Aparicio *et al.*, 2014). Une étude a démontré que l'inoculation bactérienne améliorait la croissance et les paramètres physiologiques des plantes de fèves, ce qui pourrait potentiellement influencer le taux de germination des graines (Elbagory *et al.*, 2022). Une autre étude a révélé que le stress au cuivre avait un impact négatif sur la croissance de *Vicia faba*, mais la double inoculation avec les souches de *Rhizobium* et de PGPR a atténué les effets négatifs et amélioré la croissance ainsi que le statut antioxydant des plantes (Fatnassi *et al.*, 2013).

1.3. Conclusion

Les bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) ont été étudiées pour leur capacité à atténuer la toxicité des métaux lourds dans les plantes et dans des environnements pollués. Dans cette étude, nous avons évalué les effets de l'inoculation avec des souches PGPR sur la germination des graines de deux variétés de *Vicia faba*, Aguadulce et locale, soumises au stress du cuivre.

Nos résultats montrent que les traitements au cuivre appliqués ont eu des effets différents sur la germination et la croissance de l'embryon entre les deux variétés. Nous avons observé une certaine résistance au cuivre à faible concentration chez la variété Aguadulce par rapport à la variété locale, où des concentrations élevées de cuivre ont inhibé et retardé partiellement la germination. L'effet de l'inoculation avec deux isolats de *Pseudomonas* sur le pourcentage, le temps et la croissance de l'embryon a été relativement positif. L'isolat OB14 a montré un effet significatif sur le pourcentage de germination et la croissance de l'embryon des graines de la variété locale. Cependant, la présence d'une inoculation bactérienne a parfois renforcé l'effet positif du cuivre.

Nous pouvons également conclure qu'un traitement avec une faible teneur en cuivre interfère significativement avec la germination et le développement de *Vicia faba*, avant d'atteindre des niveaux toxiques. Ces résultats suggèrent la nécessité d'approfondir notre compréhension des mécanismes sous-jacents des effets du cuivre et de l'inoculation bactérienne, ce qui pourrait ouvrir la voie à de nouvelles stratégies pour atténuer les effets néfastes des métaux lourds sur les plantes.

2. Effet de salinité et d'inoculation bactérienne sur la germination des graines de la fève *Vicia faba*

2.1. Résultats

2.1.1. Identification et Caractérisation des souches d'inoculum.

Tableau 8:Caractéristiques des souches

Isolat	Efficacité de la solubilisa	Concentration de Phosphore (µg/ml)	AIA (µg/ml)	Sidérophores	Identification
PSB3	234,50±11,01	605,34±15,91	20,05±2,83	+++	<i>P.luteola</i>
PSB16	246,00± 9,11	553,62±24,17	12,62±3,16	+	<i>P.luteola</i>
PSB58	188,32 ±11,08	398,00±11,76	13,60±3,67	+	<i>P.luteola</i>
PSB66	217,48±12,14	502,25±14,83	15,49±3,05	++	<i>P.fluorescens</i>
SHA21	239,67±3,06	672,33±7,37	6,69±1,04	+++	<i>P.fluorescens</i>

Valeurs : moyenne ± écart type, **abc...** : groupes homogènes indiquant des valeurs statistiquement différentes selon le Newman-Keuls à $P \leq 0,05$, **SDR** : sidérophores, - : négatif, +: positif, ++ : moyennement positive, +++ : fortement positif.

2.1.2. Sélection des souches pour l'inoculation.

Tableau 9 : Croissance des isolats de *Pseudomonas* dans des concentrations de NaCl.

Bacterial strains	0 mM		100 mM		200 mM	
P1	1.363*	± 0.2	1.311	± 0.067	1.26	± 0.08
P2	1.505	± 0.07	1.64	± 0.347	1.52	± 0.147
P3	1.926	± 0.067	1.883	± 0.082	1.24	± 0.073
P4	1.343	± 0.093	1.495	± 0.127	1.22	± 0.067
P5	1.086	± 0.115	1.246	± 0.097	1.07	± 0.13

Les souches : P1 : SHA21 ; P2 :PSB3 ; P3 :PSB58 ; P4 :PSB16 ; P5 :PSB66

*= Absorbance de la suspension bactérienne

Les valeurs d'absorbance des cultures de test de résistance à la salinité présentés au tableau 09 montrent que les souches P1, P2 et P3 sont respectivement les plus résistantes à la salinité.

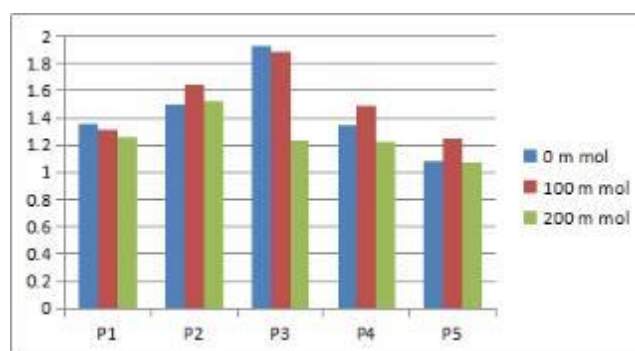


Figure 43 : Absorbances de culture de test de résistance à la salinité des souches : P1 : SHA21 ; P2 :PSB3 ; P3 :PSB58 ; P4 :PSB16 ; P5 :PSB66.

2.1.3. Effet combiné de la salinité et de l'inoculation sur la germination des graines de la fève.

2.1.3.1. Taux de germination (TG) :

a. Variété Aguadulce :

D'après les résultats obtenus (fig 42), on a constaté que les traitements salins 100 et 200 mM ont inversement proportionnelle affecté la diminution de taux de germination des graines non inoculées de la fève, alors que dans les graines inoculées avec P1, P2 et P3, la salinité a provoqué une variation non régulière dans les valeurs de TG.

La comparaison des valeurs de TG des graines inoculées avec les souches P1, P2 et P3 avec celles des graines non inoculées, permet de constater une augmentation de TG pour tous les traitements salins et non salin (0 mM), les valeurs de TG ont atteint leurs maximums en présence de l'inocula P1.

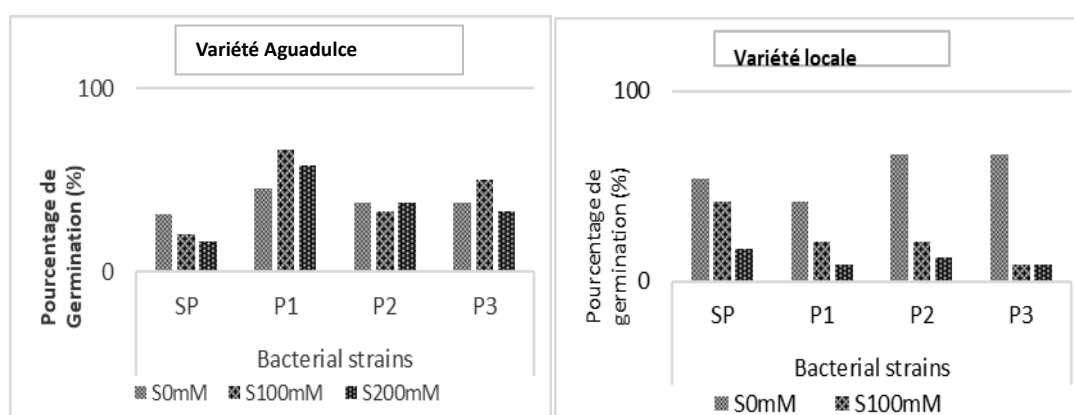


Figure 44: Effet combiné de salinité et d'inoculation sur le taux de germination de deux variétés de *Vicia faba*, variété locale et Aguadulce.

b. Variété locale

Les résultats obtenus indiquent une relation inverse entre la salinité et le taux de germination des graines inoculées avec les souches P1, P2 et P3, ainsi que des graines de fève non inoculées.

De plus, les souches P1, P2 et P3 ont entraîné une diminution du taux de germination à tous les niveaux de salinité, à l'exception du traitement non salin où les souches P1 et P2 ont montré une augmentation du taux de germination par rapport aux graines non inoculées.

2.1.3.2. Vitesse de germination (VG) :

a. Variété Aguadulce :

Les résultats obtenus, (fig 43) révèlent que la salinité a eu un effet inversement proportionnel sur la vitesse de germination des graines non inoculées de la fève. De plus, la salinité a entraîné une diminution de la VG des graines inoculées avec P2. En revanche, les traitements salins ont proportionnellement augmenté la VG des graines inoculées avec P1 et P3.

En outre, par rapport aux graines non inoculées, l'inoculation avec P1, P2 et P3 a entraîné une augmentation de la VG des graines pour tous les traitements salins, à l'exception des graines inoculées par P2 et traitées avec 0 mM de salinité.

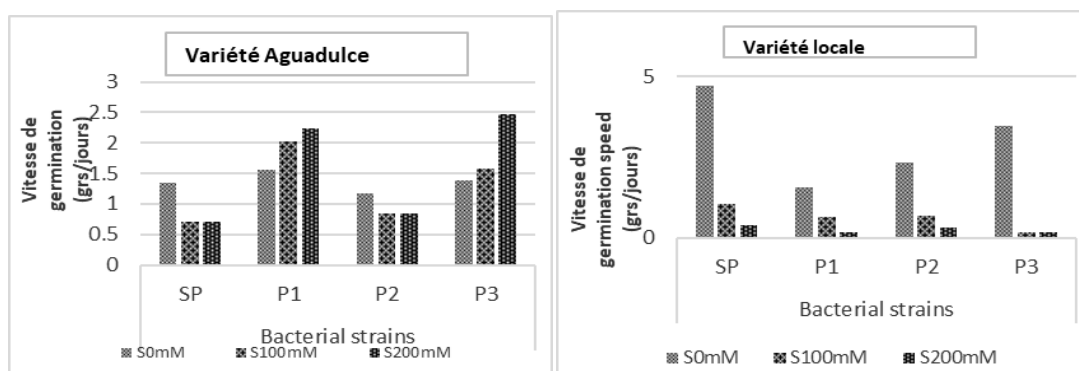


Figure 45: Effet combiné de salinité et d'inoculation sur la vitesse de germination de deux variétés de *Vicia faba*, variété locale et Aguadulce.

b. Variété locale

D'après les résultats obtenus, (fig 43) le stress salin a provoqué un effet significatif sur la vitesse de germination des graines inoculées avec P1, P2 et P3 et non inoculées de la fève. En regardant les valeurs de VG des graines non inoculées, on observe que l'inoculation avec les souches P1, P2 et P3 a significativement réduit la VG à tous les niveaux de salinité.

2.1.3.3. Temps moyen de germination (T50) :

a. Variété Aguadulce

Les traitements salins, (fig 44) ont entraîné une augmentation des valeurs du temps moyen de germination (T50) pour les graines inoculées et non inoculées.

La comparaison des graines non inoculées et inoculées avec P1, P2 et P3 a permis de constater une augmentation du temps moyen T50 pour tous les traitements salins, à l'exception de la concentration de 100 mM en présence des souches P2 et P3.

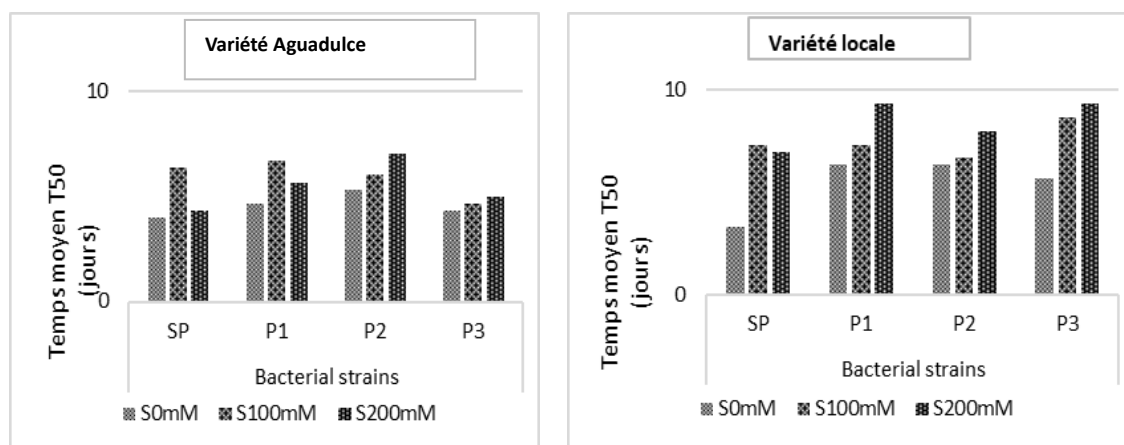


Figure 47: Effet combiné de salinité et d'inoculation sur le temps moyen de 50% de germination de deux variétés de *Vicia faba*, variété locale et Aguadulce.

b. Variété locale

Les résultats indiquent que la salinité a eu un effet proportionnel sur le temps moyen de germination (T50) des graines, que se soient inoculées avec les souches P1, P2 et P3 ou non.

L'inoculation avec les souches P1, P2 et P3 a augmenté la T50 pour tous les traitements salins, à l'exception du traitement à 100 mM en présence de la souche P2.

2.1.3.4. Efficacité du Rendement

Les Figures 44, 45 et 46 présentent des résultats de tous les types de traitement comparés avec le contrôle (0 mM de NaCl et sans inoculation). Ces résultats ont montré que les deux variétés de *Vicia faba* ont réagi différemment à la salinité et à l'inoculation bactérienne. Les graines de la variété Aguadulce ont montré une tolérance plus élevée à l'effet de la salinité sur le taux de germination (Figure 7) par rapport à la variété locale, et surtout en présence d'une inoculation bactérienne. Les résultats de l'effet d'interaction de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la germination des graines ont montré une diminution du taux de germination chez les graines de la variété locale. Cependant, ce taux a augmenté chez les graines de la variété Aguadulce.

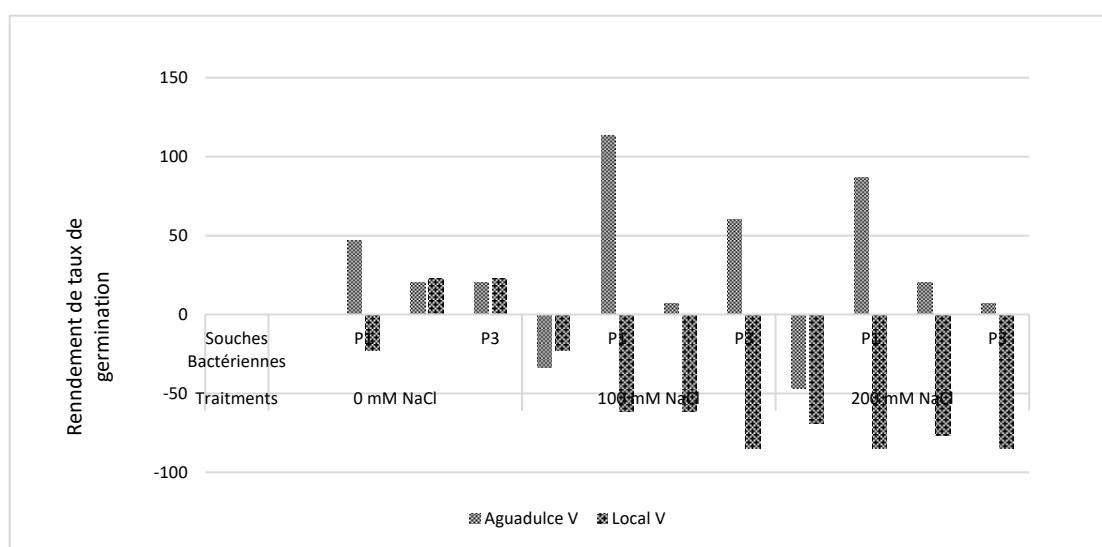


Figure 46 : Efficacité du taux de germination des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.

La Figure 48 a montré une diminution de l'efficacité de la vitesse de germination de toutes les graines de la variété locale traitées. Cependant, les graines de la variété Aguadulce inoculées avec les souches P1 et P3 ont montré une amélioration de la vitesse de germination, notamment sous traitement salin.

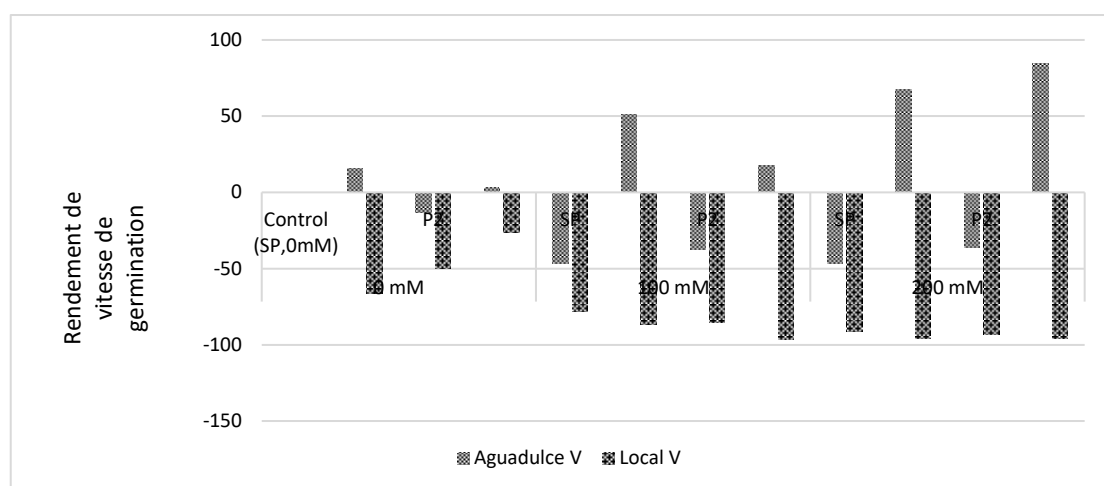


Figure 47 : Efficacité de la vitesse de germination des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.

Tableau 10: Synthèse des résultats de germination de la fève (V. Aguadulce) sous stress salin.

Inoculation bactérienne	Traitements à N	T50	Vitesse de Germination	Taux de Germination
SP	0 mM	± 1	1.339 ± 0.167	3 ± 6.25
	100 mM	6 ± 2.52	0.713 ± 0.515	20 ± 7.217
	200 mM	3 ± 1.16	0.711 ± 0.077	16 ± 7.217
P1	0 mM	4.667 ± 1.16	1.551 ± 0.699	45.833 ± 19.094
	100 mM	6.667 ± 0.58	2.024 ± 0.667	66.667 ± 19.094
	200 mM	5.667 ± 1.16	2.241 ± 0.553	58.333 ± 7.217
P2	0 mM	5.333 ± 1.53	1.165 ± 0.663	37.5 ± 21.651
	100 mM	6 ± 1.73	0.839 ± 0.146	33.333 ± 9.547
	200 mM	7 ± 0	0.851 ± 0.277	37.5 ± 12.5
P3	0 mM	4.333 ± 1.53	1.379 ± 0.367	37.5 ± 12.5
	100 mM	4.667 ± 2.08	1.571 ± 0.635	50 ± 12.5
	200 mM	5 ± 4	2.469 ± 1.067	33.333 ± 7.217

Les traitements salins et l'inoculation bactérienne ont clairement affecté le temps moyen de germination T50 des deux variétés, tandis que la germination des graines de la variété locale était la plus retardée à tous les niveaux de traitement.

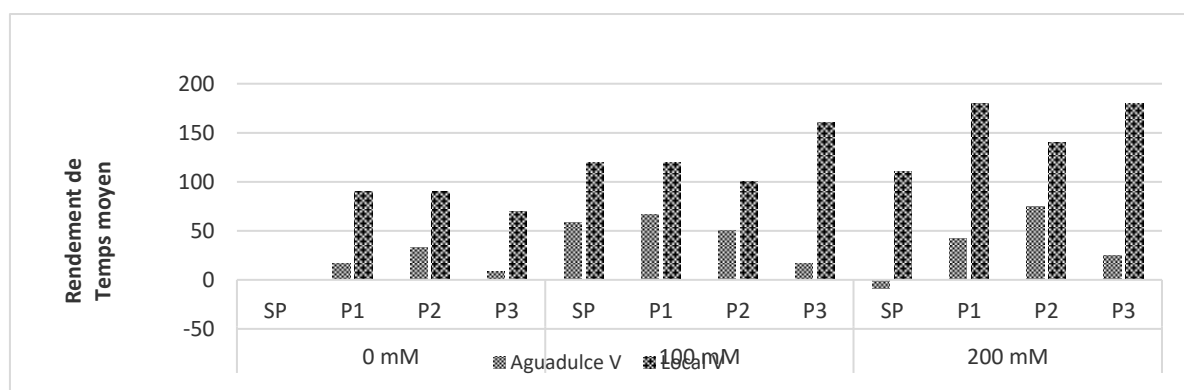


Figure 48: Efficacité du temps de germination (T50) des graines de deux variétés sous inoculation bactérienne et traitements salins.

Tableau 11 : Synthèse des résultats de germination de la fève (V. locale) sous stress salin.

Inoculation bactérienne	Traitements NaCl	T50	Vitesse de Germination	Taux de Germination
SP	0 mM	3.33 ± 2.3	4.72 ± 1.91	54.16 ± 7.217
	100 mM	7.33 ± 1.1	1.04 ± 0.25	41.66 ± 7.217
	200 mM	7.00 ± 1.0	0.40 ± 0.23	16.66 ± 7.217
P1	0 mM	6.33 ± 3.2	1.58 ± 0.70	41.66 ± 14.434
	100 mM	7.33 ± 3.0	0.63 ± 0.59	20.83 ± 19.09
	200 mM	9.33 ± 1.1	0.19 ± 0.33	8.333 ± 14.434
P2	0 mM	6.33 ± 2.0	2.35 ± 0.38	66.66 ± 19.09
	100 mM	6.66 ± 2.8	0.70 ± 0.65	20.83 ± 19.09
	200 mM	8.00 ± 2.0	0.32 ± 0.37	12.5 ± 12.5
P3	0 mM	5.66 ± 1.1	3.48 ± 0.82	66.66 ± 19.09
	100 mM	8.66 ± 1.1	0.16 ± 0.14	8.333 ± 7.217
	200 mM	9.33 ± 1.1	0.19 ± 0.33	8.333 ± 14.434

2.2. Discussion

Les résultats de la germination montrent que le stress salin a affecté négativement le pourcentage de germination, le temps moyen de 50 % de germination et la vitesse de germination des deux variétés, confirmant ainsi que la salinité a un effet inhibiteur sur la germination. Certaines études ont montré que les concentrations élevées de sel retardent la germination des graines (Askri *et al.*, 2007; çamlica et Yaldiz, 2017; Karim *et al.*, 1992; Mondal *et al.*, 1988; Papastylianou *et al.*, 2018) et réduisent le pourcentage final de germination (Bouda *et al.*, 2001; Othman *et al.*, 2006). Cette diminution est attribuable à la réduction de l'utilisation des réserves des graines (Norlyn, 1980). Thiam *et al.* (2013) ont signalé que la salinité affecte de manière significative la réduction de la

germination des graines de différentes variétés de niébé (*Vigna unguiculata*). De plus, les concentrations élevées de sel peuvent induire de manière significative l'inhibition de la germination des graines de cumin noir (Ahmadian *et al.*, 2015; Faravani *et al.*, 2013; Javadi *et al.*, 2014). Pujol *et al.* (2000) ont observé que la salinité peut simultanément réduire le pourcentage de graines germées et retarder le début du processus de germination. Elle peut également induire une inhibition totale de ce processus (Cokkizgin, 2012).

Dans cette étude, l'inoculation bactérienne avec P2 et P3 a augmenté le pourcentage de germination des graines des deux variétés dans des conditions non salines. Ces résultats sont similaires à d'autres études qui ont montré que le traitement des graines avec des isolats de PGPR sélectionnés améliorait les plantes de maïs en augmentant la germination des graines, la longueur des racines et des pousses (Noumavo *et al.*, 2013; Rudolph *et al.*, 2015). Cet effet positif du traitement PGPR est rapporté dans d'autres études sur les céréales telles que le blé (Shaukat *et al.*, 2006), le riz (Chithrashree *et al.*, 2011) et la cuscute (Sarić-Krsmanović *et al.*, 2017). Yao *et al.* (2010) ont rapporté l'effet positif de ce type de micro-organismes sur la germination. Cette amélioration du pourcentage de germination observée dans notre étude peut être due à une augmentation de la synthèse des hormones de gibbérellines, qui induit la stimulation de l'activité de plusieurs enzymes spécifiques de la germination telles que l' α -amylase, la protéase et la nucléase, qui sont impliquées dans l'hydrolyse et l'assimilation de l'amidon (Gholami *et al.*, 2009). La stimulation de la germination se fait par la sécrétion de l'AIA et la production de sidérophores (Zheng *et al.*, 2009). Mahadik et Kumudini (2020) ont rapporté l'avantage et l'efficacité de la combinaison de rhizobactéries sur la germination des graines de blé et ont obtenu les meilleurs pourcentages de germination. Ils ont également remarqué que l'inoculation avec PGPR réduisait le temps de germination des graines. Des résultats similaires ont été rapportés sur l'effet de PGPR sur les graines de lentilles (Gholami *et al.*, 2009). Les résultats de plusieurs autres recherches ont confirmé les effets bénéfiques de tous les PGPR sélectionnés sur la germination et la croissance du mungo vert (Joshi *et al.*, 2018; Parveen *et al.*, 2018; Shah *et al.*, 2018). Les résultats de (Kaymak *et al.*, 2009) ont montré que l'inoculation bactérienne de graines de radis imbibées sous traitement salin améliorait le taux et le pourcentage de germination, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans cette étude avec la variété Aguadulce.

Toutes les souches bactériennes inoculées dans cette étude ont augmenté le T50 dans les graines des deux variétés sous des traitements salins et non salins, confirmé par Requena *et al.* (1997) qui ont rapporté que les rhizobactéries retardent la germination d'*Anthyllis cytisoides*. Il a également été rapporté que le mécanisme bactérien contre d'autres micro-organismes peut inhiber ou retarder la germination des graines, ce qui pourrait expliquer l'effet positif de ces bactéries sur l'émergence des plantes dans un sol non stérilisé (Kloepper, 1992; Lemanceau, 1992).

Dans la présente étude, les graines de la variété locale inoculées avec P1 ont montré une diminution du pourcentage de germination. Ces résultats ont également été rapportés comme un effet inhibiteur de microorganismes bénéfiques sur la germination des graines. Rueda - Puente *et al.*, (2007) ont confirmé qu'entre les microorganismes bénéfiques, il y en a qui inhibe la germination. Les graines de maïs traitées avec l'isolat T22 ont montré une réduction significative de leur germination (Rudolph *et al.*, 2015). Il a également été constaté que *P. fluorescens* a parfois un effet délétère sur la germination des graines (Zdor et Anderson, 1992) et parfois un effet

bénéfique (Jaleel *et al.*, 2007). L'espèce (B 1) a provoqué une inhibition totale de la germination d'*Artemisiifolia* (Vrbničanin *et al.*, 2011). L'effet de *P.fluorescens* sur la germination de la luzerne dépend des conditions de culture et du développement bactérien (Carrillo-Castañeda *et al.*, 2002). Cet effet est peut-être dû aux phytohormones produites par les PGPR, et il dépend du type et de la concentration de l'hormone (Saharan et Nehra, 2011).

Dans notre étude, les deux variétés de *Vicia faba* ont montré une réponse différente à l'effet de la salinité sur le pourcentage et le temps de germination. Dans un rapport similaire, Jamil *et al.* (2005) ont noté que la salinité affecte différemment la capacité de germination des graines d'une culture à une autre, et même une variation significative est observée entre les différentes variétés de la même culture. Thiam *et al.* (2013) ont trouvé une variation significative de l'effet de la salinité sur les taux de germination finaux entre 15 variétés de niébé. Ils ont également distingué trois groupes de ces variétés avec des caractéristiques génétiques similaires selon le stress salin, groupe sensible, tolérant et intermédiaire.

Nos variétés de *Vicia faba* ont également montré des réponses différentes à l'effet des inoculations bactériennes sur le pourcentage et le temps de germination des graines. Ces résultats ont également été rapportés par Prathibha et Siddalingeshwara (2013), qui ont confirmé que chacun des *P.fluorescens* et *Bacillus subtilis* avait un effet différent sur le pourcentage de germination des graines entre deux variétés de sorgho.

2.3. Conclusion

Dans cette étude, nous avons constaté que la salinité affectait la réduction du pourcentage final de germination et le retard de la germination des graines de *Vicia faba* de deux variétés, l'Aguadulce et la variété locale. Il a également été constaté que cet effet se manifestait différemment d'une variété à l'autre. L'effet de l'inoculation bactérienne était également différent d'une souche à l'autre. L'amélioration de la germination des graines dans des conditions salines dépendait de la variété et de la souche bactérienne d'inoculation. Les résultats ont montré que la variété Aguadulce est la plus tolérante à la salinité et la plus interactive avec les souches bactériennes, ses graines inoculées ont montré une amélioration significative du pourcentage de germination, en particulier sous traitement salin. Cependant, l'amélioration de la germination des graines de la variété locale n'a été observée que dans les graines inoculées avec P2 et P3 sous traitement non salin. Toute inoculation bactérienne a retardé le temps de germination (T50), la souche la plus performante observée étant P1 lors de l'inoculation dans les graines d'Aguadulce.

III. Effet de l'inoculation par *Pseudomonas* sur la promotion de la croissance de *Vicia faba*, sous stress salin et au cuprique.

1. Effet de salinité et de cuivre sur les paramètres morphologiques de la fève inoculée par *Pseudomonas aeruginosa*.

1.1. Résultats.

1.1.1. Poids frais de la partie aérienne et racinaire.

Les résultats d'expérimentation de plantation des quatre variétés de la fève *Vicia faba* (fig.47,48), montrent que les traitements salins 150 mM et 300 mM de NaCl, ainsi que les traitements au cuivre 10 et 20mM de $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ont provoqué la réduction du poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire des plantes inoculées et non inoculées avec *Pseudomonas aeruginosa*, sauf la partie racinaire des plantes non inoculées et traitées avec la dose au cuivre C1 (10 mM), et la partie racinaire des plantes inoculées sous le traitement salin S1 (100mM) qui ont connu une augmentation par rapport au control. En comparaison avec les plantes non inoculées, l'inoculation bactérienne des plantes avec *Pseudomonas aeruginosa* a causé une augmentation du poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire des plantes inoculées des quatre variétés dans tous les niveaux des traitements, sauf les plantes de la variété locale2 traitées par la dose 20mM de CuSO_4 .

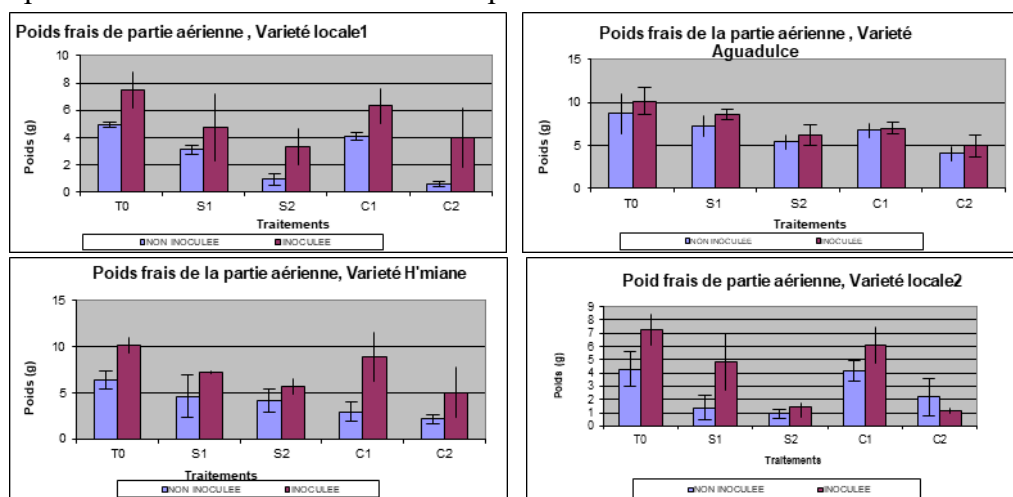


Figure 49: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula P.a. sur le Poids frais de la partie aérienne de la fève

La comparaison des résultats des poids frais de la partie aérienne et racinaire des quatre variétés, a permis de remarquer que les plantes de la variété Aguadulce ont montré une tolérance importante au traitement salin et au cuivre par rapport aux autres variétés (fig.47,48), alors que cette variété a montré la moindre interactivité avec l'inoculation bactérienne à *Pseudomonas aeruginosa*.

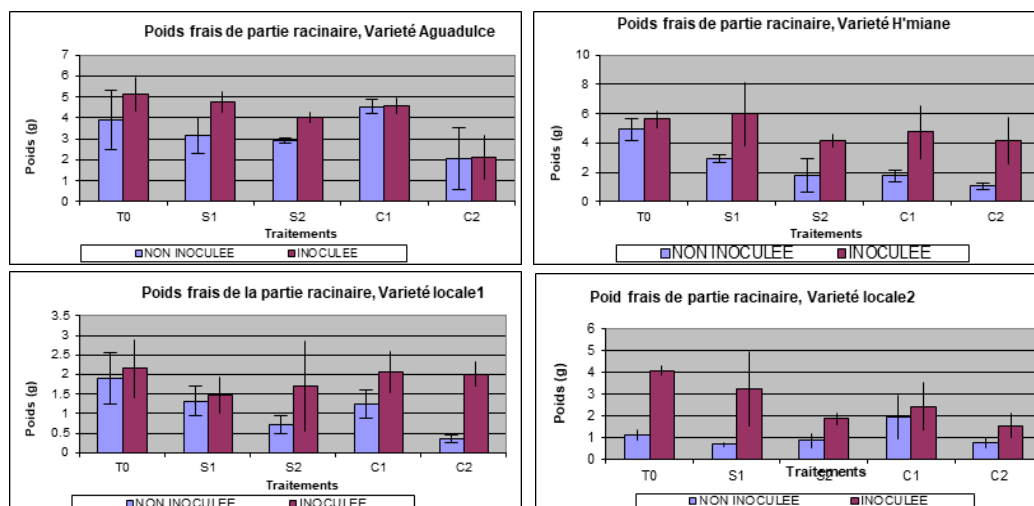


Figure 50: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P.a.* sur le Poids frais de la partie racinaire de la fève

1.1.2. Poids sec de la partie aérienne et racinaire

D'après les résultats de poids sec de la partie aérienne et racinaire des quatre variétés de la fève (fig.49 et 50), il a été constaté que les traitements salins et cupriques ont réduit le poids sec des plantes inoculées avec *Pa* et non inoculées d'une manière inversement proportionnelle, sauf le traitement au cuivre C1 sur la partie aérienne de la variété local1 inoculée, et le traitement C2 sur la partie aérienne de la variété local2 non inoculée. Ainsi que les traitements S1 et C2 sur la partie racinaire des plantes non inoculées de la variété Local1 et de la variété Local2 respectivement ont pas réduit le poids sec.

L'inoculation avec *Pa* a clairement provoqué l'augmentation du poids sec de deux parties aérienne et racinaire des quatre variétés sous tous les niveaux des traitements, que le traitement C2 chez la partie aérienne de la variété local2 et d'Agudulce a réduit le poids sec.

En comparant les taux d'abattement en biomasse des quatre variétés, on constate que la variété Agudulce est la plus résistante au traitement salin et au cuivre, alors la variété Hmiane est la plus interactive avec l'inoculation par *P.a.*

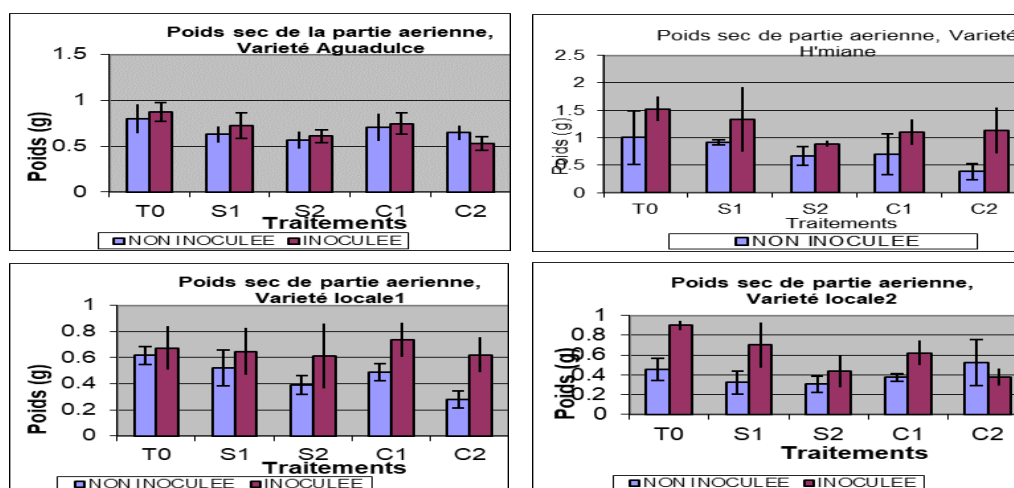


Figure 51: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P.a.* sur le Poids sec de la partie aérienne de la fève

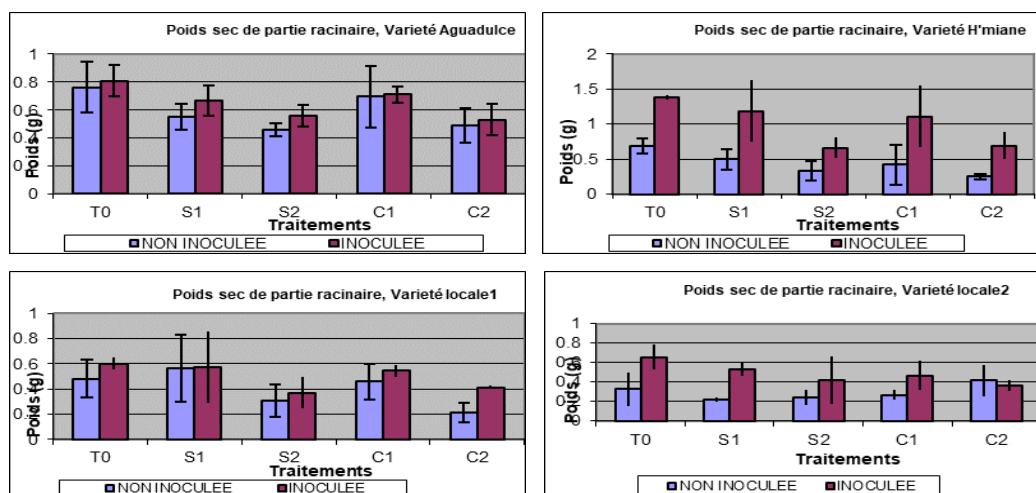


Figure 52: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P.a.* sur le poids sec de la partie racinaire de la fève

1.1.3.

1.1.4. Sur la longueur de la partie aérienne et racinaire.

Les valeurs de longueur des parties aériennes et racinaire de quatre variétés de la fève inoculé et non inoculé (fig.51 et 52) ont été déminuées par les traitements salin S1, S2 et au cuivre C1et C2, sauf celles de la partie aérienne de la variété local2 inoculée et traitée par 10 mM du cuivre (C1).

Une augmentation significative en longueur de la partie aérienne (fig.51) et racinaire (fig.52) des quatre variétés en présence d'inoculation avec *Pa* a été enregistrée avec tous les traitements à part C1 et C2 sur la partie aérienne de la variété local1 et local 2 respectivement.

La variété Hmiane a montré une interactivité importante avec la souche *Pa* par rapport les autres variétés en raison de taux d'augmentation chez les plantes inoculées. Tenant en compte du taux d'abatement induit par les traitements salins et au cuivre, la variété Aguadulce et locale2 présentent une résistance importante à l'effet de stress salin et au cuivre sur la longueur des tiges et des racines.

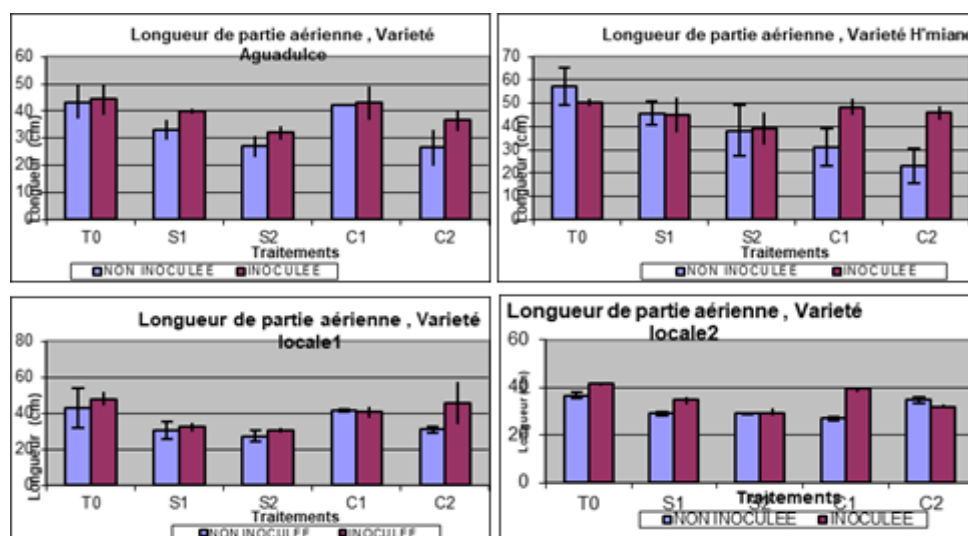


Figure 1: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P.a.* sur la longueur de la partie aérienne de la fève

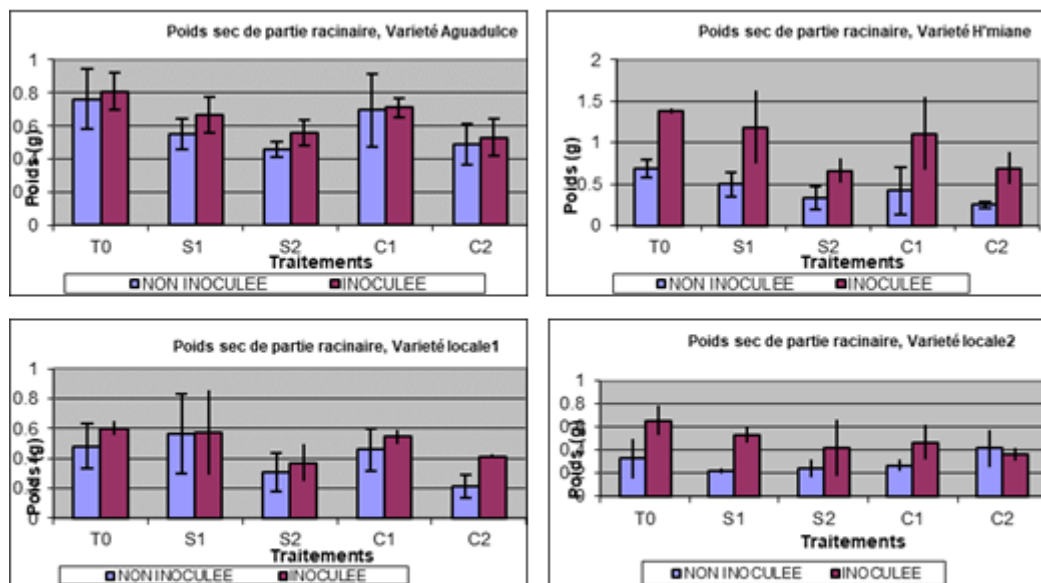


Figure 1: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P. a.* sur le poids sec de la partie racinaire de la fève

1.1.5. Sur le diamètre de tige :

Les valeurs des diamètres des tiges (fig.53) de la fève inoculé et non inoculé des variétés Aguadulce, locale1 et locales 2 ont été réduit par les traitements salins et au cuivre, sauf que le traitement salin S1 a augmenté le diamètre des tiges inoculées de la variété locale 1. Par contre, les diamètres des tiges de la variété Hmiane ont augmenté par les traitements salins et au cuivre. L'inoculation avec *Pa* a provoqué une augmentation en diamètre des tiges pour toutes les variétés et avec tous les traitements sauf C2 pour la variété Aguadulce et C1, C2 pour la variété locale2.

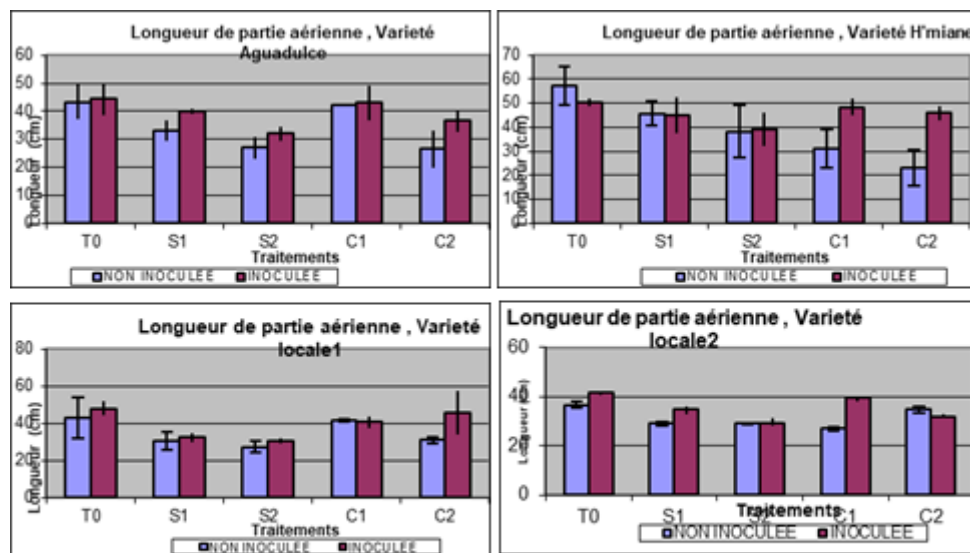


Figure 1: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inocula *P. a.* sur la longueur de la partie aeriene de la fève

1.1.6. Sur la teneur en eau dans la partie aérienne et racinaire :

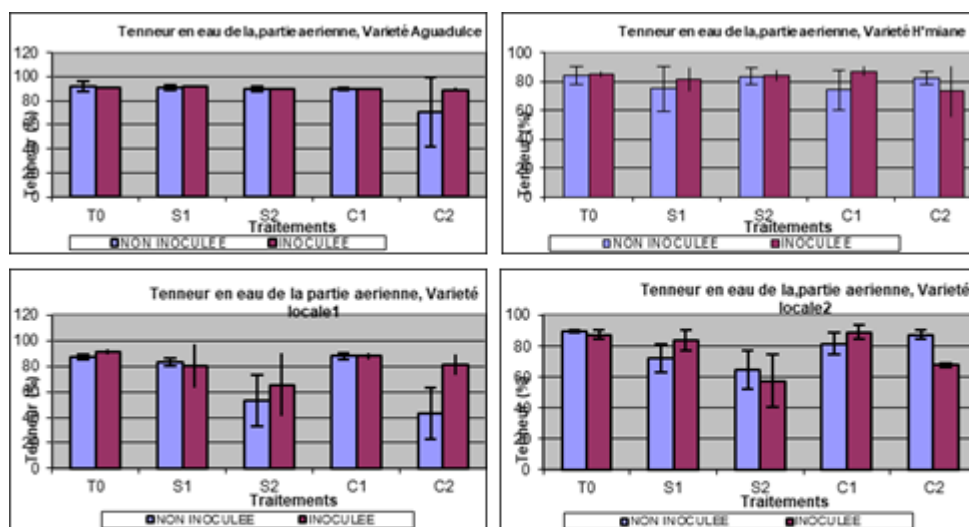


Figure 1: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inoculation *P.a.* sur la teneur en eau dans la partie aérienne de la fève

Les traitements salins et au cuivre ont légèrement causés une réduction de la teneur en eau dans la partie racinaire des trois variétés à part chez la variété locale 1 où cette diminution était importante. La teneur en eau dans la partie aérienne a clairement diminué sous les traitements ioniques surtout chez les variétés locale 1 et 2. La teneur en eau a été abaissée surtout par les hautes concentrations. L'inoculation bactérienne avec *Pa* a montré dans la majorité des cas un effet sur l'augmentation de la teneur en eau, avec un effet contraire chez la variété locale sous les hautes concentrations S2 et C2. Les deux variétés locales par rapport aux autres ont montré une sensibilité du paramètre de la teneur en eau face aux traitements cuprique et salin et à l'inoculation par la souche *P.a.*

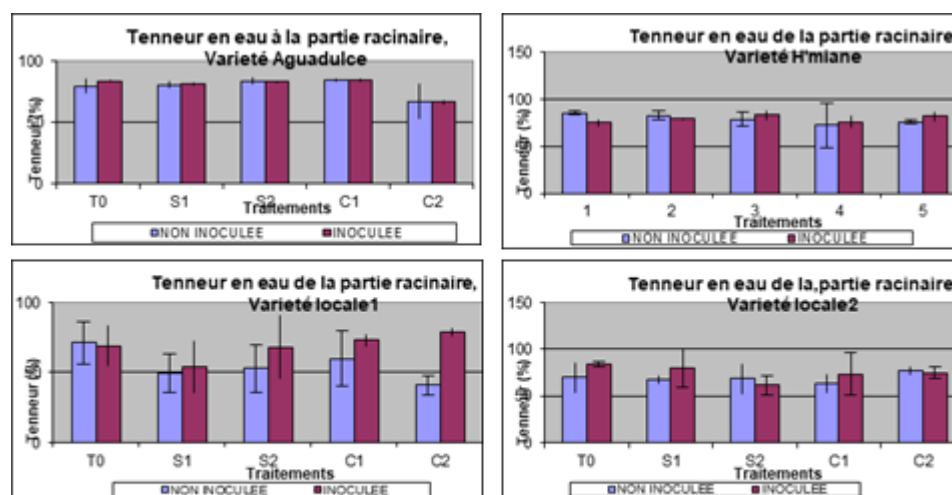


Figure 1: Effet de salinité et du cuivre en présence d'inoculation *P.a.* sur la teneur en eau dans la partie racinaire de la fève

1.2. Discussion :

La salinité et le cuivre sont deux aspects du stress abiotiques, qui peuvent affecter la croissance et le développement des plantes de différentes manières. Plusieurs études ont démontré leurs effets sur la croissance, la physiologie et le rendement des cultures. Face à cette situation, des auteurs ont démontré le rôle des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) pour atténuer le stress abiotique et améliorer la croissance et la productivité des plantes. Dans ce contexte, la présente étude a montré un effet de cuivre sur l'abaissement de différents paramètres biométriques relatif à la biomasse et à la teneur en eau de la fève traitée par des hautes concentrations de salinité et du cuivre. Alors que cet abaissement est diminué et parfois élevé sous l'effet de l'inoculation avec *Pseudomonas aeruginosa*. Cet effet du cuivre est fortement rapporté dans des études, Le cuivre (Cu) est l'un des éléments métalliques lourds ayant plusieurs implications sur la croissance et le développement des plantes, la plante a montré une diminution de la photosynthèse et de la productivité des protéines avec une accumulation conséquente d'indicateurs de stress tels que les osmolytes, notamment la proline et les sucres solubles, en cas de toxicité du Cu (Benouis et Reguig, 2016). des doses ≥ 160 mg kg⁻¹ de Cu dans le substrat de sable et de compost ont entraîné l'accumulation de cuivre dans les racines et les parties aériennes, ce qui a entraîné une diminution de l'activité photosynthétique et de la teneur en protéines, ainsi que l'accumulation de paramètres sensibles aux métaux tels que la proline et les sucres solubles (Benouis *et al.*, 2021). L'effet du cuivre sur la teneur relative en eau dans les plantes de *Vicia faba* a été largement étudié dans la littérature scientifique. Une étude menée par Schouteden *et al.* (2015) a examiné l'effet du cuivre sur la croissance et la physiologie des fèves de *Vicia faba*. Nos résultats ont également montré que l'exposition des plantes à des concentrations élevées de cuivre entraînait une diminution de la teneur en eau dans les fèves. Cette diminution de la teneur en eau peut être attribuée à plusieurs mécanismes, tels que la perturbation de l'absorption et du transport de l'eau dans les racines, ainsi que l'augmentation de la transpiration des plantes exposées au cuivre. Une autre étude réalisée par Kloska et Fortenberry (2017) a également examiné l'effet du cuivre sur la teneur en eau dans les fèves *Vicia faba*. Les chercheurs ont constaté que l'exposition des plantes à des concentrations élevées de cuivre entraînait une diminution de la teneur en eau dans les tissus végétaux. Cette diminution de la teneur en eau peut être due à une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires, ce qui entraîne une perte d'eau par transpiration.

Certaines valeurs de la présente étude indiquent la tolérance des plantes de la fève à certaines doses de cuivre, la tolérance se diffère d'une variété à l'autre. La littérature a abordé des résultats similaires. La tolérance au Cu chez la plante est liée à l'activité des systèmes antioxydants modulée par les concentrations de métaux. Les superoxyde dismutase et catalase étaient tous deux plus élevés en présence de Cu (Fatnassi *et al.*, 2015), et le glutathion, la proline, les thiols non protéiques, ainsi que les activités de la guaiacol peroxydase et de la catalase ont été mesurées dans les parties supérieures des plantes contaminées par des métaux sélectionnés, y compris le Cu (Nadgórska-Socha *et al.*, 2012).

Dans cette étude, il a été clairement prouvé l'effet de l'inoculation avec *Pa* sur l'augmentation de la biomasse des plantes de la fève même celles traitées au cuivre et à la salinité. Plusieurs études ont démontré que les bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR)

peuvent aider à réduire la toxicité des métaux lourds chez les plantes cultivées dans des sites pollués (Fatnassi *et al.*, 2013, 2015; N. Khan et Bano, 2015). Plusieurs souches de *Pseudomonas* ont montré un grand potentiel en tant que PGPR pour améliorer la croissance de différentes espèces végétales dans des sols contaminés par les métaux lourds, y compris *Vicia faba* (Khakimova *et al.*, 2022; Pal *et al.*, 2018). *Vicia faba* inoculée avec des souches de *Pseudomonas sp.* et d'autres PGPR a eu un effet positif sur la croissance, la production de biomasse et le rendement (Fatnassi *et al.*, 2013, 2015; E. Mansour *et al.*, 2021; Mohammed, 2018). Fatnassi *et al.* (2015) a également démontré qu'une double inoculation avec des souches de *Rhizobium* et de PGPR de *Pseudomonas* améliorerait significativement la croissance, la production de biomasse et l'état antioxydant de *Vicia faba* sous stress du cuivre. De plus, il a été démontré que *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 améliorerait la croissance de *Pisum sativum L.* sous des concentrations inhibitrices de sels de cadmium utilisées pour contaminer le sol (Khakimova *et al.*, 2022). Différentes concentrations de Cu ont un impact variable sur la croissance des plantes de *Vicia faba*, par exemple, lorsqu'ils ont traité avec 1 mM de Cu et 2 mM de Cu, les plantes inoculées avec des bactéries rhizosphériques ont montré une augmentation du poids sec par rapport aux plantes traitées au Cu et non inoculées (Fatnassi *et al.*, 2015). Dans un système hydroponique Fatnassi *et al.* (2015) ont constaté que les plantes inoculées présentaient de meilleurs paramètres de croissance, une réduction de l'accumulation de cuivre et une augmentation des activités des enzymes antioxydantes. De plus, Ramesh et Ramassamy (2015) ont démontré la promotion de la croissance des plantes, de la teneur en éléments nutritifs des feuilles et du rendement de la banane en utilisant *Pseudomonas fluorescens* comme biofertilisant. Les preuves actuelles suggèrent donc le potentiel des PGPR et de *Pseudomonas spp.* dans l'amélioration de la croissance de *Vicia faba* et des plantes soumises à des métaux lourds et au stress du cuivre.

D'autre part, les résultats figurés dans cette étude, ont montré un effet significatif des doses salines sur la biomasse et la teneur en eau de la fève. Cet effet est similaire à celui rapporté par les auteurs. Le stress salin est un stress abiotique qui limite la productivité des plantes (Semida *et al.*, 2021). L'effet de ce stress sur les plantes de *Vicia faba* est sévère, et les poids frais et secs sont significativement réduits (Amini *et al.*, 2018; Badran *et al.*, 2006). Plusieurs études ont été menées sur différentes plantes soumises au stress salin, et les résultats ont révélé que les poids frais et secs des parties aériennes et des racines diminuent (Alam *et al.*, 2017; Badran *et al.*, 2006; Rauf *et al.*, 2022; Semida *et al.*, 2021). Le stress salin entraîne une diminution de la longueur des racines et la longueur des parties aériennes (Badran *et al.*, 2006; H. Iqbal *et al.*, 2001; Khunpon *et al.*, 2017; Rauf *et al.*, 2022). Cependant, il a été rapporté des cas contradictoires sur l'effet du stress salin sur le poids frais des plantes, car certaines études révèlent une augmentation (Amini *et al.*, 2018; Sherif, 2022). De plus, la diminution de la croissance et du développement des plantes due à une augmentation de la concentration en sel est courante chez de nombreuses espèces végétales (Akinci *et al.*, 2004; Badran *et al.*, 2006). La salinité diminue les pigments photosynthétiques et la capacité antioxydante des plantes (Alam *et al.*, 2017; Khunpon *et al.*, 2017). Elle réduit également les activités des enzymes antioxydantes (Khunpon *et al.*, 2017). L'application foliaire d'antioxydants et de nanoparticules d'oxyde de zinc permet avec succès aux plantes soumises à un stress salin de faire face à ce stress (Semida *et al.*, 2021; Sherif, 2022). De plus, le traitement à la gibbérelline et l'application

de proline ont été utilisés pour améliorer les paramètres de croissance des plantes sous stress salin (Amini *et al.*, 2018; Rauf *et al.*, 2022).

Les résultats d'inoculation de la fève par *Pseudomonas aeruginosa* ont montré l'augmentation de la biomasse sous les conditions salines, et une certaine tolérance des plantes à la salinité. Cet effet d'inoculation bactérienne est largement étudié par des recherches précédentes. L'effet combiné du stress salin et de l'inoculation de PGPR sur des facteurs tels que le poids frais, le poids sec et la longueur des plantes a également été largement étudié. Sapre *et al.* (2018) ont évalué l'efficacité de la souche de PGPR IG 3 pour augmenter la tolérance au stress salin chez *Avena sativa* sous une dose de NaCl (100 mM) et ont constaté que l'inoculation de la souche de PGPR augmentait considérablement les paramètres physiologiques tels que la longueur de la partie aérienne, la longueur des racines, le poids sec de la partie aérienne, le poids sec des racines et la teneur en eau relative (TWR) de l'avoine. L'inoculation de PGPR des plantes de *Vicia faba* soumises à différentes concentrations de stress salin a également augmenté leur croissance et a donné les meilleurs résultats en termes de hauteur des plantes, de poids frais et sec (Mohammed, 2018). Azadikhah *et al.* (2019) ont indiqué que l'inoculation des cultivars d'orge par des bactéries avait un impact positif sur les paramètres de croissance et le rendement, tels que la hauteur des plantes, la longueur et le poids de l'épi, la longueur du pédoncule, le nombre de grains par épi, le poids de 1000 grains et le rendement en grains, par rapport aux plantes témoins non inoculées soumises à un stress salin. De même, Jha et Subramanian (2013) ont montré que l'inoculation de PGPR réduisait l'effet néfaste de la salinité et augmentait les paramètres de croissance, la concentration en minéraux et le niveau d'enzymes antioxydantes du riz paddy dans des conditions de serre. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes halotolérantes (PGPR) ont été montrées pour atténuer le stress salin et favoriser une meilleure croissance d'*Arachis hypogaea* (Shukla *et al.*, 2011). Idder *et al.* (2019) ont examiné la réponse de la fève sous conditions salines et évalué le rôle de certaines souches de *Pseudomonas* dans l'amélioration de la tolérance de la plante au stress salin en utilisant la fève. Raklami *et al.* (2019) ont rapporté que l'inoculation du consortium PGPR-rhizobium-AMF (PRM) améliorait les paramètres de croissance (poids sec des parties aériennes et des racines et le nombre de feuilles) de *Vicia faba* et de blé. Pour améliorer le potentiel de phytoremédiation de la plante *Vicia faba* dans le sable désertique huileux, Radwan *et al.* (2005) ont montré que la co-inoculation des racines de la plante *V. faba* avec des bactéries nodulaires et des PGPR améliorait le potentiel de phytoremédiation de cette plante pour le sable désertique huileux en améliorant la croissance des plantes et la fixation de l'azote. Bechtaoui *et al.* (2020) a révélé que la co-inoculation de plantes de *Vicia faba* avec des souches de PGPR entraînait une amélioration de la croissance, la nutrition phosphorée et les activités phosphatase-phytase dans des conditions de disponibilité du phosphore variées. De plus, l'inoculation de plantes stressées par la salinité avec les PGPR *Bacillus pumilus* et *Pseudomonas pseudoalcaligenes* pourrait contribuer à atténuer le stress salin dans le riz paddy, ces PGPR par conséquent, peuvent aider à réduire les effets néfastes de la salinité sur la croissance des plantes (Jha et Subramanian, 2013). De plus, Mansour *et al.* (2021) ont constaté que l'inoculation avec les PGPR *Rhizobium leguminosarum biovar viciae* et *Pseudomonas putida* pouvait améliorer la tolérance à la sécheresse dans différentes variétés de *Vicia faba*.

L'effet négatif de la salinité sur la teneur relative en eau dans les fèves (*Vicia faba*) prouvé dans la présente étude, a également été largement étudié dans la littérature scientifique. La salinité est connue avec son impact négatif sur la disponibilité en eau pour les plantes, ce qui peut entraîner une diminution de la teneur en eau dans les tissus végétaux. Plusieurs études ont montré que l'exposition des plantes de *Vicia faba* à des niveaux élevés de salinité entraîne une diminution significative de la teneur en eau dans les fèves. Par exemple, une étude menée par Alzahrani *et al.* (2019) a montré que l'augmentation de la salinité du sol entraînait une diminution progressive de la teneur en eau dans les fèves de *Vicia faba*. Une autre étude réalisée par Johnson *et al.* (2018) a également confirmé cet effet négatif de la salinité sur la teneur en eau dans les fèves de *Vicia faba*, ils ont constaté aussi que l'augmentation de la salinité du sol entraînait une diminution de la teneur en eau dans les fèves, ce qui pouvait avoir des conséquences néfastes sur la croissance et le rendement des plantes.

Certaines études ont également examiné le rôle des PGPR dans l'amélioration de la réponse des plantes au stress hydrique. Mansour *et al.* (2021) a montré que l'inoculation de cultivars de *Vicia faba* avec *R. leguminosarum* biovar *viciae* (USDA 2435) et *Pseudomonas putida* (RA MTCC5279) dans des conditions d'arrosage suffisant, de sécheresse modérée et de sécheresse sévère améliorait les caractéristiques physio-biochimiques des plantes dans un sol sableux nouvellement régénéré et pauvre en fertilité (Mansour *et al.*, 2022). En raison de leur capacité à produire des exopolysaccharides et à former un biofilm en réponse au stress salin, *Pseudomonas anguilliseptica* SAW 24 s'est révélée être le PGPR le plus efficace pour améliorer la croissance et la production de biomasse chez les plantes de *Vicia faba* sous stress salin (Mohammed, 2018).

1.3. Conclusion :

La présente expérimentation est réalisée par la plantation de graines de quatre variétés de la fève inoculées par *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres non inoculées sous cinq niveaux de traitements de stress deux salins (100 et 300 mM) et deux au cuivre (5 et 15 mM) et un contrôle à une concentration nulle 0 mM. Cette expérimentation consiste à évaluer les réponses morphologiques de la partie aérienne et racinaire de l'effet de stress salin et au cuivre. Les résultats montrent un effet significatif de stress salin et au cuivre sur les quatre variétés de la fève et surtout les hautes concentrations, il a été clairement constaté une diminution du poids frais et sec, longueur, teneur en eau de la partie aérienne et racinaire et de diamètre de tige. En parallèle, l'inoculation bactérienne a différemment réagi avec les variétés, mais en sens général, l'inoculation a induit une amélioration des caractères morphologiques étudiées de la fève, et elle a clairement contribué à l'allègement de l'effet du stress salin et cuprique sur la biomasse fraîche et sèche de la fève, la longueur et le diamètre de tige ainsi que la teneur en eau des tissus. Les résultats ont également montré que les variétés de la fève présentent une certaine variation en réponses au stress salin et cuprique, et même une variation en interaction avec l'inoculation bactérienne. La variété Aguadulce a montré une tolérance au stress salin et cuprique, mais elle a été la moins interactionnelle avec les souches bactériennes, alors que les variétés locales 1 et 2 et la variété H'miene sont apparues moins tolérantes à l'effet de stress, mais elles ont répondu bien à l'effet d'inoculation bactérienne. En synthèse, les études citées ci-dessus ont montré que diverses souches de *Pseudomonas* ont un potentiel pour améliorer la croissance, la production

de biomasse et le rendement des plantes sous stress des métaux lourds et stress salin et hydrique. Les résultats de ces études soulignent l'importance de l'inoculation avec des PGPR dans la promotion de la croissance des plantes dans des environnements stressants, ce qui pourrait avoir des implications pour l'agriculture durable et la remédiation des sols pollués.

2. Effet de salinité et d'inoculation par *Pseudomonas* sur les paramètres chimiques et biochimiques

2.1. Résultats.

2.1.1. Isolement, sélection et identification des souches de *Pseudomonas* spp.

Les analyses macroscopiques et microscopiques des isolats ont révélé sept souches appartenant au genre *Pseudomonas* : P1, P6 et P7 du sol salin et P11, P13, P14 et P15 du sol de la rhizosphère du vignoble. Nous avons choisi P1, P7 et P15 comme souches de performance suivant les résultats des tests présentés dans le tableau 12. Selon le catalogue d'identification de la galerie API 20NE, les isolats P1 et P7 sont similaires aux souches de *P. fluorescens* et P15a été attribué comme *P. putida*.

Tableau 12: Caractérisation des souches bactériennes isolées ; (-) pas de production ou de croissance, (+) faible production ou croissance, (++) production ou croissance abondante.

ISOLATS	PRODUCTION D' AIA	PRODUCTION DE PYOVERDINE	TEST DE RESISTANCE AUX DIFFERENTS DOSES DE NaCl DURANT 72 H			
			7%	8%	9%	10%
P1	++	++	++	-	-	-
P6	-	-	-	-	-	-
P7	++	++	++	++	++	++
P11	-	+	++	-	-	-
P13	+	+	++	-	-	-
P14	-	+	++	-	-	-
P15	++	++	++	++	++	+

2.1.2. Effet combiné de salinité et d'inoculation par *Pseudomonas* sur la croissance de la fève.

2.1.2.1. Poids frais.

Les résultats montrent que la salinité a un effet inversement proportionnel sur le poids frais des plantes en présence et en absence d'inoculation bactérienne. Par rapport à la dose de 0 mM, les doses salines de 100 et 150 mM ont provoqué une diminution de la biomasse de 6,73 % et 10,95 %, respectivement, pour les plantes non inoculées. Les doses de solution saline ont également diminué la biomasse des plantes inoculées, l'isolat P1 a diminué l'effet de NaCl sur la biomasse végétale de 0,95% et 13,86% pour les traitements 100 et 150 mM. respectivement. L'isolat P7 a atténué l'effet des ces traitements salins de 8,76% et 10,16% Alors que ces valeurs étaient estimées à 14,85 et 35,10% pour l'isolat P15 (Fig.56). Cependant,

l'inoculation bactérienne a significativement augmenté le poids frais des plantes à tous les niveaux de traitement salin (Tab. 13). L'isolat P1 a augmenté la biomasse à un taux de 45,61 %, 54,63 % et 40,85 % pour les doses de 0, 100 et 150 mM, respectivement ; tandis que P7 a provoqué une augmentation de 31,51 %, 28,66 % et 32,68 % pour les traitements 0, 100 et 150 mM.l⁻¹, respectivement, et le taux d'augmentation était de 78,54 %, 63,02 % et 30,13 % pour P15.

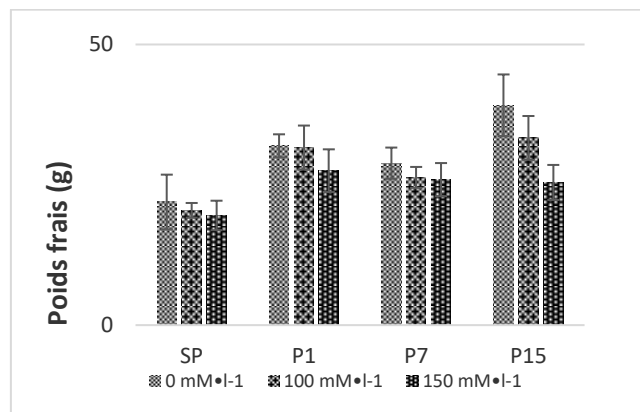


Figure 54: Effet de salinité et d'inoculation des souches de *Pseudomonas* (P1, P7, P15) sur le poids frais des plantes *Vicia faba*.

2.1.2.2. Teneur totale en chlorophylle (a + b)

Les résultats trouvés chez les plantes non inoculées montrent une augmentation de 18,39 % de la chlorophylle totale à la dose saline de 100 mM.l⁻¹, alors que l'application d'une dose saline de 150 mM.l⁻¹ a provoqué une diminution significative ($P < 0,05$) de 21,94 % par rapport au traitement non salin (0 mM.) (Fig. 57). Les résultats des plantes inoculées avec P1 ont révélé que l'effet de la salinité sur la teneur totale en chlorophylle était proportionnel à la concentration saline. Les traitements de 100 et 150 mM. provoquant une augmentation de 10,15 % et 25,02 %, respectivement, par rapport au traitement de 0 mM. En parallèle, l'inoculation avec la souche P1 a provoqué une élévation significative (Tab. 13) dans la chlorophylle totale de 11,30 %, 3,55 % et 78,28 % pour les traitements 0, 100 et 150 mM.

Les résultats de l'inoculation par la souche P7 montrent que l'accumulation de chlorophylle totale dans les plantes inoculées est proportionnelle à la concentration saline appliquée, avec une légère augmentation de 1,97% et 2,76% induite par des traitements de 100 et 150 mM., respectivement. Cependant, l'effet de l'inoculation par P7 sur la teneur totale en chlorophylle a été affecté négativement par les traitements 0 et 100 mM avec une réduction de 0,13% et 13,980%, respectivement, et pour le traitement 150 mM, la teneur a été augmentée de 31,48% par rapport au contrôle.

Les plantes inoculées avec la souche P15 et stressées avec une dose de solution saline de 100 mM.l⁻¹ présentaient une diminution de 16,84 % de la chlorophylle totale. Le traitement salin de 150 mM a provoqué une augmentation de 32,09 % de la chlorophylle totale par rapport au traitement de 0 mM. La comparaison avec les résultats des plantes non inoculées indique que l'inoculation par P15 a diminué la teneur totale en chlorophylle de 1,71% et 30,97% pour les

traitements 0 et 100 mM., respectivement, tandis que la chlorophylle totale a augmenté de 66,33% pour le traitement 150 mM.

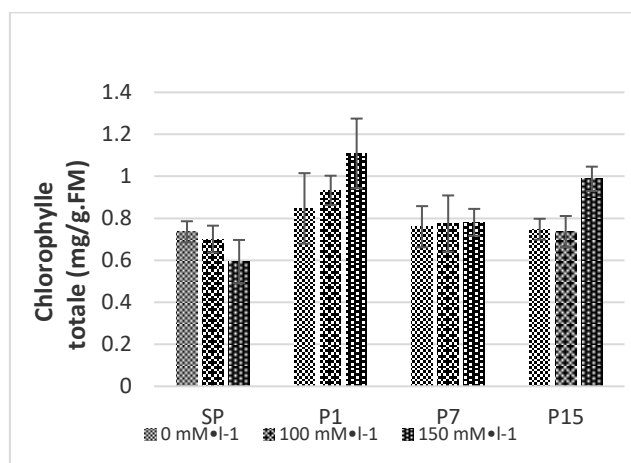


Figure 55: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne des souches de *Pseudomonas* (P1, P7 et P15) sur la teneur en chlorophylle totale dans la plante *Vicia faba*. (SP : non inoculé).

2.1.2.3. Teneur en proline dans la partie aérienne

Les résultats des échantillons non inoculés montrent que l'effet de la salinité sur l'accumulation de proline dans la partie aérienne de la fève est proportionnel à la concentration du traitement salin, alors qu'une augmentation significative de 255,90 % et 19,25 % ont été observés pour les doses salines de 150 et 100 mM., respectivement, par rapport à la dose de 0 mM. (Fig. 58).

Dans le groupe de plantes inoculées avec la souche P1, l'effet du stress salin sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève est proportionnel à la concentration du traitement salin, avec des augmentations de teneur en proline de 2,93% et 29,30% pour les traitements de 100 et 150 mM, respectivement, par rapport au traitement de 0 mM. La comparaison des résultats de ce groupe avec ceux du groupe non inoculé révèle une augmentation significative de 69,56% et 46,35% de la teneur en proline pour les traitements 0 et 100 mM., respectivement, alors qu'une diminution de 38,39% a été observée pour le traitement 150mM.

Les plantes inoculées avec la souche P7 présentaient un effet proportionnel de salinité sur l'accumulation de proline dans la partie aérienne de la fève. Il y a eu une augmentation significative de 25,5% et 27,5% dans la teneur en proline des plantes stressées avec des traitements de 100 et 150mM. respectivement, par rapport à la dose de 0mM.. Par rapport aux plantes non inoculées, les plantes inoculées avec la souche P7 ont montré une augmentation de 24,22% et 30,72% de la teneur en proline pour les doses salines 0 et 100 mM., respectivement et une diminution de 55,49% pour la dose saline 150 mM..

Les valeurs de la teneur en proline dans les plantes inoculées avec la souche bactérienne P15 indiquaient que l'accumulation de proline était proportionnelle à la concentration saline. Les traitements de 100 et 150 mM ont provoqué une accumulation significative (Tab. 13) de la teneur en proline de 2,46 % et 48,76 %, respectivement, par rapport au traitement de 0 mM. En comparant les résultats des plantes inoculées avec la souche P15 avec ceux non inoculés (SP), l'effet de l'inoculum bactérien P15 sur l'accumulation de proline a été une augmentation

significative de 26,08% et 8,33% pour les traitements 0 et 100 mM., respectivement, et une diminution de 47,29% pour le traitement 150 mM.

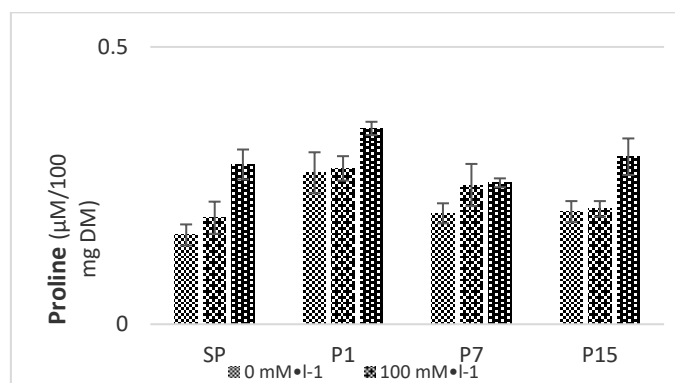


Figure 56: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne des souches de *Pseudomonas* (P1, P7 et P15) sur la teneur en proline dans la plante *Vicia faba*. (SP : non inoculé).

2.1.2.4. Rapport K^+/Na^+

Par rapport aux plantes de la fève *Vicia faba* non stressées (traitées avec une solution de 0 mM.), les doses salines de 100 et 150 mM. ont significativement diminué le rapport K^+/Na^+ dans les plantes non inoculées de 62,91 % et 57 %, respectivement (Fig. 59). Les résultats ont montré que le rapport K^+/Na^+ est inversement proportionnel aux concentrations salines, les traitements de 100 et 150 mM. provoquant une réduction significative de 46,35 % et 46,73 %, respectivement par rapport au traitement de 0 mM.. Parallèlement, l'inoculation avec la souche P1 s'est accompagnée d'une diminution significative de 24,28% et 6,20% du rapport K^+/Na^+ pour les doses salines 0 et 150 mM., respectivement ; cependant, il y a eu une augmentation de 9,52% pour la dose 100 mM. par rapport aux plantes non inoculées.

Les résultats obtenus ont montré que le rapport K^+/Na^+ chez les plantes inoculées avec P7 est inversement proportionnel aux doses de solution saline appliquées, avec une réduction considérable de 63,46% et 76,33% pour les doses de 100 et 150 mM.l⁻¹, respectivement. Par rapport aux résultats des plantes non inoculées, l'effet de l'inoculation de P7 sur le rapport K^+/Na^+ a été démontré positivement pour les traitements 0 et 100 mM. avec une augmentation significative (Tab. 13) de 35,67 % et 20,40 % respectivement, tandis que le rapport K^+/Na^+ a été réduit de 43 % pour le traitement 150 mM..

La comparaison avec les résultats pour les plantes non inoculées, l'inoculation de P15 a augmenté le rapport K^+/Na^+ de 5,87% et 96,69% pour les traitements 0 et 100mM., respectivement. Cependant, le rapport K^+/Na^+ a diminué de 27,24 % pour le traitement à 150mM.. L'effet du stress salin sur le rapport K^+/Na^+ est inversement proportionnel à la concentration du traitement salin, avec une réduction de 31,10% et 70,45% du rapport K^+/Na^+ observée pour les traitements de 100 et 150 mM., respectivement, par rapport à la dose de 0 mM..

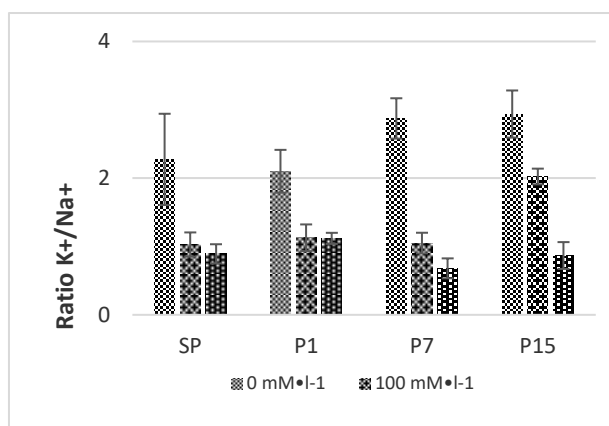


Figure 57: Effet de salinité et d'inoculation bactérienne avec les souches de *Pseudomonas* (P1, P7 et P15) sur le rapport K⁺/Na⁺ des plantes *Vicia faba*. (Le traitement SP : non inoculé).

Tableau 13: L'effet de salinité et d'inoculation par des souches de *Pseudomonas* (P1, P7 et P15) sur le poids frais, la teneur en proline, la teneur en chlorophylle et le rapport K⁺/Na⁺ de *Vicia faba*. Le traitement SP : non inoculé. Les résultats sont présentés comme la moyenne ± écart type ; les lettres minuscules désignent des groupes homogènes.

Inoculum bactérien	Traitement NaCl	Poids frais	Teneur en Proline	Teneur en Chlorophylle	Ratio K ⁺ /Na ⁺
SP	0 mM	21.938 ± 4.87 Def	0.161 ± 0.019 c	0.736 ± 0.05 cd	2.275 ± 0.667 b
SP	100 mM	20.46 ± 1.301 Ef	0.192 ± 0.029 c	0.701 ± 0.064 cd	1.029 ± 0.177 c
SP	150 mM	19.535 ± 2.631 F	0.288 ± 0.027 b	0.594 ± 0.103 d	0.893 ± 0.14 c
P1	0 mM	31.943 ± 2.051 Bc	0.273 ± 0.037 b	0.847 ± 0.168 bc	2.101 ± 0.313 b
P1	100 mM	31.638 ± 3.916 Bc	0.281 ± 0.022 b	0.933 ± 0.07 bc	1.127 ± 0.196 c
P1	150 mM	27.515 ± 3.805 Bcde	0.353 ± 0.012 a	1.109 ± 0.166 a	1.119 ± 0.081 c
P7	0 mM	28.85 ± 2.783 Bcd	0.200 ± 0.018 c	0.76 ± 0.098 cd	2.874 ± 0.295 a
P7	100 mM	26.323 ± 1.859 Bcdef	0.251 ± 0.038 b	0.775 ± 0.134 cd	1.05 ± 0.151 c
P7	150 mM	25.92 ± 2.953 Bcdef	0.255 ± 0.008 b	0.781 ± 0.064 cd	0.68 ± 0.146 c
P15	0 mM	39.168 ± 5.491 A	0.203 ± 0.019 c	0.748 ± 0.05 cd	2.938 ± 0.345 a
P15	100 mM	33.353 ± 3.902 B	0.208 ± 0.014 c	0.737 ± 0.074 cd	2.024 ± 0.115 b
P15	150 mM	25.42 ± 3.118 Cdef	0.302 ± 0.033 b	0.988 ± 0.058 ab	0.868 ± 0.196 c

2.1.3. Analyse de corrélation entre les paramètres mesurées

Afin de vérifier les relations entre les différents paramètres physiologiques, une analyse de corrélation ou de régression linéaire a été faite bilatéralement entre l'ensemble des paramètres mesurées dans cette expérience (tab.14;fig.60).

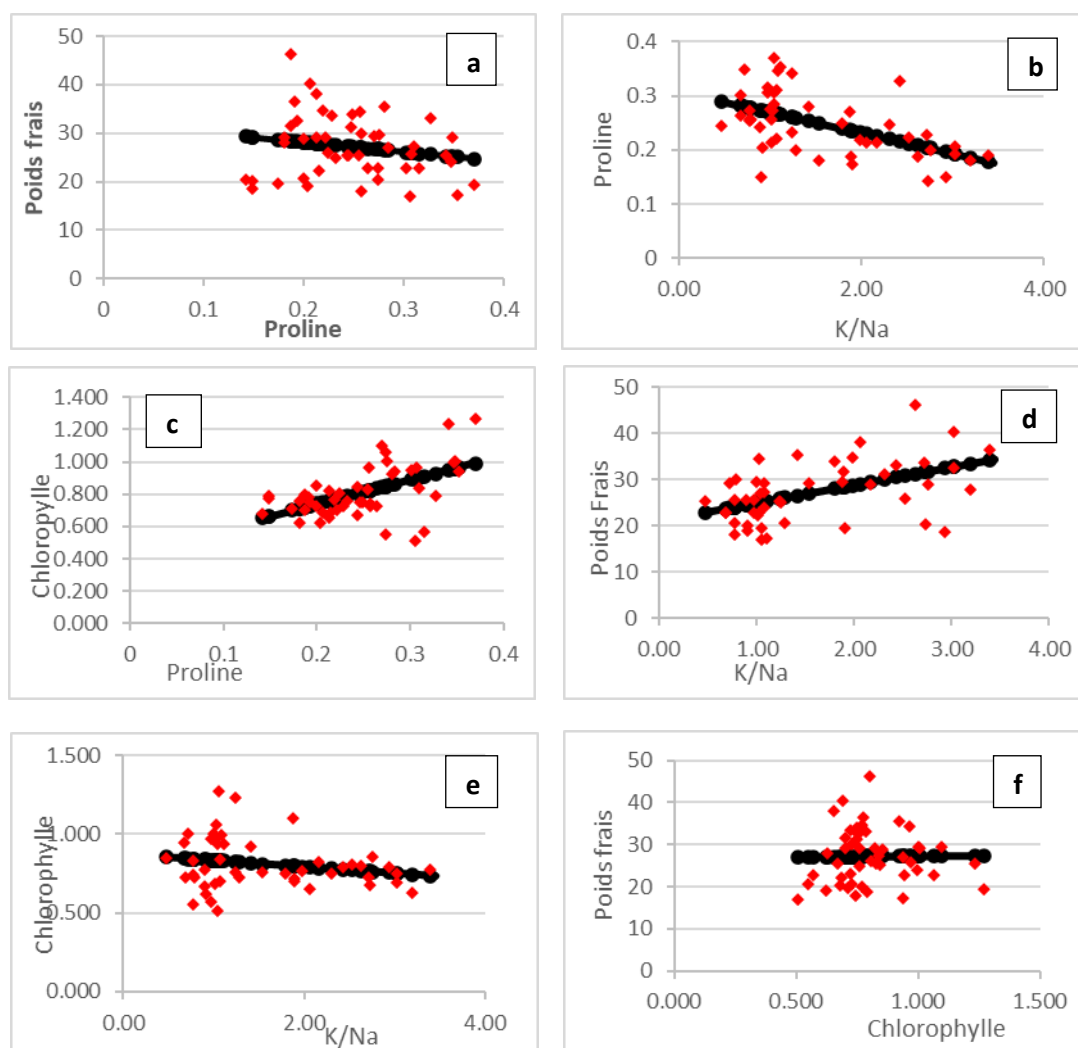


Figure 58: Droites de régression de paramètres mesurées.

Tableau 14: Matrice de corrélation de Pearson entre les paramètres mesurés.

	K ⁺ /Na ⁺	Proline	Chlorophylle	Poids frais
K ⁺ /Na ⁺	1	-0.54	-0.20	0.49
Proline	-0.54	1	0.53	-0.18
Chlorophylle	-0.20	0.53	1	0.01
Poids frais	0.49	-0.18	0.01	1

Le ratio de K⁺/Na⁺ et la teneur en proline ont enregistré un coefficient de corrélation important négatif, égal à $r = -0.54$ (fig. 60b), ce qui indique une relation considérablement inverse entre le ratio K⁺/Na⁺ et la proline, ou bien qu'une relation progressive entre la concentration de Na⁺. La chlorophylle et la proline ont également enregistré un coefficient modéré positif, ce qui signifie l'existence d'une relation progressive. Ce ratio avec le poids frais ont montré un coefficient de corrélation de 0.49, indiquant une relation moyenne régressive entre la concentration des ions sodiques dans le tissu des plantes et le poids frais. Un faible coefficient négatif a été observé pour les paires K⁺/Na⁺ - chlorophylle, et proline- poids frais, avec une valeur de $r = -0.20$ et $r =$

- 0.18 respectivement. Une faible relation régressive a été constatée entre la dose de Na⁺ dans les tissus et la teneur en chlorophylle totale. Alors qu'entre le poids frais et la teneur en proline, une faible relation régressive a été observée. Le coefficient de corrélation entre la chlorophylle et poids frais est presque nulle ($r = 0.01$) ce qui signifie l'inexistence d'une dépendance entre ceux deux paramètres.

2.2. Discussion

Poids frais.

Les résultats obtenus chez les plantes de la fève inoculés avec les souches P1, P7 et P15 et ceux non inoculés ont révélé une réduction du poids frais induite par les doses salines de 100 et 150 mM.l⁻¹ par rapport au traitement non salin de 0 mM. D'énormes les réductions de croissance sont causées par les concentrations de sel dans la solution d'irrigation (Mayak *et al.*, 2004). Le stress salin réduit la matière sèche des racines, des tiges, des feuilles et de la surface des feuilles en raison des effets directs et indirects de la toxicité des ions qui provoquent un déséquilibre osmotique sol-plante (Abdel Latef, 2010). En réponse à la détection du stress salin, les plantes augmentent la production d'éthylène (Mayak *et al.*, 2004; O'Donell *et al.*, 1996; Wilkinson *et al.*, 1995). L'éthylène affecte différentes phases de croissance végétative chez les plantes, entraînant une réduction globale de la croissance (Smalle et van der Straeten, 1997), et il peut inhiber l'allongement des tiges et des racines des plantes (Jusaitis, 1986; Penrose et Glick, 2003).

Nos résultats montrent également que l'inoculation avec les souches P1, P7 et P15 augmentait significativement la croissance des plantes dans des conditions salines et non salines. L'inoculation de plantes stressées avec des bactéries contenant de l'ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate)-désaminase peut réduire la concentration d'éthylène (Mayak *et al.*, 2004). De nombreux PGPR produisent l'enzyme ACC-déaminase et métabolisent l'ACC, le précurseur de la synthèse de l'éthylène chez les plantes, réduisant ainsi l'inhibition de la croissance des racines par l'éthylène induite par le stress (Glick, 1995; Glick *et al.*, 1998). *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 est capable de réduire le stress salin chez le blé cultivé dans un sol salin (Egamberdieva et Kucharova, 2009) ; l'effet d'amélioration des PGPR sur la croissance des plantes dans des conditions salines a été démontré dans différentes espèces de plantes telles que la tomate, le poivre, le canola, les haricots et la laitue (Barassi *et al.*, 2006; Yildirim et Taylor, 2005). *Pseudomonas putida* Rs-198 sécrète de l'IAA, qui améliore la croissance des plantes et atténue l'effet des inhibiteurs de croissance en diminuant la teneur en acide abscissique (ABA) des plantes (Patten et Glick, 2002a; Yao *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2008).

Cependant, nous avons observé une réduction proportionnelle du poids frais des plantes inoculées avec une concentration saline accrue, indiquant que la salinité a des effets inhibiteurs sur le développement de la nodulation et de la colonisation des souches d'inoculation. Plusieurs études ont prouvé l'effet inhibiteur du stress salin sur l'association des plantes avec les bactéries symbiotiques. Le stress salin inhibe la croissance, la nodulation et la fixation de l'azote de plusieurs légumineuses, telles que le soja (*Glycine max*) et le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) (Rabie *et al.*, 2005; Singleton et Bohlool, 1984). Une explication de la croissance

réduite des légumineuses peut être que le stress salin provoque l'échec des processus d'infection et de nodulation (Egamberdieva, Berg, *et al.*, 2013).

Teneur en chlorophylle

Selon les résultats, une teneur optimale en chlorophylle totale a été trouvée dans les plantes *Vicia faba* non inoculées traitées avec la dose saline de 100 mM, alors que le traitement salin de 150 mMa réduit la teneur en chlorophylle totale. La salinité diminue la photosynthèse et dégrade la chlorophylle et les complexes chlorophylle-protéine (Sheng *et al.*, 2008; Srivastava *et al.*, 1988). Les concentrations de chlorophylle ont été significativement réduites par les traitements de salinité en raison de la suppression des enzymes spécifiques responsables de la synthèse des pigments photosynthétiques (Murkute *et al.*, 2006, 2009), ou de l'effet antagoniste du Na⁺ sur l'absorption des minéraux (par exemple, Mg) entrant dans la synthèse des pigments photosynthétiques, réduisant ainsi la concentration de chlorophylle (Giri et Mukerji, 2004; Murkute *et al.*, 2006, 2009; Sheng *et al.*, 2008).

La teneur en chlorophylle dans les plantes inoculées avec les souches P1, P7 et P15 sous stress salin est supérieure à celle du traitement non salin. Les plantes inoculées sous stress salin ont atteint des niveaux de capacité photosynthétique plus élevés que ceux des plantes non stressées. Par rapport aux plantes non inoculées, l'inoculation P1 a montré une augmentation de la chlorophylle dans des conditions salines et non salines ; la chlorophylle (a) a augmenté dans les plantes stressées de 150 mM.l⁻¹ inoculées avec les souches P7 et P15. Nos résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures rapportant que l'inoculation bactérienne augmente la chlorophylle dans les feuilles (H. S. Han & Lee, 2005; Heidari & Golpayegani, 2012; Stefan *et al.*, 2012).

Teneur en Proline

Pour la présente étude, les résultats obtenus montrent que la proline s'accumule dans les plantes *Vicia faba* proportionnellement aux concentrations de traitement au NaCl, telles qu'enregistrées en présence et en l'absence de l'inoculation bactérienne P1, P7 et P15, il y avait une teneur en proline plus élevée chez les plantes exposées au stress salin que chez les plantes non stressées par la salinité. Ces résultats sont cohérents avec ceux de plusieurs auteurs, qui ont observé une augmentation de la proline (Ahanger & Agarwal, 2017; Thiam, Champion, Diouf, & Sym, 2013). L'accumulation de proline dans les plantes est un indicateur de la tolérance générale au stress ou de la tolérance à la salinité, car elle maintient l'ajustement osmotique et protège les macromolécules intracellulaires contre la déshydratation et sert également de piègeur de radicaux hydroxyle (Alia *et al.*, 1995; Hoque *et al.*, 2007). L'accumulation de proline est l'une des modifications les plus fréquemment rapportées induites par le stress hydrique et salin aux plantes et est souvent considérée comme impliquée dans les mécanismes de résistance au stress. L'accumulation de proline est un indice physiologique sensible de la réponse des plantes au stress salin et à d'autres stress (Peng *et al.*, 2008). C'est aussi l'une des stratégies d'adaptation déclenchées par l'usine contre les contraintes environnementales (Belkhodja et Benkabilia, 2000). Sous l'effet du stress salin, les plantes accumulent certains composants organiques (tels que la proline et le sucre soluble) et des ions inorganiques afin de maintenir un ajustement osmotique plus élevé (Yang *et al.*, 2009).

Il a également été constaté que chez les plantes inoculées, la proline est plus élevée que chez les plantes non inoculées, sous traitement salin et non salin, ce qui explique l'effet de l'inoculation bactérienne sur l'accumulation de proline et par conséquent sur la tolérance des plantes à différents stress. Les taux de proline foliaire ont augmenté en réponse à l'inoculation avec des micro-organismes (Zarea *et al.*, 2012). L'accumulation de proline était significativement plus faible chez les plantes non inoculées et une accumulation significative de proline a été trouvée dans les feuilles des plantes inoculées avec *Piriformosporaindica*. *Azospirillum* peut également accumuler de la proline et du glutamate en réponse au NaCl et limiter l'effluent de Na⁺ dans les racines (Bashan et Holguin 1997). Une augmentation de la proline et des sucres solubles totaux a été observée chez les plantes traitées avec des PGPR, ce qui a probablement conduit à une contribution significative à la promotion de la croissance des plantes sous stress salin, en augmentant plusieurs stratégies de défense métabolique Yang *et al.*, 2009), et plusieurs auteurs ont confirmé l'effet de l'inoculation bactérienne sur l'augmentation de la proline dans des conditions salines (Casanovas *et al.*, 2003; Tripathi *et al.*, 1998).

Rapport Na⁺/K⁺

La salinité provoque une augmentation de la concentration de Na⁺ et une diminution de K⁺, ce qui réduit le rapport K⁺/Na⁺ proportionnellement à l'augmentation du stress salin ; la réduction de la concentration de K⁺ chez les plantes soumises à un stress salin peut augmenter les effets délétères de la salinité sur la croissance et le rendement (Fu *et al.*, 2010). Des concentrations élevées de NaCl dans la solution du sol peuvent diminuer les rapports K⁺/Na⁺ et Ca²⁺/Na⁺ chez les plantes, qui seraient alors plus sensibles aux altérations osmotiques et ioniques spécifiques ainsi qu'aux perturbations nutritionnelles, ce qui entraînerait par conséquent une réduction du rendement et de la qualité (Ahmad *et al.*, 2018; Sivritepe *et al.*, 2003). La salinité augmente les concentrations foliaires de Na⁺ et de Ca²⁺ et diminue le K⁺ dans les feuilles de laitue (Kohler *et al.*, 2008). L'exclusion de Na⁺ et l'afflux de K⁺ sont les stratégies les plus importantes de l'usine pour soulager le stress salin (Ahanger et Agarwal, 2017; Fortmeier et Schubert, 1995; Shabala et Cuin, 2008). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans la présente expérience, où nous avons observé que les traitements salins induisent une augmentation significative de la concentration de Na⁺ et une diminution de K⁺ chez les plantes inoculées et non inoculées ; une réduction significative du rapport K⁺/Na⁺ sous traitements salins en présence et en l'absence d'inoculation a également été notée.

Par rapport aux plantes non inoculées, l'inoculation avec les souches P1, P7 et P15 a provoqué une diminution de la concentration en Na⁺ chez les plantes traitées avec des solutions de NaCl 0 et 100 mM, et donc une réduction du rapport K⁺/Na⁺. Cela indique un effet amélioré de l'inoculation avec les souches bactériennes sélectionnées sur la réduction de l'effet du stress salin, cette régulation osmotique est obtenue en réduisant le niveau de disponibilité des ions toxiques Na⁺ dans les plantes. L'inoculation de bactéries productrices d'exopolysaccharides peut réduire l'afflux de Na⁺ dans les racines des plantes (Ashraf *et al.*, 2004). L'inoculation de *Bacillus subtilis* GB03 pourrait également améliorer le niveau de tolérance au sel chez *Arabidopsis thaliana* en régulant le transporteur de potassium HKT1 (Zhang *et al.*, 2008). L'inoculation avec des souches de PGPR aide à soulager le stress salin par l'induction de certains gènes et polypeptides, ou la régulation du transporteur de potassium HKT1 (Timmusk et Egh,

1999) ; les PGPR affectent HKT1, ce qui a un effet sur l'ajustement des niveaux de Na^+ et K^+ , il a également été suggéré que PGPR augmente l'absorption d'ions minéraux par les plantes, via la stimulation de la pompe à protons ATPase (Yang *et al.*, 2009). Ashraf *et al.* (2004) ont constaté que l'accumulation de Na^+ dans le blé diminue en présence de PGPR, l'amélioration de la production d'exopolysaccharides (EPS) par les PGPR peut aider les plantes à tolérer le stress salin en réduisant la disponibilité des ions Na^+ au niveau des racines. Une diminution de la disponibilité de Na^+ peut atténuer le stress salin pour les plants de blé et de coton (Ashraf *et al.*, 2004; Upadhyay *et al.*, 2012; Yue *et al.*, 2007)

Corrélation entre les paramètres mesurés.

Les analyses d'ACP et de corrélation entre les paramètres montre clairement des corrélations significatives entre l'ensemble des paramètres, sauf entre le poids frais et la chlorophylle, ces corrélations peuvent prouver les relations d'induction et réflexion entre les paramètres sous les conditions de stress salin. L'accumulation des Na^+ dans le tissu peut induire plusieurs mécanismes d'osmorégulation tel que l'accumulation de la proline, plusieurs auteurs ont rapporté des résultats en concordance avec ceux de cette expérience. Raoufi *et al.* (2021) ont rapporté dans une étude que l'ensemble des paramètres morphologiques mesurés (poids frais, nombre de feuilles et élongation de la tige) présentaient une corrélation négative significative avec le contenu en Na^+ , Cl^- , MDA, proline et sucres solubles. Conformément à cette corrélation négative que les cellules non adaptées au NaCl accumulaient une grande quantité de proline avec un faible rapport K^+/Na^+ (Okuma *et al.*, 2000, 2002). Keskin et Yasar, (2007) ont constaté une corrélation positive entre le poids des pousses et des racines et le K^+ , et une corrélation négative avec le Na chez l'aubergine. D'autre part, une corrélation positive a été déterminée par Bajji *et al.* (2001) entre la concentration de proline et la concentration de Na dans les tissus sous stress salin. La corrélation entre le contenu en chlorophylle ou l'accumulation de proline et l'absorption de sodium permet de donner un sens au stress salin (Turan *et al.*, 2007). L'accumulation de proline représente un symptôme de dégât plutôt qu'un indicateur de résistance à la salinité (Lutts *et al.*, 1996). En vue à la faible teneur en proline des tissus de variété sensible au sel et la teneur plus élevée en proline dans le cal de la variété tolérante au sel, l'augmentation de la teneur de proline, accompagnée de l'augmentation des concentrations de Na^+ et K^+ , était responsable de la tolérance au sel dans les tissus de la variété tolérante. Et Que la proline soit un puissant osmorégulateur dans les tissus de riz a été montré par Basu *et al.* (1999), Le pourcentage de survie était significativement corrélé avec le rapport Na^+/K^+ ($r = 0.144$) et la proline ($r = 0.184$), mais pas avec le contenu en chlorophylle (Kanawapee *et al.*, 2012). Il a également été observé dans une étude utilisant 30 cultivars de blé, Une corrélation positive entre l'accumulation de proline et les ratios Na^+/K^+ , associée à une sensibilité accrue au sel et à une réduction de la croissance (Poustini *et al.*, 2007). Certains auteurs ont conclu que la proline pourrait ne pas être impliquée dans la tolérance au sel chez le blé et ne jouer qu'un rôle mineur dans l'ajustement osmotique. (Chen *et al.*, 2007) ont rapporté que bien qu'une faible concentration (1 mM) de proline exogène ait atténué l'efflux de K^+ induit par le NaCl , l'hyperaccumulation de proline endogène chez l'orge sensible au sel sous stress salin ne semblait pas jouer un rôle majeur dans la tolérance au sel mais plutôt être un symptôme de sensibilité au sel. Une suraccumulation de proline chez le riz sensible au sel a été suggérée comme un symptôme de stress salin (Lutts *et al.*, 1999), reflétant une performance médiocre et des dommages accrus en réponse au stress salin (Moradi et Ismail, 2007). Dans les feuilles, l'accumulation de sodium s'accompagnait de fortes accumulations de potassium et de proline,

et était corrélée négativement avec le poids frais et le poids sec des pousses ainsi que la teneur en eau relative des feuilles (Płazek *et al.*, 2014). La réponse de défense d'une plante à la salinité implique également une accumulation accrue de proline libre, produite sous divers stress environnementaux. La capacité d'accumuler de la proline en réponse à un stress est très variable entre et au sein des espèces (Lutts *et al.*, 1996). Une augmentation du niveau de proline sous des concentrations élevées de NaCl a été notée par (Khan *et al.*, 2009) chez six cultivars de blé, et une augmentation de deux à dix fois de la quantité de cet acide aminé a été trouvée chez la tomate par Babu *et al.* (2012). La corrélation négative entre le contenu en K^+ et en proline dans les feuilles et les paramètres de croissance des pousses est claire, mais cette relation pourrait indiquer que plus l'influx de Na^+ et le stress osmotique sont importants, plus la proline est élevée (Płazek *et al.*, 2014)..

2.3. Conclusion

Cette étude visait à étudier le rôle de l'inoculation des *Pseudomonas* rhizobactériens dans la clairance des effets du stress salin sur la croissance et la physiologie de *V. faba*. Les résultats ont montré que les traitements salins de 100 et 150 mM induisaient une régression du poids frais des plantes de *V. faba* inoculées avec P1, P7 et P15 et des plantes non inoculées. En l'absence d'inoculation bactérienne, la teneur optimale en chlorophylle totale libérable est liée au traitement avec 100 mM de NaCl, alors que le traitement avec 150 mM a réduit la teneur en chlorophylle totale. La proline s'accumule également dans les plantes de *V. faba* proportionnellement à la concentration saline en présence et en l'absence d'inoculation bactérienne. Les traitements salins ont induit une augmentation significative du Na^+ et une diminution du K^+ chez les plantes inoculées et non inoculées. Nous avons également noté une réduction significative du rapport K^+/Na^+ sous traitements salins en présence et en l'absence d'inoculation bactérienne. Cependant, l'inoculation avec les souches P1, P7 et P15 a provoqué une diminution du Na^+ chez les plantes traitées avec 0 et 100 mM de NaCl, ce qui a augmenté le rapport K^+/Na^+ , indiquant que l'inoculation par des souches bactériennes sélectionnées améliore la tolérance des plantes à la salinité. Les corrélations significatives constatées reflètent les relations d'induction et d'effet entre l'ensemble des paramètres et surtout le ratio K^+/Na^+ et les autres sous les conditions de stress salin. Cette étude fournit des informations sur l'effet de la salinité sur la croissance des plantes et ses complications.

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

Le plan de travail de la présente thèse vise à étudier le rôle de l'inoculation des rhizobactéries du genre *Pseudomonas* pour diminuer l'effet de stress salin et de cuivre sur la germination des graines, la croissance et la physiologie de la fève.

La réalisation de ce plan a conduit à des résultats au niveau de toutes parties de l'étude ;

Dans la partie d'isolement et caractérisation des isolats de *Pseudomonas* des sols rhizosphériques oasiens : quatre isolats OA44, OA45, OA47, OB14 et OB13 ont montré une production de pyoverdine, la production d'AIA, la production de HCN, la solubilisation de phosphate, le pouvoir antagoniste contre quelques souches microbiennes pathogènes, la tolérance aux hautes concentrations de salinité et de cuivre, pendant que l'isolat OA47 a été caractérisée comme la souche la plus performante à travers tous les tests. L'isolat OA47 a été identifié par PCR et séquençage de l'ADN comme une souche plus proche à *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071.

Dans la deuxième partie de l'étude portant sur le rôle des *Pseudomonas* rhizosphériques sur la germination sous stress salin et cuprique, les deux isolats de *Pseudomonas*, OA47 et OB14, ont prouvé leur effet dans l'amélioration de pourcentage et le de temps germination, et la croissance de l'embryon, ainsi que l'atténuation d'effet toxique de cuivre sur la germination. L'isolat OB14 a particulièrement montré un effet significatif sur le pourcentage de germination et la croissance de l'embryon des graines de la variété locale.

La partie d'étude réalisée sur le rôle des *Pseudomonas* rhizosphériques dans la promotion de la germination de la fève sous stress salin a confirmé le rôle des souches de *Pseudomonas* testées dans l'amélioration des indices de germination sous stress salin. La souche SHA21 était la meilleure dans ce rôle promoteur de germination des graines de la fève.

L'examen de rôle de l'isolat OA47 sur la promotion de la croissance de quatre variétés de la fève sous des conditions de stress salin et au cuivre, a significativement valorisé cette souche, qui a pu augmenter les indices de croissance et de tolérance sous l'effet de stress abiotique. Avec une différence en réponse de chaque variété de la fève. Les isolats P1, P7 et P15 testés dans l'allègement de l'effet du sel sur la croissance de la fève, ont montré des effets variables sur les quelques facteurs chimiques et biochimiques de la fève, mais en général, l'inoculation a significativement pu améliorer l'apport de proline libre et d'augmenter le rapport K^+/Na^+ en modérant la tolérance des plantes au stress.

En perspectives, nous envisageons de compléter notre travail en couvrant l'étude des mécanismes biochimiques des réponses au stress au niveau cellulaire. Nous voulons aussi élargir de la gamme des paramètres mesurés, tel que le dosage des métaux accumulés dans les plantes et vérifier les indices de stress oxydatif afin d'établir des corrélations paramétriques et d'interpréter les résultats d'une façon plus proche de la réalité. Ainsi que la conception à l'application biotechnologique des souches *Pseudomonas* et leurs métabolites, et la caractérisation moléculaire de la souche *P. aeruginosa* (OA47) en interaction avec l'environnement et les plantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- Abbas, G., Areej, F., Asad, S., Saqib, M., Anwar-ul-Haq, M., Afzal, S., others, & Siddique, K. (2023). Differential effect of heat stress on drought and salt tolerance potential of quinoa genotypes: a physiological and biochemical investigation. *Plants*, *12*(4), 774. <https://doi.org/10.3390/plants12040774>
- Abbaszadeh-Dahaji, P., Atajan, F. A., Omidvari, M., Tahan, V., & Kariman, K. (2021). Mitigation of copper stress in maize (*Zea mays*) and sunflower (*Helianthus annuus*) plants by copper-resistant *Pseudomonas* strains. *Current Microbiology*, *78*, 1335–1343.
- Abbaszadeh-Dahaji, P., Baniasad-Asgari, A., & Hamidpour, M. (2019). The effect of Cu-resistant plant growth-promoting rhizobacteria and EDTA on phytoremediation efficiency of plants in a Cu-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(31), 31822–31833.
- Abdel Latef, A. A. (2010). Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. *Cereal Res Commun*, *38*, 43–55. <https://doi.org/10.1556/CRC.38.2010.1.5>
- Abdul-Hussein, Z. R., & Atia, S. S. (2016). Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Experimental Biology*, *6*(3), 1–4.
- Abideen, Z., Koyro, H., Hussain, T., Rasheed, A., Alwahibi, M., Elshikh, M., others, & Abbas, Z. (2022). Biomass production and predicted ethanol yield are linked with optimum photosynthesis in phragmites karka under salinity and drought conditions. *Plants*, *11*(13), 1657. <https://doi.org/10.3390/plants11131657>
- Achard, P., Cheng, H., De Grauwe, L., Decat, J., Schoutteten, H., Moritz, T., Van Der Straeten, D., Peng, J., & Harberd, N. P. (2006). Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science*, *311*, [Cro, 91–94.
- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-Rehman, M., Irshad, M. K., & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, *22*, 8162.
- Ahanger, M. A., & Agarwal, R. M. (2017). Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiol Biochem*, *115*, 449–460. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.017>
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alam, P., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Ali, S., & others. (2018). Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in mung bean [*Vigna radiata* (L.) wilczek] through the modifications of physiobiochemical attributes and key antioxidant enzymes. *J Plant Growth Regul*, *38*(1), 70–82. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9810-2>
- Ahmadian, A., Shiri, Y., & Froozandeh, M. (2015). Study of germination and seedling growth of black cumin (*Nigella sativa* L.) treated by hydro and osmopriming under salt stress conditions. *Cercetări Agronomice În Moldova*, *48*(2), 69–78.
- Ahmed, A., & Hasnain, S. (2020). Extraction and evaluation of indole acetic acid from indigenous auxin-producing rhizosphere bacteria. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, *30*(4).
- Akcin, A., & Yalçin, E. (2015). Effect of salinity stress on chlorophyll, carotenoid content, and proline in *salicornia prostrata* pall. and *suaeda prostrata* pall. *Subsp. Prostrata (Amaranthaceae)*. *Brazilian Journal of Botany*, *39*(1), 101–106. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0218-y>
- Akhtar, S., Andersen, M., & Liu, F. (2015). Biochar mitigates salinity stress in potato. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *201*(5), 368–378. <https://doi.org/10.1111/jac.12132>
- Akinci, I., Akinci, S., Yilmaz, K., & Dikici, H. (2004). Response Of Eggplant Varieties (*solanum Melongena*) To Salinity In Germination and Seedling Stages. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *2*(32), 193–200. <https://doi.org/10.1080/01140671.2004.9514296>
- Akpinar, N., Akpinar, M. A., & Türkoğlu, S. (2001). Total lipid content and fatty acid composition of the seeds of some *Vicia* L. *Species. Food Chemistry*, *74*(4), 449–453.
- Al-hakimi, A., & Hamada, A. (2011). Ascorbic acid, thiamine or salicylic acid induced changes in some physiological parameters in wheat grown under copper stress. *Plant Protection Science*, *47*(3), 92–108.

- Al-Mahdi, R., Al-Sharani, H., Al-Haroni, M., & Halboub, E. (2023). Associations Of the Activity And Concentration Of Carbonic Anhydrase VI With Susceptibility To Dental Caries: A Systematic Review And Meta-analysis. *Clinical & Exp Dental Res*, 2(9), 358–367. <https://doi.org/10.1002/cre2.723>
- Al-Turki, A., Murali, M., Omar, A. F., Rehan, M., & Sayyed, R. Z. (2023). Recent advances in PGPR-mediated resilience toward interactive effects of drought and salt stress in plants. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1214845.
- Al Hassan, M., Morosan, M., López-Gresa, M. D. P., & Prohens, J. (n.d.). *Vicente, O.; Boscaiu. M. Salinity-Induced Variation in Biochemical.*
- Alam, M., Sarker, N., Nasiruddin, K., & Shohael, A. (2017). Salinity Stress On Morphological and Nutritional Quality Of Napier Cultivars Under Hydroponic Condition. *Bang. J. Anim. Sci.*, 2(46), 102–108. <https://doi.org/10.3329/bjas.v46i2.34438>
- Alberston, D., Valdameri, G., Moure, V. R., Monteiro, R. A., Pedrosa, F. de O., Müller-Santos, M., & de Souza, E. M. (2020). What did we learn from plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)-grass associations studies through proteomic and metabolomic approaches? *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 607343.
- Albicoro, F. J., Vacca, C., Cafiero, J. H., Draghi, W. O., Martini, M. C., Goulian, M., Lagares, A., & Del Papa, M. F. (2023). Comparative proteomic analysis revealing ActJ-regulated proteins in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Proteome Research*, 22(6), 1682–1694.
- Alghamdi, S. S. (2009). Heterosis and combining ability in a diallel cross of 8 faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Asian J. Crop Sci.*, 1(2), 66–76.
- Ali, A. H., & Mussa, A. H. (2020). ANTI-ADHESIVE ACTIVITY OF PHENAZINE PRODUCED BY *P. AERUGINOSA* ISOLATED FROM RHIZOSPHERE PLANT ROOT FROM IRAQI SOIL AGAINST SOME WOUND AND BURN INFECTION BACTERIA. *Biochemical & Cellular Archives*, 20(1).
- Ali, B., Wang, X., Saleem, M. H., Sumaira, H. A., Afridi, M. S., others, & Ali, S. (2022). PGPR-mediated salt tolerance in maize by modulating plant physiology, antioxidant defense, compatible solutes accumulation and bio-surfactant producing genes. *Plants*, 11(3), 345. Kumar, A., Voropaeva, O., Maleva, M., Panikovskaya, K., Borisova, G., Rajkumar, M., & Bruno, L. B., 266.
- Alia, K. V., Prasad, S. K., & Saradhi, P. P. (1995). Effect of zinc on free radicals and proline in Brassica and Cajanus. *Phytochemistry*, 39, 45–47. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00919-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00919-K)
- Aljuhani, W., Zhang, Y., Wylie, M., Xu, Y., McCoy, C., & Bell, S. (2023). Probing the Interaction Of ex Situ Biofilms With Plasmonic Metal Nanoparticles Using Surface-enhanced Raman Spectroscopy. *Analyst*, 9(148), 2002–2011. <https://doi.org/10.1039/d3an00301a>
- Alloway, B. J. (2013). Sources of heavy metals and metalloids in soils. In H. Metals (Ed.), *in Soils Environmental Pollution, ed. B. J. Alloway (: Netherlands* (pp. 11–50). Springer.
- ALSTRÖM, S. (1991). Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 37(6), 495–501.
- Alström, S., & Burns, R. G. (1989). Cyanide production by rhizobacteria as a possible mechanism of plant growth inhibition. *Biology and Fertility of Soils*, 7, 232–238.
- Álvarez, S., & Sánchez-Blanco, M. J. (2014). Long-term effect of salinity on plant quality, water relations, photosynthetic parameters and ion distribution in *Callistemon citrinus*. *Plant Biol.* 16, 757–764.
- Alzahrani, S. M., Alaraidh, I. A., Migdadi, H., Alghamdi, S., Khan, M. A., & Ahmad, P. (2019). Physiological, biochemical, and antioxidant properties of two genotypes of *Vicia faba* grown under salinity stress. *Pak. J. Bot.*, 51(3), 786–798.
- Ambrose, M., Duc, G., Angelova, S., & Suso, M. J. (2006). In: Maggioni, L., Lipman. In *E. Report of the ECP/GR Oil and Protein Crops Network. Coordinating. ECPGR.* www.ecpgr.cgiar.org/Networks/NCG_March06/NCG_Bonn_March_2006.
- Ambrosini, V. G., Rosa, D. J., Basso, A., Borghezani, M., Pescador, R., Miotto, A., Melo, G. W. B.,

- Soares, C. R. F. S., Comin, J. J., & Brunetto, G. (2017). Liming as an ameliorator of copper toxicity in black oat (*Avena strigosa* Schreb.). *Journal of Plant Nutrition*, *40*, 404–416.
- Ambrosini, V. G., Rosa, D. J., de Melo, G. W. B., Zalamea, J., & Cella, C. S. (2018). o. D. G., Brunetto, G, 128, 89e.
- Amede, T., von Kittlitz, E., & Schubert, S. (1999). Differential drought responses of faba beans (*Vicia faba* L.) inbred lines. *J. Agron. Crop Sci.*, *183*, 35–45.
- Amini, F., Askary, M., & Mohtashami, F. (2018). Effects Of Salinity and External Proline On Seed Germination And Early Growth Of *Cucumis Sativus* CV. *Super Ps. Nusantara Biosci*, *4*(10), 215–220. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n100403>
- Amtmann, A., Troufflard, S., & Armengaud, P. (2008). The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiologia Plantarum*, *133*(4), 682–691.
- Andre´s-Bordería, A., Andre´s, F., Garcia-Molina, A., Perea-García, A., Domingo, C., & Puig, S. P. (2017). arrubia, L. *Copper and Ectopic Expression of the Arabidopsis Transport Protein*, *95*(1e).
- Andrejević, T., Ašanin, D., Pantović, B., Stevanović, N., Marković, V., Djuran, M., others, & Glisic, B. (2023). Metal Complexes With Valuable Biomolecules Produced By *pseudomonas Aeruginosa*: a Review Of The Coordination Properties Of Pyocyanin, Pyochelin And Pyoverdines. *Dalton Trans.*, *14*(52), 4276–4289. <https://doi.org/10.1039/d3dt00287j>
- Anjaiah, V. (2004). *Biological control mechanisms of fluorescent pseudomonas species involved in control of root diseases of vegetables/ fruits.*, 453-500. https://doi.org/10.1007/0-306-48575-3_12
- Ansari, F., & Ahmad, I. (2019). Fluorescent *pseudomonas* -fap2 and *bacillus licheniformis* interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and photosynthetic attributes. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40864-4>
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *55*, 373–399.
- Arakawa, T., & Timasheff, S. (1985). The stabilization of proteins by osmolytes. *Biophys. J.*, *47*, [Cros, 411–414.
- Arbaoui, M., & Link, W. (2006). Three approaches to screen faba bean (*Vicia faba* L.) for winter hardiness. In C. M. Avila, J. I. Cubero, M. T. Moreno, M. J. Suso, & A. M. Torres (Eds.), *International Workshop on Faba Bean Breeding and Agronomy* (pp. 112–113). Junta de Andalucí a.
- Arbaoui, M., Link, W., Satovic, Z., & Torres, A. M. (2008). *Quantitative trait loci of frost tolerance and physiologically related trait in faba bean.* *Vicia faba* L.). *Euphytica*. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9654-0>
- Arteca, R. N., & Arteca, J. M. (2007). Heavy-metal-induced ethylene production in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Physiol.*, *164*, 1480–1488.
- Ashar, A., Bhatti, I., Jilani, A., Mohsin, M., Rasul, S., Iqbal, J., others, & Al-Ghamdi, A. (2021). Enhanced Solar Photocatalytic Reduction Of Cr(vi) Using a (Zno/cuo) Nanocomposite Grafted Onto A Polyester Membrane For Wastewater Treatment. *Polymers*, *22*(13), 4047. <https://doi.org/10.3390/polym13224047>
- Ashraf, M., Berge, S. H., & Mahmood, O. T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol Fertil Soils*, *40*, 157–162. <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y>
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Hoque, A., Islam, M. Z., Shahidullah, S. M., & Meon, S. (2009). Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, *8*(7).
- Askri, H., Rejeb, S., Jebari, H., Nahdi, H., & Rejeb, M. N. (2007). Effet du chlorure de sodium sur la germination des graines de trois variétés de pastèque (*Citrullus lanatus* L.). *Science et Changements Planétaires/Sécheresse*, *18*(1), 51–55.
- Avila, C. M., Satovic, Z., Sillero, J. C., Rubiales, D., Moreno, M. T., & Torres, A. M. (2004). Isolate and organ-specific QTLs for ascochyta blight resistance in faba bean. *Theor. Appl. Genet.*, *108*, 1071–1078.

- Azadikhah, M., Jamali, F., Nooryazdan, H., & Bayat, F. (2019). Growth Promotion and Yield Enhancement Of Barley Cultivars Using Acc Deaminase Producing Pseudomonas Fluorescens Strains Under Salt Stress. *Span J Agric Res*, *1*(17). <https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13828>
- Azeem, M. A., Shah, F. H., Ullah, A., Ali, K., Jones, D. A., Khan, M. E. H., & Ashraf, A. (2022). Biochemical characterization of halotolerant bacillus safensis pm22 and its potential to enhance growth of maize under salinity stress. *Plants*, *11*(13), 1721.
- Azizoglu, U., Yilmaz, N., Simsek, O., Ibal, J. C., Tagele, S. B., & Shin, J.-H. (2021). The fate of plant growth-promoting rhizobacteria in soilless agriculture: Future perspectives. *3 Biotech*, *11*(8), 382.
- Babu, M. A., Singh, D., & Gothandam, K. M. (2012). *The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1*.
- Badran, F., Ahmed, E., Sayed, A., Mohamed, M., & Ibrahim, S. (2006). Effect Of Ga³ Treatment On Osmotic-stressed Jojoba Seedlings: I-vegetative Growth. *AJAS*, *3*(37), 47–69. <https://doi.org/10.21608/ajas.2006.274622>
- Bag, S., Mondal, A., & Banik, A. (2022). Exploring tea (Camellia sinensis) microbiome: Insights into the functional characteristics and their impact on tea growth promotion. *Microbiological Research*, *254*, 126890.
- Bai, J., Chao, Y., Chen, Y., Wang, S., & Qiu, R. (2017). Immobilization of Cu by Bacillus subtilis DBM and the role of extracellular polymeric substances. *Water Air Soil Pollut.*, *228*(3), 86.
- Bai, J., Chao, Y., Chen, Y., Wang, S., & Qiu, R. (2019). The effect of interaction between Bacillus subtilis DBM and soil minerals on Cu (II) and Pb (II) adsorption. *J. Environ. Sci.*, *78*(328e), 337.
- Baize, D. (1994). Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français. *Courr. Environnement INRA*, *22*(22), 37e.
- Bajji, M., Lutts, S., & Kinet, J.-M. (2001). Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (Triticum durum Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, *160*(4), 669–681.
- Bakhiet, M. A., El-Said, R. A. R., Raslan, M. A., & Abdalla, N. G. (2015). Genetic variability, heritability and correlation in some faba bean genotypes under different sowing dates. *World Applied Sciences Journal*, *33*(8), 1315–1324.
- Bakker, P. A., Doornbos, R. F., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., & Pieterse, C. M. (2007). Induced systemic resistance by fluorescent Pseudomonas spp. *Phytopathology*, *97*(2), 239–243.
- Bakker, P. A. H. M., Glandorf, D. C. M., Viebahn, M., Ouwens, T. W. M., Smit, E., Leeflang, P., Wernars, K., Thomashow, L. S., Thomas-Oates, J. E., & van Loon, L. C. (2002). Effects of Pseudomonas putida modified to produce phenazine-1-carboxylic acid and 2, 4-diacetylphloroglucinol on the microflora of field grown wheat. *Antonie van Leeuwenhoek*, *81*, 617–624.
- Bakker, P., Lamers, J. G., Bakker, A. W., Marugg, J. D., Weisbeek, P. J., & Schippers, B. (1986). The role of siderophores in potato tuber yield increase by Pseudomonas putida in a short rotation of potato. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, *92*, 249–256.
- Balko, C. (2005). Physiological parameters of drought tolerance in relation to yield and yield stability in faba beans. In *InterDrought-II. The 2nd Conf. on Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production under Drought Stress*. p. 5.08. , Italy.
- Baloch, F. S., Karaköy, T., Demirbaş, A., Toklu, F., Özkan, H., & others. (2014). Variation of some seed mineral contents in open pollinated faba bean (Vicia faba L.) landraces from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *38*, 591–602. <https://doi.org/10.3906/tar-1311-31>
- Baloch, K., Rizwan, S., Mahmood, K., Jan, M. H., Hussain, J., Shah, A., Khan, I., Mehmood, Z., Iqbal, S., & Azam, M. (2017). *Biochemical and trace elements composition of faba bean (Vicia faba L.) cultivated in Panjgur and Kech districts of Balochistan. Pure and Applied Biology. Vol. 6, Issue 3, pp981-988*.
- Bangar, S. P., & Kajla, P. (2022). Introduction: Global Status and Production of Faba-Bean. In *Faba Bean: Chemistry, Properties and Functionality* (pp. 1–15). Springer.
- Bao, S., Wang, L., Lu, M., & He, Y. (2006). Analysis for genetic diversity of landraces of Vicia faba

- in Yunnan, China. In C. M. Avila, J. I. Cubero, M. T. Moreno, M. J. Suso, & A. M. Torres (Eds.), *International Workshop on Faba Bean Breeding and Agronomy* (pp. 196–200). Junta de Andalucía.
- Barakat, R. (2012). *Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par Pseudomonas aeruginosa*. Université de La Rochelle.
- Baraldi, R., Przybysz, A., Facini, O., Pierdonà, L., Carriero, G., Bertazza, G., others, & Neri, L. (2019). Impact of drought and salinity on sweetgum tree (liquidambar styraciflua l.): understanding tree ecophysiological responses in the urban context. *Forests*, *10*(11), 1032. <https://doi.org/10.3390/f10111032>
- Barassi, C. A., Ayrault, G., Creus, C. M., Sueldo, R. J., & Sobrero, M. T. (2006). Seed inoculation with Azospirillum mitigates NaCl effects on lettuce. *Sci Horti*, *109*, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.025>
- Barelmann, I., Taraz, K., Budzikiewicz, H., Geoffroy, V., & Meyer, J. M. (2002). The structures of the pyoverdins from two Pseudomonas fluorescens strains accepted mutually by their respective producers. *Z Naturforsch*, *57*(1–2), 9–16. <https://doi.org/10.1515/znc-2002-1-202>
- Bargaz, A., Elhaisoufi, W., Khourchi, S., Benmrid, B., Borden, K. A., & Rchiad, Z. (2021). Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiological Research*, *252*, 126842.
- Baron, S. S., & Rowe, J. J. (1981). Antibiotic action of pyocyanin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *20*(6), 814–820.
- Barsainya, M., & Singh, D. P. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by pseudomonas aeruginosa and their broad-spectrum antimicrobial effects. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *12*(4), 2123–2134. <https://doi.org/10.22207/jpam.12.4.50>
- Bashan, Y., & Holguin G. (1997). Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Can J Microbiol*, *43*, 103–121. <https://doi.org/10.1139/m97-015>
- Basu, S., Gangopadhyay, G., Poddar, R., Gupta, S., & Mukherjee, B. B. (1999). *Proline enigma and osmotic stress-tolerance in rice (Oryza sativa L.)*. Universities Press Hyderabad, India.
- Batool, R., Hameed, M., Ashraf, M., Ahmad, M. S. A., & Fatima, S. (2015). Physio-anatomical responses of plants to heavy metals. In M., M. Ashraf, A. Aksoy, & M. S. A. Ahmad (Eds.), *O€ ztürk. Phytoremediation for Green Energy*. Springer.
- Baxter, A., Mittler, R., & Suzuki, N. R. O. S. (2014). as key players in plant stress signalling. *J. Exp. Bot*, *65*,. [Cros, 1229–1240.
- Bayuelo-Jiménez, J. S., Craig, R., & Lynch, J. P. (2002). Salinity tolerance of Phaseolus species during germination and early seedling growth. *Crop Science*, *42*(5), 1584–1594.
- Bechtaoui, N., Raklami, A., Benidire, L., Tahiri, A., Göttfert, M., & Oufdou, K. (2020). *Effects Of Pgpr Co-inoculation On Growth*.
- Begum, N., Hu, Z., Cai, Q., & Lou, L. (2019). Influence of PGPB inoculation on HSP70 and HMA3 gene expression in switch grass under cadmium stress. *Plants.*, *8*, 504.
- Belkhdja, M., & Benkabilia, M. (2000). Proline response of faba bean (Vicia faba L.) under salt stress. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, *78*(1), 185195.
- Belovolova, A., Gromova, N., Esaulko, A., Golosnoy, E., & Grechishkina, Y. (2020). Influence of saline soils and mineral fertilizers on the germination and formation of sunflower seeds. *E3s Web of Conferences*, *164*. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016406016>
- Benaissa, S., Tuytens, F. A. M., Plets, D., De Pessemier, T., Trogh, J., Tanghe, E., Martens, L., Vandaele, L., Van Nuffel, A., & Joseph, W. (2019). On the use of on-cow accelerometers for the classification of behaviours in dairy barns. *Research in Veterinary Science*, *125*, 425–433.
- Beneduzi, A., Moreira, F., Costa, P. B., Vargas, L. K., Lisboa, B. B., Favreto, R., Baldani, J. I., & Passaglia, L. M. P. (2013). Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. *Applied Soil Ecology*, *63*, 94–104.
- Benouis, S., & Reguigue, H. A. H. (2016). Phytotoxicity of copper on the physiological parameters of two varieties of broad bean (Vicia faba). *International Conference on Agricultural, Civil and*

Environmental Engineering (ACEE-16). Istanbul, Turkey.

Benouis, S., Yssaad, H., Bouziani, E., & Khedim, I. (2021). Physiological Responses Of Vicia Faba To Copper Toxicity. *AST*, 13(1), 63–69. <https://doi.org/10.15547/ast.2021.01.012>

Berendsen, R., Verk, M., Stringlis, I., Zamioudis, C., Tommassen, J., Pieterse, C., others, & Bakker, P. (2015). Unearthing the genomes of plant-beneficial pseudomonas model strains wcs358, wcs374 and wcs417. *BMC Genomics*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1632-z>

Berg, G., Eberl, L., & Hartmann, A. (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology*, 7(11), 1673–1685.

Berg, G., & Zachow, C. (2011). PGPR interplay with rhizosphere communities and effect on plant growth and health. In *Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems* (pp. 97–109). Springer.

Bergman, I., & Loxley, R. (1970). New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolysates. *Anal Chem*, 42(7), 702–706. <https://doi.org/10.1021/ac60289a036>

Berkessa, A. J. (2020). Salinity and avocado production, a review. *International Journal of Forestry and Horticulture*, 6(1). <https://doi.org/10.20431/2454-9487.0601004>

Bernal, M., Ramiro, M. V, Cases, R., Picorel, R., & Yruela, I. (2006). Excess copper effect on growth, chloroplast ultrastructure, oxygen-evolution activity and chlorophyll fluorescence in Glycine max cell suspensions. *Physiol. Plant.*, 127, 312–325. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00641.x>

Berry, W., & Wallace, A. (1981). Toxicity: The concept and relationship to the dose response curve. *J. Plant Nutr*, 3, [Cross, 13–19.

Bessai, S. A., Bensidhoum, L., & Nabti, E. H. (2022). Optimization of IAA production by telluric bacteria isolated from northern Algeria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 41.

Betzen, B. M., Smart, C. M., Maricle, K. L., & MariCle, B. R. (2019). Effects of increasing salinity on photosynthesis and plant water potential in Kansas salt marsh species. *Trans. Kans. Acad. Sci*, 122, [Cro, 49–58.

Bezini, E., Abdelguerfi, A., Nedjimi, B., Touati, M., & Adli B. & Yabrir, B. (2019). Effect of some heavy metals on seed germination of *Medicago arborea* L. (Fabaceae). *Agriculturae Conspectus Scientificus* 84:, 357–364.

Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., & Sharma, K. K. (2008). Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Reports*, 27, 411–424.

Binenbaum, J., Weinstain, R., & Shani, E. (2018). Gibberellin localization and transport in plants. *Trends Plant Sci.*, 23, 410–421.

Biswas, N., Yadav, S., Yadav, S., Choudhary, R., Saini, N., & others. (2020). Vigor difference during storage and germination in {I}ndian mustard explained by reactive oxygen species and antioxidant enzymes. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44, 577–588. <https://doi.org/10.3906/tar-1909-48>

Blaha, D., Prigent-Combaret, C., Mirza, M. S., & Moënné-Loccoz, Y. (2006). Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene *acdS* in phytobeneficial and pathogenic Proteobacteria and relation with strain biogeography. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(3), 455–470.

Blanco-Vargas, A., Rodríguez-Gacha, L. M., Sánchez-Castro, N., Garzón-Jaramillo, R., Pedroza-Camacho, L. D., Poutou-Piñales, R. A., others, & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2020). Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp., and *Serratia* sp., co-culture for *Allium cepa* L. growth promotion. *Heliyon*, 6(10).

Bochicchio, R., Sofo, A., Terzano, R., Gattullo, C. E., Amato, M., & Scopa, A. (2015). Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/ Zn-gradient agar dishes: a new screening technique for studying plant response to metals. *Plant Physiol. Biochem.*, 91(20e), 27.

Bodelón, G., Montes-García, V., Costas, C., Pérez-Juste, I., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., others, & Liz-Marzán, L. (2017). Imaging Bacterial Interspecies Chemical Interactions By Surface-enhanced Raman Scattering. *ACS Nano*, 5(11), 4631–4640. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.7b00258>

Boer, W., Folman, L. B., Summerbell, R. C., & Boddy, L. (2003). Living in a fungal world: impact

of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 795–811.

Bond, D. A., Lawes, D. A., Hawtin, G. C., Saxena, M. C., & Stephens, J. S. (1985). Faba bean (*Vicia faba* L.). In R. J. Summerfield & E. H. Roberts (Eds.), *Grain Legume Crops*. William Collins Sons Co (pp. 199–265). Ltd.

Bonsall, C., & others. (1997). Extraction method for the production, extraction, and purification of pyocyanin leading to a dark blue dry substrate. *Journal of Microbial Methods*, 20(3), 215–220.

Boonmahome, P., & Mongkolthanaruk, W. (2023). Characterization of indole-3-acetic acid biosynthesis and stability from *Micrococcus luteus*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(3), 187–192.

Borghini, M., Souza, L., Yoshida, T., & Fernie, A. (2019). Flowers and climate change: a metabolic perspective. *New Phytologist*, 224(4), 1425–1441. <https://doi.org/10.1111/nph.16031>

Bose, J., Munns, R., Shabala, S., Gilliam, M., Pogson, B., & Tyerman, S. D. (2017). Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. *J. Exp. Bot.*, 68, 3129–3143.

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. R. O. S. (2014). homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *J. Exp. Bot.*, 65,. [Cros, 1241–1257.

Bouda, H., Tapondjou, L. A., Fontem, D. A., & Gumedzoe, M. Y. D. (2001). Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 37(2), 103–109.

Bozokalfa, M. K., Yagmur, B., Ilbi, H., Esiyok, D., & Kavak, S. (2009). Genetic variability for mineral concentration of *Eruca sativa* L. and *Diplotaxis tenuifolia* L. accessions. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9, 372–381.

Brambilla, E., Ionescu, A., Cazzaniga, G., Ottobelli, M., & Samaranyake, L. (2015). Levorotatory carbohydrates and xylitol subdue streptococcus mutans and candida albicans adhesion and biofilm formation. *Journal of Basic Microbiology*, 56(5), 480–492. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500329>

Brisar, R., Unglaube, F., Hollmann, D., Jiao, H., & Mejía, E. (2018). Aerobic oxidative homo- and cross-coupling of amines catalyzed by phenazine radical cations. *The Journal of Organic Chemistry*, 83(21), 13481–13490. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b02345>

Brunetto, G., Rosa, D. J., Ambrosini, V. G., Heinzen, J., Ferreira, P. A., Ceretta, C. A., & Farias, J. G. (2019). Use of phosphorus fertilization and mycorrhization as strategies for reducing copper toxicity in young grapevines. *Sci. Hortic.*, 248(176e), 183.

Budzikiewicz, H. (1996). Siderophores from fluorescent *Pseudomonas*. *Studies in Natural Products Chemistry*, 19, 793–835.

Budzikiewicz, H., Schäfer, M., Fernández, D., & Meyer, J. (2006). Structure Proposal for a New Pyoverdine from *Pseudomonas* sp. PS 6.10. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 61(11–12), 815–820. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-11-1208>

Burkhead, J. L., Gogolin Reynolds, K. A., Abdel-Ghany, S. E., Cohu, C. M., & Pilon, M. (2009). Copper homeostasis. *New Phytol.*, 182, 799–816. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x>

Byerrum, R. U., Sato, C. S., & Ball, C. D. (1956). Utilization of Betaine as a Methyl Group Donor in Tobacco. *Plant Physiol*, 31, 374–377.

Cai, S., Chen, G., Wang, Y., Huang, Y., Marchant, D. B., Wang, Y., Yang, Q., Dai, F., Hills, A., Franks, P. J., & others. (2017). Evolutionary conservation of ABA signaling for stomatal closure. *Plant Physiol*, 174,. [Cro, 732–747.

Cai, S., Xiong, Z., Li, L., Li, M., Zhang, L., Liu, C., & Xu, Z. (2014). Differential responses of root growth, acid invertase activity and transcript level to copper stress in two contrasting populations of *Elsholtzia haichowensis*. *Ecotoxicology*, 23(1), 76e.

Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A. A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., & Gokmen, O. (2010). Biofortification and localization of zinc in wheat grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9092–9102.

Cambrolle, J., García, J. L., Figueroa, M. E., & Cantos, M. (2015). Evaluating wild grapevine

tolerance to copper toxicity. *Chemosphere*, 120(171e), 178.

çamlica, M., & Yaldiz, G. (2017). Effect of Salt Stress on Seed Germination, Shoot and Root Length in Basil (*Ocimum basilicum*). *Int. J. Sec. Metabolite*, 4(3), 69–76.

Cao, F., Yoshioka, K., & Desveaux, D. (2011). The roles of aba in plant--pathogen interactions. *Journal of Plant Research*, 124(4), 489–499. <https://doi.org/10.1007/s10265-011-0409-y>

Cao, Y., Ma, C., Chen, H., Chen, G., White, J. C., & Xing, B. (2020). Copper stress in flooded soil: impact on enzyme activities, microbial community composition and diversity in the rhizosphere of *Salix integra*. *Sci. Total Environ.*, 704.

Caroli, M., Furini, A., DalCorso, G., Rojas, M., & Di Sansebastiano, G. P. (2020). Endomembrane reorganization induced by heavy metals. *Plants*, 9(4), 482.

Carrillo-Castañeda, G., Juárez Muños, J., Peralta-Videa, J. R., Gomez, E., Tiemannb, K. J., Duarte-Gardea, M., & Gardea-Torresdey, J. (2002). L.: Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. *Advances in Environmental Research*, 6, 391–399.

Casanovas, E. M., Barassi, C. A., Andrade, F. H., & Sueldo, R. J. (2003). Azospirillum-inoculated maize plant responses to irrigation restraints imposed during flowering. *Cereal Res Commun*, 31, 395–402.

Caubel, G., & Leclercq, D. (1989). Vicia faba lines resistant to the giant race of stem nematode *Ditylenchus dipsaci* Kuehn Fil. *Fabis Newsl.*, 25, 45–48.

Cazzato, E., Tufarelli, V., Ceci, E., Stellacci, A. M., & Laudadio, V. (2012). Quality, yield and nitrogen fixation of faba bean seeds as affected by sulphur fertilization. *Acta Agriculturae Scandinavica, Soil and Plant Science*, 62, 732–738.

CETESB. (2016). *Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2016) Decisão da diretoria nº 068/2016/E de 22 de novembro de 2016- Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo – 2016. [Guidance values for soil and groundwater at São Paulo stat.* <https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro1256540/decisao>

Cezairliyan, B., Vinayavekhin, N., Grenfell-Lee, D., Yuen, G., Saghatelian, A., & Ausubel, F. (2013). Identification of pseudomonas aeruginosa phenazines that kill caenorhabditis elegans. *Plos Pathogens*, 9(1), e100310. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003101>

Chai, Z., Wang, C., & Bi, H. (2021). Rapid Identification Between Two Fish Species Using Uv-vis Spectroscopy For Substitution Detection. *Molecules*, 21(26), 6529. <https://doi.org/10.3390/molecules26216529>

Chakraborty, K., Bhaduri, D., Meena, H. N., & Kalariya, K. (2016). External potassium (K+) application improves salinity tolerance by promoting Na+-exclusion, K+-accumulation and osmotic adjustment in contrasting peanut cultivars. *Plant Physiol. Biochem*, 103,. [Cro, 143–153.

Chandrasekhar, C., & Ray, J. G. (2017). Copper accumulation, localization and antioxidant response in *Eclipta alba* L. *Relation to Quantitative Variation of the Metal in Soil. Acta Physiologiae Plantarum*, 39(205), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2508-4>

Chaney, R. áL. (1993). Zinc phytotoxicity. *Zinc in Soils and Plants: Proceedings of the International Symposium on 'Zinc in Soils and Plants' Held at The University of Western Australia, 27–28 September, 1993*, 135–150.

Chapalain, A., Vial, L., Laprade, N., Dekimpe, V., Perreault, J., & Déziel, E. (2013). Identification of quorum sensing-controlled genes in *Burkholderia ambifaria*. *Microbiologyopen*, 2(2), 226–242.

Chartzoulakis, K., & Klapaki, G. (2000). Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci Hort*, 86, 247–260.

Chaudhuri, K., & Choudhuri, M. A. (1997). Effects of short-term NaCl stress on water relations and gas exchange of two jute species. *Biol. Plant*, 40,. [Cros, 373–380.

Cheeseman, J. M. (2013). *The integration of activity in saline environments: problems and perspectives*.

Cheluvappa, R., Shimmon, R., Dawson, M., Hilmer, S., & Le Couteur, D. (2008). Reactions of *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin with reduced glutathione. *Acta Biochimica Polonica*, 55(3), 571–

580.

Chen, C. T., Chen, L. M., Lin, C. C., & Kao, C. H. (2001). Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Sci.*, *160*, 283–290.

Chen, G., Zhang, W., Kong, L., Wang, C., Lai, X., Yu, X., Guo, Y., Wu, J., & Ma, Q. (2022). Qiguiyin decoction improves multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection in rats by regulating inflammatory cytokines and the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. *BioMed Research International*, 2022.

Chen, J., Peng, D., Shafi, M., Li, S., Wu, J., & Ye, Z. (2014). Effect of copper toxicity on root morphology, ultrastructure, and copper accumulation in Moso Bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Verlag Der Zeitschrift Fur Naturforschung. Tubingen*, *69c*, 399–406. <https://doi.org/10.5560/ZNC.2014-0022>

Chen, J., Shafi, M., Li, S., Wang, Y., Wu, J., Ye, Z., Peng, D., Yan, W., & Liu, D. (2015). Copper induced oxidative stresses, antioxidant responses and phytoremediation potential of Moso bamboo (*Phyllostachys Pubescens*). *Sci. Rep.*, *5*, 13554.

Chen, K., Li, G. J., Bressan, R. A., Song, C. P., Zhu, J. K., & Zhao, Y. A. (2020). acid dynamics, signaling, and functions in plants. *J. Integr. Plant Biol*, *62*,. [Cros, 25–54.

Chen, S., Li, T., Wan, S., Huang, X., Cai, S., He, X., others, & Zhang, R. (2019). Effect of nitrogen-doped graphene oxide on the aging behavior of nitrile--butadiene rubber. *Polymers*, *11*(10), 1637. <https://doi.org/10.3390/polym11101637>

Chen, W., Roslund, K., Fogarty, C. L., Pussinen, P. J., Halonen, L., Groop, P. H., others, & Lehto, M. (2016). Detection of hydrogen cyanide from oral anaerobes by cavity ring down spectroscopy. *Scientific Reports*, *6*(1), 22577.

Chen, X. C., Wang, Y. P., Lin, Q., Shi, J. Y., Wu, W. X., & Chen, Y. X. (2005). Biosorption of copper (II) and zinc (II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1. *Colloids Surf., B*, *46*(2), 101e.

Chen, Z., Cuin, T. A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B. P., & Shabala, S. (2007). Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *58*(15–16), 4245–4255.

Chernyshev, A., Guda, A., Cannizzo, A., Solov'eva, E., Voloshin, N., Rusalev, Y., others, & Metelitsa, A. (2019). Operando Xas and Uv--vis Characterization Of The Photodynamic Spiropyran--zinc Complexes. *J. Phys. Chem. B*, *6*(123), 1324–1331. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b11010>

Chibuike, G. U., & Obiora, S. C. (2014). Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *Appl. Environ. Soil Sci.*, *1e12*.

Chithrashree, A. C., Udayashankar, S., Nayaka, C., Reddy, M. S., & Srinivas, C. (2011). Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae*. *Biological Control*, *59*, 114–122.

Choi, H. K., Mun, J. H., Kim, D. J., Zhu, H., Baek, J. M., Mudge, J., Roe, B., Ellis, N., Doyle, J., Kiss, G. B., Young, N. D., & Cook, D. R. (2004). Estimating genome conservation between crop and model legume species. *Proc. Natl*, 15289–15294.

Choirunnisa, J., Widiyastuti, Y., Sakya, A., & Yunus, A. (2021). Morphological characteristics and flavonoid accumulation of *echinacea purpurea* cultivated at various salinity. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *22*(9). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220915>

Choudhary, D. K., Prakash, A., & Johri, B. N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, *47*, 289–297.

Choudhary, S. P., Bhardwaj, R., Gupta, B. D., Dutt, P., Gupta, R. K., Biondi, S., & Kanwar, M. (2010). Epibrassinolide induces changes in indole-3-acetic acid, abscisic acid and polyamine concentrations and enhances antioxidant potential of radish seedlings under copper stress. *Physiologia Plantarum*, *140*(3), 280–296.

Choudhary, S. P., Oral, H. V, Bhardwaj, R., Yu, J. Q., Lam-Son, P., & Tran, L. S. P. (2012). Interaction of brassinos- teroids and polyamines enhances copper stress tolerance in *Raphanus sativus*. *J. Exp. Bot.*, *63*, 5659–5675.

- Choudhury, D., Tarafdar, S., & Dutta, S. (2022). *Plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) and their eco-friendly strategies for plant growth regulation: a review*. *Plant Science Today*. <https://doi.org/10.14719/pst.1604>
- Chowdhary, V., Alooparampil, S., Pandya, R., & Tank, J. (2022). *Physiological function of phenolic compounds in plant defense system*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101131>
- Chu, T., Le, B., & Hoang, M. (2020). Pseudomonas ps01 isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. *Microorganisms*, 8(4), 471. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040471>
- Chu, T., Tran, B., Le, B., & Hoang, M. (2019). Plant growth-promoting rhizobacterium pseudomonas ps01 induces salt tolerance in arabidopsis thaliana. *BMC Research Notes*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4046-1>
- Cokkizgin A. (2012). Salinity Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed Germination. *Not Bot Horti Agrobo*, 40(1), 177–182.
- Comai, L., Young, K., Till, B. J., Reynolds, S. H., Greene, E. A., Codomo, C. A., Enns, L. C., Johnson, J. E., Odden, A. R., & Henikoff, S. (2004). Efficient discovery of DNA polymorphisms in natural populations by Ecotilling. *Plant J.*, 37, 778–786.
- Commission, E. (2008). Commission Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and co. *Official Journal of the European Union*, 250, 1–84.
- Conde, A., Regalado, A., Rodrigues, D., Costa, J. M., Blumwald, E., Chaves, M. M., & Gerós, H. (2014). Polyols in grape berry: Transport and metabolic adjustments as a physiological strategy for water-deficit stress tolerance in grapevine. *J. Exp. Bot.*, 66. [Cros, 889–906.
- Conforte, V. P., Echeverria, M., Sánchez, C., Ugalde, R. A., Menéndez, A. B., & Lepek, V. C. (2010). Engineered ACC deaminase-expressing free-living cells of Mesorhizobium loti show increased nodulation efficiency and competitiveness on Lotus spp. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 56(4), 331–338.
- Coninck, T., Gistelinc, K., Rensburg, H., Ende, W., & Damme, E. (2021). Sweet modifications modulate plant development. *Biomolecules*, 11(5), 756. <https://doi.org/10.3390/biom11050756>
- Conti, L., Price, G., O'Donnell, E., Schwessinger, B., Dominy, P., & Sadanandom, A. (2008). Small ubiquitin-like modifier proteases OVERLY TOLERANT TO SALT1 and -2 regulate salt stress responses in Arabidopsis. *Plant Cell*, 20, 2894–2908.
- Craig, G. F., Atkins, C. A., & Bell, D. T. (1991). Effect of salinity on growth of Rhizobium and their infectivity and effectiveness on two species of Acacia. *Plant Soil*, 133, 253–262.
- Crawford, T., Lehotai, N., & Strand, A. (2018). *The role of retrograde signals during plant stress responses*.
- Creus, C. M., Sueldo, R. J., & Barassi, C. A. (1997). Shoot growth and water status in Azospirillum-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. *Plant Physiol Biochem*, 35, 939–944.
- Cruz, J. L., Coelho, E. F., Coelho Filho, M. A., & Santos, A. A. D. (2018). Salinity reduces nutrients absorption and efficiency of their utilization in cassava plants. *Ciência Rural*, 48, e20180.
- Cuba-díaz, M., Marín, C., Castel, K., Machuca, Á., & Rifo, S. (2017). Effect of copper (II) ions on morpho-physiological and biochemical variables in Colobanthus quitensis. *Journal of Soil Science*, 17(2), 429–440.
- Cubero, J. I. (1974). On the evolution of Vicia faba. *Theor. Appl. Genet.*, 45, 47–51.
- Cui, J. L., Zhao, Y. P., Lu, Y. J., Chan, T. S., Zhang, L. L., Tsang, D. C., & Li, X. D. (2019). Distribution and speciation of copper in rice (*Oryza sativa* L.) from mining-impacted paddy soil: implications for copper uptake mechanisms. *Environ. Int.*, 26(717e), 726.
- Daoud, L., Jlidi, M., Hmani, H., Hadj Brahim, A., El Arbi, M., & Ben Ali, M. (2017). Characterization of thermo-solvent stable protease from Halobacillus sp. CJ4 isolated from Chott Eldjerid hypersaline lake in Tunisia. *Journal of Basic Microbiology*, 57(2), 104–113.

- Das, P., & Ma, L. Z. (2013). Pyocyanin pigment assisting biosurfactant-mediated hydrocarbon emulsification. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *85*, 278–283.
- Das, T. (2021). *pseudomonas aeruginosasecreted biomolecules and their diverse functions in biofilm formation and virulence*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96866>
- Das, T., Das, B., Young, B. C., Aldilla, V., Sabir, S., Almohaywi, B., Willcox, M., Manefield, M., & Kumar, N. (2023). Ascorbic acid modulates the structure of the *Pseudomonas aeruginosa* virulence factor pyocyanin and ascorbic acid-furanone-30 combination facilitate biofilm disruption. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1166607.
- Davies, W. J. (1978). Some effects of abscisic acid and water stress on stomata of *Vicia faba* L. *J. Exp. Bot.*, *29*, 175–182.
- De Bruijn, I., De Kock, M. J. D., Yang, M., De Waard, P., Van Beek, T. A., & Raaijmakers, J. M. (2007). Genome-based discovery, structure prediction and functional analysis of cyclic lipopeptide antibiotics in *Pseudomonas* species. *Molecular Microbiology*, *63*(2), 417–428.
- de Oliveira, P. D., Ambrosini, V. G., de Melo, G. W. B., Zalamena, J., & Brunetto, G. (2015). Uso de calca'rio na amenizaça o da toxidez de cobre em videiras jovens. *Cien- Tifica*, *43*(4), 427e.
- de Souza, J. T., Weller, D. M., & Raaijmakers, J. M. (2003). Frequency, diversity, and activity of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in Dutch take-all decline soils. *Phytopathology*, *93*(1), 54–63.
- de Weert, S., Vermeiren, H., Mulders, I. H. M., Kuiper, I., Hendrickx, N., Bloemberg, G. V., Vanderleyden, J., De Mot, R., & Lugtenberg, B. J. J. (2002). Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *15*(11), 1173–1180.
- Debez, A., Chaibi, W., & Bouzid, S. (2001). Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Agriculture*, *2*(10), 8–135.
- DeBritto, S., Gajbar, T. D., Satapute, P., Sundaram, L., Lakshmikantha, R. Y., Jogaiah, S., & Ito, S. I. (2020). Isolation and characterization of nutrient dependent pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa* and its dye and agrochemical properties. *Scientific Reports*, *10*(1), 1542.
- Del Castillo L. D., & Layzell, D. B. (1995). Drought stress, permeability to O₂ diffusion, and the respiratory kinetics of soybean root-nodules. *Plant Physiol.*, *107*, 1187–1194.
- Demange, P., Bateman, A., Mertz, C., Dell, A., Piémont, Y., & siderophores, A. M. A. B. (1990). structures of pyoverdins Pt, siderophores of *Pseudomonas tolaasii* NCPPB 2192, and pyoverdins Pf, siderophores of *Pseudomonas fluorescens* CCM 2798. Identification of an unusual natural amino acid. *Biochemistry*, *29*(50), 11041–11051. <https://doi.org/10.1021/bi00502a005>
- Deolu-Ajayi, A. O., Meyer, A. J., Haring, M. A., Julkowska, M. M., & Testerink, C. (2019). Genetic loci associated with early salt stress responses of roots. *IScience*, *21*, 458–473.
- Diaz, J., Angeles, B., Pomar, F., & Merino, F. (2001). Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Science*, *161*, 179–188.
- Diego, K., Alindayu, J., & Baculi, R. (2018). Biosynthesis Of Gold Nanoparticles By Bacteria From Hyperalkaline Spring and Evaluation Of Their Inhibitory Activity Against Pyocyanin Production. *J Microb Biotech Food Sci*, *2*(8), 781–787. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.8.2.781-787>
- Dimkpa, C. O., Zeng, J., McLean, J. E., Britt, D. W., Zhan, J., & Anderson, A. J. (2012). Production of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in the plant-beneficial bacterium *Pseudomonas chlororaphis* O6 is inhibited by ZnO nanoparticles but enhanced by CuO nanoparticles. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(5), 1404–1410.
- Ding, Z., Sanchez, T., Labouriau, A., Iyer, S., Larson, T., Currier, R., others, & Yang, D. (2010). Characterization of reaction intermediate aggregates in aniline oxidative polymerization at low proton concentration. *The Journal of Physical Chemistry B*, *114*(32), 10337–10346. <https://doi.org/10.1021/jp102623z>
- Dinnage, R., Simonsen, A. K., Barrett, L. G., Cardillo, M., Raisbeck-Brown, N., Thrall, P. H., &

- Prober, S. M. (2019). Larger plants promote a greater diversity of symbiotic nitrogen-fixing soil bacteria associated with an Australian endemic legume. *Journal of Ecology*, *107*(2), 977–991.
- Ditzler, L., Apeldoorn, D., Pellegrini, F., Antichi, D., Bàrberi, P., & Rossing, W. (2021). Current research on the ecosystem service potential of legume inclusive cropping systems in Europe. a review. *Agronomy for Sustainable Development*, *41*(2). <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00678-z>
- Do, T., Luu, T. D. A. O. M., Hoang, Q., & Nguyen, T. (2022). Isolation of salt-tolerant pseudomonas strains with potential for alleviation of salt stress in peanut plant (*Arachis hypogaea* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*, *118*(3). <https://doi.org/10.14720/aas.2022.118.3.2626>
- Domínguez-Ferreras, A., Munoz, S., Olivares, J., Soto, M. J., & Sanjuán, J. (2009). Role of potassium uptake systems in *Sinorhizobium meliloti* osmoadaptation and symbiotic performance. *Journal of Bacteriology*, *191*(7), 2133–2143.
- Domínguez-Ferreras, A., Soto, M. J., Pérez-Arnedo, R., Olivares, J., & Trehalose, S. J. (2009). Biosynthesis for *Sinorhizobium meliloti* Osmotolerance and Nodulation of Alfalfa Roots. *J Bacteriol*, *191*. <https://doi.org/10.1128/jb.00725-09>
- Du, Y.-T., Zhao, M.-J., Wang, C.-T., Gao, Y., Wang, Y.-X., Liu, Y.-W., Chen, M., Chen, J., Zhou, Y.-B., Xu, Z.-S., & others. (2018). Identification and characterization of GmMYB118 responses to drought and salt stress. *BMC Plant Biol*, *18*. [Crossref, 1–18.
- Duan, L., Sebastian, J., & Dinneny, J. R. (2015). *Salt-stress regulation of root system growth and architecture in*.
- Duc, G. (1997). Faba bean. *Vicia Faba* L.). *Field Crops Res.*, *53*, 99–109.
- Duc, G., Mariotti, A., & Amarger, N. (1987). Measurements of genetic variability for symbiotic dinitrogen fixation in field grown faba bean (*Vicia faba* L.) using a low level 15 N tracer technique. *Plant Soil*, *106*, 269–276.
- Dugassa, J., Thakkar, V. R., & Thakkar, V. R. (2021). Potential of *Pseudomonas* strains in combating root rot in faba bean plants. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *12*(3), 1–5.
- Durand, J. L., Sheehy, J. E., & Minchin, F. R. (1987). Nitrogenase activity, photosynthesis and nodule water potential in soybean plants experiencing water-deprivation. *J. Exp. Bot.*, *38*, 311–321.
- Dutta, J., & Thakur, D. (2017). Evaluation of multifarious plant growth promoting traits, antagonistic potential and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with commercial tea plants grown in darjeeling. *India. Plos One*, *12*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182302>
- Egamberdieva, D., Berg, G., Lindström, K., & Alleviation, R. L. A. (2013). of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of *Rhizobium* with root-colonizing *Pseudomonas*. *Plant Soil*, *369*, 453–465. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1586-3>
- Egamberdieva, D., Jabborova, D., & Wirth, S. (2013). *Alleviation of salt stress in legumes by co-inoculation with pseudomonas and rhizobium.*, 291-303. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4_11
- Egamberdieva, D., & Kucharova, Z. (2009). Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol Fertil Soils*, *45*, 563–571. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0366-y>
- Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., Chebotar, V., Tikhonovich, I., Kamilova, F., & Validov, S. Z. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and Fertility of Soils*, *47*, 197–205.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Behrendt, U., Abd_Allah, E. F., & Berg, G. (2016). Biochar treatment resulted in a combined effect on soybean growth promotion and a shift in plant growth promoting rhizobacteria. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 181533.
- Egamberdiyeva, D. (2007). The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*, *36*(2–3), 184–189.
- El-Fouly, M. Z., Sharaf, A. M., Shahin, A. A. M., El-Bialy, H. A., & Omara, A. M. A. (2015). Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, *8*(1), 36–48.
- El-Maarouf-Bouteau, H., & Bailly, C. (2008). Oxidative signaling in seed germination and dormancy. *Plant Signaling & Behavior*, *3*(3), 175–182.

- El-Sherbeeney, M. H., Mytton, L. R., & Lawes, D. A. (1977). Symbiotic variability in *Vicia faba* L. genetic variation in the rhizobium leguminosarum population. *Euphytica*, *26*, 149–156.
- Elbagory, M., El-Nahrawy, S., & Omara, A. (2022). Synergistic interaction between symbiotic n₂ fixing bacteria and bacillus strains to improve growth, physiological parameters, antioxidant enzymes and ni accumulation in faba bean plants (*vicia faba*) under nickel stress. *Plants*, *11*(14), 1812. <https://doi.org/10.3390/plants11141812>
- Ellis, R. J., Timms-Wilson, T. M., & Bailey, M. J. (2000). Identification of conserved traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity. *Environmental Microbiology*, *2*(3), 274–284.
- Espinosa, M. (2023). Evaluation of vicia faba plant genotypes using non-destructive vibrational molecular spectroscopic technique (atr-ft/ir): molecular structure profiles of protein in relation to nutritional characteristics. *Canadian Journal of Plant Science*, *103*(6), 558–571. <https://doi.org/10.1139/cjps-2022-0252>
- Esquivel-Cote, R., Ramírez-Gama, R. M., Tsuzuki-Reyes, G., Orozco-Segovia, A., & Huante, P. (2010). Azospirillum lipoferum strain AZm5 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase improves early growth of tomato seedlings under nitrogen deficiency. *Plant and Soil*, *337*, 65–75.
- Etesami, H., & Beattie, G. (2018). Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. *Frontiers in Microbiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00148>
- Fadiji, A. E., Orozco-Mosqueda, M. del C., Santos-Villalobos, S. de los, Santoyo, G., & Babalola, O. O. (2022). Recent developments in the application of plant growth-promoting drought adaptive rhizobacteria for drought mitigation. *Plants*, *11*(22), 3090.
- Fang, L., Cao, Y., Huang, Q., Walker, S. L., & Cai, P. (2012). Reactions between bacterial exopolymers and goethite: a combined macroscopic and spectroscopic investigation. *Water Res.*, *46*(17), 5613e.
- Faostat. (2009). *Production stat: crops*. <http://faostat.fao.org>
- Farajzadeh, R., Guo, H., Winden, J. V., & Bruining, J. (2017). Cation exchange in the presence of oil in porous media. *ACS Earth Space Chem.*, *1*, 101–112.
- Faravani, M., Emami, D. S., Gholami, A. B., & Faravani, A. (2013). The effect of salinity on germination, emergence, seed yield and biomass of black cumin. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, *58*(1), 41–49.
- Fariduddin, Q., Khan, T. A., & Yusuf, M. (2014). Hydrogen peroxide mediated tolerance to copper stress in the presence of 28-homobrassinolide in *Vigna radiata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, *36*, 2767–2778.
- Fasusi, O., Amoo, A., & Babalola, O. (2021). Characterization of plant growth-promoting rhizobacterial isolates associated with food plants in south africa. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *114*(10), 1683–1708. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01633-4>
- Fatnassi, I., Chiboub, M., Saadani, O., Jebara, M., & Jebara, S. (2013). Phytostabilization Of Moderate Copper Contaminated Soils Using Co-inoculation Of vicia Fabawith Plant Growth Promoting Bacteria. *J. Basic Microbiol.*, *3*(55), 303–311. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300323>
- Fatnassi, I., Chiboub, M., Saadani, O., Jebara, M., & Jebara, S. (2015). Impact Of Dual Inoculation With Rhizobium and Pgpr On Growth And Antioxidant Status Of Vicia Faba L. Under Copper Stress. *Comptes Rendus Biologies*, *4*(338), 241–254. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2015.02.001>
- Fazeli-Nasab, B., & Sayyed, R. Z. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria and salinity stress: a journey into the soil. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 1: Rhizobacteria in Abiotic Stress Management*, 21–34.
- Feklistova, I. N., & Maksimova, N. P. (2008). Obtaining Pseudomonas aurantiaca strains capable of overproduction of phenazine antibiotics. *Microbiology*, *77*, 176–180.
- Feng, J., & Barker, A. V. (1992). Ethylene evolution and ammonium accumulation by tomato plants under water and salinity stresses. *Part II. J Plant Nutr.*, *15*, 2471–2490.

<https://doi.org/10.1080/01904169209364488>

Fenton, A. M., Stephens, P. M., Crowley, J., O'callaghan, M., & O'gara, F. (1992). Exploitation of gene (s) involved in 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, *58*(12), 3873–3878.

Fernández-Aparicio, M., Kisugi, T., Xie, X., Rubiales, D., & Yoneyama, K. (2014). Low strigolactone root exudation: a novel mechanism of broomrape (orobanche and phelipanche spp.) resistance available for faba bean breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(29), 7063–7071. <https://doi.org/10.1021/jf5027235>

Ferreira, P. A. A., Ceretta, C. A., Soriani, H. H., Tiecher, T. L., Soares, C. R. F. S., Rossato, L. V., Nicoloso, F. T., Brunetto, G., Paranhos, J. T., & Cornejo, P. (2015). Rhizophagus clarus and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. *Appl. Soil Ecol.*, *91*, 37–47.

Ferreira, P. A., Marchezan, C., Ceretta, C. A., Tarouco, C. P., Lourenzi, C. R., Silva, L. S., & Brunetto, G. (2018). Soil amendment as a strategy for the growth of young vines when replanting vineyards in soils with high copper content. *Plant Physiol. Biochem.*, *126*(152e), 162.

Fikreselassie, M., & Seboka, H. (2012). Genetic variability on seed yield and related traits of elite faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *15*, 380–385. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.380.385>

Fischer, R. A., & Turner, N. C. (1978). Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology*, *29*(1), 277–317.

Flaishman, M. A., Eyal, Z., Zilberstein, A., Voisard, C., & Haas, D. (1996). Suppression of *Septoria tritici* blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide-producing strains of *Pseudomonas putida*. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, *9*(7), 642–645.

Flamand, M. C., Duc, G., Goblet, J. P., Hong, L., Louis, O., Briquet, M., & Boutry, M. (1993). Variant mitochondrial plasmids of broadbean arose by recombination and are controlled by the nuclear genome. *Nucleic Acid Res.*, *21*, 5468–5473.

Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *55*(396), 307–319.

Flowers, T. J., Garcia, A., Koyama, M., & Yeo, A. R. (1997). Breeding for salt tolerance in crop plants—the role of molecular biology. *Acta Physiologiae Plantarum*, *19*, 427–433.

Flowers, T. J., Munns, R., & Colmer, T. D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of Botany*, *115*(3), 419–431.

Fortmeier, R., & Schubert, S. (1995). Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): the role of sodium exclusion. *Plant Cell Environ*, *18*, 1041–1047. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00615.x>

Fougere, F., Le Rudulier, D., & Streeter, J. G. (1991). Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*, *96*(4), 1228–1236.

Francis, G. W., Hertzberg, S., Andersen, K., & Liaaen-Jensen, S. (1970). New carotenoid glycosides from *Oscillatoria limosa*. *Phytochemistry*, *9*, 629–635. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85703-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85703-9)

Frauen, M., & Sass, O. (1989). Inheritance and performance of the stiff-stawed mutant in *Vicia faba* L. In *Science for Plant Breeding - XII*. EUCARPIA.

Frühbeck, G., Monreal, I., & Santidrian, S. (1997). Hormonal implications of the hypocholesterolemic effect of intake of field beans (*Vicia faba* L.) by young men with hypercholesterolemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *66*(6), 1452–1460.

Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., & Guo, B. (2010). Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *Agric Water Manag*, *97*, 1994–2000. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.02.003>

Fu, S. F., Wei, J. Y., Chen, H. W., Liu, Y. Y., Lu, H. Y., & Chou, J. Y. (2015). Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling &*

Behavior, 10(8), e104805.

Fuqua, C. (2006). The QscR quorum-sensing regulon of *Pseudomonas aeruginosa*: an orphan claims its identity. *Journal of Bacteriology*, 188(9), 3169–3171.

Gałązka, A., & Grządziel, J. (2016). *The molecular-based methods used for studying bacterial diversity in soils contaminated with pahs*. the review. <https://doi.org/10.5772/64772>

Galindo-Méndez, M. (2020). *Antimicrobial resistance in escherichia coli*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93115>

Gama, P. B. S., Inanaga, S., Tanaka, K., & Nakazawa, R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 6(2).

Gama, P. B. S., Tanaka, K., Eneji, A. E., Eltayeb, A. E., & Siddig, K. El. (2009). Salt-induced stress effects on biomass, photosynthetic rate, and reactive oxygen species-scavenging enzyme accumulation in common bean. *Journal of Plant Nutrition*, 32(5), 837–854.

Gamez, R., Rodriguez, F., Ramírez, S., Gómez, Y., Agarwala, R., Landsman, D., others, & Mariño-Ramírez, L. (2016). Genome sequence of the banana plant growth-promoting rhizobacterium *pseudomonas fluorescens* ps006. *Genome Announcements*, 4(3). <https://doi.org/10.1128/genomea.00329-16>

Ganie, S. A., Molla, K. A., Henry, R., Bhat, K. V., & Mondal, T. K. (2019). Advances in understanding salt tolerance in rice. *Theor. Appl. Genet*, 132,. [Cro, 851–870.

Gao, S., Zheng, Z., Huan, L., & Wang, G. (2016). G6PDH activity highlights the operation of the cyclic electron flow around PSI in *Physcomitrella patens* during salt stress. *Sci. Rep*, 6.

Gao, Y., Li, M., Zhang, X., Yang, Q., & Huang, B. (2020). Up-regulation of lipid metabolism and glycine betaine synthesis are associated with choline-induced salt tolerance in halophytic seashore *paspalum*. *Plant Cell Environ*, 43,. [Cros, 159–173.

García-Lojo, D., Gómez-Graña, S., Martín, V., Solís, D., Taboada, J., Pérez-Juste, J., others, & Pastoriza-Santos, I. (2020). Integrating Plasmonic Supercrystals In Microfluidics For Ultrasensitive, Label-free, and Selective Surface-enhanced Raman Spectroscopy Detection. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 41(12), 46557–46564. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c13940>

Garcia, C., Dattamudi, S., Chanda, S., & Jayachandran, K. (2019). Effect of salinity stress and microbial inoculations on glomalin production and plant growth parameters of snap bean. *Phaseolus Vulgaris*). *Agronomy*, 9(9), 545. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090545>

García Sanjuán, L., Vargas Jiménez, J. M., Cáceres Puro, L. M., Costa Caramé, M. E., Díaz-Guardamino Uribe, M., Díaz-Zorita Bonilla, M., Fernández Flores, Á., Hurtado Pérez, V., López Aldana, P. M., & Méndez Izquierdo, E. (2018). Assembling the dead, gathering the living: Radiocarbon dating and Bayesian modelling for Copper Age Valencina de la Concepción (Seville, Spain). *Journal of World Prehistory*, 31, 179–313.

Gates, P., Smith, M. L., White, G., & Boulter, D. (1983). Reproductive physiology and yield stability in *Vicia faba* L. In N. Genetics (Ed.), *Temperate Legumes: Physiology* (pp. 43–54). Davies.

George, E., Kumar, S. N., Jacob, J., Bommasani, B., Lankalapalli, R. S., Morang, P., & Kumar, B. D. (2015). Characterization of the bioactive metabolites from a plant growth-promoting rhizobacteria and their exploitation as antimicrobial and plant growth-promoting agents. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176, 529–546.

Georgieva, N., Nikolova, I., & Kosev, V. (2016). Evaluation of genetic divergence and heritability in pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 5, 61–67.

Ghanbari, F., Bagnazari, M., & Azizi, A. (2023). Exogenous application of selenium and nano-selenium alleviates salt stress and improves secondary metabolites in lemon verbena under salinity stress. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32436-4>

Ghassemi, F., Jakeman, A. J., & Nix, H. A. (1995). *Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies*.

Ghittoni, N. E., & Bueno, M. A. (1996). Changes in the cellular content of trehalose in four peanut *Rhizobia* strains cultured under hypersalinity. *Symbiosis*, 20, 117–127.

- Gholami, A., Shahsavani, S., & Nezarat, S. (2009). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 3(1), 9–14.
- Ghorbanzadeh, N., Mahsefat, M., Farhangi, M. B., Rad, M. K., & Proietti, P. (2020). Short-term impacts of pomace application and *Pseudomonas* bacteria on soil available phosphorus. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28.
- Gil-Quintana, E., Larrainzar, E., Seminario, A., D'íaz-Leal, J. L., Alamillo, J. M., Pineda, M., Arrese-Igor, C., Wienkoop, S., & González, E. M. (2013). Local inhibition of nitrogen fixation and nodule metabolism in drought-stressed soybean. *J. Exp. Bot.*, 64, 2171–2182.
- Giménez, M., Drago, S., De Greef, D., Gonzalez, R., Lobo, M., & Samman, N. (2012). Rheological, functional and nutritional properties of wheat/broad bean (*Vicia faba*) flour blends for pasta formulation. *Food Chemistry*, 134(1), 200–206.
- Ginocchio, R., Rodríguez, P. H., Badilla-Ohlbaum, R., Allen, H. E., & Lagos, G. E. (2002). Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1736–1744.
- Giri, B., & Mukerji, K. G. (2004). Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*, 14, 307–312. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0274-1>
- Glandorf, D. C. M., Verheggen, P., Jansen, T., Jorritsma, J.-W., Smit, E., Leeftang, P., Wernars, K., Thomashow, L. S., Laureijs, E., & Thomas-Oates, J. E. (2001). Effect of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r on the fungal rhizosphere microflora of field-grown wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(8), 3371–3378.
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol*, 41, 109–117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Research*, 329–339.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J Theor Biol*, 190, 63–68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>
- González, E. M., Aparicio-Tejo, P. M., Gordon, A. J., Minchin, F. R., Royuela, M., & Arrese-Igor, C. (1998). Water-deficit effects on carbon and nitrogen metabolism of pea nodules. *J. Exp. Bot.*, 49, 1705–1714.
- González-Mendoza, D., Gil, F. E., Escoboza-García, F., Santamaría, J. M., & Zapata-Perez, O. (2013). Copper Stress on Photosynthesis of Black Mangle (*Avicennia germinans*). *An. Acad. Bras. De Cienc*, 85,. [Cros, 665–670.
- Gorai, M., & Neffati, M. (2007). Germination responses of *reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. *Annals of Applied Biology*, 151(1), 53–59. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00151.x>
- Gossuin, Y., Masson, C., & Rousseau, C. (2023). Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry To Monitor Chromium (Vi) Reduction By Hydrogen Peroxide, Ascorbic Acid, and Aluminum Powder. *Magnetic Reson in Chemistry*, 5(61), 284–295. <https://doi.org/10.1002/mrc.5332>
- Goteti, P. K., Emmanuel, L. D. A., Desai, S., & Shaik, M. H. A. (2013). Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Microbiology*, 2013.
- Goyal, N., Zhou, Z., & Karimi, I. A. (2016). Metabolic processes of *Methanococcus maripaludis* and potential applications. *Microbial Cell Factories*, 15, 1–19.
- Grashoff, C. (1990). Effect of pattern of water supply on *Vicia faba* L. 1. *Dry Matter Partitioning and Yield Variability*. *Ned. J. Agric. Sci.*, 38, 21–44.
- Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1992). Mineral nutrient acquisition and response by plants in saline

- environment. In *Handbook of Plant and Crop Stress; Marcel Dekker, Inc.*, USA; (pp. 203–266).
- Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1998). Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78(1–4), 127–157.
- Greiner, R. K., & Jany, U. (1997). Bioactive inositol phosphates and phytosterols in foods. *Proceedings of the Second Workshop of Cooperation in Science and Technology*.
- Grobkinsky, D. K., Tafner, R., Moreno, M. V., Stenglein, S. A., de Salamone Ieg, Nelson, L. M., Novák, O., Strnad, M., van der Graaff, E., & Roitsch, T. (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Sci Rep.*, 6, 23310.
- Groppa, M. D., Benavides, M. P., & Tomaro, M. L. (2003). Polyamine metabolism in sunflower and wheat leaf discs under cadmium or copper stress. *Plant Sci.*, 164, 293–299.
- Groppa, M. D., Tomaro, M. L., & Benavides, M. P. (2007). Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium- and copper-treated wheat leaves. *Biometals*, 20, 185–195.
- Grobkinsky, D. K., van der Graaff, E., & Roitsch, T. (2014). Abscisic acid–cytokinin antagonism modulates resistance against *Pseudomonas syringae* in tobacco. *Phytopathology*, 104(12), 1283–1288.
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., & Nain, L. (2021). Pgp mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>
- Grzesiak, S., Iijima, M., Kono, Y., & Yamauchi, A. (1997). Differences in drought tolerance between cultivars of field bean and field pea. *Morphological Characteristics, Germination and Seedling Growth. Acta Physiol. Plant.*, 19, 339–348.
- Guimara. (2016). es. *P. R., Ambrosini*, 227, 1e.
- Guo, D.-J., Singh, P., Yang, B., Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, A., Khan, Q., Qin, Y., Chen, T.-S., & Song, X.-P. (2023). Complete genome analysis of sugarcane root associated endophytic diazotroph *Pseudomonas aeruginosa* DJ06 revealing versatile molecular mechanism involved in sugarcane development. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1096754.
- Guo, H., Luo, S., Chen, L., Xiao, X., Xi, Q., Wei, W., Zeng, G., Liu, C., Wan, Y., & Chen, J. (2010). Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulator endophytic bacterium *Bacillus* sp. L14. *Bioresource Technology*, 101(22), 8599–8605.
- Gupta, V., Shrivastav, V., Negi, G., Chandra, H., Mittal, S., & Biswas, D. (2014). Under filled di potassium-ethylene di amine tetra acetic acid vacutainers and its effect on automated blood cell indices in healthy blood donors: Is there a need to re-investigate it as a rejection criterion? *Journal of Applied Hematology*, 5(3), 101–106.
- Gutiérrez-Mañero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A. n, Mehouchi, J., R. Tadeo, F., & Talon, M. (2001). The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111(2), 206–211.
- Gutierrez, C. M. A., Duc, G., Marget, P., Suso, M. J., Moreno, M. T., & Torres, A. M. (2006). CAPs markers to assist selection for low vaccine and convicine contents in faba bean. *Vicia Faba L.*. *Theor. Appl. Genet.*, 114, 59–66.
- Guzel, S., & Terzi, R. (2013). Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress. *Bot. Stud.*, 54, 26.
- Ha, E., Ikhajiagba, B., Bamidele, J. F., & Ogic-Odia, E. (2008). Salinity effects on young healthy seedling of *kyllingia peruviana* collected from escravos, Delta state. *Global J. Environ. Res*, 2(2), 74–88.
- Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307–319.
- Habiba, U., Ali, S., Farid, M., Shakoor, M. B., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbasi, G. H., Hayat, T., & Ali, B. (2015). EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22, 1544.

- Hacıseferoğulları, H., Gezer, I., Bahtiyarçay, Y., & Mengeş, H. (2003). Determination of some chemical and physical properties of Sakız faba bean (*Vicia faba L. Var. Major*). *Journal of Food Engineering*, 60(4), 475–479.
- Hailes, H. C. (1998). Book review: The systematic identification of organic compounds. Ralph L. Shriner, Christine K. In F. Hermann, T. C. Morrill, D. Y. Curtin, & R. C. Fuson (Eds.), *WileyInterscience*, , 1998, 7th ed 669 pages. Hermann.
- Hajiboland, R., Aliasgharzad, N., & Barzeghar, R. (2009). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on uptake of zn and p by two contrasting rice genotypes. *Plant Soil and Environment*, 55(3), 93–100. <https://doi.org/10.17221/319-pse>
- Hajjar, R., & Hodgkin, T. (2007). The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*, 156, 1–13.
- Hakmaoui, A., Ater, M., Boka, K., & Baron, M. (2007). Copper and cadmium tolerance, uptake and effect on chloroplast ultrastructure. Studies on *Salix purpurea* and *Phragmites australis*. *Verlag Der Zeitschrift Fur Naturforschung. Tubingen*, 62c, 417–426.
- Hale, M. G., & Orcutt, D. M. (1989). *The Physiology of Plants Under Stress*. John Wiley & Sons.
- Halim, A., Rahman, M., Megharaj, M., & Naidu, R. (2020). Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(47), 13497–13529. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04579>
- Hamad, M. N., Marrez, D. A., & El-Sherbieny, S. M. (2020). Toxicity evaluation and antimicrobial activity of purified pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biointerface Res Appl Chem*, 10(6), 6974–6990.
- Hamed, B., & AbdElgawad, H. (2018). Differential effects of some ascorbates on phaseolus vulgaris l. *Response to Salinity Stress. Egyptian Journal of Botany*, 0(0), 0-0. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2017.1597.1119>
- Hammami, Z., Qureshi, A., Sahli, A., Gauffreteau, A., Chamekh, Z., Azaiez, F., others, & Trifa, Y. (2020). Modeling the effects of irrigation water salinity on growth, yield and water productivity of barley in three contrasted environments. *Agronomy*, 10(10), 1459. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101459>
- Han, H. S., & Lee, K. D. (2005). Physiological responses of soybean inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions. *Research Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 1, 216–221.
- Han, Y., Geng, Z., Xiangbai, G., & Zhu, Q. (2015). Energy efficiency analysis based on DEA integrated ISM: A case study for Chinese ethylene industries. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 45, 80–89.
- Hanelt, P., & Mettin, D. (1989). Biosystematics of the genus *Vicia L. Leguminosae*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 20, 199–223.
- Haney, C. H., Samuel, B. S., Bush, J., & Ausubel, F. M. (2017). Associations with rhizosphere bacteria can confer an adaptive advantage to plants. *Nature Plants*, 3(1), 1–9.
- Hanifah, N., & Purwestri, Y. (2021). The effect of nacl salinity stress to phenolic compound, total flavonoid and antioxidant activity of pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) leaves. *Bio Web of Conferences*, 41. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20214106004>
- Harlan, J. R. (1969). Ethiopia: A centre of diversity. *Econ. Bot.*, 23, 309–314.
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Masud, A. A. C., Rahman, K., Nowroz, F., Rahman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2021). Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9326.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J.-K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51(1), 463–499.
- Haskett, T., Tkacz, A., & Poole, P. (2020). Engineering rhizobacteria for sustainable agriculture. *The ISME Journal*, 15(4), 949–964. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00835-4>
- Hasnain, S., & Sabri, A. N. (1997). Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-

- stresses by non-rhizospheric *Pseudomonas* strains. *Environ Pollut*, 3, 265–273. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00087-0)
- Hassanpouraghdam, M., Mehrabani, L., & Tzortzakis, N. (2019). Foliar application of nano-zinc and iron affects physiological attributes of *rosmarinus officinalis* and *quietens nacl* salinity depression. *Journal of Soil Science*, 20(2), 335–345. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00111-1>
- Hawtin, G. C., & Hebblethwaite, P. D. (1983). Background and history of faba bean production. In T. F. B. (Vicia faba L.) (Hebblethwaite P. D. (Ed.), ed.) (pp. 3–22). Buttenvorths.
- He, F., Xu, C., Fu, X., Shen, Y., Guo, L., & others. (2018). The microRNA390/TRANS-ACTING SHORT IN- TERFERING RNA3 module mediates lateral root growth under salt stress via the auxin pathway. *Plant Physiol.*, 177, 775–791.
- Hefny, M. (2013). Use of genetic variability estimates and interrelationships of agronomic and biochemical characters for selection of lupin genotypes under different irrigation regimes. *African Crop Science Journal*, 21, 97–108.
- Hego, E., Bes, C. M., Bedon, F., Palagi, P. M., Chaumeil, P., Barre', A., Claverol, S., Dupuy, J. W., Bonneu, M., Lalanne, C., Plomion, C., & Mench, M. (2014). Differential accumulation of soluble proteins in roots of met- allicolous and nonmetallicolous populations of *Agrostis capillaris* L. *Exposed to Cu. Proteomics*, 14, 1746–1758.
- Heidari, M., & Golpayegani, A. (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2011.09.001>
- Hendawey, M., & Younes, A. (2013). Biochemical evaluation of some faba bean cultivars under rainfed conditions at El-Sheikh Zuwayid. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), 183–193.
- Hernandez, M. E., Kappler, A., & Newman, D. K. (2004). Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. *Appl Environ Microbiol.* (2):921-8.; *PMCID*:; *PMC348881*. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.921-928.2004>
- Hesse, E., O'Brien, S., Tromas, N., Bayer, F., Luján, A. M., van Veen, E. M., Hodgson, D. J., & Buckling, A. (2018). Ecological selection of siderophore-producing microbial taxa in response to heavy metal contamination. *Ecology Letters*, 21(1), 117–127.
- Hiar, K., Gamaoun, W., Triki, M. A., ZAOUCHI, Y., REZGUI, S., JEDDI, F. B. E. N., LABIDI, S., & BETTAIEB, T. (2017). Isolation, identification and biological control of the major pathogens causing root rot and wilt diseases of young olive trees in Tunisia. *Journal of New Sciences*, 39.
- Hirich, A., Jelloul, A., Choukr-Allah, R., & Jacobsen, S. (2014). Saline water irrigation of quinoa and chickpea: seedling rate, stomatal conductance and yield responses. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 200(5), 378–389. <https://doi.org/10.1111/jac.12072>
- Hoagland, D., & Di., A. (1938). The water culture method for growing plants soil. *Univer Calif AES Cir*, 347, 1–36.
- Hoffland, E., Hakulinen, J., & Van Pelt, J. A. (1996). Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. *Phytopathology*, 86(7), 757–762.
- Höfte, M. (2021). *The use of pseudomonas spp. as bacterial biocontrol agents to control plant diseases.*, 301-374. <https://doi.org/10.19103/as.2021.0093.11>
- Holt, J., & Wratten, S. D. (1986). Components of. resistance to *Aphis fabae* in faba bean. *Entom. Exp. Appl.*, 40, 35–40.
- Hong-yun, P., Yang, X. E., & Tian, S. K. (2005). Accumulation and ultrastructural distribution of copper in *Elsholtzia splendens*. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 6(5), 311–318. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B0311>
- Hoque, M. A., Hoque, M. M., & Ahmed, M. (2007). Declining groundwater level and aquifer dewatering in Dhaka metropolitan area, Bangladesh: causes and quantification. *Hydrogeol J*, 15, 1523–1534. <https://doi.org/10.1007/s10040-007-0226-5>
- Horst I. Welham T. Kelly S. Kaneko T. Sato S. Tabata S. Parniske, M., & Wang, T. L. (2007).

- TILLING mutants of *Lotus japonicus* reveal that nitrogen assimilation and fixation can occur in the absence of nodule enhanced sucrose synthase. *Plant Physiol.*, *144*, 806–820.
- Hossain, M., & Mortuza, M. (2006). Chemical composition of Kalimatar, a locally grown strain of faba bean (*Vicia faba* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *9*(9), 1817–1822.
- Hossain, M. S., Abdelrahman, M., Tran, C. D., Nguyen, K. H., Chu, H. D., Watanabe, Y., Hasanuzzaman, M., Mohsin, S. M., Fujita, M., & Tran, L. S. P. (2020). Insights into acetate-mediated copper homeostasis and antioxidant defense in lentil under excessive copper stress. *Environ. Pollut.*, *258*.
- Houshmandfar, A., & Moraghebi, F. (2011). Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower. *African Journal of Agricultural Research*, *6*(5), 1182–1187.
- Hu, J., Wei, Z., Weidner, S., Friman, V., Xu, Y., Shen, Q., others, & Jousset, A. (2017). Probiotic pseudomonas communities enhance plant growth and nutrient assimilation via diversity-mediated ecosystem functioning. *Soil Biology and Biochemistry*, *113*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.05.029>
- Huang, W. L., Wu, F. L., Huang, H. Y., Huang, W. T., Deng, C. L., Yang, L. T., & Chen, L. S. (2020). Excess copper-induced alterations of protein profiles and related physiological parameters in citrus leaves. *Plants*, *9*(3), 291.
- Hussain, S., Nanda, S., Zhang, J., Rehmani, M. I. A., Suleman, M., Li, G., & Hou, H. (2021). Auxin and cytokinin interplay during leaf morphogenesis and phyllotaxy. *Plants*, *10*(8), 1732.
- Hussien, S. S., Desouky, O. A., Abdel-haliem, M. E. F., & El-moughith, A. A. (2013). ENHANCEMENT THE PRODUCTION OF SIDEROPHORES-PYOVERDINE BY *Pseudomonas aeruginosa* SHA 282 AND ITS CHELATION WITH THORIUM. IV). *World Research Journal of Biotechnology*, *1*(1), 17–23.
- Iatrou, G., Mourelatos, S., Zartaloudis, Z., Iatrou, M., Gewehr, S., & Kalaitzopoulou, S. (2016). Remote sensing for the management of *Verticillium* wilt of olive. *Fresenius Environ. Bull.*, *25*(9), 3622–3628.
- Ibrahim, M. A., David, A. R., Ismail, W., Alberto, F. G., & Antonio, S. C. (2017). UHPLC/MS2-based approach for the comprehensive metabolite profiling of bean (*Vicia faba* L.) by-products: A promising source of bioactive constituents. *Food Research International*, *93*(3), 87–96.
- Ibrahim, M., Merwad, A., El-Naka, E., Burras, C., & Follett, L. (2016). Application of silicon ameliorated salinity stress and improved wheat yield. *Journal of Soil Science*, *7*(7), 81–91. <https://doi.org/10.5897/jsssem2016.0571>
- Idder, B., Djibaoui, R., Reguieg Yassaad El Hocine, A., & Djoudi, A. (2018). *Effects of Inoculation with Rhizospheric Pseudomonas on Physiological Responses in the Broad Bean (Vicia Faba) Grown Under Copper Stress* (pp. 65–68). https://doi.org/10.1007/978-3-030-01683-8_14
- Idder, B., Djibaoui, R., Yssaad, H., & Djoudi, A. (2019). Role Of Some Rhizospheric *Pseudomonas* On the Growth And Physiology Of Broad Bean (*Vicia Faba*) Under Salt Stress Conditions. *Acta Agrobot.*, *4*(72). <https://doi.org/10.5586/aa.1794>
- Idris, E. E., Bochow, H., Ross, H., & Borriss, R. (2004). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormonelike action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37/Nutzung von *Bacillus subtilis* als Mittel für den. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 583–597.
- Idris, E. E. D. J., & Iglesias, M. T. dan R. B. (2007). Tryptophan- Dependent Production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Affects Level of Plant Growth Promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant- Microbe Interaction.*, *20* :. *Haut*, 619–626.
- Iglesias, M. J., Terrile, M. C., Windels, D., Lombardo, M. C., Bartoli, C. G., Vazquez, F., Estelle, M., & Casalongué, C. A. (2014). MiR393 regulation of auxin signaling and redox-related components during acclimation to salinity in *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, *9*, e107678.
- Indraningrat, A. A. G., Smidt, H., & Sipkema, D. (2016). Bioprospecting sponge-associated microbes

for antimicrobial compounds. *Marine Drugs*, 14(5), 87.

Ioannidis, N. E., Sfichi, L., & Kotzabasis, K. (2006). Putrescine stimulates chemiosmotic ATP synthesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1757, [Cr, 821–828.

Iqbal, H., Ayub, M., Tahir, A., & Ahmad, A. (2001). Gibberellin Alleviation Of Naci Salinity In Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Gibberellin Alleviation Of Naci Salinity In Chickpea (Cicer Arietinum L.)*. *Pakistan J. of Biological Sciences*, 3(4), 378–380. <https://doi.org/https://doi.org/10.3923/pjbs.2001.378.380>

Iqbal, N., Trivellini, A., Masood, A., Ferrante, A., & Khan, N. A. (2013). Current understanding on ethylene signalling in plants: the influence of nutrient availability. *Plant Physiol. Biochem.*, 73, 128–138.

Jacobson, C. B., Pasternak, J. J., & Glick, B. R. (1994). Partial purification and characterization of ACC deaminase from the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can J Microbiol*, 40, 1019–1025. <https://doi.org/10.1139/m94-162>

Jain, A., Singh, A., Singh, S., & Singh, H. B. (2013). Microbial consortium-induced changes in oxidative stress markers in pea plants challenged with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 388–398.

Jain, A., Singh, A., Singh, S., & Singh, H. B. (2015). Phenols enhancement effect of microbial consortium in pea plants restrains *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biological Control*, 89, 23–32.

Jakubowicz, M., Galganska, H., Nowak, W., & Sadowski, J. (2010). Exogenously induced expression of ethylene biosynthesis, ethylene perception, phospholipase D, and Rboh-oxidase genes in broccoli seedlings. *J. Exp. Bot.*, 61, 3475–3491.

Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. *South African Journal of Botany*, 73(2), 190–195.

James, R. A., Blake, C., Byrt, C. S., & Munns, R. (2011). Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1; 4 and HKT1; 5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany*, 62(8), 2939–2947.

Jamil, A., Lee, C. C., Rehman, S. U., Lee, D. B., Ashraf, M., & Rha, E. S. (2005). Salinity (NaCl) tolerance of Brassica species at germination and early seedling growth. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 4, 970–976.

Janas, K. M., Zielińska-Tomaszewska, J., Rybaczek, D., Maszewski, J., Posmyk, M. M., Amarowicz, R., & Kosińska, A. (2010). The impact of copper ions on growth, lipid peroxidation, and phenolic compound accumulation and localization in lentil (*Lens culinaris* Medic.). *J. Plant Physiol.*, 167(270e), 276.

Jani, J., Parvez, N., & Mehta, D. (2015). *Metabolites of pseudomonads: a new avenue of plant health management.*, 61-69. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2089-3_7

Jasim, B., Jimtha John, C., Shimil, V., Jyothis, M., & Radhakrishnan, E. K. (2014). Studies on the factors modulating indole-3-acetic acid production in endophytic bacterial isolates from *Piper nigrum* and molecular analysis of ipdc gene. *Journal of Applied Microbiology*, 117(3), 786–799.

Javadi, H., Seghatoleslami, M. J., & Sgh, M. (2014). The effect of salinity on seed germination and seedling growth of four medicinal plant species. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 12(1), 53–64.

Jennings, K. R. (1991). *Spectrometric identification of organic compounds* (Fifth). R. M. Silverstein GC. Bassler and T. C. Morrill. Wiley.

Jha, Y., & Subramanian, R. (2013). Paddy Plants Inoculated With Pgp Show Better Growth Physiology and Nutrient Content Under Saline Conditions. *Chilean J. Agric. Res.*, 3(73), 213–219. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392013000300002>

Ji, X., Cheng, J., Gong, D., Zhao, X., Qi, Y., Su, Y., & Ma, W. (2018). The effect of NaCl stress on photosynthetic efficiency and lipid production in freshwater microalga---*Scenedesmus obliquus* XJ002.

Sci. Total Environ, 633,. [Cro, 593–599.

Jianfeng, C., Haijun, M., Xie, L., Geshi, T., & Shushi, L. (2017). The application of MEMS GPS receiver in APOD precise orbit determination. *2017 Forum on Cooperative Positioning and Service (CPGPS)*, 140–143.

Jiang, K., Moe-Lange, J., Hennet, L., & Feldman, L. J. (2016). Salt stress affects the redox status of Arabidopsis root meristems. *Front. Plant Sci*, 7, 81.

Jiménez, J., Novinscak, A., & Filion, M. (2019). pseudomonas fluorescens lbum677 differentially increases plant biomass, total oil content and lipid composition in three oilseed crops. *Journal of Applied Microbiology*, 128(4), 1119–1127. <https://doi.org/10.1111/jam.14536>

Jin, H. J., & Wang, H. X. (2019). Plant absorption and tolerance mechanism to heavy metal cadmium: Research progress. *Chin. Agric. Sci. Bull*, 35, 52–57.

Johnson, N. A., Schofield, P. J., Williams, J. D., & Austin, J. D. (2018). Salinity tolerance among three freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) from Gulf Coastal Plain drainages. *Florida Scientist*, 81(2–3), 61–69.

Joshi, D., Negi, G., Vaid, S., & Sharma, A. (2013). Enhancement of wheat growth and Zn content in grains by zinc solubilizing bacteria. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 6(3), 363–370.

Joshi, S., Singh, A. V., & Prasad, B. (2018). Enzymatic Activity and Plant Growth Promoting Potential of Endophytic Bacteria Isolated from Ocimum sanctum and Aloe vera. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 7(6), 2314–2326.

Juang, K. W., Lo, Y. C., Chen, T. H., & Chen, B. C. (2019). Effects of copper on root morphology, cations accumulation, and oxidative stress of grapevine seedlings. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 102(6), 873e.

Julkowska, M. M., Hoefsloot, H. C., Mol, S., Feron, R., de Boer, G. J., & others. (2014). Capturing Arabidopsis root architecture dynamics with ROOT-FIT reveals diversity in responses to salinity. *Plant Physiol.*, 166, 1387–1402.

Julkowska, M. M., Koevoets, I. T., Mol, S., & Hoefsloot, H. (2017). *Feron R, et al.* Genetic components of.

Jung, Y., Ha, M., Lee, J., Ahn, Y. G., Kwak, J. H., Ryu, D. H., & Hwang, G. S. (2015). Metabolite profiling of the response of burdock roots to copper stress. *J. Agric. Food Chem.*, 63(4), 1309e.

Jusaitis, M. (1986). Rooting of intact mung bean hypocotyls stimulated by auxin, ACC and low temperature. *HortScience*, 21, 1024–1025.

Kamran, S., Shahid, I., Baig, D. N., Rizwan, M., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Contribution of zinc solubilizing bacteria in growth promotion and zinc content of wheat. *Frontiers in Microbiology*, 8, 322772.

Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W., & Threerakulpisut, P. (2012). Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. *Plant and Soil*, 358, 235–249.

Kang, B. R., Anderson, A. J., & Kim, Y. C. (2018). Hydrogen cyanide produced by Pseudomonas chlororaphis O6 exhibits nematicidal activity against Meloidogyne hapla. *The Plant Pathology Journal*, 34(1), 35.

Kang, S.-M., Asaf, S., Khan, A. L., Lubna, Khan, A., Mun, B.-G., Khan, M. A., Gul, H., & Lee, I.-J. (2020). Complete genome sequence of Pseudomonas psychrotolerans CS51, a plant growth-promoting bacterium, under heavy metal stress conditions. *Microorganisms*, 8(3), 382.

Kang, S. M., Adhikari, A., Lee, K. E., Park, Y. G., Shahzad, R., & Lee, I. J. (2019). Gibberellin producing rhizobacteria Pseudomonas koreensis MU2 enhance growth of Lettuce (Lactuca sativa) and Chinese cabbage (Brassica rapa, chinensis). *J Microbiol Biotech Food Sci.*, 9, 166–170.

Kang, S. M., Waqas, M., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, A. L., Kim, A. Y., Park, Y. G., & Lee, I. J. (2017). Gibberellins and indole-3-acetic acid producing rhizo- spheric bacterium Leifsonia xyli SE134 mitigates the adverse effects of copper-mediated stress on tomato. *J Plant Int.*, 12, 373–380.

- Kang, W., Bao, J., Zheng, J., Hu, H., & Du, J. (2015). Distribution and chemical forms of copper in the root cells of castor seedlings and their tolerance to copper phytotoxicity in hydroponic culture. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 7726–7734. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-4030-1>
- Kang, Y., Shen, M., Wang, H., & Zhao, Q. (2013). A possible mechanism of action of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 59(4), 267–277.
- Kapoor, D., Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Prasad, R., & Singh, J. (2019). Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species. *RNS. Plant Gene*, 19.
- Karamanos, A. J. (1978). Water stress and leaf growth of field beans (*Vicia faba* L.) in the field: Leaf number and total leaf area. *Ann. Bot.*, 42, 1393–1402.
- Karim, M. A., Utsunomiya, N., & Shigenaga, S. (1992). Effect of sodium chloride on germination and growth of hexaploid triticale at early seedling stage. *Japanese Journal of Crop Science*, 61(2), 279–284.
- Karmous, I., Bellani, L. M., Chaoui, A., El Ferjani, E., & Muccifora, S. (2015). Effects of copper on reserve mobilization in embryo of *Phaseolus vulgaris* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10159–10165.
- Karmous, I., Chaoui, A., Jaouani, K., Sheehan, D., El Ferjani, E., Scoccianti, V., & Crinelli, R. (2014). Role of the ubiquitin-proteasome pathway and some peptidases during seed germination and copper stress in bean cotyledons. *Plant Physiology and Biochemistry*, 76, 77–85.
- Karmous, I., Khadija, J., Chaoui, A., & El Ferjani, E. (2012). Proteolytic activities in *Phaseolus vulgaris* cotyledons under copper stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18(4), 337–343.
- Karnwal, A. (2021). *Pseudomonas* spp., a zinc-solubilizing vermicompost bacteria with plant growth-promoting activity moderates zinc biofortification in tomato. *International Journal of Vegetable Science*, 27(4), 398–412.
- Karpagam, S. U. N. D. A. R. A. M. U. R. T. H. Y., Sudhakar, T., & Lakshmi, M. (2013). Microbicidal response of pyocyanin produced by *P. aeruginosa* toward clinical isolates of fungi. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(3), 870–873.
- Katerji, N., Mastrorilli, M., Lahmer, F. Z., Maalouf, F., & Oweis, T. (2011). Faba bean productivity in saline-drought conditions. *Eur. J. Agron.*, 35, 2–12.
- Katznelson, H., & Cole, S. E. (1965). Production of gibberellin-like substances by bacteria and actinomycetes. *Can J Microbiol.*, 11, 733–741.
- Kaur, G., & Asthir, B. (2015). Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum*, 59(4), 609–619. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0549-3>
- Kaur, J., & Pandove, G. (2023). Understanding the beneficial interaction of plant growth promoting rhizobacteria and endophytic bacteria for sustainable agriculture: a bio-revolution approach. *Journal of Plant Nutrition*, 46(14), 3569–3597.
- Kavi Kishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P., & Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.*, 88, 424–438.
- Kawa, D., Julkowska, M. M., & ter, S. H. M. (2016). Horst A, Haring MA, Testerink C. *Phosphate-Dependent Root System Architecture Responses to Salt Stress. Plant Physiol.*, 172, 690–706.
- Kaymak, H. Ç., Güvenç, İ., Yarali, F., & DÖNMEZ., M. F. (2009). The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. *Turkish J Agr Forest*, 33, 1739.
- Kaymakanova, M. (2009). Effect of salinity on germination and seed physiology in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(sup1), 326–329.
- Kaymakanova, M., & Stoeva, N. (2008). Physiological reaction of bean plants (*Phaseolus vulg.* L.)

to salt stress. *Gen Appl Plant Physiol*, 34, 177–188.

Ke, X., Feng, S., Wang, J., Lu, W., Zhang, W., Chen, M., & Lin, M. (2019). Effect of inoculation with nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas stutzeri* A1501 on maize plant growth and the microbiome indigenous to the rhizosphere. *Systematic and Applied Microbiology*, 42(2), 248–260.

Kebert, M., Rapparini, F., Neri, L., Bertazza, G., & Biondi, S. (2017). Copper-Induced responses in poplar clones are associated with genotype- and organ-specific changes in peroxidase. *Journal of Plant Growth and Regulation*, 36, 131–147. <https://doi.org/10.1007/s12015-017-9588-8>

Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., Wirthner, P., Haas, D., & Défago, G. (1992). Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 5(1), 4–13.

Keel, C., Voisard, C., Berling, C.-H., Kahr, G., & Defago, G. (1989). Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA 0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 79(5), 584–589.

Keiblinger, K. M., Schneider, M., Gorfer, M., Paumann, M., Deltedesco, E., Berger, H., Joëchlinger, L., Mentler, A., Zechmeister-Boltenstern, S., Soja, G., & Zehetner, F. (2018). Assessment of Cu applications in two contrasting soils effects on soil microbial activity and the fungal community structure. *Ecotoxicology*, 27(2), 217e.

Keisham, M., Mukherjee, S., & Bhatla, S. C. (n.d.). *Mechanisms of Sodium Transport in Plants---Progresses and Challenges*. J. Mol. Sci.

Keskin, S., & Yasar, F. (2007). Use of canonical correlation analysis for determination of relationships among several traits in egg plant (*Solanum melongena* L.) under salt stress. *Pak. J. Bot*, 39(5), 1547–1552.

Khakimova, L., Chubukova, O., Muryasova, A., & Vershinina, Z. (2022). Влияние штамма *Pseudomonas* Sp. Оба 2.4.1 на растения гороха посевного (*Pisum Sativum* L.) при ингибирующем действии солей кадмия. *Bmcs*, 2(14), 101–110. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2022-7>

Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4.

Khan, A., Khan, A. A., Samreen, S., & Irfan, M. (2023). Assessment of Sodium Chloride (NaCl) Induced Salinity on the Growth and Yield Parameters of *Cichorium intybus* L. *Nature Environment & Pollution Technology*, 22(2).

Khan, H. R., Paull, J. G., Siddique, K. H. M., & Stoddard, F. L. (2010). Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. *Field Crops Res.*, 115, 279–286.

Khan, I., Raza, M. A., Awan, S. A., Khalid, M. H. B., Raja, N. I., Min, S., others, & Huang, L. (2019). In vitro effect of metallic silver nanoparticles (AgNPs): a novel approach toward the feasible production of biomass and natural antioxidants in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). *Applied Ecology & Environmental Research*, 17(6).

Khan, M. A., Shirazi, M. U., Khan, M. A., Mujtaba, S. M., Islam, E., Mumtaz, S., Shereen, A., Ansari, R. U., & Ashraf, M. Y. (2009). Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pak. J. Bot*, 41(2), 633–638.

Khan, M. A., & Ungar, I. A. (2002). Influence of dormancy regulating compounds and salinity on the germination of *Zygophyllum simplex* L. seeds. *Seed Science and Technology*, 30(3), 507–514.

Khan, M. I., & Khan, N. A. (2014). Ethylene reverses photosynthetic inhibition by nickel and zinc in mustard through changes in PS II activity, photosynthetic nitrogen use efficiency, and antioxidant metabolism. *Protoplasma*, 251, 1007–1019.

Khan, N., & Bano, A. (2015). Role Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Ag-nano Particle In The Bioremediation Of Heavy Metals And Maize Growth Under Municipal Wastewater Irrigation. *International Journal of Phytoremediation*, 3(18), 211–221. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1064352>

- Khatun, S., Ali, M. B., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2008). Copper toxicity in *Withania somnifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Environ. Exp. Bot.*, *64*(3), 279e.
- Khazdair, M. R., Kianmehr, M., & Anaeigoudari, A. (2021). Effects of medicinal plants and flavonoids on Parkinson's disease: a review on basic and clinical evidences. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *11*(2), 224.
- Khunpon, B., Cha-um, S., Faiyue, B., Uthaibutra, J., & Saengnil, K. (2017). Influence Of Paclobutrazol On Growth Performance, Photosynthetic Pigments, and Antioxidant Efficiency Of Pathumthani 1 Rice Seedlings Grown Under Salt Stress. *ScienceAsia*, *2*(43), 70. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2017.43.070>
- King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *44*(2), 301–307.
- Kloepper, J. W. (1992). Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. In M. Decker (Ed.), *Soil Microbial Ecology. Applications in Agriculture, Forestry and Environmental Management*. New (pp. 255–274). Dekker.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., & Schroth, M. N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, *286*(5776), 885–886.
- Kloska, K., & Fortenberry, R. (2017). Gas-phase Spectra Of Mgo Molecules: a Possible Connection From Gas-phase Molecules To Planet Formation. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, *2*(474), 2055–2063. <https://doi.org/10.1093/mnras/stx2912>
- Knowles, C. J. (1976). Microorganisms and cyanide. *Bacteriological Reviews*, *40*(3), 652–680.
- Knowles, C. J. (2007). Cyanide utilization and degradation by microorganisms. *Ciba Foundation Symposium 140-Cyanide Compounds in Biology: Cyanide Compounds in Biology: Ciba Foundation Symposium 140*, 3–15.
- Koevoets, I. T., Venema, J. H., Jtm, E., & Testerink, C. (2016). Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance. *Front. Plant Sci.*, *7*, 1335.
- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., & Roldán, A. (2008). Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Functional Plant Biology*, *35*(2), 141–151.
- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., & Roldán, A. (2009). Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, *65*(2–3), 245–252.
- Kolbert, Z., Peto, A., Lehotai, N., Feigl, G., & Erdei, L. (2012). Long-term copper (Cu²⁺) exposure impacts on auxin, nitric oxide (NO) metabolism and morphology of *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Growth Regul.*, *68*, 151–159.
- Kopittke, P. M., & Blamey, F. P. C. (2016). Theoretical and experimental assessment of nutrient solution composition in short-term studies of aluminium rhizotoxicity. *Plant and Soil*, *406*, 311–326.
- Kour, D., Rana, K. L., Kaur, T., Yadav, N., Halder, S. K., Yadav, A. N., Sachan, S. G., & Saxena, A. K. (2020). Potassium solubilizing and mobilizing microbes: biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 177–202). Elsevier.
- Koyun, M. T., Sirin, S., Erdem, S. A., & Aslim, B. (2022). *Pyocyanin isolated from Pseudomonas aeruginosa: characterization, biological activity and its role in cancer and neurodegenerative diseases*. Brazilian Archives of Biology and Technol.
- Koza, N. A., Adedayo, A. A., Babalola, O. O., & Kappo, A. P. (2022). Microorganisms in plant growth and development: Roles in abiotic stress tolerance and secondary metabolites secretion. *Microorganisms*, *10*(8), 1528.
- Kremer, R. J., & Souissi, T. (2001). Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Current Microbiology*, *43*, 182–186.
- Krenz, L., Grebenteuch, S., Zocher, K., Rohn, S., & Pleissner, D. (2023). *Valorization of faba bean*

(*vicia faba*) by-products. Biomass Conversion and Biorefinery. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-03779-9>

Krishnan, H. B., Kang, B. R., Krishnan, A. H., Kim, K. Y., & Kim, Y. C. (2007). Rhizobium etli USDA 9032 engineered to produce a phenazine antibiotic inhibits the growth of fungal pathogens, but is impaired in symbiotic performance. *Appl Environ Microbiol*, 73, 327–330.

Krzywińska, E., Bucholc, M., Kulik, A., Ciesielski, A., Lichočka, M., Dębski, J., Ludwików, A., Dadlez, M., Rodriguez, P. L., & Dobrowolska, G. P. (2016). ABII and okadaic acid-sensitive phosphoprotein phosphatases inhibit salt stress-activated SnRK2.4 kinase. *BMC Plant Biol*, 16, 136.

Ku, H. M., Tan, C. W., Su, Y. S., Chiu, C., Chen, C. T., & Jan, F. J. (2012). The effect of water deficit and excess copper on proline metabolism in *Nicotiana benthamiana*. *Biol. Plant*, 56, 337–343.

Ku, Y. S., Sintaha, M., Cheung, M. Y., & Lam, H. M. (2018). Plant hormone signaling crosstalks between biotic and abiotic stress responses. *Int. J. Mol. Sci*, 19, 3206.

Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Korshunova, T., Bakaeva, M., Loginov, O., & Dodd, I. C. (2019). Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. *Front Plant Sci.*, 10, 1368.

Kulkarni, P., Nandre, V., Kumbhar, N., Khade, R., Urmode, T., Kodam, K., others, & More, M. (2020). Nto Sensing By Fluorescence Quenching Of a Pyoverdine Siderophore---a Mechanistic Approach. *ACS Omega*, 17(5), 9668–9673. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03844>

Kumar, A., Voropaeva, O., Maleva, M., Panikovskaya, K., Borisova, G., Rajkumar, M., & Bruno, L. B. (2021). Bioaugmentation with copper tolerant endophyte *Pseudomonas lurida* strain EOO26 for improved plant growth and copper phytoremediation by *Helianthus annuus*. *Chemosphere*, 266, 128983.

Kumar, P., Das, R., Bishnoi, S., & Vinay, S. (2017). Inter-correlation and path analysis in faba bean (*Vicia faba* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding*, 8, 395–397. <https://doi.org/10.5958/0975-928x.2017.00059.x>

Kumar, P., Kumar, S., & Dubey, R. (2021). Biocontrol of macrophomina phaseolina (tassi) goid causing charcoal rot disease in lycopersicon esculentum l. by using multi species bacterial consortia. *Environment Conservation Journal*, 22(3), 441–449. <https://doi.org/10.36953/ecj.2021.22351>

Kumar, R., & Chandra, R. (2008). Influence of PGPR and PSB on Rhizobium leguminosarum bv. viciae strain competition and symbiotic performance in lentil. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 297–301.

Kumar, V., Sharma, A., Kaur, P., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Bhardwaj, R., & Cerda, A. (2019). Pollution assessment of heavy metals in soils of India and ecological risk assessment: a state-of-the-art. *Chemosphere*, 216(449e), 462.

Kumari, S., Mangwani, N., & Das, S. (2017). Interaction of Pb (II) and biofilm associated extracellular polymeric substances of a marine bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* NP103. *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.*, 173(655e), 665.

Kumari, V., Banerjee, P., Verma, V., Sukumaran, S., Chandran, M., Gopinath, K., others, & Awasthi, N. (2022). Plant nutrition: an effective way to alleviate abiotic stress in agricultural crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8519. <https://doi.org/10.3390/ijms23158519>

Kusstascher, P., Wicaksono, W., Thenappan, D., Adam, E., Müller, H., & Berg, G. (2020). Microbiome management by biological and chemical treatments in maize is linked to plant health. *Microorganisms*, 8(10), 1506. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101506>

Kuypers, M. M. M., Marchant, H. K., & Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263–276.

Lagerkvist, B. J., Ekesrydh, S., Englyst, V., Norberg, G. F., Soderberg, H. A., & Wiklund, D. E. (1996). Increased blood lead and decreased calcium levels during pregnancy: a prospective study of Swedish women living near a smelter. *Am J Public Health*, 86(9), 1247–1252. <https://doi.org/10.2105/ajph.86.9.1247>

Lalau, C. M., de Almeida Mohedano, R., Schmidt, E. ´. C., Bouzon, Z. L., & Ouriques, L. C. dosSantos. (2015). R. W., Matias. W. G, 252(1).

- Lambers, H., Albornoz, F., Kotula, L., Laliberté, E., Ranathunge, K., Teste, F., others, & Zemunik, G. (2017). How belowground interactions contribute to the coexistence of mycorrhizal and non-mycorrhizal species in severely phosphorus-impooverished hyperdiverse ecosystems. *Plant and Soil*, 424(1–2), 11–33. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3427-2>
- Lanteigne, C., Gadkar, V. J., Wallon, T., Novinscak, A., & Filion, M. (2012). Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato. *Phytopathology*, 102(10), 967–973.
- Larrainzar, E., Wienkoop, S., Scherling, C., Kempa, S., Ladrera, R., ArreseIgor, C., Weckwerth, W., & Gonzalez, E. M. (2009). Carbon metabolism and bacteroid functioning are involved in the regulation of nitrogen fixation in *Medicago truncatula* under drought and recovery. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 22, 1565–1576.
- Lauchli, L., & Epstein, E. (1990). Plant response to saline conditions. *Agricultural Salinity Assessment and Management*, 15, 113–137.
- Lavenus, J., Goh, T., Roberts, I., Guyomarc'h, S., Lucas, M., & others. (2013). Lateral root development in *Ara-bidopsis*: fifty shades of auxin. *Trends Plant Sci.*, 18, 455–463.
- Laville, J., Voisard, C., Keel, C., Maurhofer, M., Defago, G., & Haas, D. (1992). Global control in *Pseudomonas fluorescens* mediating antibiotic synthesis and suppression of black root rot of tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(5), 1562–1566.
- Laxmi, M., & Bhat, S. (2016). Characterization Of Pyocyanin With Radical Scavenging and Antibiofilm Properties Isolated From *Pseudomonas Aeruginosa* Strain Btry1. *3 Biotech*, 1(6). <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0350-1>
- Lebrazi, S., Fadil, M., Chraibi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium* sp. strain using response surface methodology. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 21.
- Lee, S.-K., Kim, B.-G., Kwon, T.-R., Jeong, M.-J., Park, S.-R., Lee, J.-W., Byun, M.-O., Kwon, H.-B., Matthews, B. F., & Hong, C.-B. (2011). Overexpression of the mitogen-activated protein kinase gene OsMAPK33 enhances sensitivity to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Biosciences*, 36, 139–151.
- Lee, W., An, Y., Yoon, H., & Kweon, H. (2008). Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants Mung Bean (*Phaseolus radiatus*) and Wheat (*Triticum aestivum*): Plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), 1915–1921. <https://doi.org/10.1897/07-481.1>
- Lee, X., Azevedo, M. D., Armstrong, D. J., Banowetz, G. M., & Reimann, C. (2013). The *Pseudomonas aeruginosa* antimetabolite L-2-amino-4-methoxy-trans-3-butenoic acid inhibits growth of *Erwinia amylovora* and acts as a seed germination-arrest factor. *Environ Microbiol Rep*, 5, 83–89. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2012.00395.x>
- Leeman, M., Van Pelt, J. A., Den Ouden, F. M., Heinsbroek, M., Bakker, P., & Schippers, B. (1995). Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 85(9), 1021–1027.
- Lefevre, I., VOGEL-MIKUŠ, K., Jeromel, L., Vavpetič, P., Planchon, S., Arçon, I., ELTEREN, J. T. V. A. N., Lepoint, G., Gobert, S., & Renaut, J. (2014). Differential cadmium and zinc distribution in relation to their physiological impact in the leaves of the accumulating *Zygophyllum fabago* L. *Plant, Cell & Environment*, 37(6), 1299–1320.
- Léger, G., Novinscak, A., Biessy, A., Lamarre, S., & Filion, M. (2021). In tuber biocontrol of potato late blight by a collection of phenazine-1-carboxylic acid-producing *Pseudomonas* spp. *Microorganisms*, 9(12), 2525. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122525>
- Lemanceau, P. (1992). Effets benefiques de rhizobacteries sur les plants: exemple des *Pseudomonas* spp. *Fiiwrescents. Agronomte*, 12, 413–437.
- Leng, Y., Yonglong, L., Gong, A., Shen, Z., Chen, L., & Wu, A. (2013). Colorimetric Response Of Dithizone Product and Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide Modified Gold Nanoparticle

Dispersion To 10 Types Of Heavy Metal Ions: Understanding The Involved Molecules From Experiment To Simulation. *Langmuir*, 25(29), 7591–7599. <https://doi.org/10.1021/la400909b>

Lenin, G., & Jayanthi, M. (2012). Indole acetic acid, gibberellic acid and siderophore production by PGPR isolates from rhizospheric soils of *Catharanthus roseus*. *Int J Pharm Biol Sci Arch.*, 3, 933–938.

Lequeux, H., Hermans, C., Lutts, S., & Verbruggen, N. (2010). Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiol. Biochem.*, 48, 673–682.

Leshem, Y., Melamed-Book, N., Cagnac, O., Ronen, G., Nishri, Y., Solomon, M., Cohen, G., & Levine, A. (2006). Suppression of *Arabidopsis* vesicle-SNARE expression inhibited fusion of H₂O₂-containing vesicles with tonoplast and increased salt tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103. [Cro, 18008–18013.

Li, G., Abiyasa, A., Gao, J., Divayana, Y., Chen, W., Zhao, Y., others, & Zhang, Q. (2012). Synthesis and properties of a diazopentacene analogue. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 1(4), 346–351. <https://doi.org/10.1002/ajoc.201200120>

Li, J., Yun, L., Zhang, M., Xu, H., Ning, K., Wang, B., others, & Chen, M. (2022). Melatonin increases growth and salt tolerance of *limonium bicolor* by improving photosynthetic and antioxidant capacity. *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03402-x>

Li, L., Lin, R.-B., Krishna, R., Wang, X., Li, B., Wu, H., Li, J., Zhou, W., & Chen, B. (2017). Efficient separation of ethylene from acetylene/ethylene mixtures by a flexible-robust metal–organic framework. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(36), 18984–18988.

Li, L., Zhang, K., Gill, R. A., Islam, F., Farooq, M. A., Wang, J., & Zhou, W. (2018). Effects of copper and chromium on physiochemical, ultrastructural, and molecular profiling in *Brassica napus* L. *Biomedical Research International*, 1–17.

Li, M., Zhang, K., Sun, Y., Cui, H., Cao, S., Yan, L., & Xu, M. (2018). Growth, Physiology, and Transcriptional Analysis of Two Contrasting *Carex Rigescens* Genotypes under Salt Stress Reveals Salt-Tolerance Mechanisms. *J. Plant Physiol*, 229. [Cro, 77–88.

Li, Q., Chen, H. H., Qi, Y. P., Ye, X., Yang, L. T., Huang, Z. R., & Chen, L. S. (2019). Excess copper effects on growth, uptake of water and nutrients, carbohydrates, and PSII photochemistry revealed by OJIP transients in Citrus seedlings. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26(29), 30188e.

Li, Q., Yang, A., & Zhang, W.-H. (2017). Comparative studies on tolerance of rice genotypes differing in their tolerance to moderate salt stress. *BMC Plant Biol*, 17. [Cros, 1–13.

Li, W., Yamaguchi, S., Khan, M., An, P., Liu, X., & Tran, L. (2016). Roles of gibberellins and abscisic acid in regulating germination of *suaeda salsa* dimorphic seeds under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01235>

Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. (2013). Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid. Redox Signal*. 19, 998–1011.

Lidon, F. C., & Henriques, F. S. (1993). Changes in the thylakoid membrane polypeptide patterns triggered by excess Cu in rice. *Photosynthetica*, 28, 109–117.

Lin, H., Wang, C., Zhao, H., Chen, G., & Chen, X. (2020). A subcellular level study of copper speciation reveals the synergistic mechanism of microbial cells and EPS involved in copper binding in bacterial biofilms. *Environ. Pollut.*, 114485.

Lin, J., Wang, J., Li, X., Zhang, Y., Xu, Q., & Mu, C. (2011). Effects of saline and alkaline stresses in varying temperature regimes on seed germination of *leymus chinensis* from the songnen grassland of china. *Grass and Forage Science*, 66(4), 578–584. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2011.00818.x>

Lin, Y. C., & Kao, C. H. (2007). Proline accumulation induced by excess nickel in detached rice leaves. *Biologia Plantarum* 51(2), 351--354.

Link, W. (2006). Methods and objectives in faba bean breeding. In C. M. Avila, J. I. Cubero, M. T. Moreno, M. J. Suso, & A. M. Torres (Eds.), *International Workshop on Faba Bean Breeding and Agronomy* (pp. 35–40). Junta de Andalucí'a.

Link, W. (2009). Züchtungsforschung bei der Ackerbohne: Fakten und Potentiale. *J. Kulturpflanzen*,

61, 341–347.

Link, W., Abdelmula, A. A., von Kittlitz, E., Bruns, S., Riemer, H., & Stelling, D. (1999). Genotypic variation for drought tolerance in *Vicia faba*. *Plant Breeding*, *118*, 477–483.

Link, W., Dixkens, C., Singh, M., & Schwall, M. (1995). Genetic diversity in European and Mediterranean faba bean germplasm revealed by RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, *90*, 27–32.

Link, W., Ederer, W., Metz, P., & Buiel, H. (1994). Genotypic and environmental variation for degree of cross-fertilization in faba bean. *Crop Sci.*, *34*, 960–964.

Liu, D., & Kottke, I. (2004). Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy. *EELS*. *Bioresource Technology*, *94*, 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.12.003>

Liu, J. J., Wei, Z., & Li, J. H. (2014). Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. *Bot. Stud.*, *55*, 47.

Liu, J., Wen, X. S., & Lang, A. D. (2007). Progress in components and effects of plant root exudates. *Food Drug*, *9*, 63–65.

Liu, X., Jiang, X., He, X., Zhao, W., Cao, Y., Guo, T., Li, T., Ni, H., & Tang, X. (2019). Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp. strain P34-L promotes wheat growth by colonizing the wheat rhizosphere and improving the wheat root system and soil phosphorus nutritional status. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*, 1314–1324.

Liu, Y., Dai, C., Zhou, Y., Qiao, J., Tang, B., Yu, W., Zhang, R., Liu, Y., & Lu, S.-E. (2021). Pyoverdines are essential for the antibacterial activity of *Pseudomonas chlororaphis* YL-1 under low-iron conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, *87*(7), e02840-20.

Liu, Y., Zhang, S., Boeck, H., & Hou, F. (2021). Effects of temperature and salinity on seed germination of three common grass species. *Frontiers in Plant Science*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.731433>

Liu, Z., Wu, S. S., & Pawliszyn, J. (2007). Characterization of plant growth-promoting rhizobacteria using capillary isoelectric focusing with whole column imaging detection. *Journal of Chromatography A*, *1140*(1–2), 213–218.

Livingston, D. P. 3rd. (2009). Hinch. *D. K.; Heyer, A. G. Fructan and Its Relationship to Abiotic Stress Tolerance in Plants. Cell Mol. Life Sci*, *66*. [Cros, 2007–2023.

Lobo, C. B., Tomás, M. S. J., Viruel, E., Ferrero, M. A., & Lucca, M. E. (2019). Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. *Microbiological Research*, *219*, 12–25.

Loon, L., Bakker, P., & Pieterse, C. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, *36*(1), 453–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>

Loper, J. E., & Buyer, J. S. (1991). Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact*, *4*(1), 5–13.

Loper, J. E., & Schroth, M. N. (1986a). Importance of siderophores in microbial interactions in the rhizosphere. In *Iron, Siderophores, and Plant Diseases* (pp. 85–98). Springer.

Loper, J. E., & Schroth, M. N. (1986b). Influence of bacterial sources of indole-2-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology*, *76*, 386–389. <https://doi.org/10.1094/Phyto-76-386>

Lopes, L., Silva, M., & Andreote, F. (2016). Bacterial abilities and adaptation toward the rhizosphere colonization. *Frontiers in Microbiology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01341>

López-Gómez, M., Tejera, N. A., Iribarne, C., Herrera-Cervera, J. A., & Lluch, C. (2012). Different strategies for salt tolerance in determined and indeterminate nodules of *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula*. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *58*(9), 1061–1073.

Loss, S. (2006). *Faba bean varieties and markets, Department of Agriculture and food, Government of Western Australia, ISSN 0726-934X*.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541–556.

Luo, Y., Wang, J., Gu, Y., Zhang, L., & Wei, H. (2023). Duplicated flagellins in *Pseudomonas*

divergently contribute to motility and plant immune elicitation. *Microbiology Spectrum*, 11(1). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03621-22>

Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19, 207–218.

Lutts, S., Majerus, V., & Kinet, J. (1999). NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiologia Plantarum*, 105(3), 450–458.

Lyubenova, L., Kuhn, A. J., Höltkemeier, A., & Schröder, P. (2013). Root exudation pattern of *Typha latifolia* L. plants after copper exposure. *Plant Soil*, 370. [Cro, 187–195.

M'Piga, P., Belanger, R. R., & Paulitz, T. C. (1997). Induced resistance by *Pseudomonas fluorescens* 63-28 against *Fusarium* wilt of tomato: role of siderophores. *Phytopathology*, 87(6), 568–574.

Müller, U., & Wilfried, W. (1986). Untersuchungen zum Wasserhaushalt der Ackerbohne I. *Wurzelwachstum, Wasseraufnahme Und Wasserverbrauch. KALI-BRIEFE (B`untehof)*, 18, 167–187.

Ma, Y., Mnv, P., Rajkumar, M., & Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol Adv.*, 29, 248–258.

Macarulla, M. T., Medina, C., Diego, M., Chavarri, M., Zulet, M., Martínez, J. A., Noël, S. C., Higuieret, P., & Portillo, M. P. (2001). Effects of the whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats. *British Journal of Nutrition*, 85(05), 607–614.

Magome, H., Yamaguchi, S., Hanada, A., Kamiya, Y., & Oda, K. (2008). The DDF1 transcriptional activator upregulates expression of a gibberellin-deactivating gene, *GA2ox7*, under high-salinity stress in *Arabidopsis*. *Plant J*, 56. [Cros, 613–626.

Mahadik, S., & Kumudini, B. S. (2020). Enhancement of salinity stress tolerance and plant growth in finger millet using fluorescent pseudomonads. *Rhizosphere*, 15, 100226.

Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 3315–3335.

Mahmoud, S. Y., Ziedan, E. S. H., Farrag, E. S., Kalafalla, R. S., & Ali, A. M. (2016). Antifungal activity of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* Schlech phytopathogenic fungi. *Int J PharmTech Res*, 9, 43–50.

Majhi, K., Let, M., Halder, U., & Bandyopadhyay, R. (2021). *Isolation and characterization of copper tolerant bacterial species habituating in copper mines and study of their potentiality as a plant growth stimulator.*

Maksymiec, W. (1997). Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica*, 34, 132–342.

Maksymiec, W., Russa, R., Urbanik-Sypniewska, T., & Baszynski, T. (1994). Effect of excess Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages. *Physiol. Plant*, 91, 715–721.

Malinowska, E., Jankowski, K., Wisniewska-Kadzajan, B., Sosnowski, J., Kolczarek, R., & Jankowska, J. & Ciepiela. (2015). Content of Zinc and Copper in Selected Plants Growing Along a Motorway. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95, 638–643. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1648-8>

Manan, F. A., Mamat, D. D., Samad, A. A., Ong, Y. S., Ooh, K. F., & Chai, T. T. (2015). Heavy metal accumulation and antioxidant properties of *Nephrolepis biserrata* growing in heavy metal-contaminated soil. *Global NEST Journal*, 17(3), 544–554.

Mani, S., Van de Cotte, B., Van Montagu, M., & Verbruggen, N. (2002). Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 128(1), 73–83.

Mansour, A., Mannaa, M., Hewedy, O., Ali, M. G., Jung, H., & Seo, Y.-S. (2022). Versatile Roles of Microbes and Small RNAs in Rice and Planthopper Interactions. *The Plant Pathology Journal*, 38(5),

432.

Mansour, E., Mahgoub, H., Mahgoub, S., El-Sobky, E., Abdul-Hamid, M., Kamara, M., others, & Desoky, E. (2021). Enhancement Of Drought Tolerance In Diverse Vicia Faba Cultivars By Inoculation With Plant Growth-promoting Rhizobacteria Under Newly Reclaimed Soil Conditions. *Sci Rep*, 1(11). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02847-2>

Mark, G. L., Morrissey, J. P., Higgins, P., & O'gara, F. (2006). Molecular-based strategies to exploit *Pseudomonas* biocontrol strains for environmental biotechnology applications. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 167–177.

Maroniche, G., Rubio, E., Consiglio, A., & Peticari, A. (2016). Plant-associated fluorescent *Pseudomonas* from red lateritic soil: beneficial characteristics and their impact on lettuce growth. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 62(5), 248–257. <https://doi.org/10.2323/jgam.2016.04.006>

Marques, D. M., Veroneze Júnior, V., da Silva, A. B., Mantovani, J. R., Magalhães, P. C., & de Souza, T. C. (2018). Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L.(Caesalpinioideae). *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1–14.

Marschner, H. (1991). Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil*, 134, 1–20.

Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press.

Marschner, H. (2011). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. In L. p. Academic Press (Ed.), 672. Mateos-Naranjo, E., Galle, A., Florez-Sarasa, I., Perdomo, J. A., Galme's, J., Ribas-Carbo, M., Flexas, J., 2015. Assessment of the role of silicon in the Cu-tolerance of the C4 grass *Spartina densiflora*. *J. Plant Physiol.* 178 (pp. 74–83). Academic Press.

Masson-Boivin, C., & Sachs, J. L. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia—the roots of a success story. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 7–15.

Matsuda, R., Handayani, M. L., Sasaki, H., Takechi, K., Takano, H., & Takio, S. (2018). Production of indoleacetic acid by strains of the epiphytic bacteria *Neptunomonas* spp. isolated from the red alga *Pyropia yezoensis* and the seagrass *Zostera marina*. *Archives of Microbiology*, 200, 255–265.

Matuszewska, M., Maciag, T., Rajewska, M., Wierzbicka, A., & Jafra, S. (2021). *Necessity Requires No Decision: Carbon Source-dependent Pattern Of Antimicrobial Activity and Gene Expression In Pseudomonas Donghuensis P482*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-294263/v1>

Maurhofer, M., Reimann, C., Schmidli-Sacherer, P., Heeb, S., Haas, D., & Défago, G. (1998). Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology*, 88(7), 678–684.

Mavrodi, D., Peever, T., Mavrodi, O., Parejko, J., Raaijmakers, J., Lemanceau, P., others, & Thomashow, L. (2010). Diversity and evolution of the phenazine biosynthesis pathway. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(3), 866–879. <https://doi.org/10.1128/aem.02009-09>

Maxted, N., Erskine, W., Singh, D. P., Robertson, L. D., & Asthana, A. N. (2000). Are our germplasm collections museum items? In R. Knight (Ed.), *Proceedings of the Third International Food Legumes Research Conference: Linking Research and Marketing Opportunities for Pulses in the 21st Century*. Adelaide, Australia, September 1997. Academic Publishers, , The Netherlands (pp. 22–26). Kluwer.

Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(6), 565–572.

Mazancourt, V., Klotz, W., Marquet, G., Mos, B., Rogers, D., & Keith, P. (2021). New insights on biodiversity and conservation of amphidromous shrimps of the indo-pacific islands. *Decapoda: Atyidae: Caridina*., 381–404. <https://doi.org/10.1201/9781003139560-12>

McDonald, G. K., & Paulsen, G. M. (1997). High temperature effects on photo-synthesis and water relations of grain legumes. *Plant Soil*, 196, 47–58.

McKellar, M. E., & Nelson, E. B. (2003). Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 452–460.

McLoughlin, F., Galvan-Ampudia, C. S., Julkowska, M. M., Caarls, L., van der Does, D., & others.

- (2012). The Snf1- related protein kinases SnRK2.4 and SnRK2.10 are involved in maintenance of root system architecture during salt stress. *Plant J.*, 72, 436–449.
- Meena, V. S., Bahadur, I., Maurya, B. R., Kumar, A., Meena, R. K., Meena, S. K., & Verma, J. P. (2016). Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, 1–20.
- Meharg, A. A. (1994). Integrated tolerance mechanisms-constitutive and adaptive plant- responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant Cell Environ.*, 17, 989–993.
- Mehmood, N. (2023). Multifaceted impacts of plant-beneficial pseudomonas spp. *Managing Various Plant Diseases and Crop Yield Improvement. Acs Omega*, 8(25), 22296–22315. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00870>
- Mehnaz, S., Weselowski, B., Aftab, F., Zahid, S., Lazarovits, G., & Iqbal, J. (2009). Isolation, characterization, and effect of fluorescent pseudomonads on micropropagated sugarcane. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(8), 1007–1011.
- Melo, G. W., Brunetto, G., Schafer Junior, A., Kaminski, J., & Furlanetto, V. (2008). Matéria seca e acumulação de nutrientes em videiras jovens cultivadas em solos com diferentes níveis de cobre. *Ver. Bras. Agrociência*, 14(72e), 76.
- Memon, S. A., Hou, X., & Wang, L. J. (2010). MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF SALT STRESS RESPONSE OF PAK CHOI. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(1).
- Mendoza-Suárez, M., Andersen, S. U., Poole, P. S., & Sánchez-Cañizares, C. (2021). Competition, nodule occupancy, and persistence of inoculant strains: key factors in the rhizobium-legume symbioses. *Frontiers in Plant Science*, 12, 690567.
- Mercado-Blanco, J. (2014). *Pseudomonas strains that exert biocontrol of plant pathogens.*, 121-172. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9555-5_6
- Mertens, J., Vangronsveld, J., Van Der Straeten, D., & Poucke, M. (1999). Effects of copper and zinc on the ethylene production of Arabidopsis thaliana. In A. K. Kanellis, C. Chang, H. Klee, A. B. Bleecker, J. C. Pech, & D. Grierson (Eds.), *Biol Biotechnol Plant Horm Ethyl II SE - 60. Academic Publishers* (pp. 333–338). Kluwer.
- Meyer, J. M., & Abdallah, M. A. (1987). The fluorescent pigment of Pseudomonas fluorescens biosynthesis, purification and physical-chemical properties. *Microbiology*, 107, 319–328. <https://doi.org/10.1099/00221287-107-2-319>
- Meyer, J. M. and, & Abdallah, M. A. (1978). The fluorescent pigment of Pseudomonas fluorescens: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *Microbiology*, 107(2), 319–328.
- MEZAACHE, S. (2014). *Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de Pseudomonas isolées de la rhizosphère de la pomme de terre.*
- Michaud, A. M., Chappellaz, C., & Hinsinger, P. (2008). Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (Triticum turgidum durum L.). *Plant and Soil*, 310, 151–165.
- Mihailovic, V., Mikic A. Cupina, B., & Eric, P. (2005). Field pea and vetches in serbia and Montenegro. *Grain Legumes*, 44, 25–26.
- Millaleo, R., Reyes-Díaz, M., Ivanov, A. G., Mora, M. L., & Alberdi, M. (2010). Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(4), 470–481.
- Miller, G., Shulaev, V., & Mittler, R. (2008). Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiol. Plant*, 133. [Cro, 481–489.
- Min, K., Rajeswaran, W., Oldenbourg, R., Harris, G., Keswani, R., Chiang, M., others, & Rosania, G. (2015). Massive bioaccumulation and self-assembly of phenazine compounds in live cells. *Advanced Science*, 2(8), 150002. <https://doi.org/10.1002/advs.201500025>
- Minnich, M. M., McBride, M. B., & Chaney, R. L. (1987). Copper activity in soil solution: II. Relation to copper accumulation in young snapbeans 1. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51(3), 573e.
- Miotto, A., Ceretta, C. A., Brunetto, G., Nicoloso, F. T., Giroto, E., Farias, J. G., Tiecher, T. L., De

- Conti, L., & Trentin, G. (2014). Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. *Plant Soil*, 374, 593–610.
- Mirfattahi, Z., Karimi, S., & Roozban, M. R. (2017). Salinity induced changes in water relations, oxidative damage and morpho-physiological adaptations of pistachio genotypes in soilless culture. *Acta Agric. Slov*, 109, [Cro, 291–302.
- Mishra, P., Bisht, S., Jeevanandan, K., Kumar, S., Bisht, J., & Bhatt, J. (2013). Synergistic effect of inoculating plant growth-promoting pseudomonas spp. and rhizobium leguminosarum-fb1 on growth and nutrient uptake of rajmash (phaseolus vulgarisl.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(6), 799–815. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.843773>
- Mishra, P. K., Mishra, S., Bisht, S. C., Selvakumar, G., Kundu, S., Bisht, J. K., & Gupta, H. S. (2009). Isolation, molecular characterization and growth-promotion activities of a cold tolerant bacterium Pseudomonas sp. NARs9 (MTCC9002) from the Indian Himalayas. *Biological Research*, 42(3), 305–313.
- Mitchell, R. L., Burchett, M. D., Pulkownik, A., & McCluskey, L. (1988). Effects of environmentally hazardous chemicals on the emergence and early growth of selected Australian native plants. *Plant Soil*, 112(195e), 199.
- Mittal, N., Vaid, P., & A, K. (2015). Effect on amylase activity and growth parameters due to metal toxicity of iron, copper and zinc. *Indian J Appl Res*, 5, 662–664.
- Mittler, R. R. O. S. (2017). Are Good. *Trends Plant Sci*, 22, [Cros, 11–19.
- Mohamed, H., & Mirry, R. (2019). The allelopathic effect of maize and sorghum on some physiological teristics of wheat and broad bean using hydroponics. *Journal of the College of Basic Education*, 25(103), 90–118. <https://doi.org/10.35950/cbej.v25i103.4548>
- Mohammed, A. (2018). Effectiveness Of Exopolysaccharides and Biofilm Forming Plant Growth Promoting Rhizobacteria On Salinity Tolerance Of Faba Bean (Vicia Faba L.). *Afr. J. Microbiol. Res.*, 17(12), 399–404. <https://doi.org/10.5897/ajmr2018.8822>
- Mohan, D., Radhakrishnan, G., Rajadurai, S., & Joseph, K. T. (1990). Evaluation of reactivity ratio of acrylate copolymers by ¹³C-NMR. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Letters*, 28(10), 307–314.
- Mohanrao, K., Pramod, P., & Sapan, M. (2023). Calcium chloride priming reverses the effect of salinity stress on α -amylase activity during seed germination in vigna radiata. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 11(1), 169–172. <https://doi.org/10.22271/j.ento.2023.v11.i1c.9152>
- Mohanty, P., Singh, P., Chakraborty, D., Mishra, S., & Pattnaik, R. (2021). Insight into the role of pgpr in sustainable agriculture and environment. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667150>
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638–649.
- Mondal, T. K., Bal, A. R., & Dal, S. (1988). Effect of salinity on germination and seedling growth of different rice (Oryza sativa L.) cultivars. *J. Indian Soc. Coastal Agri. Res.*, 6, 91–97.
- Monferrán, M. V., Agudo, J. A. S., Pignata, M. L., & Wunderlin, D. A. (2009). Copper-induced response of physiological parameters and antioxidant enzymes in the aquatic macrophyte Potamogeton pusillus. *Environ. Pollut.*, 157, 2576.
- Monowar, T., Rahman, S., Bhore, S., & Sathasivam, K. (2021). Endophytic Bacteria Enterobacter Hormaechei Fabricated Silver Nanoparticles and Their Antimicrobial Activity. *Pharmaceutics*, 4(13), 511. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040511>
- Monteoliva, M. I., Rizzi, Y. S., Cecchini, N. M., Hajirezaei, M. R., & Alvarez, M. E. (2014). Context of action of proline dehydrogenase (ProDH) in the hypersensitive response of Arabidopsis. *BMC Plant Biol.*, 14, 21.
- Moon, Y.-S., & Ali, S. (2022). Isolation and identification of multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria from coastal sand dune plant species of Pohang beach. *Folia Microbiologica*, 67(3), 523–

533.

Mora, M., Jiménez, P., González, D., & Probanza, A. (2021). Bio-mercury remediation suitability index: a novel proposal that compiles the pgpr features of bacterial strains and its potential use in phytoremediation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(8), 4213. <https://doi.org/10.3390/ijerph18084213>

Moradi, F., & Ismail, A. M. (2007). Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Annals of Botany*, *99*(6), 1161–1173.

Morales, D. K., Grahl, N., Okegbe, C., Dietrich, L. E., Jacobs, N. J., & Hogan, D. A. (2013). Control of *Candida albicans* metabolism and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. *Mbio*, *4*:e00526.

Morris, E. C., Griffiths, M., Golebiowska, A., Mairhofer, S., Burr-Hersey, J., & others. (2017). Shaping 3D root system architecture. *Curr. Biol.*, *27*, R919-30.

Moura, E. G., Carvalho, C. S., Bucher, C. P. C., Souza, J. L. B., Aguiar, A. C. F., Ferraz Junior, A. S. L., Bucher, C. A., & Coelho, K. P. (2020). Diversity of Rhizobia and importance of their interactions with legume trees for feasibility and sustainability of the tropical agrosystems. *Diversity*, *12*(5), 206.

Mousavi, S., Karami, A., & Maggi, F. (2022). Photosynthesis and chlorophyll fluorescence of iranian licorice (*glycyrrhiza glabra* L.) accessions under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.984944>

Muccifora, S., & Bellani, L. M. (2013). Effects of copper on germination and reserve mobilization in *Vicia sativa* L. *Seeds. Environmental Pollution*, *179*(2013), 68e.

Mulugeta, B., Tesfaye, K., Keneni, G., & Ahmed, S. (2021). Genetic diversity in spring faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes as revealed by high-throughput KASP SNP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *68*(5), 1971–1986.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell*, *25*(2), 230–250.

Munns, R., & Termaat, A. (1986). Whole-plant responses to salinity. *Funct. Plant Biol*, *13*. [Cros, 143–160.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant BiQol.*, *59*, 651–681.

Munzuroglu, O., Zengin, F. K., & Yahyagil, Z. (2008). The abscisic acid levels of wheat (*Triticum aestivum* L. Cv. *Cakmak*, 79) seeds, 1–7.

Murkute, A. A., Sharma, S., & Singh, S. K. (2006). Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Hortic Sci*, *33*, 70–76. <https://doi.org/10.17221/3742-hortsci>

Murkute, A. A., Sharma, S., Singh, S. K., & Patel, V. B. (2009). Response of mycorrhizal citrus rootstock plantlets to salt stress. *Indian J Hortic*, *66*, 456–460.

Nadeem, E., Lange, J. M., Edge, D., Fongwa, M., Belin, T., & Miranda, J. (2007). Does stigma keep poor young immigrant and US-born Black and Latina women from seeking mental health care? *Psychiatric Services*, *58*(12), 1547–1554.

Nadgórska-Socha, A., Kafel, A., Kandziora-Ciupa, M., Gospodarek, J., & Zawisza-Raszka, A. (2012). Accumulation Of Heavy Metals and Antioxidant Responses In *Vicia Faba* Plants Grown On Monometallic Contaminated Soil. *Environ Sci Pollut Res*, *2*(20), 1124–1134. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1191-7>

Naik, M. M., & Dubey, S. K. (2013). Lead resistant bacteria: lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. *Ecotoxicol. Envi- Ron.*, *98*(1e), 7.

Nanda, R., & Agrawal, V. (2016). Elucidation of zinc and copper induced oxidative stress, DNA damage and activation of defence system during seed germination in *Cassia angustifolia* Vahl. *Environmental and Experimental Botany*, *125*, 31–41.

Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2017). Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.*, *68*(1), 12e.

- Naqvi, H. K. (1984). Cultivation under the Sultans of Delhi c. 1206--1555. *Indian J. History. Sci.*, 19, 329–340.
- Nascimento, F. X., Brígido, C., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2016). The role of rhizobial ACC deaminase in the nodulation process of leguminous plants. *International Journal of Agronomy*, 2016.
- Nascimento, F. X., Vicente, C. S. L., Barbosa, P., Espada, M., Glick, B. R., Mota, M., & Oliveira, S. (2013). Evidence for the involvement of ACC deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 in the biocontrol of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. *BioControl*, 58, 427–433.
- Nawaz, K., & Ashraf, M. (2010). Exogenous application of glycinebetaine modulates activities of antioxidants in maize plants subjected to salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196(1), 28–37. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037x.2009.00385.x>
- Naya, L., Ladrera, R., Ramos, J., Gonz´alez, E. M., Arrese-Igor, C., Minchin, F. R., & Becana, M. (2007). The response of carbon metabolism and antioxidant defenses of alfalfa nodules to drought stress and to the subsequent recovery of plants. *Plant Physiol.*, 144, 1104–1114.
- Naz, I., Bano, A., & Ul-Hassan, T. (2009). Isolation of phytohormones producing plant growth promoting rhizobacteria from weeds growing in Khewra salt range Pakistan and their implication in providing salt tolerance to *Glycine max* L. *Afr J Biotechnol.*, 8, 5762–5766.
- Nazir, F., Hussain, A., & Fariduddin, Q. (2019). Hydrogen peroxide modulate photosynthesis and antioxidant systems in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants under copper stress. *Chemosphere*, 230(544e), 558.
- Nelkner, J., Henke, C., Lin, T. W., Pätzold, W., Hassa, J., Jaenicke, S., Grosch, R., Pühler, A., Sczyrba, A., & Schlüter, A. (2019). Effect of long-term farming practices on agricultural soil microbiome members represented by metagenomically assembled genomes (MAGs) and their predicted plant-beneficial genes. *Genes*, 10(6), 424.
- Nerkar, Y. S., Wilson, D., & Lawes, D. A. (1981). Genetic variation in stomatal characteristics and behaviour, water use and growth of five *Vicia faba* L. Genotypes under contrasting soil moisture regimes. *Euphytica*, 30, 335–345.
- Neumann, P. (1997). Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant, Cell & Environment*, 20(9), 1193–1198.
- Nezarat, S., & Gholami, A. (2009). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(1), 26.
- Nguyen, C., Thrift, W., Bhattacharjee, A., Ranjbar, S., Gallagher, T., Darvishzadeh-Varcheie, M., others, & Ragan, R. (2018). Longitudinal Monitoring Of Biofilm Formation Via Robust Surface-enhanced Raman Scattering Quantification Of *pseudomonas Aeruginosa*-produced Metabolites. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 15(10), 12364–12373. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b18592>
- Nguyen, C., Yan, W., Le Tacon, F., & Lapeyrie, F. (1992). Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) PD Orton. *Plant and Soil*, 143, 193–199.
- Nguyen, V. Q., Nguyen, U. H., Nguyen, T. C., Dao, A. T., & Nguyen, L. T. T. (2023). Effect of culture conditions on pyocyanin production by recombinant pyocyanin-producing strain *Pseudomonas aeruginosa* PS39-phzMS. *Malaysian Journal of Microbiology*, 19(3). <https://doi.org/10.21161/mjm.220077>
- Nishiyama, R., Watanabe, Y., Fujita, Y., Le, D. T., Kojima, M., Werner, T., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Kakimoto T., & others. (2011). Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. *Plant Cell*, 23. [Cross, 2169–2183.
- Norlyn, J. B. (1980). Breeding salt-tolerant crop plants. In: *Genetic Engineering of Osmoregulation: Impact on Plant Productivity for Food, Chemicals and Energy* (DW Rains, RC Valentine, A Hollaender, Eds) Plenum Press, New York, 293–309.
- Noumavo, P. A., Kochoni, E., Didagbé, Y. O., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R., &

- Gachomo, E. W. (2013). Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1013–1021. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45125>
- O'Donnell, P. J., Calvert, C., Atzorn, R., Wasternack, C., Hmo, L., & Bowles, D. J. (1996). Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science*, 274, 1914–1917. <https://doi.org/10.1126/science.274.5294.1914>
- O'sullivan, D. J., & O'Gara, F. (1992). Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Reviews*, 56(4), 662–676.
- Ohta, M., Guo, Y., Halfter, U., & Zhu, J. K. (2003). A novel domain in the protein kinase SOS2 mediates interaction with the protein phosphatase 2C ABI2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, [Cro, 11771–11776.
- OIV-ONIVINS. (1990). Recueil des Méthodes Internationales D'Analyses des Vins et des Mouts. *Office Internationale de La Vigne et Du Vin, OIV, Paris, France*, 179.
- Okuma, E., Soeda, K., Fukuda, M., Tada, M., & Murata, Y. (2002). Negative correlation between the ratio of K⁺ to Na⁺ and proline accumulation in tobacco suspension cells. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48(5), 753–757.
- Okuma, E., Soeda, K., Tada, M., & Murata, Y. (2000). Exogenous proline mitigates the inhibition of growth of *Nicotiana tabacum* cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(1), 257–263.
- Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., & Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Sci Total Environ.*, 743.
- Oomah, B. D., Luc, G., Leprelle, C., Drover, J. C., Harrison, J. E., & Olson, M. (2011). Phenolics, phytic acid, and phytase in Canadian-grown low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3763–3771.
- Orlandi, V., Bolognese, F., Chiodaroli, L., Tolker-Nielsen, T., & Barbieri, P. (2015). Pigments Influence the Tolerance Of *Pseudomonas Aeruginosa* Paol To Photodynamically Induced Oxidative Stress. *Microbiology*, 12(161), 2298–2309. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000193>
- Orosa-Puente, B., Leftley, N., von Wangenheim, D., Banda, J., Srivastava, A. K., & others. (2018). Root branching toward water involves posttranslational modification of transcription factor ARF7. *Science*, 362, 1407–1410.
- Orozco-Mosqueda, M. del C., Kumar, A., Fadiji, A. E., Babalola, O. O., Puopolo, G., & Santoyo, G. (2023). Agroecological management of the grey mould fungus *Botrytis cinerea* by plant growth-promoting bacteria. *Plants*, 12(3), 637.
- Oruc, S., Eren, P., Kocyigit, A., & Yeralan, S. (2019). A taxonomy for personal processes: results from a semi-structured interview., 771-782. https://doi.org/10.1007/978-3-030-29374-1_63
- Osugi, A., & Sakakibara, H. (2015). How do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol.*, 13, 102.
- Othman, Y., Al-Karak, G., Al-Tawaha, A. R., & AlHorani, A. (2006). Variation in germination and ionuptake in barley genotypes under salinity conditions, p 11-15.
- Overhage, J., Bains, M., Brazas, M. D., & Hancock, R. E. W. (2008). Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is a complex adaptation leading to increased production of virulence factors and antibiotic resistance. *Am Soc Microbiol.*
- Pal, A., Chakraborty, A., & Sengupta, C. (2018). Differential Effects Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria On Chilli (*Capsicum Annuum* L.) Seedling Under Cadmium and Lead Stress. *Plant Sci. Today*, 4(5), 182–190. <https://doi.org/10.14719/pst.2018.5.4.419>
- Palma, F., Tejera, N. A., & Lluch, C. (2013). Nodule carbohydrate metabolism and polyols involvement in the response of *Medicago sativa* to salt stress. *Environ. Exp. Bot.*, 85, 43–49.
- Palmer, R., Perez, P., Perez, C., Maalouf, F., & Suso, M. (2009). The role of crop pollinator relationships in breeding for pollinator-friendly legumes: from a breeding prospective. *Euphytica*, 170,

35–52.

Pandhare, R. S., & Gupta, S. G. (2019). *Effect of various parameters on removal of chromium (vi) using pseudomonas aeruginosa 4442.*

Pandya, N. D., & Desai, P. V. (2014). Screening and characterization of GA3 producing *Pseudomonas monteilii* and its impact on plant growth promotion. *Int J Curr Microbiol App Sci.*, 3, 110–115.

Panou-Filothéou, H., & Bosabalidis, A. & Karataglis S. (2001). (n.d.). Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*). *Annals of Botany*, 88, 207–214. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1441>

Panou-Filothéou, H., & Bosabalidis, A. M. (2004). Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano. *Origanum Vulgare Sudsp. Hirtum*). *Plant Sci.*, 166, 1497–1504.

Panou-Filothéou, H., Bosabalidis, A. M., & Karataglis, S. (2001). Effects of copper toxicity on leaves of oregano. *Origanum Vulgare Subsp. Hirtum*). *Ann. Bot.*, 88, 207–214.

Papastylíanou, P., Bakogianni, N.-N., Travlos, I., & ROUSSIS., I. (2018). Sensitivity of Seed Germination to Salt Stress in Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Not Bot Horti Agrobo*, 46(1), 202–205. <https://doi.org/10.15835/nbha46110861>

Paque, S., & Weijers, D. (2016). Q&A: Auxin: the plant molecule that influences almost anything. *BMC Biology*, 14, 1–5.

Paredes-Páliz, K. I., & Al. (2016). Bacterial inoculants for enhanced seed germination of *Spartinadensiflora*: Implications for restoration of metal polluted areas. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.036>

Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324–349.

Park, H., Lee, Y., Kim, K., Park, Y., Park, K., Han, T., others, & Ahn, Y. (2017). Inoculation with *Bacillus licheniformis* mh48 promotes nutrient uptake in seedlings of the ornamental plant *Camellia japonica* grown in Korean reclaimed coastal lands. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 35(1), 11–20. <https://doi.org/10.12972/kjhst.20170002>

Parker, D., Lee, S., Geszvain, K., Davis, R., Gruffaz, C., Meyer, J., others, & Tebo, B. (2014). Pyoverdine Synthesis By the Mn(ii)-oxidizing Bacterium *Pseudomonas Putida* Gb-1. *Front. Microbiol.*, (5). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00202>

Parrotta, L., Guerriero, G., Sergeant, K., Cai, G., & Hausman, J.-F. (2015). Target or barrier? The cell wall of early- and later-diverging plants vs cadmium toxicity: differences in the response mechanisms. *Plant Genet. Genomics*, 6, 133. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00133>

Parveen, H., Singh, A. V., Khan, A., Prasad, B., & Pareek, N. (2018). Influence of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling vigour of green gram. *International Journal of Chemical Studies*, 6(4), 611–618.

Parvin, W., Rahman, M. M., Govender, N. T., & Wong, M. Y. (2020). Identification, determination and quantification of indole-3-acetic acid produced by *Pseudomonas aeruginosa* UPMP3 and its effect on the growth of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *World Journal of Agricultural Research*, 8(3), 75–83.

PASTOR-CAVADA, E., Juan, R., Pastor, J. E., Alaiz, M., GIRÓN-CALLE, J., & Vioque, J. (2011). Antioxidative activity in the seeds of 28 *Vicia* species from southern Spain. *Journal of Food Biochemistry*, 35(5), 1373–1380.

Patel, T., & Saraf, M. (2017). Biosynthesis of phytohormones from novel rhizobacterial isolates and their in vitro plant growth-promoting efficacy. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 480–487.

Patil, N. B., Gajbhiye, M., Ahiwale, S. S., Gunja, A. B., & Kapadnis, B. P. (2011). Optimization of indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(1), 295–302.

Patil, S., Sastry, M., & Bharde, A. (2022). Size and Shape Directed Novel Green Synthesis Of Plasmonic Nanoparticles Using Bacterial Metabolites And Their Anticancer Effects. *Front. Microbiol.*,

(13). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866849>

Patra, D., & Mandal, S. (2022). Nod-factors are dispensable for nodulation: A twist in bradyrhizobia-legume symbiosis. *Symbiosis*, 86(1), 1–15.

Patrick, J. W., & Stoddard, F. L. (2010). Physiology of flowering and grain filling in faba bean. *Field Crops Res.*, 115, 234–242.

Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002a). Role of *Pseudomonas putida* indole-acetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol.*, 68, 3795–3801.

Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002b). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795–3801.

Paul, D., & Lade, H. (2014). Plant-growth-promoting rhizobacteria to improve crop growth in saline soils: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 737–752.

Paulin, M. M., Novinscak, A., Lanteigne, C., Gadkar, V. J., & Fillion, M. (2017). Interaction between 2, 4-diacetylphloroglucinol-and hydrogen cyanide-producing *Pseudomonas brassicacearum* LBUM300 and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in the tomato rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(13), 17–73.

Pearce, S. R., Harrison, G., Li, D., Heslop-Harrison, J. S., Kumar, A., & Flavell, A. (1996). The Ty1-copia group retrotransposon in *Vicia* species: copy number, sequence heterogeneity and chromosome localisation. *Mol. Gen. Genet.*, 250, 305–315.

Peng, J., Li, Z., Wen, X., Li, W., Shi, H., Yang, L., Zhu, H., & Guo, H. (2014). Salt-induced stabilization of EIN3/EIL1 confers salinity tolerance by deterring ROS accumulation in *Arabidopsis*. *PLoS Genet.* 10, e1004664.

Peng, J., Liu, J., Zhang, L., Luo, J., Dong, H., Ma, Y., Zhao, X., Chen, B., Sui, N., Zhou, Z., & others. (2016). Effects of Soil Salinity on Sucrose Metabolism in Cotton Leaves. *PLoS ONE*, 11, e01562.

Peng, Y. L., Gao, Z. W., Gao, Y., Liu, G. F., Sheng, L. X., & Wang, D. L. (2008). Ecophysiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt--alkaline stresses. *J Integr Plant Biol*, 50(1), 29–39. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00607.x>

Penrose, D. M., & Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol Plant*, 118, 10–15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>

Per, T. S., Khan, N. A., Reddy, P. S., Masood, A., Hasanuzzaman, M., Khan, M. I. R., & Anjum, N. A. (2017). Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. *Plant Physiol. Biochem*, 115, [Cro], 126–140.

Pérez-Gutiérrez, R., López-Ramírez, V., Islas, Á., Alcaraz, L., Hernández-González, I., Olivera, B., others, & Olmedo-Álvarez, G. (2012). Antagonism influences assembly of a bacillus guild in a local community and is depicted as a food-chain network. *The Isme Journal*, 7(3), 487–497. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.119>

Pfister, A., Barberon, M., Alassimone, J., Kalmbach, L., Lee, Y., & others. (2014). A receptor-like kinase mutant with absent endodermal diffusion barrier displays selective nutrient homeostasis defects. *eLife* 3:e03115.

Pikovskaya, R. (1948). Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologiya*, 17, 362–370.

Plažek, A., Dubert, F., Kościelniak, J., Tatrzańska, M., Maciejewski, M., Gondek, K., & Żurek, G. (2014). Tolerance of *Miscanthus* × *giganteus* to salinity depends on initial weight of rhizomes as well as high accumulation of potassium and proline in leaves. *Industrial Crops and Products*, 52, 278–285.

Plies-Balzer, E., Kong, T., Schuber, S., & Mengel, K. (1995). Effect of water stress on plant growth, nitrogenase activity and nitrogen economy of four different cultivars of *Vicia faba* L. *Eur. J. Agron.*, 4, 167–173.

Portugal, A., Balachandra, R., Metz, T., Bruskiwich, R., & McLaren, G. (2007). International Crop Information System for germplasm data management. In D. Edwards (Ed.), *Plant Bioinformatics. Methods in Molecular Biology* (pp. 459–472). Humana Press.

- Posmyk, M. M., Kuran, H., Marciniak, K., & Janas, K. M. (2008). Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *J. Pineal Res.*, *45*, 24–31.
- Poustini, K., Siosemardeh, A., & Ranjbar, M. (2007). Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *54*, 925–934.
- Prathibha, K. S., & Siddalingeshwara, K. G. (2013). Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* as Rhizobacteria on seed quality of sorghum. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, *2*(3), 11–18.
- Preetha, R., Jose, S., Prathapan, S., Vijayan, K., Jayaprakash, N., Philip, R., Singh, B., & An, I. (2010). Inhibitory compound produced by *Pseudomonas* with effectiveness on *Vibrio harveyi*. *Aquac Res*, *41*, 1452–1461. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02436.x>
- Preston, G. (2004). Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, *359*(1446), 907–918. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1384>
- Preston, G., Bertrand, N., & Rainey, P. (2001). Type III secretion in plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* sbw25. *Molecular Microbiology*, *41*(5), 999–1014. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02560.x>
- Price, A. H., & Hendry, G. A. F. (1991). Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant, Cell & Environment*, *14*(5), 477–484.
- Priefer, U. B., Aurag, J., Boesten, B., Bouhmouch, I., Defez, R., Filali-Maltouf, A., Miklis, M., Moawad, H., Mouhsine, B., Prell, J., Schluter, A., & Sena. (2001). *tore. B, Characteri*, 223–236.
- Prigigallo, M., Cabanás, C., Mercado-Blanco, J., & Bubici, G. (2022). Designing a synthetic microbial community devoted to biological control: the case study of fusarium wilt of banana. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967885>
- Printz, B., Lutts, S., Hausman, J. F., & Sergeant, K. (2016). Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Front. Plant Sci.*, *7*, 601.
- Prior, R., Mittelbach, M., & Begerow, D. (2017). Impact of three different fungicides on fungal epiphytic and endophytic communities of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and broad bean (*Vicia faba*). *J. Environ. Sci. Health B*, *52*, 376–386.
- Priyaja, P., Jayesh, P., Correya, N. S., Sreelakshmi, B., Sudheer, N. S., Philip, R., & Singh, I. B. (2014). Antagonistic effect of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from various ecological niches on *Vibrio* species pathogenic to crustaceans. *Journal of Coastal Life Medicine*, *2*(1), 76–84.
- Pujol, J. A., CALVO, J. F., & Ramirez-Diaz, L. (2000). Recovery of germination from different osmotic conditions by four halophytes from southeastern Spain. *Annals of Botany*, *85*(2), 279–286.
- Qu, X.-X., Huang, Z.-Y., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2008). Effect of temperature, light and salinity on seed germination and radicle growth of the geographically widespread halophyte shrub *Halocnemum strobilaceum*. *Annals of Botany*, *101*(2), 293–299.
- Quartacci, M. F., Pinzino, C., Sgherri, C. L. M., Dalla Vecchia, F., & Navari-Izzo, F. (2000). Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in wheat. *Physiol. Plant*, *108*, 87–93.
- Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., & Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, *34*(6), 1037–1062.
- Rabie, G. H., Aboul-Nasr, M. B., & Al-Humiany, A. (2005). Increase salinity tolerance of cowpea plants by dual inoculation of AM fungus *Glomus clarum* and nitrogen-fixer *Azospirillum brasilense*. *Mycobiology*, *33*(1), 51–61. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2005.33.1.051>
- Radwan, S. S., Dashti, N., & El-Nemr, I. M. (2005). Enhancing the growth of *Vicia faba* plants by microbial inoculation to improve their phytoremediation potential for oily desert areas. *International Journal of Phytoremediation*, *7*(1), 19–32.

Rafique, H. M., Khan, M. Y., Asghar, H. N., Ahmad Zahir, Z., Nadeem, S. M., Sohaib, M., Alotaibi, F., & Al-Barakah, F. N. I. (2023). Converging alfalfa (*Medicago sativa* L.) and petroleum hydrocarbon acclimated ACC-deaminase containing bacteria for phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 25(6), 717–727.

Rahimi, N. M., Song, J. T., & Lee, J.-D. (2018). Effect of salt stress on germination and seedling growth of soybean. *Proceedings of the Korean Society of Crop Science Conference*, 63.

Rahnama, A., Poustini, K., Afshari, R., Ahmadi, A., & Alizadeh, H. (2011). Growth properties and ion distribution in different tissues of bread wheat genotypes (*triticum aestivum* l.) differing in salt tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(1), 21–30. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037x.2010.00437.x>

Rajasekaran, L. R., Aspinall, D., Jones, G. P., & Paleg, L. G. (2001). Stress metabolism. IX. *Effect of Salt Stress on Trigonelline Accumulation in Tomato*. *Can. J. Plant Sci*, 81, [Cros, 487–498.

Raji El Feghali, P. A., & Nawas, T. (2018). Pyocyanin: A Powerful Inhibitor of Bacterial Growth and Biofilm Formation. *Madridge J Case Rep Stud*, 3(1), 101–107. <https://doi.org/10.18689/mjcrs-1000125>

Rajkumar, M., & Freitas, H. (2008). Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 71(5), 834–842.

Raklami, A., Bechtaoui, N., Tahiri, A., Anli, M., Meddich, A., & Oufdou, K. (2019). Use Of Rhizobacteria and Mycorrhizae Consortium In The Open Field As A Strategy For Improving Crop Nutrition, Productivity And Soil Fertility. *Front. Microbiol.*, (10). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01106>

Ramesh, Y., & Ramassamy, V. (2015). Influence Of *Pseudomonas Fluorescens* As Biofertilizer In Secondary Hardening Of Tissue Cultured Banana Var. *Poovan*. *Int J Appl Sci Biotechnol*, 1(3), 38–41. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v3i1.11878>

Ramette, A., Frapolli, M., Défago, G., & Moëne-Loccoz, Y. (2003). Phylogeny of HCN synthase-encoding *hcnBC* genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(6), 525–535.

Ramos, M. L. G., Gordon, A. J., Minchin, F. R., Sprent, J. I., & Parsons, R. (1999). Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean. (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Ann. Bot.*, 83, 57–63.

Randhir, R., & Shetty, K. (2003). Light-mediated fava bean (*Vicia faba*) response to phytochemical and protein elicitors and consequences on nutraceutical enhancement and seed vigour. *Process Biochemistry*, 38(6), 945–952.

Randhir, R., & Shetty, K. (2007). Elicitation of the proline-linked pentose phosphate pathway metabolites and antioxidant enzyme response by ascorbic acid in dark germinated fava bean sprouts. *Journal of Food Biochemistry*, 31(4), 485–508.

Randhir, R., Vattam, D. A., & Shetty, K. (2006). Antioxidant enzyme response studies in H₂O₂ stressed porcine muscle tissue following treatment with fava bean sprout extract and L-DOPA. *Journal of Food Biochemistry*, 30(6), 671–698.

Ranjard, L., Echairi, A., Nowak, V., Lejon, D. P. H., Nouaïm, R., & Chaussod, R. (2006). Field and microcosm experiments to evaluate the effects of agricultural Cu treatment on the density and genetic structure of microbial communities in two different soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 58(2), 303–315.

Raoufi, A., Salehi, H., Rahemi, M., Shekafandeh, A., & Khalili, S. (2021). In vitro screening: The best method for salt tolerance selection among pistachio rootstocks. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(3), 146–154.

Rasool, M., Akhter, A., Soja, G., & Haider, M. (2021). Role of biochar, compost and plant growth promoting rhizobacteria in the management of tomato early blight disease. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85633-4>

Rathore, P. (2015). A review on approaches to develop plant growth promoting rhizobacteria. *Int J Recent Sci Res*, 5(2), 403–407.

Rauf, F., Ullah, M., Kabir, M., Mia, M., & Rhaman, M. (2022). Gibberellic Acid Enhances the

Germination And Growth Of Maize Under Salinity Stress. *APRJ*, 5–15. <https://doi.org/10.9734/aprj/2022/v10i3191>

Raul, C., Prakash, S., Lenka, S., & Bharti, V. S. (2021). Sugarcane bagasse biochar: a suitable amendments for inland saline pond water productivity. *Journal of Environmental Biology*, *42*(5), 1264–1273.

Ray, H., & Georges, F. (2010). A genomic approach to nutritional, pharmacological and genetic issues of faba bean (*Vicia faba*): prospects for genetic modifications. *Genetically Modified Crops and Food*, *1*(2), 99–106.

Ray, J. G., & George, J. (2010). Lead in soils and tolerant herbs on roadsides in search of the metal accumulation patterns in diverse species. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, *5*(2), 227–244.

Razia Akbar (Tr.,). (2000). *Nuskha Dar Fanni-Falahat: (Issue Compiled)*.

Reckova, S., Tuma, J., Dobrev, P., & Vankova, R. (2019). Influence of copper on hormone content and selected morphological, physiological and biochemical parameters of hydroponically grown *Zea mays* plants. *Plant Growth Regul.*, *89*(2), 191e.

Redden, B., Leonforte, T., Ford, R., Croser, J., & Slattery, J. (2005). Pea (*Pisum sativum*). In R. Singh & P. Juahar (Eds.), *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement.*, Taylor and Francis Group, , USA, (Ch. 3 (pp. 49–83). CRC Press.

Redden, B., Maxted, N., Furman, B., & Coyne, C. (2007). Lens biodiversity. In S. S. Yadav, D. McNeil, & C. Stevenson (Eds.), *Lentil, an Ancient Crop for Modern Times.*, , The Netherlands, (Ch. 2 (pp. 11–22). Springer.

Redondo-Gómez, S., Romano-Rodríguez, E., Mesa-Marín, J., Sola-Elías, C., & Mateos-Naranjo, E. (2022). Consortia of plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from halophytes improve the response of swiss chard to soil salinization. *Agronomy*, *12*(2), 468.

Rejeb Ben, K., Abdelly, C., & Savouré, A. (2014). Reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology et Biochemistry*, *80*, 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.plphys.2014.05.007>

Rellán-Alvarez, R., Lobet, G., Lindner, H., Pradier, P. L., Sebastian, J., & others. (2015). *GLO-Roots: an imaging platform enabling multidimensional characterization of soil-grown root systems.* *eLife* *4*:e07597.

Requena, N., Jimenez, I., Toro, M., & Barea, J. M. (1997). Interactions between Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobium spp. *The Rhizosphere of Anthyllis Cytisoides, a Model Legume for Revegetation in Mediterranean Semi-Arid Ecosystems.* *The New Phytologist.*, *136*(4), 667–677.

Rezayian, M., & Zarinkamar, F. (2023). Nitric oxide, calmodulin and calcium protein kinase interactions in the response of brassica napus to salinity stress. *Plant Biology*, *25*(3), 411–419. <https://doi.org/10.1111/plb.13511>

Rizvi, A., & Khan, M. S. (2017). Biotoxic impact of heavy metals on growth, oxidative stress and morphological changes in root structure of wheat (*Triticum aestivum* L.) and stress alleviation by *Pseudomonas aeruginosa* strain CPSB1. *Chemosphere*, *185*, 942–952.

Rodelas, B., Lithgow, J. K., Wisniewski-Dye, F., Hardman, A., Wilkinson, A., Economou, A., Williams, P., & Downie, J. A. (1999). Analysis of quorum-sensing-dependent control of rhizosphere-expressed (rhi) genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Journal of Bacteriology*, *181*(12), 3816–3823.

Rodriguez, P., Dell'Amico, J., Morales, D., Blanco, M. S., & Alarcón, J. J. (1997). Effects of salinity on growth, shoot water relations and root hydraulic conductivity in tomato plants. *J. Agric. Sci.*, *128*, [Cro, 439–444.

Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, *17*(4–5), 319–339.

Rogel, J. Á., González-Alcaraz, M. N., & Conesa, H. M. (2013). Soil Degradation and Regeneration in Semiarid Areas. *Master in Advanced Techniques for Research and Development in Food and*

Agriculture, 50.

Roitto, M., Rautio, P., Julkunen-tiitto, R., Kukkola, E., & Huttunen, S. (2005). Changes in the concentrations of phenolics and photosynthates in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings exposed to nickel and copper. *Environmental Pollution*, 137, 603–609. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.046>

Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264–272.

Roskova, Z., Skarohlid, R., & McGachy, L. (2022). Siderophores: an alternative bioremediation strategy? *Science of The Total Environment*, 819, 153144.

Rout, G. R., & Das, P. (2009). Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. *Sustainable Agriculture*, 873–884.

Roy, S. K., Cho, S. W., Kwon, S. J., Kamal, A. H. M., Lee, D. G., Sarker, K., & Woo, S. H. (2017). Proteome characterization of copper stress responses in the roots of sorghum. *Biometals*, 30(5), 765e.

Rozema, J., & Flowers, T. (2008). Crops for a salinized world. *Science*, 322(5907), 1478–1480.

Ruan, Y.-L. (2014). Sucrose Metabolism: Gateway to Diverse Carbon Use and Sugar Signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 65, 33–67.

Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A., Fernández-Aparicio, M., Sillero, J., Román, B., Kharrat, M., Khalil, S., Joel, D. M., & Riches, C. (2006). Screening techniques and sources of resistance against parasitic weeds in grain Legumes. *Euphytica*, 147, 187–199.

Rubio, J. S., Rubio, F., Martínez, V., & García-Sánchez, F. (2010). Amelioration of salt stress by irrigation management in pepper plants grown in coconut coir dust. *Agricultural Water Management*, 97(10), 1695–1702.

Rudolph, N., Labuschagne, N., & Aveling, T. A. S. (2015). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth of maize. *Seed Sci. & Technol.*, 43, 1–12.

Rueda-Puente, E. O., García-Hernández, J. L., Preciado-Rangel, P., Murillo-Amador, B., Tarazón-Herrera, M. A., Flores-Hernández, A., Holguin-Peña, J., Aybar, A. N., Barrón Hoyos, J. M., & Weimers, D. (2007). Germination of *Salicornia bigelovii* ecotypes under stressing conditions of temperature and salinity and ameliorative effects of plant growth-promoting bacteria. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193(3), 167–176.

Ryall, B., Lee, X., Zlosnik, J. E., Hoshino, S., & Williams, H. D. (2008). Bacteria of the Burkholderia cepacia complex are cyanogenic under biofilm and colonial growth conditions. *BMC Microbiology*, 8, 1–9.

Ryu, C., Hu, C., Locy, R., & Kloepper, J. (2005). Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil*, 268(1), 285–292. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0301-9>

Saber, F. M., Abdelhafez, A. A., Hassan, E. A., & Ramadan, E. M. (2015). Characterization of fluorescent pseudomonads isolates and their efficiency on the growth promotion of tomato plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(1), 131–140.

Sadiki, M., Duc, G., & Furman, B. (2006). Genetic resources of faba bean worldwide. *Grain Legumes*, 48, 18–19.

Saffan, S. E. (2008). Effect of salinity and osmotic stresses on some economic plants. *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, 4(2), 159–166.

Sah, S., Krishnani, S., & Singh, R. (2021). Pseudomonas mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100084>

Saha, H., Srikanth, A., Sikchi, S., & Rajeswari, V. D. (2015). Comparative Evaluation of Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activities of *Ocimum sanctum*, *Phyllanthus niruri* and *Cadaba fruticosa*: An in vitro Approach with Emphasis on Detection of their Bioactive Compounds Using GC-MS. *International Journal of Biological Chemistry*, 9(5), 235–248.

- Saha, M., Maurya, B. R., Meena, V. S., Bahadur, I., & Kumar, A. (2016). Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *7*, 202–209.
- Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, *21*, 1–30.
- Sahil, A. (2016). Effect of gibberellic and salicylic acids pre-soaking on seed germination attributes of cucumber (*cucumis sativus* L.) under induced salt stress. *Cercetari Agronomice in Moldova*, *49*(1), 99–109. <https://doi.org/10.1515/cerce-2016-0009>
- Sahodaran, N., K. & Ray, J., & Heavymetal, G. (2018). (n.d.). contamination in 'chemicalized' green revolution banana fields in southern India. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*, 26874–26886. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2729-0>
- Sahu, B., Singh, J., Shankar, G., & Pradhan, A. (2018). *Pseudomonas fluorescens* PGPR bacteria as well as biocontrol agent: A review. *International Journal of Chemical Studies*, *6*(2), 1–7.
- Saleem, M. H., Fahad, S., Khan, S. U., Din, M., Ullah, A., Sabagh, A. E., & Liu, L. (2020). Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phyto-remediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, *27*(5), 5211e.
- Saleem, M. H., Fahad, S., Khan, S. U., Din, M., Ullah, A., Sabagh, A. E., others, & Liu, L. (2020). Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 5211–5221.
- Saleem, M. H., Kamran, M., Zhou, Y., Parveen, A., Rehman, M., Ahmar, S., & Liu, L. (2020). Appraising growth, oxidative stress and copper phytoextraction potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown in soil differentially spiked with copper. *J. Environ. Manag.*, *257*.
- Saleem, S., Iqbal, A., Ahmed, F., & Ahmad, M. (2021). Phytobeneficial and salt stress mitigating efficacy of IAA producing salt tolerant strains in *Gossypium hirsutum*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(9), 5317–5324.
- Sanchez-Gonzalez, M. E., Mora-Herrera, M. E., Wong-Villarreal, A., De La Portilla-López, N., Sanchez-Paz, L., Lugo, J., others, & Yañez-Ocampo, G. (2022). Effect of pH and carbon source on phosphate solubilization by bacterial strains in Pikovskaya medium. *Microorganisms*, *11*(1), 49.
- Sanchez-Pardo, B., Fernandez-Pascual, M., & Zornoza, P. (2014). Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupin and soybean grown in copper excess. *J. Plant Res.*, *127*, 119–129.
- Sanchez, D. H., Schwake, F., Erban, A., Udvardi, M. K., & Kopka, J. (2012). Comparative metabolomics of drought acclimation in model and forage legumes. *Plant Cell Environ.*, *35*, 136–149.
- Sandhya, V., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., & Venkateswarlu, B. (2010). Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp, on compatible solutes antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regul.*, *62*, 21–30.
- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., & Govindappa, M. (2012). Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology*, *22*(8), 855–872.
- Sanz, A. M., Gonzales, S. G., Syed, N. H., Suso, M. J., Caminero, C., & Flavell, A. J. (2007). Genetic diversity analysis in *Vicia faba* species using retrotransposon-based SSAP markers. *Mol. Genet. Genomics*, *278*, 433–441.
- Saosoong, K., Wongphathanakul, W., Poasiri, C., & Ruangviriyachai, C. (2009). Isolation and analysis of antibacterial substance produced from *P. aeruginosa* TISTR 781. *KKU Sci. J.*, *37*(2), 163–172.
- Sapre, S., Gontia-Mishra, I., & Tiwari, S. (2018). *Klebsiella* Sp. Confers Enhanced Tolerance To Salinity and Plant Growth Promotion In Oat Seedlings (*Avena Sativa*). *Confers Enhanced Tolerance To Salinity and Plant Growth Promotion In Oat Seedlings (Avena Sativa)*. *Microbiological Research*, (206),

25–32. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.009>

Saqib, M., Zörb, C., & Schubert, S. (2006). Salt-resistant and salt-sensitive wheat genotypes show similar biochemical reaction at protein level in the first phase of salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169(4), 542–548.

Sarić-Krsmanović, M., Božić, D., Radivojević, L., Umiljendić, J. G., Ljiljana Šantrić, I., & Vrbničanin, S. (2017). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and cover crops on seed germination and early establishment of field dodder (*Cuscuta campestris* Yunk.). *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 32(2), 105–111.

Sasirekha, B., & Shivakumar, S. (2012). Statistical optimization for improved indole-3-acetic acid (iaa) production by *Pseudomonas aeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4), 863–873.

Sati, D., Pande, V., & Samant, M. (2023). Plant-beneficial bacillus, pseudomonas, and staphylococcus spp. from kumaon himalayas and their drought tolerance response. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1085223>

Sauvé, S., McBride, M. B., Norvell, W. A., & Hendershot, W. H. (1997). Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air, and Soil Pollution*, 100, 133–149.

Schat, H., Sharma, S. S., & Vooijs, R. (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101, 477–482.

Schellingen, K., Van Der Straeten, D., Vandenbussche, F., Prinsen, E., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2014). Cadmium-induced ethylene production and responses in *Arabidopsis thaliana* rely on ACS2 and ACS6 gene expression. *BMC Plant Biol.*, 14, 214.

Schippers, B., Bakker, A. W., Bakker, P., & Van Peer, R. (1990). Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. *Plant and Soil*, 129, 75–83.

Schmidtke, K. (2012). Pflanzenbauliche Strategien zur Steigerung der Wertschöpfung im Körnerleguminosenanbau. In 2. Körnerleguminosentag der LWK NRW und ABL. <http://www.vom-acker-in-den-futtertrog.de>

Schobert, B., & Tschesche, H. (1978). Unusual solution properties of proline and its interaction with proteins. *Biochim. Biophys. Acta BBA Gen. Subj*, 541, [Cro, 270–277].

Schouteden, C., Serwas, D., Pálffy, M., & Dammermann, A. (2015). The Ciliary Transition Zone Functions In Cell Adhesion But Is Dispensable For Axoneme Assembly In *C. Elegans*. *The Journal of Cell Biology*, 1(210), 35–44. <https://doi.org/10.1083/jcb.201501013>

Schwer, D. R. (2010). Chromium, Copper and Arsenic Concentration and Speciation in Soil Adjacent to Chromated Copper Arsenate (Cca) Treated Lumber Along a Topohydrosequence. *University of Kentucky Master's Thesis*, p. 68. https://uknowledge.uky.edu/gradschool_theses/68

Semida, W., El-Mageed, T., Abdalla, R., Hemida, K., Howladar, S., Leilah, A., others, & Rady, M. (2021). Sequential Antioxidants Foliar Application Can Alleviate Negative Consequences Of Salinity Stress In *Vicia Faba* L. *Plants*, 5(10), 914. <https://doi.org/10.3390/plants10050914>

Senberga A., D. L. an. A. L. (2018). Germination and growth of primary roots of inoculated bean (*Vicia faba*) seeds under different temperatures. *Agronomy Research*, 16(1), 243–253. <https://doi.org/10.15159/AR.18.024>

Sengupta, C., Bhosale, A., & Malusare, S. (2015). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling development of *Zea mays*. *International Journal of Research in Advent Technology Special Issue, National Conference on Advances and Challenges in Green Technology*, 13–14.

Serraj, R., & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.*, 25, 333–341.

Sethia, B., Mustafa, M., Manohar, S., Patil, S. V., Jayamohan, N. S., & Kumudini, B. S. (2015). *Indole acetic acid production by fluorescent Pseudomonas spp. from the rhizosphere of Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng. and their variation in extragenic repetitive DNA sequences.*

- Sfafi-Bousbih, A., Chaoui, A., & El Ferjani, E. (2010). Copper affects the cotyledonary carbohydrate status during the germination of bean seed. *Biological Trace Element Research*, *137*, 110–116.
- Shabala, S., & Cuin, T. A. (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol Plant*, *133*, 651–669. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01008.x>
- Shabala, S., & Shabala, L. (2011). Ion transport and osmotic adjustment in plants and bacteria. *Biomol. Concepts*, *2*, [Cross, 407–419.
- Shah, F., Wei, X., Wang, Q., Liu, W., Wang, D., Yao, Y., others, & Wu, L. (2020). Karrikin improves osmotic and salt stress tolerance via the regulation of the redox homeostasis in the oil plant *sapium sebiferum*. *Frontiers in Plant Science*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00216>
- Shah, S., Ramanan, V. V, Singh, A. V, & Singh, A. K. (2018). Potential and prospect of plant growth promoting rhizobacteria in lentil. In *Scientific lentil production*. *Satish Serial Publishing House*, , India (pp. 431–452).
- Shah, V., & Daverey, A. (2020). Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, *18*, 100774.
- Shaheen, S., Naseer, S., Ashraf, M., & Akram, N. A. (2013). Salt stress affects water relations, photosynthesis, and oxidative defense mechanisms in *Solanum melongena* L. *J. Plant Interact*, *8*, [Cross, 85–96.
- Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., Gómez, C., Mattson, N., Nasim, W., & Garcia-Sanchez, F. (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, *10*(7), 938.
- Shams, M., Ekinci, M., Turan, M., Dursun, A., Kul, R., & Yildirim, E. (2019). Growth, nutrient uptake and enzyme activity response of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) to excess copper. *Environ. Sustain.*, *2*(1), 67e.
- Shannon, M. C., & Grieve, C. M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, *78*(1–4), 5–38.
- Sharma, P., & Bhardwaj, R. (2007). Effects of 24-epibrassinolide on growth and metal uptake in *Brassica juncea* L. under copper metal stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *29*, 259–263.
- Sharma, P. P., Vyas, M., & Meghawal, D. R. (2017). Estimation of genetic variability and correlation analysis in field pea (*Pisum sativum* L.) genotypes. *Journal of Plant Development Science*, *9*, 53–56.
- Sharma, R., Bhardwaj, R., Handa, N., Gautam, V., Kohli, S. K., Bali, S., & Vig, A. P. (2016). Responses of phytochelatins and metallothioneins in alleviation of heavy metal stress in plants: an overview. In P. M. Interaction (Ed.), *Elsevier*, pp. 263e283.
- Sharma, S., Johri, B., Ramesh, A., Joshi, O., & Prasad, S. (2011). Selection of plant growth-promoting pseudomonas spp. that enhanced productivity of soybean-wheat cropping system in central india. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *21*(11), 1127–1142. <https://doi.org/10.4014/jmb.1012.12018>
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2008). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci.*, *14*(43e), 50.
- Sharma, V., Singh, A., Sharma, D., Sharma, A., Phogat, S., Chakraborty, N., others, & Purty, R. (2022). Stress mitigation strategies of plant growth-promoting rhizobacteria: plant growth-promoting rhizobacteria mechanisms. *Plant Science Today*, *8*(sp1), 25–32. <https://doi.org/10.14719/pst.1543>
- Shaukat, K., Affrasayab, S., & Hasnain, S. (2006). Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. *J. Agric. Res.*, *1*, 51–55.
- Shavanov, M. V. (2021). The role of food crops within the Poaceae and Fabaceae families as nutritional plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *624*(1), 12111.
- Shehata, E., Liu, Y., Feng, Y., Cheng, D., & Li, Z. (2019). Changes in arsenic and copper bioavailability and oxytetracycline degradation during the composting process. *Molecules*, *24*(23), 4240.
- Sheldon, A. R., Dalal, R. C., Kirchhof, G., Kopitke, P. M., & Menzies, N. W. (2017). The effect of salinity on plant-available water. *Plant Soil*, *418*, [Cro, 477–491.
- Sheldon, A. R., & Menzies, N. W. (2005). The effect of copper toxicity on the growth and root

morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered so- lution culture. *Plant Soil*, 278(1e).

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., & Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18, 287–296. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0180-7>

Sherif, M. (2022). The Effect Of Foliar Application Of Zinc Oxide Nanoparticles and Moringa Oleifera Leaf Extract On Growth, Biochemical Parameters And In Promoting Salt Stress Tolerance In Faba Bean. *Afr. J. Biotechnol.*, 6(21), 252–266. <https://doi.org/10.5897/ajb2022.17485>

Shi, P., Xing, Z., Zhang, Y., & Chai, T. (2017). Effect of heavy-metal on synthesis of siderophores by *Pseudomonas aeruginosa* ZGKD3. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 52(1), 12103.

Shiran, B., & Mashayek, A. M. (2004). Evaluation of chloroplast DNA among *Vicia faba* L. germplasm using restriction-site analysis. *Iran. J. Sci. Technol. Trans. A*, 28, 51–55.

Shivani, S. S. (2015). *Genetic variability, heritability and correlation of faba bean (Vicia faba L.) International Journal of Advanced Technology in Engineering and Science 3: 48-51.*

Shivashakarappa, K., Ajjappala, B. S., Raghavendra, G., Kadi, A., Vuppula, A., & Reddy, V. (2022). *Effect of plant growth promoting rhizobacteria on the crop growth and yield of foxtail millet (Setaria italica L. Beauv).*

Shouman, H., Said, H. S., Kenawy, H. I., & Hassan, R. (2023). Molecular and biological characterization of pyocyanin from clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 166.

Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123–131.

Shu, K., Zhou, W., Chen, F., Luo, X., & Yang, W. (2018). Abscisic acid and gibberellins antagonistically mediate plant development and abiotic stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 9, 416.

Shu, S., Chen, L., Lu, W., Sun, J., Guo, S., Yuan, Y., & Li, J. (2014). Effects of exogenous spermidine on photosynthetic capacity and expression of Calvin cycle genes in salt-stressed cucumber seedlings. *J. Plant Res*, 127,. [Cro, 763–773.

Shukla, P., Agarwal, P., & Jha, B. (2011). Improved Salinity Tolerance Of *Arachis Hypogaea* (L.) By the Interaction Of Halotolerant Plant-growth-promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul*, 2(31), 195–206. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9231-y>

Siddiqui, I. A., Shaikat, S. S., Sheikh, I. H., & Khan, A. (2006). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 641–650.

Singh, A. A., Singh, S., Agrawal, M., & Agrawal, S. B. (2015). Assessment of ethylene diurea-induced protection in plants against ozone phytotoxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 233*, 129–184.

Singh, A. K., & Bhatt, B. P. (2012). *Faba Bean (Vicia faba L.): A potential leguminous crop of India ICAR. RC for ER.*

Singh, A. K., & Prevesh, K. (2009). Nutrient management in rainfed dryland agro ecosystem in the impending climate change scenario. *Agric. Situation in India*, LXVI(5), 265–270.

Singh, A., & Srivastava, R. (2022). *Impact of plant growth promoting rhizobacteria in restoring soil and crop attributes.* Indian Journal of Agricultural Research. <https://doi.org/10.18805/ijare.a-5962>

Singh, D., Nath, K., & Sharma, Y. K. (2007). Response of wheat seed germination and seed ling growth under copper stress. *J Environ, Biol*;28, 409–414.

Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C. S., & Catalan, C. (2005). Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(13), 2297–2306.

- Singh, H., Bhat, J. A., Singh, V. P., Corpas, F. J., & Yadav, S. R. (2021). Auxin metabolic network regulates the plant response to metalloids stress. *Journal of Hazardous Materials*, *405*, 124250.
- Singh, J., Singh, A. V., Upadhayay, V. K., Khan, A., & Chandra, R. (2022). Prolific contribution of *Pseudomonas protegens* in Zn biofortification of wheat by modulating multifaceted physiological response under saline and non-saline conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *38*(12), 227.
- Singh, P., Singh, R. K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., Wang, Y., Yang, L., & Jiang, M. (2022). Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. *Journal of Plant Interactions*, *17*(1), 220–238.
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). Heavy metals and living systems: an overview. *Indian J. Pharmacol.*, *43*, 246–253.
- Singleton, P. W., & Bohlool, B. B. (1984). Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiol*, *74*, 72–76. <https://doi.org/10.1104/pp.74.1.72>
- Sinha, P., Shukla, A. K., & Sharma, Y. K. (2015). Amelioration of heavy-metal toxicity in cauliflower by application of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, *46*(10), 1309e.
- Siqueira, M. C., Tavares, A. R., Barbosa, J. M., & Santos Junior, N. A. dos. (2020). Copper stress affect seed germination and seedling establishment of *Schinus terebinthifolia* Raddi. *Hoehnea*, *47*, e502020.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H. O., & Eris, A. (2003). The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. *Sci Hortic*, *97*, 229–237. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00198-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00198-X)
- Skalweit, M. (2018). *Left ventricular assist device infections*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74621>
- Smalle, J., & van der Straeten, D. (1997). Ethylene and vegetative development. *Physiol Plant*, *100*, 593–605. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03065.x>
- Smith, A. D., Jameson, G. N. L., Dos Santos, P. C., Agar, J. N., Naik, S., Krebs, C., Frazzon, J., Dean, D. R., Huynh, B. H., & Johnson, M. K. (2005). NifS-mediated assembly of [4Fe– 4S] clusters in the N- and C-terminal domains of the NifU scaffold protein. *Biochemistry*, *44*(39), 12955–12969.
- Smith, J. B., & Willis, A. L. (1970). Formation and release of prostaglandins by platelets in response to thrombin. *British Journal of Pharmacology*, *40*(3), 545P+.
- Soetan, K. O., Olaiya, C. O., & Oyewole, O. E. (2010). The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science*, *4*(5), 200–222.
- Soliman, A. A., Mousa, M. I., Mosalam, A. M., Ghareeb, Z. E., Ibrahim, S. D., Rehan, M., Yu, H., & He, Y. (2023). The Potential Genetic Effect for Yield and Foliar Disease Resistance in Faba Bean (*Vicia faba* L.) Assessed via Morphological and SCoT Markers. *Plants*, *12*(20), 3645.
- Soltani, A.-A., Khavazi, K., Asadi-Rahmani, H., Alikhani, H.-A., Omidvari, M., & Dahaji, P. A. (2012). Evaluation of biological control traits in some isolates of fluorescent *Pseudomonads* and *Flavobacterium*. *Journal of Agricultural Science*, *4*(1), 164.
- Song, X., Li, D., Singh, M., Rajput, V., Malviya, M., Minkina, T., others, & Li, Y. (2020). Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: a new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants*, *9*(9), 1055. <https://doi.org/10.3390/plants9091055>
- Sousa, C. A., Ribeiro, M., Vale, F., & Simões, M. (2023). *Phenazines: Natural products for microbial growth control*. *hLife*.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, *31*(4), 425–448.
- Srivastava, S., & Srivastava, S. (2020). Prescience of endogenous regulation in *Arabidopsis thaliana* by *Pseudomonas putida* MTCC 5279 under phosphate starved salinity stress condition. *Scientific Reports*, *10*(1), 5855.
- Srivastava, T. P., Gupta, S. C., Lal, P., Muralia, P. N., & Kumar, A. (1988). Effect of salt stress on physiological and biochemical parameters of wheat. *Ann Arid Zone*, *27*, 197–204.

- St-Onge, R., Gadkar, V., Arseneault, T., Goyer, C., & Filion, M. (2010). The ability of pseudomonas sp. lbm 223 to produce phenazine-1-carboxylic acid affects the growth of streptomyces scabies, the expression of thaxtomin biosynthesis genes and the biological control potential against common scab of potato. *Fems Microbiology Ecology*, 75(1), 173–183. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00992.x>
- Stavridou, E., Hastings, A., Webster, R., & Robson, P. (2016). The impact of soil salinity on the yield, composition and physiology of the bioenergy grass miscanthus × giganteus. *GCB Bioenergy*, 9(1), 92–104. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12351>
- Stavridou, E., Webster, R., & Robson, P. (2020). The effects of moderate and severe salinity on composition and physiology in the biomass crop miscanthus × giganteus. *Plants*, 9(10), 1266. <https://doi.org/10.3390/plants9101266>
- Stefan, M., Munteanu, N., Stoleru, V., Mihasan, M., & Hritcu, L. (2012). Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (Phaseolus coccineus L.). *Sci Horti*, 151, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.12.006>
- Stevenson, P. C., Dhillon, M. K., Sharma, H. C., & El Bhouhssini, M. (2007). Insect pests of lentil and their management. In S. S. Yadav, D. McNeil, & P. C. Stevenson (Eds.), *Lentil, an Ancient Crop for Modern Times.*, The Netherlands, (Ch. 20 (pp. 331–348). Springer.
- Stoddard, F. L. (1986). Effects of drought on autofertility in faba beans. *Fabis Newsl.*, 15, 22–26.
- Stringlis, I. A., Zhang, H., Pieterse, C. M. J., Bolton, M. D., & de Jonge, R. (2018). Microbial small molecules—weapons of plant subversion. *Natural Product Reports*, 35(5), 410–433.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., & Nowak, J. (2000). Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(1), 1–30.
- Sugue, M., Burdur, A., Ringel, M., Dräger, G., & Brüser, T. (2022). PvdM Of Fluorescent Pseudomonads Is Required For the Oxidation Of Ferribactin By PvdP In Periplasmic Pyoverdine Maturation. *Journal of Biological Chemistry*, 8(298), 102201. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2>
- Sulas, L., Roggero, P., Canu, S., & Seddaiu, G. (2013). Potential nitrogen source from field bean for rainfed mediterranean cropping systems. *Agronomy Journal*, 105(6), 1735–1742. <https://doi.org/10.2134/agronj2013.0030>
- Sullivan, B. K., Keough, M., & Govers, L. L. (2022). Copper sulphate treatment induces Heterozostera seed germination and improves seedling growth rates. *Global Ecology and Conservation*, 35, e02079.
- Sun, X. H., Yu, G., Li, J. T., Jia, P., Zhang, J. C., Jia, C. G., Zhang, Y. H., & Pan, H. Y. (2014). A heavy metal-associated protein (AchMA1) from the Halophyte, Atriplex canescens (Pursh) Nutt. confers tolerance to iron and other abiotic stresses when expressed in Saccharomyces cerevisiae. *Int. J. Mol. Sci.*, 15, 14891–14906.
- Sunithakumari, K., Devi, S. N. P., & Vasandha, S. (2016). Zinc solubilizing bacterial isolates from the agricultural fields of Coimbatore, Tamil Nadu, India. *Current Science*, 196–205.
- Swamy, M., Akhtar, M., & Sinniah, U. (2016). *Response of pgpr and am fungi toward growth and secondary metabolite production in medicinal and aromatic plants.*, 145-168. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29573-2_7
- Szabados, L., & Savoure, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.*, 15, 89–97.
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M. S. I., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117.
- Taffouo, V. D., Nouck, A. H., Dibong, S. D., & Amougou, A. (2010). Effects of salinity stress on seedlings growth, mineral nutrients and total chlorophyll of some tomato (Lycopersicum esculentum L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 9(33).
- Talukder, Z., Anderson, E., Miklas, P., Blair, M. W., Osorno, J., & others. (2010). Genetic diversity and selection of genotypes to enhance Zn and Fe content in common bean. *Canadian Journal of Plant Science*, 90, 49–60. <https://doi.org/10.4141/CJPS09096>
- Tamietti, G., & Pramotton, R. (1990). La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: rapports

entre résistance et microflore autochtone avec référence particulière aux *Fusarium* non pathogènes. *Agron Sustain Dev*, 10, 69–76. <https://doi.org/10.1051/agro:19900109>

Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S., & Reiter, R. J. (2012). Functional roles of melatonin in plants, and perspectives innutritional and agricultural science. *J. Exp. Bot.*, 63, 577–597.

Tan, D. X., Manchester, L. C., Helton, P., & Reiter, R. J. (2007). Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. *Plant Signal Behav.*, 2, 514–516.

Tariq, A., & Ahmed, A. (2023). *Bacterial symbiotic signaling in modulating plant-rhizobacterial interactions*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109915>

Tate, R. L. (2000). *Soil Microbiology* (2nd ed.). John Wiley & Sons.

Tatsukami, Y., & Ueda, M. (2016). Rhizobial gibberellin negatively regulates host nodule number. *Scientific Reports*, 6(1), 27998.

Tchiazé, A., Taffouo, V., Fankem, H., Kenne, M., Baziramakenga, R., Ekodeck, G., others, & Antoun, H. (2016). Influence of nitrogen sources and plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on growth, crude fiber and nutrient uptake in squash (<i>cucurbita moschata</i>) plants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1). <https://doi.org/10.15835/nbha.44.1.10169>

Terzopoulos, P. J., Kaltsikes, P. J., & Bebeli, P. J. (2003). Collection, evaluation and classification of Greek populations of faba bean. *Vicia Faba L.* *Genet. Resour. CropEvol.*, 50, 373–381.

Teste, F., Kardol, P., Turner, B., Wardle, D., Zemunik, G., Renton, M., others, & Laliberté, É. (2017). Plant-soil feedback and the maintenance of diversity in mediterranean-climate shrublands. *Science*, 355(6321), 173–176. <https://doi.org/10.1126/science.aai8291>

Thi, M., Wibowo, D., & Rehm, B. (2020). Pseudomonas Aeruginosa Biofilms. *IJMS*, 22(21), 8671. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>

Thiam, M., Champion, A., Diouf, D., & Mame Ourèye, S. Y. (2013). NaCl Effects on In Vitro Germination and Growth of Some Senegalese Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Cultivars. *ISRN Biotechnology, Volume Art*. <https://doi.org/10.5402/2013/382417>

Thiam, M., Champion, A., Diouf, D., & Sym, O. (2013). *NaCl effects on in vitro germination and growth of some Senegalese cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) cultivars*. *ISRN Biotechnol*. <https://doi.org/10.5402/2013/382417>

Tian, D., Peiffer, M., Shoemaker, E., Tooker, J., Haubruge, É., Francis, F., others, & Felton, G. (2012). Salivary glucose oxidase from caterpillars mediates the induction of rapid and delayed-induced defenses in the tomato plant. *Plos One*, 7(4), e36168. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036168>

Timmusk, S., & Egh, W. (1999). The plant growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression. *Mol Plant Microbe Interact*, 12, 951–959. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.11.951>

Tjalf E. De, B., Tas, N., & Roelofs, D. (2011). The influence of long-term coppercontaminated agricultural soil at different pH levels on microbial communities and springtail transcriptional regulation. *Environmental Science AndTechnolo*, 46, 60–68. <https://doi.org/10.1021/es10230a001>

Toderich, K., Shuyskaya, E., Rakhmankulova, Z., Bukarev, R., Khujanazarov, T., Zhapaev, R., others, & Boboev, F. (2018). Threshold tolerance of new genotypes of pennisetum glaucum (L.) r. *Br. to Salinity and Drought. Agronomy*, 8(10), 230. <https://doi.org/10.3390/agronomy8100230>

Torres, A. M., Román, B., Avila, C. M., Satovic, Z., Rubiales, D., Sillero, J. C., Cubero, J. I., & Moreno, M. T. (2006). Faba bean breeding for resistance against biotic stresses: towards application of marker technology. *Euphytica*, 147, 67–80.

Toselli, M., Baldi, E., Marcolini, G., Malaguti, D., Quartieri, M., Sorrenti, G., & Marangoni, B. (2009). Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 15(1), 85e.

Trapet, P., Avoscan, L., Klinguer, A., Pateyron, S., Citerne, S., Chervin, C., Mazurier, S., Lemanceau, P., Wendehenne, D., & Besson-Bard, A. (2016). The *Pseudomonas fluorescens* siderophore pyoverdine

weakens *Arabidopsis thaliana* defense in favor of growth in iron-deficient conditions. *Plant Physiology*, *171*(1), 675–693.

Tripathi, A. K., Mishra, B. M., & Tripathi, P. (1998). Salinity stress response in the plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* spp. *J Biosci*, *23*(4), 463–471. <https://doi.org/10.1007/BF02936140>

Tripathi, B. N., Singh, V., Ezaki, B., Sharma, V., & Gaur, J. P. (2013). Mechanism of Cu- and Cd-induced proline hyperaccumulation in *Triticum aestivum* (wheat). *Journal of Plant Growth Regulation*, *32*, 799–808.

Trumbo, P., Yates, A. A., Schlicker, S., & Poos, M. (2001). Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *J. Am. Diet. Assoc.*, *101*, 294–301.

Trung, N. T., Cuong, N. T., Thao, N. T., & Anh, D. T. M. (2020). Elucidation and identification of an antifungal compound from *Pseudomonas aeruginosa* DA3. 1 isolated from soil in Vietnam. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *13*(10).

Tsegaye, Z., Alemu, T., Desta, F., & Assefa, F. (2022). Plant growth-promoting rhizobacterial inoculation to improve growth, yield, and grain nutrient uptake of teff varieties. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.896770>

Tselepi, M., Papachristou, E., Emmanouilidi, A., Angelis, A., Aligiannis, N., Skaltsounis, A. L., Kouretas, D., & Liadaki, K. (2011). Catalytic inhibition of eukaryotic topoisomerases I and II by flavonoid glycosides extracted from *Vicia faba* and *Lotus edulis*. *Journal of Natural Products*, *74*(11), 2362–2370.

Tuna, G. S., Yücel, G., Aşçıoğlu, T. K., Ateş, D., Eşiyok, D., & others. (2020). Molecular cytogenetic characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *44*, 612–630.

Turan, M. A., Elkirim, A. H. A., Taban, N., & Taban, S. (2009). Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *African Journal of Agricultural Research*, *4*(9), 893–897.

Turan, M. A., Katkat, V., & Taban, S. (2007). *Variations in proline, chlorophyll and mineral elements contents of wheat plants grown under salinity stress*.

Türkeri, M. (2016). *Determining some morphological and agronomical characters of broad bean (Vicia faba L.) landraces collected from Turkey*. PhD.

Ullah, M., Rasheed, M., & Mahmood, I. (2018). Aloe vera (*aloe barbadensis* mill) screens at suitable salinity and sodicity level. *Horticulture International Journal*, *2*(6). <https://doi.org/10.15406/hij.2018.02.00078>

Umezawa, T., Sugiyama, N., Mizoguchi, M., Hayashi, S., Myouga, F., Yamaguchi-Shinozaki, K., Ishihama, Y., Hirayama, T., Shinozaki, & Type, K. (2009). 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *106*, [Cro, 17588–17593].

Ungar, I. A. (1996). Effect of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *American Journal of Botany*, *83*(5), 604–607.

Unni, K. N., & others. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* BUP2—A Novel Strain Isolated from Malabari Goat Produces Type 2 Pyoverdine. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, *5*, 874–885. <https://doi.org/10.4236/abb.2014.511102>

Upadhyay, S. K., Singh, J. S., Saxena, A. K., & Singh, D. P. (2012). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biol*, *4*, 605–611. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00533.x>

Uzair, B., Kausar, R., Bano, S. A., Fatima, S., Badshah, M., Habiba, U., & Fasim, F. (2018). Isolation and molecular characterization of a model antagonistic *Pseudomonas aeruginosa* divulging in vitro plant growth promoting characteristics. *BioMed Research International*, 2018.

Vacheron, J., Combes-Meynet, E., Walker, V., Gouesnard, B., Muller, D., Moënné-Loccoz, Y., &

- Prigent-Combaret, C. (2016). Expression on roots and contribution to maize phytostimulation of 1-aminocyclopropane-1-decarboxylate deaminase gene *acdS* in *Pseudomonas fluorescens* F113. *Plant and Soil*, *407*, 187–202.
- Vaghela, N., & Gohel, S. (2023). Medicinal plant-associated rhizobacteria enhance the production of pharmaceutically important bioactive compounds under abiotic stress conditions. *Journal of Basic Microbiology*, *63*(3–4), 308–325.
- Van Peer, R., Niemann, G. J., & Schippers, B. (1991). Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS 417 r. *Phytopathology*, *81*(7), 728–734.
- Vanegas, N., Moreno, S., Hurtado, B., Afanador, J., Ceballos-Aguirre, N., & Franco, G. (2020). Antagonism of plant growth promoting rhizobacteria against the causal agent of the vascular wilting of tomato. *Revista Colombiana De Biotecnología*, *22*(2), 35–43. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v22n2.79449>
- Vassilev, A., Lidon, F., Ramalho, J. C., do Céu Matos, M., & da Graca, M. (2003). Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. *J. Cent. Eur. Agric*, *4*, 225–236.
- Vattem, D., Randhir, R., & Shetty, K. (2005). Cranberry phenolics-mediated elicitation of antioxidant enzyme response in fava bean (*vicia faba*) sprouts. *Journal of Food Biochemistry*, *29*(1), 41–70.
- Vázquez, M. N., Guerrero, Y. R., González, L. M., & de la Noval, W. T. (2013). Brassinosteroids and plant responses to heavy metal stress. An overview. *Open J Metal*, *3*, 34–41.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability---a review. *Molecules*, *21*(5), 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Verbon, E. H., & Liberman, L. M. (2016). Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends Plant Sci.*, *21*, 218–229.
- Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K. S., Saxena, A. K., & Suman, A. (2017). Potassium-solubilizing microbes: diversity, distribution, and role in plant growth promotion. *Microorganisms for Green Revolution: Volume 1: Microbes for Sustainable Crop Production*, 125–149.
- Verma, S., Sahu, P., Kumar, K., Pal, G., Gond, S., Kharwar, R., others, & White, J. (2021). Endophyte roles in nutrient acquisition, root system architecture development and oxidative stress tolerance. *Journal of Applied Microbiology*, *131*(5), 2161–2177. <https://doi.org/10.1111/jam.15111>
- Verma, V., Ravindran, P., & Kumar, P. P. (2016). Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biol.* *16*, 86.[CrossR.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, *255*, 571–586.
- Vidhyasekaran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N., & Vasumathi, K. (1997). Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. *Plant Pathology*, *46*(3), 291–297.
- Viebahn, M., Glandorf, D. C. M., Ouwens, T. W. M., Smit, E., Leeflang, P., Wernars, K., Thomashow, L. S., Van Loon, L. C., & Bakker, P. (2003). Repeated introduction of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r without intensified effects on the indigenous microflora of field-grown wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(6), 3110–3118.
- Vieira, J. D., Silva, P. R. D. da, & Stefenon, V. M. (2017). In vitro growth and indoleacetic acid production by *Mesorhizobium loti* SEMIA806 and SEMIA816 under the influence of copper ions. *Microbiology Research*, *8*(2), 7302.
- Vioque, J., Alaiz, M., & Girón, C. J. (2012). Nutritional and functional properties of *Vicia faba* protein isolates and related fractions. *Food Chemistry*, *132*(1), 67–72.
- Volkmar, K., Hu, Y., & Steppuhn, H. (1998). Physiological responses of plants to salinity, a review. *Can J Plant Sci*, *78*, 19–27.
- Vrbničanin, S., Božić, D., Sarić, M., Pavlović, D., & Raičević, V. (2011). Effect of Plant Growth

- Promoting Rhizobacteria on *Ambrosia artemisiifolia* L. *Seed. Germination. Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 26(2), 2011.
- Vriezen, J. A., De Bruijn, F. J., & Nusslein, K. (2007). Responses of rhizobia to desiccation in relation to osmotic stress, oxygen, and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 3451–3459.
- Vyas, P., Rahi, P., & Gulati, A. (2009). Stress tolerance and genetic variability of phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas* from the cold deserts of the trans-Himalayas. *Microbial Ecology*, 58, 425–434.
- Wang, C. L., Michels, P. C., Dawson, S. C., Kitisakkul, S., Baross, J. A., Keasling, J. D., & Clark, D. S. (1997). Cadmium removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in aerobic culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(10), 4075–4078.
- Wang, C., Liu, X., Li, J., Yue, L., Yang, H., Zou, H., Wang, Z., & Xing, B. (2021). Copper nanoclusters promote tomato (*Solanum lycopersicum* L.) yield and quality through improving photosynthesis and roots growth. *Environmental Pollution*, 289, 117912.
- Wang, H., Liang, L., Liu, B., Huang, D., Liu, S., Runjin, L., others, & Chen, Y. (2020). Arbuscular mycorrhizas regulate photosynthetic capacity and antioxidant defense systems to mediate salt tolerance in maize. *Plants*, 9(11), 1430. <https://doi.org/10.3390/plants9111430>
- Wang, H., Xue, L., Huo, Y., Ma, Y., & Li, J. (2023). *Dynamic Changes of Soil Parameters and Bacterial Communities during Bioremediation of Multiple Heavy Metals Contaminated Tailings by Compound Bacterial Flora*.
- Wang, J., Qiu, N., Wang, P., Zhang, W., Yang, X., Chen, M., Wang, B., & Sun, J. (2019). Na⁺ compartmentation strategy of Chinese cabbage in response to salt stress. *Plant Physiol. Biochem*, 140, [Cro, 151–157.
- Wang, Y., Li, J., Yang, L., & Chan, Z. (2023). Melatonin antagonizes cytokinin responses to stimulate root growth in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 1833–1845.
- Wang, Y., Li, Q., Shi, J., Lin, Q., Chen, X., Wu, W., & Chen, Y. (2008). Assessment of microbial activity and bacterial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and a non-accumulator. *Soil Biol. Biochem.*, 40(5), 1167e.
- Wang, Z.-J., Li, X., Wang, J.-H., Qi, S.-S., Dai, Z.-C., & Du, D.-L. (2022). Effect of nitrogen-fixing bacteria on resource investment of the root system in an invasive clonal plant under low nutritional environment. *Flora*, 297, 152166.
- Wani, A. S., Ahmad, A., Hayat, S., & Tahir, I. (2019). Epibrassinolide and Proline Alleviate the Photosynthetic and Yield Inhibition under Salt Stress by Acting on Antioxidant System in Mustard. *Plant Physiol. Biochem*, 135, [Cro, 385–394.
- Wani, P. A., Khan, M. S., & Zaidi, A. (2007). Cadmium, chromium and copper in greengram plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 145–153.
- Ward, A., Connolly, P., & Tucker, N. (2014). *Pseudomonas Aeruginosa* Can Be Detected In a Polymicrobial Competition Model Using Impedance Spectroscopy With A Novel Biosensor. *PLoS ONE*, 3(9), e91732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091732>
- Wasti, S., Mouelhi, S., Aïch, F., Mimouni, H., Chaabani, S., & Ahmed, H. (2022). *Foliar application of salicylic acid on growth and yield components of tomato plant grown under salt stress*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.106769>
- Weller, D. M., Landa, B. B., Mavrodi, O. V., Schroeder, K. L., De La Fuente, L., Bankhead, S. B., Molar, R. A., Bonsall, R. F., Mavrodi, D. V, & Thomashow, L. S. (2006). Role of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. *Plant Biology*, 4–20.
- Weller, D. M., Van Pelt, J. A., Mavrodi, D. V, Pieterse, C. M. J., Bakker, P., & Van Loon, L. C. (2004). Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. tomato by 2, 4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 94, S108.
- Wen, J.-F., Gong, M., Liu, Y., Hu, J.-L., & Deng, M. (2013). Effect of hydrogen peroxide on growth and activity of some enzymes involved in proline metabolism of sweet corn seedlings under copper

stress. *Scientia Horticulturae*, 164, 366–371.

Wheeler, D. M., & Power, I. L. (1995). Comparison of plant uptake and plant toxicity of various ions in wheat. *Plant and Soil*, 172, 167–173.

Whitacre, D. M. (2011). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. In *vol* (pp. 65–71). 213. Springer.

White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets--iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.*, 8137(2008), 49–84. <https://doi.org/10.1111/j.1469->

Widnyana, I. (2019). PGPR (Plant Growth Promoting Rizobacteria) benefits in spurring germination, growth and increase the yield of tomato plants. *Recent Advances in Tomato Breeding and Production*, 17-25. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78776>

Wilkinson, J. Q., Lanahan, M. B., Yen, H. C., Giovannoni, J. J., & Klee, H. J. (1995). An ethylene inducible component of signal transduction encoded by never-ripe. *Science*, 270, 1807–1809. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1807>

Wu, C. H., Wood, T. K., Mulchandani, A., & Chen, W. (2006). Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(2), 1129–1134.

Xu, J., Xiao-Lin, L., & Luo, L. (2012). Effects of engineered *Sinorhizobium meliloti* on cytokinin synthesis and tolerance of alfalfa to extreme drought stress. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 8056–8061.

Xu, Q., Qiu, H., Chu, W., Fu, Y., Cai, S., Min, H., & Sha, S. C. ultrastructural localization subcellular. (2013). distribution, and phytotoxicity in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*, 20,. [*Cros*, 8672–8679.

Yadav, P., Kaur, R., Kanwar, M. K., Sharma, A., Verma, V., Sirhindi, G., & Bhardwaj, R. (2018). Castasterone confers copper stress tolerance by regulating antioxidant enzyme responses, antioxidants, and amino acid balance in *B. juncea* seedlings. *Ecotoxicol. Environ. Saf*, 147,. [*Cro*, 725–734.

Yang, C. W., Xu, H. H., Wang, L. L., Liu, J., Shi, D. C., & Wang, G. D. (2009). Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica*, 47(1), 79–86. <https://doi.org/10.1007/s11099-009-0013-8>

Yang, J., Kloepper, J. W., & Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci*, 14, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>

Yang, R., Chen, H., & Gu, Z. (2011). Factors influencing diamine oxidase activity and γ -aminobutyric acid content of fava bean (*Vicia faba* L.) during germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(21), 11616–11620.

Yang, Z., Chen, J., Dou, R., Gao, X., Mao, C., & Wang, L. (2015). Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*, 12(12), 15100e.

Yankey, R., Omoor, I. N. A., Karanja, J. K., Wang, L., Urga, R. T., Fang, C. H., Dongmei, L., Lin, H., Okal, J. E., & Datti, I. L. (2022). Metabolic properties, gene functions, and biosafety analysis reveal the action of three rhizospheric plant growth-promoting bacteria of *Jujuncao* (*Pennisetum giganteum*). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(25), 38435–38449.

Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., & Li, C. (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur. J. Soil Biol.*, 46, 49–54.

Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y. Y., Kaleem, I., & Li, C. (2009). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur J Soil Biol*, 46(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.11.002>

Yao, S., Lan, H., & Zhang, F. (2010). Variation of seed heteromorphism in *Chenopodium album* and the effect of salinity stress on the descendants. *Annals of Botany*, 105(6), 1015–1025.

Yasmin, H., Nosheen, A., Naz, R., Bano, A., & Keyani, R. (2017). 1-tryptophan-assisted pgpr-mediated induction of drought tolerance in maize (*zea mays*l.). *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 567–578. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1402212>

Yasmin, R., Hussain, S., Rasool, M. H., Siddique, M. H., & Muzammil, S. (2021). Isolation,

characterization of Zn solubilizing bacterium (*Pseudomonas protegens* RY2) and its contribution in growth of chickpea (*Cicer arietinum* L) as deciphered by improved growth parameters and Zn content. *Dose-Response*, 19(3), 15593258211036792.

Yazar, A., Mart, D., Çolak, Y. B., & Kaya, Ç. I. (2017). Yield response of faba bean to various irrigation strategies in the Mediterranean region. *International Journal of Research in Agriculture and Forestry*, 4, 9–19.

Yergeau, É., Sanschagrin, S., Maynard, C., St-Arnaud, M., & Greer, C. (2013). Microbial expression profiles in the rhizosphere of willows depend on soil contamination. *The Isme Journal*, 8(2), 344–358. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.163>

Yildirim, E., & Taylor, A. G. (2005). Effect of biological treatments on growth of bean plants under salt stress. Reports of Bean Improvement Cooperative and National Dry Bean Council Research Conference. 48:176, 177.

Young, D. N., Mudge, J., & Ellis, T. N. (2003). Legume genomes: more than peas in a pod. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 6, 199–204.

Yruela, I. (2005). Copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(145e), 156.

Yu, J. M., Wang D. and Pierson III, L. S., & Pierson, E. A. (2018). Effect of producing different phenazines on bacterial fitness and biological control in *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. *The Plant Pathology Journal*, 34(1), 44.

Yu, Z., Duan, X., Luo, L., Dai, S., Ding, Z., & Xia, G. (2020). How plant hormones mediate salt stress responses. *Trends Plant Sci*, 25. [Cros, 1117–1130.

Yuan, H. M., Liu, W. C., Jin, Y., & Lu, Y. T. (2013). Role of ROS and auxin in plant response to metal-mediated stress. *Plant Signal Behav.*, 8.

Yuan, X., Luan, J., & Shi, J. (2014). Spatial variability of bacteria in the rhizosphere of *Elsholtzia splendens* under Cu contamination. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 21(16), 9809e.

Yue, H., Mo, W., Li, C., Zheng, Y., & Li, H. (2007). The salt stress relief and growth promotion effect of Rs-5 on cotton. *Plant Soil*, 297, 139–145. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9327-0>

Yue, J., Fu, Z., Zhang, L., Zhang, Z., & Zhang, J. (2018). The positive effect of different 24-epibl pretreatments on salinity tolerance in robinia pseudoacacia l. *Seedlings. Forests*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.3390/f10010004>

Zadeh, H. M., & Naeini, M. B. (2007). Effects of Salinity Stress on the Morphology and Yield of Two Cultivars of Canola. *Brassica Napus L.* *Journal of Agronomy*, 6, 409–414.

Zafar, M., Abbasi, M., Rahim, N., Khaliq, A., Shaheen, A., Jamil, M., others, & Shahid, M. (2011). Influence of integrated phosphorus supply and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nodulation, yield and nutrient uptake in *Phaseolus vulgaris*. *African Journal of Biotechnology*, 10(74). <https://doi.org/10.5897/ajb11.1395>

Zahir, Z. A., Munir, A., Asghar, H. N., Shaharoon, B., & Arshad, M. (2008). Effectiveness of rhizobacteria containing ACC deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. *J Microbiol Biotechnol*, 18(5), 958–963.

Zahran, H. H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63, 968–989.

Zahran, H. H., & Sprent, J. I. (1986). Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*. *Planta*, 167, 303–309.

Zambrano-Mendoza, J., Sangoquiza-Caiza, C., Campaña-Cruz, D., & Yáñez-Guzmán, C. (2021). *Use of biofertilizers in agricultural production*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98264>

Zamioudis, C., Mastranesti, P., Dhonukshe, P., Blilou, I., & Pieterse, C. (2013). Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas* spp. *Bacteria. Plant Physiology*, 162(1), 304–318. <https://doi.org/10.1104/pp.112.212597>

Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., & Varma, A. (2012). Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biol Biochem*, 45, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.006>

- Zboralski, A., Saadia, H., Novinscak, A., & Fillion, M. (2022). Interplay between arabidopsis thaliana genotype, plant growth and rhizosphere colonization by phytobeneficial phenazine-producing pseudomonas chlororaphis. *Microorganisms*, *10*(3), 660. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030660>
- Zdor, R. E., & Anderson, A. J. (1992). Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean. *Plant and Soil*, *140*, 99–107.
- Zeid, M., Schon, C. C., & Link, W. (2003). Genetic diversity in recent elite faba bean lines using AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.*, *107*, 1304–1314.
- Zeng, Q., Ling, Q., Wu, J., Yang, Z., Liu, R., & Qi, Y. (2019). Excess copper-induced changes in antioxidative enzyme activity, mineral nutrient uptake and translocation in sugarcane seedlings. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, *103*(6), 834e.
- Zengin, F. K., & Kirbag, S. (2007). Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *J. Environ. Biol.*, *28*, 561–566.
- Zhang, C., Nie, S., Liang, J., Zeng, G., Wu, H., Hua, S., Liu, J., Yuan, Y., Xiao, H., Deng, L., & Xiang, H. (2016). Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure. *Sci. Total Environ.*, *557*(785e), 790.
- Zhang, H., Kim, M. S., Sun, Y., Dowd, S. E., Shi, H., & Paré, P. W. (2008). Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. *Mol Plant Microbe Interact.*, *21*, 737–744. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-6-0737>
- Zhang, L., & Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, *26*(1), R14–R19.
- Zhang, S., Gan, Y., & Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, *19*, 1–18.
- Zhang, X., Zhang, W., Lang, D., Cui, J., & Li, Y. (2018). Silicon improves salt tolerance of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. by ameliorating osmotic and oxidative stresses and improving phytohormonal balance. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*, 25916–25932.
- Zhao, S., Liu, Q., Qi, Y., & Duo, L. (2010). Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in Turfgrass. *Acta Biol. Cracov Ser. Bot.*, *52*, 7–11.
- Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4609. <https://doi.org/10.3390/ijms22094609>
- Zhao, Y., Xing, L., Wang, X., Hou, Y. J., Gao, J., & others. (2014). The ABA receptor PYL8 promotes lateral root growth by enhancing MYB77-dependent transcription of auxin-responsive genes. *Sci. Signal.*, *7*:ra53.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q., & Cao, W. (2009). Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, *67*(1), 222–227.
- Zheng, Y. Y., Yue, H. T., & Li, C. (2008). Physicochemical characters and ability to promote cotton germination of bacteria strains Rs-5 and Rs-198 under salt stress. *Scientia Agricultura Sinica*, *41*, 1326–1332.
- Zhou, X., Zhang, X., Ma, C., Wu, F., Jin, X., Dini-Andreote, F., & Wei, Z. (2022). Biochar amendment reduces cadmium uptake by stimulating cadmium-resistant PGPR in tomato rhizosphere. *Chemosphere*, *307*, 136138.
- Zhu, J.-K. (2000). Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. *Plant Physiology*, *124*(3), 941–948.
- Zhu, K. Z. (2014). *Preliminary Study on β -aminobutyric Acid Induce Tobacco against Copper, Cadmium Stress*; University of Science and Technology of China. Hefei.
- Zhu, Y., Xu, J., Lu, T., Zhang, M., Ke, M., Fu, Z., Pan, X., & Qian, H. (2017). A comparison of the effects of copper nanoparticles and copper sulfate on *Phaeodactylum tricornutum* physiology and transcription. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *56*, 43–49.

Références bibliographiques

- Zhuang, L., Li, Y., Wang, Z., Yu, Y., Zhang, N., Yang, C., others, & Wang, Q. (2020). Synthetic community with six pseudomonas strains screened from garlic rhizosphere microbiome promotes plant growth. *Microbial Biotechnology*, *14*(2), 488–502. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13640>
- Zia-Ul-Haq, M., Ahmad, S., Qayum, M., & Ercişli, S. (2013). Compositional studies and antioxidant potential of *Albizia lebbek* (L.) Benth. *Pods and Seeds*. *Turkish Journal of Biology*, *37*, 25–32. <https://doi.org/10.3906/biy-1204-38>
- Zohary, D., & Hopf, M. (1973). Domestication of pulses in the old world. *Science*, *182*, 887–894.
- Zohary, D., & Hopf, M. (2000). *Domestication of plants in the old world: The origin and spread of cultivated plants in West Africa, Europe and the Nile valley*. Oxford University Press.
- Zong, J., Huang, P., Chen, N., Xue, K., Tian, Z., & Yang, Y. (2021). Growth, physiological, and photosynthetic responses of *xanthoceras sorbifolium bunge* seedlings under various degrees of salinity. *Frontiers in Plant Science*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.730737>
- Zong, X., Guan, J., Wang, S., Ren, J., Liu, Q., Paull, J. G., & Redden, B. (2009). Molecular variation among Chinese and global germplasm in spring faba bean areas. *Plant Breeding*. *Theoretical and Applied Genetics* ., *118*, 971–978.

ANNEXES

Annexe I: Préparation et composition des solutions et milieux de culture**1. Gélosenutritif**(par litre)

Peptone	10g
NaCl.....	5g
Extraitdelevure.....	3g
Extraitdeviande	3g
PH=7± 0,2.	

2. GélosePVK(par litre)

Glucose.....	10g
Ca ₃ (PO ₄) ₂ .H ₂ O.	5g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5g
KCl	0,2g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,2
MnSO ₄ .7H ₂ O.....	0,1g
MnSO ₄ .4H ₂ O.....	0.004g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.002g
NaCl	0,20g
Extraitdelevure	0.5g
Pourpredebromocrésol.....	0,1g
PH=7± 0,2.	

3. Milieu King B

Proteose peptone	20 g
Potassium sulphate	10 g
Magnesium chloride, anhydrous	1.64 g
Agar	15 g
Final pH (at 25°C) 7.3±0.1	

4. Milieu King B

Peptonedecaséine.....	10,0 g
Peptonedeviande.....	10,0 g
Glycérol.....	10,0 ml
K ₂ HPO ₄	1,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5
gpH=7±0,2.	

5. Gelose LB (Lysogeny broth)

Casein peptone.....	10 g
Yeast extrac.....	5 g
NaCl.....	10 g
Agar.....	15 g

1. Composition de la solution nutritive d'Hoagland

1. Composition de la solution.

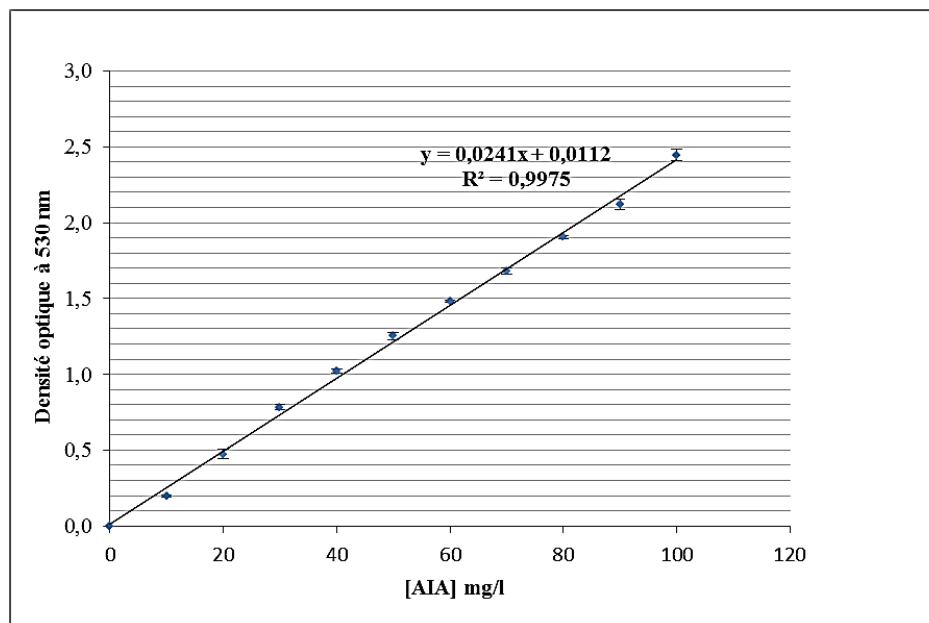
Composants	par litre
KNO₃	5 ml d'une solution de 1 M
Ca(NO₃)₂ · 4H₂O	5 ml d'une solution de 1 M
KH₂PO₄	1 ml d'une solution de 1 M
MgSO₄ · 7H₂O	2 ml d'une solution de 1 M
Microélément*	1 ml d'une solution de stock solution
Fe-EDTA	5 ml d'une solution de 1000 mg/l

*Composition du stock solution pour microélément.

	stock solution (microélément)	par litre
1.	H₃BO₃	2.86 g
2.	MnCl₂ · 4H₂O	1.81 g
3.	ZnSO₄ · 7H₂O	0.22 g
4.	CuSO₄ · 5H₂O	0.08 g
5.	MoO₃	0.02 g

6. Annexe II : Courbe d'étalonnage des solutions AIA

pour la détermination de la concentration d'AIA



Annexe III: Tableaux des analyses statistiques (ANOVA)**1. Tableaux des analyses d'ANOVA de poids frais de la fève (Partie aérienne) à l'expérimentation de plantation****a. Variété Aguadulce**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	204.457	29	7.05				
VAR.FACTEUR 1	6.58	1	6.58	1.185	0.28958		
VAR.FACTEUR 2	85.414	4	21.354	3.845	0.0178		
VAR.INTER F1*2	1.4	4	0.35	0.063	0.98931		
VAR.RESIDUELLE 1	111.063	20	5.553			2.357	34.21%

Groupes homogènes pour facteur 2 traitements de stress

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
1.0	T0	9.382	A
2.0	S1	7.913	A B
4.0	C1	6.865	A B
3.0	S2	5.797	A B
5.0	C2	4.485	B

b. Variété Hmiene

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	220.658	29	7.609				
VAR.FACTEUR 1	84.47	1	84.47	34.309	0.00001		
VAR.FACTEUR 2	70.189	4	17.547	7.127	0.00103		
VAR.INTER F1*2	16.759	4	4.19	1.702	0.18837		
VAR.RESIDUELLE 1	49.241	20	2.462			1.569	27.43%

Groupes homogènes facteur inoculation

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
2.0	INOCULEE	7.399	A
1.0	NON INOCULEE	4.043	B

Groupes homogènes facteur traitements de stress

F2	IBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
1.0	T0	8.268	A
4.0	C1	5.92	B
2.0	S1	5.895	B
3.0	S2	4.925	B
5.0	C2	3.598	B

ANNAXES

c. Variété locale 1

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	174.628	29	6.022				
VAR.FACTEUR 1	45.166	1	45.166	17.751	0.00048		
VAR.FACTEUR 2	76.068	4	19.017	7.474	0.00079		
VAR.INTER F1*2	2.505	4	0.626	0.246	0.90767		
VAR.RESIDUELLE 1	50.888	20	2.544			1.595	40.41%

Groupes homogènes facteur inoculation

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
2.0	INOCULEE	5.175	A
1.0	NON INOCULEE	2.721	B

Groupes homogènes facteur traitements de stress

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
1.0	T0	6.195	A
4.0	C1	5.205	A
2.0	S1	3.917	A B
5.0	C2	2.29	B
3.0	S2	2.132	B

d. Variété locale 2

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	167.318	29	5.77				
VAR.FACTEUR 1	18.929	1	18.929	13.937	0.00138		
VAR.FACTEUR 2	71.327	4	17.832	13.129	0.00003		
VAR.INTER F1*2	49.897	4	12.474	9.185	0.00024		
VAR.RESIDUELLE 1	27.164	20	1.358			1.165	34.47%

Groupes homogènes facteur inoculation

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
2.0	INOCULEE	4.175	A
1.0	NON INOCULEE	2.587	B

Groupes homogènes facteur traitements de stress

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
1.0	T0	5.795	A
4.0	C1	4.17	B
2.0	S1	3.105	B
5.0	C2	2.652	B
3.0	S2	1.183	C

ANNAXES

Groupes homogènes pour facteur d'interaction f1 x f2

F1 F2	LIBELLES	MOYENNE S	GROUPES HOMOGENES			
2.0 1.0	INOCULEE T0	7.29	A			
2.0 4.0	INOCULEE C1	6.13	A	B		
2.0 2.0	INOCULEE S1	4.857		B	C	
1.0 1.0	NON INOCULEE T0	4.3		B	C	
1.0 5.0	NON INOCULEE C2	4.153		B	C	
1.0 4.0	NON INOCULEE C1	2.21			C	D
2.0 3.0	INOCULEE S2	1.45				D
1.0 2.0	NON INOCULEE S1	1.353				D
2.0 5.0	INOCULEE C2	1.15				D
1.0 3.0	NON INOCULEE S2	0.917				D

2. Tableaux des analyses d'ANOVA de pourcentage de germination de la fève à l'expérimentation de germination sous stress au cuivre.

a. Variété Aguadulce

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	6548.393	35	187.097				
VAR.FACTEUR 1	1701.388	2	850.694	7.193	0.00366		
VAR.FACTEUR 2	793.184	3	264.395	2.235	0.10891		
VAR.INTER F1*2	1215.279	6	202.547	1.713	0.1607		
VAR.RESIDUELLE 1	2838.542	24	118.273			10.875	64.58%

Groupes homogènes pour facteur inoculation

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
2.0	F1n2	26.563	A			
1.0	F1n1	11.979			B	
3.0	F1n3	11.979			B	

b. Variété locale

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	13787.98	35	393.942				
VAR.FACTEUR 1	1213.107	2	606.554	2.236	0.12686		
VAR.FACTEUR 2	3319.228	3	1106.409	4.079	0.01778		
VAR.INTER F1*2	2745.226	6	457.538	1.687	0.16699		
VAR.RESIDUELLE 1	6510.417	24	271.267			16.47	52.41%

ANNAXES

Groupes homogènes pour facteur traitements au cuivre

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0	F2n3	46.528	A	
2.0	F2n2	31.25	A	B
1.0	F2n1	27.778	A	B
4.0	F2n4	20.139		B

3. Tableaux des analyses d'ANOVA de pourcentage de germination de la fève à l'expérimentation de germination sous stress salin.

a. Variété Aguadulce

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	10810.55	35	308.873				
VAR.FACTEUR 1	253.905	2	126.953	0.76	0.48248		
VAR.FACTEUR 2	5315.754	3	1771.918	10.604	0.00014		
VAR.INTER F1*2	1230.47	6	205.078	1.227	0.32711		
VAR.RESIDUELLE 1	4010.417	24	167.101			12.927	33.09%

Groupes homogènes pour facteur inoculation

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	P1	56.944	A	
4.0	P3	40.278		B
3.0	P2	36.111		B
1.0	SP	22.917		C

b. Variété locale

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	21701.39	35	620.04				
VAR.FACTEUR 1	13654.51	2	6827.257	33.468	0		
VAR.FACTEUR 2	1006.943	3	335.648	1.645	0.2043		
VAR.INTER F1*2	2144.098	6	357.35	1.752	0.1516		
VAR.RESIDUELLE 1	4895.834	24	203.993			14.283	46.74%

Groupes homogènes facteur traitements de salinité

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	S0mM	57.292	A	
2.0	S100mM	22.917		B

ANNAXES

3.0	S200mM	11.458		B
-----	--------	--------	--	---

4. Tableaux des analyses d'ANOVA de test d'activité antibactérienne des extraits OA47.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	395.838	95	4.167				
VAR.FACTEUR 1	85.912	3	28.637	102.456	0		
VAR.FACTEUR 2	145.813	5	29.163	104.334	0		
VAR.INTER F1*2	143.988	15	9.599	34.343	0		
VAR.RESIDUELLE 1	20.125	72	0.28			0.529	26.13%

Groupes homogènes

Facteur extrait :

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	Phenazine	3.537	A			
3.0	Pyoverdine	2.057		B		
4.0	Pyoverdine+	1.455			C	
2.0	Pyocyanine	1.042				D

Facteur souches antagonistes :

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
3.0	BS	3.541	A			
2.0	BC	3.079		B		
4.0	EF	2.687			C	
5.0	SA	2.008				D
1.0	PA	0.575				E
6.0	EC	0.247				E

Facteur interaction :

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0 3.0	Phenazine BS	8.277	A			
1.0 4.0	Phenazine EF	4.718		B		
1.0 2.0	Phenazine BC	4.248		B	C	
3.0 2.0	Pyoverdine BC	3.503			C	D
3.0 3.0	Pyoverdine BS	3.423			C	D
4.0 5.0	Pyoverdine+ SA	3.235				D
3.0 5.0	Pyoverdine SA	3.115				D
4.0 4.0	Pyoverdine+ EF	2.805				D
4.0 2.0	Pyoverdine+ BC	2.69				D
2.0 3.0	Pyocyanine BS	2.465				D

ANNAXES

1.0	1.0	Phenazine PA	2.3						E	F	G
2.0	4.0	Pyocyanine EF	1.91							F	G
2.0	2.0	Pyocyanine BC	1.878							F	G
1.0	5.0	Phenazine SA	1.683							F	G
3.0	4.0	Pyoverdine EF	1.315								G
3.0	6.0	Pyoverdine EC	0.987								
3.0	1.0	Pyoverdine PA	0								
2.0	5.0	Pyocyanine SA	0								
1.0	6.0	Phenazine EC	0								
2.0	1.0	Pyocyanine PA	0								
4.0	6.0	Pyoverdine+ EC	0								
4.0	1.0	Pyoverdine+ PA	0								
2.0	6.0	Pyocyanine EC	0								
4.0	3.0	Pyoverdine+ BS	0								

Annexe IV :

Query #3: 47_1485bp Query ID: lcl|Query_64295 Length: 1485

Sequences producing significant alignments:

Total Query	E	Per.	Acc.	Scientific	Common	Max
Description	Score	Score	cover	Name	Name	Taxid
Score	Score	cover	Value	Ident	Len	Accession
1. Pseudomonas aeruginosa strain DSM 50071 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	287	2674	2674	100%	0.0	99.93 1527
NR_117678.1						
2. Pseudomonas aeruginosa strain ATCC 10145 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	287	2663	2663	99%	0.0	100.00 1489
NR_114471.1						
3. Pseudomonas aeruginosa strain NBRC 12689 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	287	2636	2636	98%	0.0	100.00 1461
NR_113599.1						
4. Pseudomonas otitidis strain MCC10330 16S ribosomal RNA, partia...						
Pseudomonas... NA	319939	2584	2584	100%	0.0	98.59 1531
NR_043289.1						
5. Pseudomonas aeruginosa strain DSM 50071 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	287	2538	2538	100%	0.0	98.12 1537
NR_026078.1						
6. Pseudomonas resinovorans strain ATCC 14235 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	53412	2511	2511	100%	0.0	97.38 1507
NR_112062.1						
7. Pseudomonas stutzeri ATCC 17588 = LMG 11199 16S ribosomal RNA,...						
Pseudomonas... NA	96563	2483	2483	100%	0.0	97.11 1537

NR_103934.2

8. Stutzerimonas stutzeri strain VKM B-975 16S ribosomal RNA,... Stutzerimona...
 NA 316 2478 2478 100% 0.0 97.11 1495 NR_116489.1

9. Pseudomonas hydrolytica strain DSWY01 16S ribosomal RNA, parti...
 Pseudomonas... NA 2493633 2474 2474 100% 0.0 96.97 1500
 NR_170428.1

10. Pseudomonas alcaligenes strain NBRC 14159 16S ribosomal RNA,...
 Pseudomonas... NA 43263 2472 2472 98% 0.0 97.54 1462
 NR_113646.1

Annexe V : Communications et Publications:

1. Communications :

- Journée mondiale de la biodiversité avec une communication intitulée « **les changements climatiques, et la biodiversité** » qui s'est tenu à Adrar le 22 Mai 2007.
- 1^{ier} colloque international de la biologie appliquée, avec une communication intitulée « **Rôle de *Pseudomonas* fluorescente dans l'allègement du stress salin sur la germination, la croissance et physiologie de la fève (*Vicia faba*)** » qui s'est tenu à Université Mohamed Boudiaf Oran, du 29/11/2015 au 01/12/2015.
- Séminaire national sur l'agriculture durable avec une communication intitulée « **Rôle de *Pseudomonas* fluorescente dans l'allègement du stress salin sur la germination, la croissance et physiologie de la fève (*Vicia faba*)** » qui s'est tenu à Université Djilali Liabes Sidi Belabbas, le 02/12/2015.
- Séminaire^a national sur les agrosystèmes sahariens Biodiversité, valorisation et préservation avec une communication intitulée « **Effet de *Pseudomonas* rhizosphérique sur la biomasse fraîche la proline et le rapport K/Na de la fève (*Vicia faba*) dans les conditions du stress** » qui s'est tenu à Université Ahmed DRAYA, du 07/11/2016 au 08/11/2016.
- Séminaire^b national sur les agrosystèmes sahariens Biodiversité, valorisation et préservation avec une communication intitulée « **Etude de la tolérance au plomb chez *Atriplexhalimus L.* dans les milieux salins** » qui s'est tenu à Université Ahmed DRAYA, du 07/11/2016 au 08/11/2016.
- Journées internationales de biotechnologie (JIB2016), avec une communication intitulée « **Physiological and Biochemical responses in broad bean (*Vicia faba*) inoculated with rhizospheric *Pseudomonas* under salt stress conditions** » qui s'est tenu à Sousse –Tunisie du 18 au 22/12/2016.
- International Course on organic farming, UTEAM, Izmir-Turkey, 2018, avec une communication orale intitulée « **Agricultural Product labelling and certification in Algeria** »

- Notional conference on Argan (*Argania spinosa*), Adrar-Algeria, 2020, avec une communication orale intitulée « **Valorisation économique des produits d'argan** »

5. Publications:

- Effects of Inoculation with Rhizospheric *Pseudomonas* on Physiological Responses in the Broad Bean (*Vicia faba*) Grown Under Copper Stress.

Idder1, Djibaoui2, Hocine3 *et al.* (2018), Advances in Science, Technology & Innovation

- Role of some rhizospheric *Pseudomonas* on the growth and physiology of broad bean (*Vicia faba*) under salt stress conditions.

Idder1, Djibaoui2, Yssaad3 *et al.* (2019) Acta Agrobotanica.

DOI: 10.5586/aa.1794

Publication historyReceived: 2019-07-19
Accepted: 2019-11-14
Published: 2019-12-30**Handling editor**

Ewa Zalewska, Faculty of Horticulture and Landscape Architecture, University of Life Sciences in Lublin, Poland

Authors' contributions

BI: idea, design, conducting experiments, and writing of manuscript; RD and HARY: analyzing results; AD: conducting microbiological techniques

Funding

This study was financed partly from the Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem statutory funds and partly (publication fee and part of equipment and chemicals used in the experiments) from private funds of BI.

Competing interests

No competing interests have been declared.

Copyright notice

© The Author(s) 2019. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits redistribution, commercial and noncommercial, provided that the article is properly cited.

CitationIdder B, Djibaoui R, Reguieg Yssaad HA, Djoudi A. Role of some rhizospheric *Pseudomonas* on the growth and physiology of broad bean (*Vicia faba*) under salt stress conditions. Acta Agrobot. 2019;72(4):1794. <https://doi.org/10.5586/aa.1794>

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Role of some rhizospheric *Pseudomonas* on the growth and physiology of broad bean (*Vicia faba*) under salt stress conditions

Boubaker Idder¹, Rachid Djibaoui¹, Hocine Abdelhakim Reguieg Yssaad², Abdelhak Djoudi¹¹ Laboratory of Microbiology and Plant Biology, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, Algeria² Laboratory of Biodiversity and Conservation of Soil and Water, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, Algeria

* Corresponding author. Email: boubaker.idder@univ-mosta.dz

Abstract

Salt stress affects the development and growth of plants in various ways as a result of its effect on water relationships, photosynthesis, and nutrient absorption by physiological and biochemical processes. Consequently, several researchers have increasingly studied the effect of plant growth promoting bacteria (PGPR) as promoters and enhancers under saline environment. The main goals of this study were to examine the manifested response of the broad bean plant under saline conditions and to evaluate the role of some *Pseudomonas* isolates in improving plant tolerance to salt stress. Three *Pseudomonas* strains were isolated (P1 and P7 from a saline soil and P15 from a vineyard soil). These isolates were screened by salinity and used as inoculums in *Vicia faba* plants (OTONO variety) irrigated with two saline solutions (NaCl; 100 and 150 mM L⁻¹) and one without salinity. The results show that salinity decreased the fresh weight, total chlorophyll content, and the Na⁺/K⁺ ratio, but it increased proline accumulation in inoculated and noninoculated plants. The inoculation of *V. faba* plants with P1, P7, and P15 strains significantly increased the production of fresh biomass in the presence and absence of salt stress, and positively affected the accumulation of proline and the Na⁺/K⁺ ratio. The inoculation with bacterial strains increased the total chlorophyll content in plants at all salt treatment levels, especially the P1 strain that showed a significant effect.

Keywords

salinity; PGPR; proline; chlorophyll

Introduction

Salinity is considered to be one of the main abiotic stresses in the Sahara region because it reduces the area of exploitable land by 1% to 2% yearly [1]. Over 800 million hectares of land are affected by salinity, which could drastically reduce agricultural productivity [2]. In addition, salinity reduces nutrient absorption by plants, particularly phosphate uptake [3]. Osmotic stress can also be induced by limiting water absorption in soil, and ionic stress resulting from high concentrations of potentially toxic salt ions in plant cells [4]. Saline stress affects several biochemical and metabolic processes in plants, including protein synthesis, photosynthesis, and lipid metabolism, therefore, growth and yields are reduced [5,6]. The accumulation of ions, such as sodium chloride, can alter many physiological activities [7], decrease productivity, and cause plant death [2].

Agricultural soils face great risks due to their excessive and irrational exploitation; salinity is among these risks, which represents a serious constraint for agriculture. Against these risks of phytotoxicity of salinity, many researchers have studied several strategies, such as the use of plant growth-promoting bacteria (PGPR or PGPB). PGPRs

can stimulate not only plant growth and yield, but also alleviate the effects of biotic or abiotic stresses [8]. They can also increase plant growth and aerial biomass, even under the toxic effect of metals [9–11], and facilitate the growth of plants in saline soils [4,12]. The increase in crop yields due to PGPRs is mainly attributed to the production of growth phytohormones as well as the solubilization of phosphate [13]. Several authors have reported the enhancing effect of plant–PGPR interactions using different bioinoculant bacterial strains, such as *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, and several strains of gram-positive *Bacillus* [14,15]. Inoculation with *P. putida* Rs198 may stimulate cotton growth and germination under salt stress conditions [16]. The strains *P. trivialis* 3Re27 and *P. extremorientalis* TSAU20 have excellent root colonization capacity and promote plant growth. They also show antagonism to fungal plant pathogens, tolerance to salinity, and ability to alleviate salt stress in peas, soybeans, wheat, cucumber, and tomato [17–19]. In the present study, the effect of salt stress on biomass, chlorophyll content, proline accumulation, and absorption of nutritional elements was examined. We also studied the effect of inoculation with selected *Pseudomonas* strains on the growth of plants and their tolerance to salt stress.

Material and methods

Soil sampling

Ten soil samples were taken from two types of potentially contaminated soil: saline soil from Metmar Relizan and vineyard soil from Wreiah Mostaganem, Algeria.

Isolation of *Pseudomonas* spp. strains

The isolation was carried out by the suspension dilution method described by Vidhyasekaran et al. [20]. The roots were first removed from the easily detachable soil, then 1 g of soil adhering to the roots of each sample was recovered and placed in a series of 1/10 dilution suspensions. Finally, the bacteria belonging to the genus *Pseudomonas* were isolated from the greenish-yellow fluorescent colonies after 48-h incubation [21] on King B medium, as described by King et al. [22]. Confirmation of the fluorescence of *Pseudomonas* strains was done either by naked eye or by using a UV lamp (366 nm), and therefore occurred after macroscopic and microscopic analyses.

Selection and identification of high-performance isolates

The strains of fluorescent *Pseudomonas* passed through three preselection tests of performance: tolerance to salinity, and indole acetic acid (IAA) and pyoverdine production. Every isolate was incubated for 48 h in King B medium with different salinity levels: 7%, 8%, 9%, and 10% NaCl. Then, the best performing isolates were examined for their ability to produce pyoverdine. We used the method described by Meyer and Abdallah [23] for the extraction and spectrophotometric characterization of pyoverdine, and the method described by Loper and Schroth [24] for characterizing IAA production in these strains. The selected isolates were identified using the biochemical method of the API 20NE gallery.

Experiment of plantation

The experiment was carried out in a greenhouse at the Agronomy Workshop in Mazagran, Abdelhamid Ibn Badis University in Mostaganem, Algeria (x: 35°53'05.79" N, y: 0°02'41.54" E) with an average temperature of 28°C by day and 23°C by night, and hygrosopy of 55% to 75%.

We used the seeds of *Vicia faba* OTONO. The seeds were germinated after disinfection with a 25% sodium hypochlorite solution for 15 min, and then transplanted into

pots containing 5 kg of mineralized and sterile sand. From colonies incubated for 24 h we prepared the inoculums of three strains selected for inoculation in tubes containing 3 mL nutrient broth, the tubes were incubated at 30°C for 24 h and then poured aseptically into 250 mL flasks containing 100 mL of nutrient broth and incubated at 30°C for 48 h. The first inoculation was applied simultaneously with the transplantation of the germinated seeds by adding 120 mL of the bacterial suspension to each pot and the second inoculation was applied 4 weeks after transplantation. One week after transplantation, the pots were regularly irrigated with Hoagland solution [25]. From the fifth week after transplantation, and for a 3-week duration, the irrigation solutions (Hoagland solution) contained NaCl treatments at different concentrations: 0 mM L⁻¹, 100 mM L⁻¹, and 150 mM L⁻¹. We measured the total fresh weight of plants using a precision scale. The chlorophyll content was measured following the method of Francis et al. [26], the proline content following Bergman and Loxley [27], and the K⁺ and Na⁺ cations were measured using the method described by Lagerkvist et al. [28]. The experiment was conducted according to a completely randomized design with four replicates. STAT BOX v6.40, used to perform ANOVA based on Student–Newman–Keuls test with a significance threshold of $p = 0.05$, and Microsoft Excel 2013 was used for the graphics.

Results

Isolation, selection, and identification of *Pseudomonas* spp. strains

The macroscopic and microscopic analyzes of the isolates extracted from the rhizosphere revealed seven strains belonging to the genus *Pseudomonas*: P1, P6, and P7 from the saline soil and P11, P13, P14, and P15 from the vineyard soil. We chose P1, P7, and P15 as high-performance strains from the seven isolates as screened by the performance test results shown in Tab. 1. According to the API 20NE gallery identification catalog, isolates P1 and P7 are similar to strains of *P. fluorescens* and P15 was assigned as *P. putida*.

Tab. 1 Characterization of isolated bacterial strains.

Bacterial isolates	IAA production	Pyoverdine production	Test of resistance to different NaCl doses after 72 h			
			7%	8%	9%	10%
P1	++	++	++	-	-	-
P6	-	-	-	-	-	-
P7	++	++	++	++	++	++
P11	-	+	++	-	-	-
P13	+	+	++	-	-	-
P14	-	+	++	-	-	-
P15	++	++	++	++	++	+

Note: “-” means no production or growth; “+” means weak production or growth; “++” means abundant production or growth.

Fresh weight

The results showed that salinity has an inversely proportional effect on the fresh weight of plants in the presence and absence of bacterial inoculation. Compared to the 0 mM L⁻¹ dose, saline doses of 100 and 150 mM L⁻¹ caused a biomass decrease of 6.73% and 10.95%, respectively, for the noninoculated plants. Saline doses also decreased the biomass of inoculated plants, the P1 strain decreased by 0.95% and 13.86% for the 100 and 150 mM L⁻¹, respectively, 8.76% and 10.16% for the P7 inoculum, and 14.85% and 35.10%

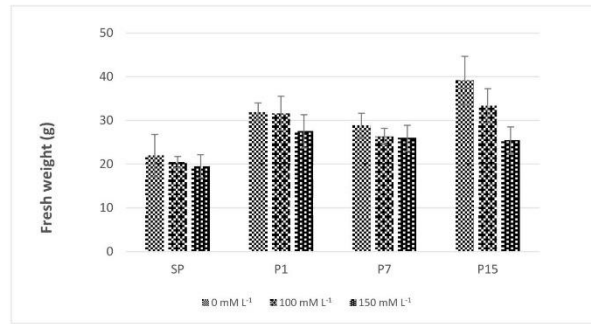


Fig. 1 The effect of salinity and inoculation of *Pseudomonas* strains (P1, P7, P15) versus a control (SP) on fresh weight of *Vicia faba* plants.

for the P15 inoculum (Fig. 1). However, bacterial inoculation with each of the strains significantly increased (Tab. 2) the fresh weight of plants at all levels of saline treatment. The P1 inoculum increased the biomass at a rate of 45.61%, 54.63%, and 40.85% for the 0, 100, and 150 mM L⁻¹ doses, respectively. The P7 inoculum caused an increase of 31.51%, 28.66%, and 32.68% for the 0, 100, and 150 mM L⁻¹ treatments, respectively, and the rate of increase was 78.54%, 63.02%, and 30.13% for the P15 inoculum.

Total chlorophyll content (*a + b*)

The results of noninoculated plants showed an 18.39% increase in total chlorophyll at a saline dose of 100 mM L⁻¹, whereas the application of a 150 mM L⁻¹ saline dose caused a significant ($p < 0.05$) decrease of 21.94% compared to the nonsaline treatment (0 mM L⁻¹) (Fig. 2). The results of the plants inoculated with P1 revealed that the effect of salinity on the total chlorophyll content was proportional to the saline concentration, with the 100 and 150 mM L⁻¹ treatments causing an increase of 10.15% and 25.02%, respectively compared to the 0 mM L⁻¹ treatment. In parallel, inoculation with the P1

Tab. 2 The effect of salinity and bacterial inoculation with *Pseudomonas* strains (P1, P7, and P15) on the fresh weight, proline content, chlorophyll content, and K⁺/Na⁺ ratio of *Vicia faba*.

Bacterial inoculum	NaCl treatment (mM L ⁻¹)	Fresh weight (g)	Proline content (μM/100 mg DM)	Chlorophyll content (mg/g FM)	K ⁺ /Na ⁺ ratio
SP	0	21.938 ± 4.87 ^{def}	0.161 ± 0.019 ^c	0.736 ± 0.05 ^{cd}	2.275 ± 0.667 ^b
SP	100	20.46 ± 1.301 ^{ef}	0.192 ± 0.029 ^c	0.701 ± 0.064 ^{cd}	1.029 ± 0.177 ^c
SP	150	19.535 ± 2.631 ^f	0.288 ± 0.027 ^b	0.594 ± 0.103 ^d	0.893 ± 0.14 ^c
P1	0	31.943 ± 2.051 ^{bc}	0.273 ± 0.037 ^b	0.847 ± 0.168 ^{bc}	2.101 ± 0.313 ^b
P1	100	31.638 ± 3.916 ^{bc}	0.281 ± 0.022 ^b	0.933 ± 0.07 ^{bc}	1.127 ± 0.196 ^c
P1	150	21.515 ± 3.805 ^{bcd}	0.353 ± 0.012 ^a	1.109 ± 0.166 ^a	1.119 ± 0.081 ^c
P7	0	28.85 ± 2.783 ^{bcd}	0.200 ± 0.018 ^c	0.76 ± 0.098 ^{cd}	2.874 ± 0.295 ^a
P7	100	26.323 ± 1.859 ^{bcd}	0.251 ± 0.038 ^b	0.775 ± 0.134 ^{cd}	1.05 ± 0.151 ^c
P7	150	25.92 ± 2.953 ^{bcd}	0.255 ± 0.008 ^b	0.781 ± 0.064 ^{cd}	0.68 ± 0.146 ^c
P15	0	39.168 ± 5.491 ^a	0.203 ± 0.019 ^c	0.748 ± 0.05 ^{cd}	2.938 ± 0.345 ^a
P15	100	33.353 ± 3.902 ^b	0.208 ± 0.014 ^c	0.737 ± 0.074 ^{cd}	2.024 ± 0.115 ^b
P15	150	25.42 ± 3.118 ^{cdef}	0.302 ± 0.033 ^b	0.988 ± 0.058 ^{ab}	0.868 ± 0.196 ^c

SP – treatment without bacterial inoculation; DM – dry matter; FM – fresh matter. The SP treatment was not inoculated. Results are presented as the mean ± standard deviation; lowercase letters denote homogeneous groups.

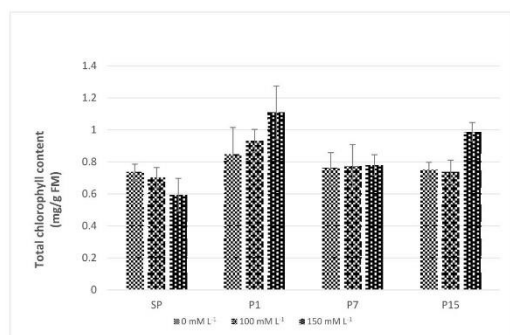


Fig. 2 The effect of salinity and bacterial inoculation with *Pseudomonas* strains (P1, P7, and P15) on the total chlorophyll content of *Vicia faba* plants. SP is a control that was not inoculated.

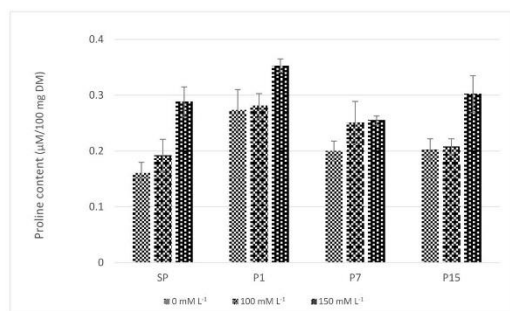


Fig. 3 The effect of salinity and bacterial inoculation of *Pseudomonas* strains (P1, P7, and P15) on proline content in *Vicia faba* plant. SP was not inoculated.

strain caused a significant elevation (Tab. 2) in total chlorophyll of 11.30%, 3.55%, and 78.28% for the 0, 100, and 150 mM L⁻¹ treatments.

For the inoculation with the P7 strain, the results showed that the accumulation of total chlorophyll in the inoculated plants is proportional to the saline concentration applied, with a slight increase of 1.97% and 2.76% induced by 100 and 150 mM L⁻¹ treatments, respectively. However, the effect of P7 inoculation on total chlorophyll content was negatively affected by the 0 and 100 mM L⁻¹ treatments with a reduction of 0.13% and 13.980%, respectively, and for the 150 mM L⁻¹ treatment, the content was increased by 31.48% compared to the control.

Plants inoculated with the P15 strain and stressed with a 100 mM L⁻¹ saline dose had a 16.84% decrease in total chlorophyll. The 150 mM L⁻¹ saline treatment caused a 32.09% increase in total chlorophyll compared to the 0 mM L⁻¹ treatment. In comparison with the results of the noninoculated plants, the P15 inoculation decreased the total chlorophyll content by 1.71% and 30.97% for 0 and 100 mM L⁻¹ treatments, respectively, while total chlorophyll increased by 66.33% for the 150 mM L⁻¹ treatment.

Proline content in the aerial part

The results of the noninoculated samples showed that the effect of salinity on the accumulation of proline in the aerial part of the bean is proportional to the concentration of the saline treatment, whereas a significant increase (Tab. 2) of 255.90% and 19.25% was observed for the 150 and 100 mM L⁻¹ saline doses, respectively, compared to the 0 mM L⁻¹ dose (Fig. 3).

In the group of plants inoculated with the P1 strain, the effect of salt stress on the proline content

in the aerial part of the bean was proportional to the concentration of the saline treatment, with proline content increases of 2.93% and 29.30% for the 100 and 150 mM L⁻¹ treatments, respectively, compared to the 0 mM L⁻¹ treatment. Comparison of the results of this group with those of the noninoculated group revealed a significant increase of 69.56% and 46.35% in the proline content for the 0 and 100 mM L⁻¹ treatments, respectively, whereas a decrease of 38.39% was observed for the 150 mM L⁻¹ treatment.

The plants inoculated with the P7 strain displayed a proportional effect of salinity on the accumulation of proline in the aerial part of the bean. There was a significant increase of 25.5% and 27.5% (Tab. 2) in the proline content of the plants stressed with 100 and 150 mM L⁻¹ treatments, respectively, compared to the 0 mM L⁻¹ dose. In comparison with noninoculated plants, the plants inoculated with the P7 strain showed an increase of 24.22% and 30.72% in the proline content for the 0 and 100 mM L⁻¹ saline doses, respectively, and a decrease of 55.49% for the 150 mM L⁻¹ saline dose.

The values of the proline content in the plants inoculated with the P15 bacterial strain indicated that the accumulation of proline was proportional to the saline concentration. The 100 and 150 mM L⁻¹ treatments caused significant accumulation of proline content of 2.46% and 48.76%, respectively, compared to the 0 mM L⁻¹ treatment. Comparing the results of the plants inoculated with the P15 strain with those not inoculated (SP), the effect of the P15 bacterial inoculum on the proline accumulation was a significant increase of 26.08% and 8.33% for the 0 and 100 mM L⁻¹ treatments, respectively, and a decrease of 47.29% for the 150 mM L⁻¹ treatment.

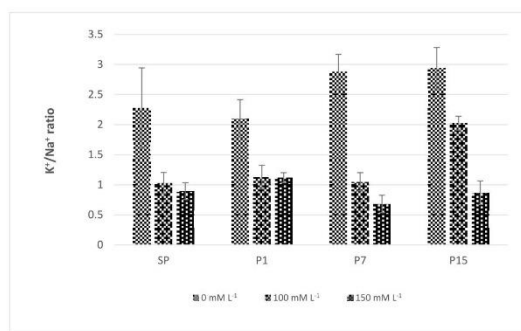


Fig. 4 The effect of salinity and bacterial inoculation with *Pseudomonas* strains (P1, P7, and P15) on the K⁺/Na⁺ ratio of *Vicia faba* plants. The SP treatment was not inoculated.

K⁺/Na⁺ ratio

Compared with unstressed *Vicia faba* plants (treated with 0 mM L⁻¹ solution), the 100 and 150 mM L⁻¹ saline doses significantly decreased the K⁺/Na⁺ ratio in the noninoculated plants by 62.91% and 57%, respectively (Fig. 4). The results showed that the K⁺/Na⁺ ratio is inversely proportional to the saline concentrations, with the 100 and 150 mM L⁻¹ treatments causing a significant reduction (Tab. 2) of 46.35% and 46.73%, respectively, comparatively to the 0 mM L⁻¹ treatment. In parallel, inoculation with the P1 strain was accompanied by a significant decrease of 24.28% and 6.20% in the K⁺/Na⁺ ratio for the 0 and 150 mM L⁻¹ saline doses, respectively; however, there was an increase of 9.52% for the 100 mM L⁻¹ dose compared to noninoculated plants.

The results obtained showed that the K⁺/Na⁺ ratio in plants inoculated with P7 is inversely proportional to the saline doses applied, with a considerable reduction of 63.46% and 76.33% for the 100 and 150 mM L⁻¹ doses, respectively. Compared to noninoculated plant results, the effect of the P7 inoculation on the K⁺/Na⁺ ratio was positively demonstrated for the 0 and 100 mM L⁻¹ treatments with a significant increase of 35.67% and 20.40% respectively, while the K⁺/Na⁺ ratio was reduced by 43% for the 150 mM L⁻¹ treatment.

In comparison with the results for the noninoculated plants, the P15 inoculation increased the K⁺/Na⁺ ratio by 5.87% and 96.69% for the 0 and 100 mM L⁻¹ treatments, respectively. However, the K⁺/Na⁺ ratio decreased by 27.24% for the 150 mM L⁻¹ treatment. The effect of saline stress on the K⁺/Na⁺ ratio is inversely proportional to the concentration of the saline treatment, with a reduction of 31.10% and 70.45% in the K⁺/Na⁺ ratio observed for the 100 and 150 mM L⁻¹ treatments, respectively, compared to the 0 mM L⁻¹ dose.

Discussion

Fresh weight

The results obtained in the bean plants inoculated with the P1, P7, and P15 strains and those not inoculated revealed a reduction in fresh weight induced by the 100 and 150 mM L⁻¹ saline doses compared to the 0 mM L⁻¹ nonsaline treatment. Huge reductions in growth are caused by salt concentrations in the irrigation solution [29]. Salt stress reduces the dry matter of roots, stems, leaves, and the leaf surface due to the direct and indirect effects of salt ion toxicity that cause soil–plant osmotic imbalance [30]. In response to salt stress detection, plants increase ethylene production [29,31–33]. Ethylene affects different vegetative growth phases in plants, leading to an overall reduction in growth [34], and it can inhibit the elongation of stems and plant roots [35,36].

Our results also show that inoculation with the P1, P7, and P15 strains significantly increased plant growth under both saline and nonsaline conditions. Inoculation of stressed plants with bacteria containing ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate)-deaminase may reduce ethylene concentration [29]. Many PGPRs produce the enzyme ACC-deaminase and metabolize ACC, the precursor for ethylene synthesis of plants, thereby reducing the inhibition of root growth by stress-induced ethylene [37–39]. *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 is able to reduce salt stress in wheat grown in saline soil [18]; the improvement effect of PGPRs on plant growth under saline conditions has been demonstrated in different species of plants such as tomato, pepper, canola, beans, and lettuce [12,40–43]. *Pseudomonas putida* Rs-198 secrete IAA, which enhances plant growth, and alleviates the effect of growth inhibitors by decreasing the abscisic acid (ABA) content of plants [44–46].

However, we observed a proportional reduction in the fresh weight of inoculated plants with increased saline concentration, indicating that salinity has inhibitory effects on the development of nodulation and colonization of inoculation strains. Several studies have proven the inhibitory effect of salt stress on the association of plants with symbiotic bacteria. Salt stress inhibits the growth, nodulation, and nitrogen fixation of several legumes, such as soybean (*Glycine max*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) [47,48]. An explanation for reduced legume growth may be that salt stress causes failure of the infection and nodulation processes [49].

Chlorophyll content

According to the results, an optimum content of total chlorophyll was found in the noninoculated *Vicia faba* plants treated with the 100 mM L⁻¹ saline dose, whereas the 150 mM L⁻¹ saline treatment reduced the total chlorophyll content. Salinity decreases photosynthesis and degrades chlorophyll and chlorophyll–protein complexes [50,51]; chlorophyll concentrations were significantly reduced by salinity treatments due to the suppression of the specific enzymes responsible for the synthesis of photosynthetic pigments [52,53], or the antagonistic effect of Na⁺ on the absorption of minerals (for example, Mg) entering into the synthesis of photosynthetic pigments, thereby reducing the chlorophyll concentration [51,54].

The chlorophyll content in the plants inoculated with the P1, P7, and P15 strains under salt stress are higher than that in the nonsaline treatment. The inoculated plants under salt stress reached higher levels of photosynthetic capacity than that of the unstressed plants. Compared with the noninoculated plants, P1 inoculation showed an increase in chlorophyll under saline and nonsaline conditions; chlorophyll (*a*) increased in the 150 mM L⁻¹ stressed plants inoculated with the P7 and P15 strains. Our results agree with several previous studies reporting that bacterial inoculation increases chlorophyll in leaves [55–57].

Proline content

For the present study, the results obtained show that proline accumulates in *Vicia faba* plants in proportion to the NaCl treatment concentrations, as recorded in the presence and absence of the P1, P7, and P15 bacterial inoculation, there was a higher proline content in plants exposed to salt stress than in plants not stressed by salinity. These results are consistent with those of several authors, who observed an increase in proline [58,59]. The accumulation of proline in plants is an indicator of general stress tolerance or salinity tolerance, as it maintains osmotic adjustment and protects intracellular macromolecules against dehydration and also serves as a hydroxyl radical scavenger [60,61]. Proline accumulation is one of the most frequently reported modifications induced by hydric and salt stress to plants and is often considered to be involved in stress resistance mechanisms. Proline accumulation is a sensitive physiological index of plant response to salt stress and other stress [62]. It is also one of the adaptive strategies triggered by the plant against environment constraints [63]. Under salt stress, plants accumulate some organic components (such as proline and soluble sugar) and inorganic ions in order to maintain higher osmotic adjustment [64].

It has also been found that in inoculated plants, proline is higher than in noninoculated plants, under saline a nonsaline treatment, which explains the effect of bacterial inoculation on proline accumulation and consequently on plant tolerance to different stresses. The leaf proline levels increased in response to inoculation with microorganisms [65]. Proline accumulation was significantly lower for noninoculated plants and significant proline accumulation was found in the leaves of plants inoculated with *Piriformospora indica*. *Azospirillum* can also accumulate proline and glutamate in response to NaCl and limit the influx of Na⁺ in roots [66]. An increase in proline and total soluble sugars was observed in plants treated with PGPRs, which have probably led to a significant contribution to the promotion of plant growth under salt stress, by increasing several metabolic defense strategies [65], and several authors have confirmed the effect of bacterial inoculation on proline increase under saline conditions [67–69].

Na⁺/K⁺ ratio

Salinity causes an increase in Na⁺ concentration and a decrease in K⁺, which reduces the K⁺/Na⁺ ratio in proportion with the increase in salt stress; the reduction in K⁺ concentration in plants under salt stress may increase the deleterious effects of salinity on growth and yield [70]. High NaCl concentrations in the soil solution may decrease the K⁺/Na⁺ and Ca²⁺/Na⁺ ratios in plants, which would then be more susceptible to osmotic and specific ion alterations as well as nutritional disturbances, which consequently lead to yield and quality reduction [71,72]. Salinity increased foliar Na⁺ and Ca²⁺ concentrations and decreased K⁺ in the leaves of lettuce [4]. Na⁺ exclusion and K⁺ influx are the most important plant strategies for relieving salt stress [73–75]. These results are consistent with those obtained in the present experiment, where we observed that saline treatments induce a significant increase in Na⁺ concentration and a decrease in K⁺ in inoculated and noninoculated plants; a significant reduction in the K⁺/Na⁺ ratio under saline treatments in the presence and absence of inoculation was also noted.

Compared with noninoculated plants, inoculation with the P1, P7, and P15 strains caused a decrease in Na⁺ concentration in plants treated with 0 and 100 mM L⁻¹ NaCl solutions, and therefore a reduction in the K⁺/Na⁺ ratio. This indicates an improved effect of inoculation with the selected bacterial strains on the reduction in the salt stress effect, this osmotic regulation is achieved by reducing the level of Na⁺ toxic ion availability in plants. Inoculation with exopolysaccharide-producing bacteria can reduce Na⁺ influx in plant roots [76]. Inoculation with *Bacillus subtilis* GB03 could also improve the level of salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* by regulating the HKT1 potassium transporter [77]. Inoculation with PGPR strains helps to relieve salt stress by the induction of certain genes and polypeptides, or regulation of the HKT1 potassium transporter [78]; PGPRs affect HKT1, which has an effect on the adjustment of the Na⁺ and K⁺ levels, it has also been suggested that PGPR increases the uptake of mineral ions by plants, via proton pump ATPase stimulation [79]. Ashraf et al. [76] found that Na⁺ accumulation in wheat decreases in the presence of PGPRs, improved exopolysaccharide (EPS) production by PGPRs can help plants tolerate salt stress by reducing the availability of Na⁺ ions at the root level. A decrease in Na⁺ availability can alleviate salt stress for wheat and cotton plants [76,80,81].

Conclusion

This study aimed to investigate the role of rhizobacterial *Pseudomonas* inoculation in the clearance of salt stress effects on the growth and physiology of *V. faba*. The results showed that the 100 and 150 mM L⁻¹ saline treatments induced a regression in the fresh weight of *V. faba* plants inoculated with P1, P7, and P15 and the noninoculated plants. In the absence of bacterial inoculation, the optimum content of total chlorophyll releasable is linked to treatment with 100 mM L⁻¹ of NaCl, whereas treatment with 150 mM L⁻¹ reduced the total chlorophyll content. Proline also accumulates in *V. faba* plants in proportion to the saline concentration in the presence and absence of bacterial inoculation. Saline treatments induced a significant increase in Na⁺ and

a decrease in K^+ in inoculated and noninoculated plants. We also noted a significant reduction in the K^+/Na^+ ratio under saline treatments in the presence and absence of bacterial inoculation. However, inoculation with strains P1, P7, and P15 caused a decrease in Na^+ in plants treated with 0 and 100 $mM L^{-1}$ NaCl, this increased the K^+/Na^+ ratio, indicating that inoculation by selected bacterial strains improves the tolerance of plants to salinity. This study provides insights into the effect of salinity on plant growth and its complications.

References

1. Food and Agriculture Organization of The United Nations FAO. Crops and drops: making the best use of water for agriculture [Internet]. 2002 [cited 2002]. Available from: <http://www.fao.org/3/Y3918E/y3918e00.htm>
2. Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol.* 2008;59:651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
3. Grattan SR, Grieve CM. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci Hortic.* 1999;78:127–157. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00192-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00192-7)
4. Kohler J, Hernández JA, Caravaca F, Roldán A. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environ Exp Bot.* 2009;65:245–252. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.09.008>
5. Cenk KC, Yasemin SK, Dilek A. Performance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) as a salt-removing crop. *Agric Water Manag.* 2008;95(7):854–858. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2008.01.019>
6. Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effect on plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2005;60:324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
7. Lee G, Carrow RN, Duncan RR, Eiteman MA, Rieger MW. Synthesis of organic osmolytes and salt tolerance mechanisms in *Paspalum vaginatum*. *Environ Exp Bot.* 2008;63:19–27. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.10.009>
8. Lugtenberg B, Kamilova F. Plant growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63:541–556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
9. Wani PA, Khan MS, Zaidi A. Effect of metal tolerant plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. (*vigna*) on growth symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere.* 2007;70:36–45. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.07.028>
10. Idder B, Djibaoui R, Reguieg Yassaad El Hocine A, Djoudi A. Effects of inoculation with rhizospheric *Pseudomonas* on physiological responses in the broad bean (*Vicia faba*) grown under copper stress. In: Chenchouni H, Errami E, Rocha F, Sabato L, editors. Exploring the nexus of geocology, geography, geoarcheology and geotourism: advances and applications for sustainable development in environmental sciences and agroforestry research. Cham: Springer; 2018. p. 65–68. (Advances in Science, Technology & Innovation). https://doi.org/10.1007/978-3-030-01683-8_14
11. Rajkumar M, Treitas H. Sequential extraction of copper, lead, cadmium and zinc in sediments from Ebro River (Spain): relationship with levels detected in earthworms. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2008;62:301–308. <https://doi.org/10.1007/s001289900874>
12. Mayak S, Tirosh T, Glick BR. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci.* 2004;166:525–530. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025>
13. Kohler J, Caravaca F, Carrasco L, Roldan A. Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilization and promotion of biological properties in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil Use Manag.* 2006;22:298–304. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2006.00041.x>
14. Zahir AZ, Arshad M, Frankenberger WT. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy.* 2004;81:97–168. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(03\)81003-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(03)81003-9)
15. Berg G. Plant microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for

- controlled use of microorganisms in agriculture. *Annu Rev Plant Biol.* 2009;84:11–18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
16. Yao L, Wu Z, Zheng Y, Kaleem I, Li C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur J Soil Biol.* 2010;46:49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.11.002>
 17. Berg G, Krechel A, Ditz M, Faupel A, Ulrich A, Hallmann J. Comparison of endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities and their antagonistic activity against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005;51:215–229. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.08.006>
 18. Egamberdieva D, Kucharova Z. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol Fertil Soils.* 2009;45:563–571. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0366-y>
 19. Egamberdieva D, Kucharova Z, Davranov K, Berg G, Makarova N, Azarova T, et al. Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biol Fertil Soils.* 2010;47:197–205. <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0523-3>
 20. Vidhyasekaran P, Rabindran R, Muthamilan M, Nayar K, Rajappan K, Subramanian N, et al. Development of powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. *Plant Pathol.* 1997;46:291–297. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1997.d01-27.x>
 21. Tamietti G, Pramotton R. La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: rapports entre résistance et microflore autochtone avec référence particulière aux *Fusarium* non pathogènes. *Agron Sustain Dev.* 1990;10:69–76. <https://doi.org/10.1051/agro:19900109>
 22. King EO, Ward M, Raney DE. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J Lab Clin Med.* 1954;44:301–307.
 23. Meyer JM, Abdallah MA. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens* biosynthesis, purification and physical-chemical properties. *Microbiology.* 1987;107:319–328. <https://doi.org/10.1099/00221287-107-2-319>
 24. Loper JE, Schroth MN. Influence of bacterial sources of indole-2-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology.* 1986;76:386–389. <https://doi.org/10.1094/Phyto-76-386>
 25. Hoagland D, Arnon Di. The water culture method for growing plants soil. *Univer Calif AES cir.* 1938;347:1–36.
 26. Francis GW, Hertzberg S, Andersen K, Liaaen-Jensen S. New carotenoid glycosides from *Oscillatoria limosa*. *Phytochemistry.* 1970;9:629–635. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85703-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85703-9)
 27. Bergman I, Loxley R. New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolysates. *Anal Chem.* 1970;42(7):702–706. <https://doi.org/10.1021/ac60289a036>
 28. Lagerkvist BJ, Ekesrydh S, Englyst V, Norberg GF, Soderberg HA, Wiklund DE. Increased blood lead and decreased calcium levels during pregnancy: a prospective study of Swedish women living near a smelter. *Am J Public Health.* 1996;86(9):1247–1252. <https://doi.org/10.2105/ajph.86.9.1247>
 29. Mayak S, Tirosh T, Glick BR. Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol Biochem.* 2004;42:565–572. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009>
 30. Abdel Latef AA. Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. *Cereal Res Commun.* 2010;38:43–55. <https://doi.org/10.1556/CRC.38.2010.1.5>
 31. Wilkinson JQ, Lanahan MB, Yen HC, Giovannoni JJ, Klee HJ. An ethylene inducible component of signal transduction encoded by never-ripe. *Science.* 1995;270:1807–1809. <https://doi.org/10.1126/science.270.5243.1807>
 32. O'Donell PJ, Calvert C, Atzorn R, Wasternack C, Leyser HMO, Bowles DJ. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science.* 1996; 274:1914–1917. <https://doi.org/10.1126/science.274.5294.1914>
 33. Feng J, Barker AV. Ethylene evolution and ammonium accumulation by tomato plants under water and salinity stresses. Part II. *J Plant Nutr.* 1992;15:2471–2490. <https://doi.org/10.1080/01904169209364488>
 34. Smalle J, van der Straeten D. Ethylene and vegetative development. *Physiol Plant.* 1997;100:593–605. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03065.x>

ANNAXES

Idder et al. / Plant–*Pseudomonas rhizospheric* interaction against abiotic stress

35. Jusaitis M. Rooting of intact mung bean hypocotyls stimulated by auxin, ACC and low temperature. *HortScience*. 1986;21:1024–1025.
36. Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol Plant*. 2003;118:10–15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>
37. Glick BR. The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol*. 1995;41:109–117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>
38. Glick BR, Penrose DM, Li J. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J Theor Biol*. 1998;190:63–68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>
39. Jacobson CB, Pasternak JJ, Glick BR. Partial purification and characterization of ACC deaminase from the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can J Microbiol*. 1994;40:1019–1025. <https://doi.org/10.1139/m94-162>
40. Hasnain S, Sabri AN. Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-stresses by non-rhizospheric *Pseudomonas* strains. *Environ Pollut*. 1997;3:265–273. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00087-0)
41. Glick BR, Liu C, Ghosh S, Dumbrof EB. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biol Biochem*. 1997;29:1233–1239. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00026-6)
42. Yildirim E, Taylor AG. Effect of biological treatments on growth of bean plants under salt stress. Reports of Bean Improvement Cooperative and National Dry Bean Council Research Conference. 2005;48:176–177.
43. Barassi CA, Ayrault G, Creus CM, Sueldo RJ, Sobrero MT. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Sci Hortic*. 2006;109:8–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.025>
44. Yao L, Wu Z, Zheng YY, Kaleem I, Li C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur J Soil Biol*. 2009;46(1):49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.11.002>
45. Zheng YY, Yue HT, Li C. Physicochemical characters and ability to promote cotton germination of bacteria strains Rs-5 and Rs-198 under salt stress. *Scientia Agricultura Sinica*. 2008;41:1326–1332.
46. Patten CL, Glick BR. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68:3795–3801. <https://doi.org/10.1128/aem.68.8.3795-3801.2002>
47. Singleton PW, Bohlool BB. Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiol*. 1984;74:72–76. <https://doi.org/10.1104/pp.74.1.72>
48. Rabie GH, Aboul-Nasr MB, Al-Humiany A. Increase salinity tolerance of cowpea plants by dual inoculation of AM fungus *Glomus clarum* and nitrogen-fixer *Azospirillum brasilense*. *Mycobiology*. 2005;33(1):51–61. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2005.33.1.051>
49. Egamberdieva D, Berg G, Lindström K, Räsänen LA. Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of *Rhizobium* with root-colonizing *Pseudomonas*. *Plant Soil*. 2013;369:453–465. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1586-3>
50. Srivastava TP, Gupta SC, Lal P, Muralia PN, Kumar A. Effect of salt stress on physiological and biochemical parameters of wheat. *Ann Arid Zone*. 1988;27:197–204.
51. Sheng M, Tang M, Chen H, Yang B, Zhang F, Huang Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*. 2008;18:287–296. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0180-7>
52. Murkute AA, Sharma S, Singh SK. Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Hortic Sci*. 2006;33:70–76. <https://doi.org/10.17221/3742-hortsci>
53. Murkute AA, Sharma S, Singh SK, Patel VB. Response of mycorrhizal citrus rootstock plantlets to salt stress. *Indian J Hortic*. 2009;66:456–60.
54. Giri B, Mukerji KG. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*. 2004;14:307–12. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0274-1>
55. Han HS, Lee KD. Physiological responses of soybean inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions. *Research Journal of Agricultural and*

- Biological Sciences. 2005;1:216–221.
56. Heidari M, Golpayegani A. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2012;11:57–61. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2011.09.001>
 57. Stefan M, Munteanu N, Stoleru V, Mihasan M, Hritcu L. Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). Sci Hort. 2012;151:22–29. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.12.006>
 58. Thiam M, Champion A, Diouf D, SY MO. NaCl Effects on in vitro germination and growth of some Senegalese cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] cultivars. Int Sch Res Notices. 2013;2013:382417. <https://doi.org/10.5402/2013/382417>
 59. Ahanger MA, Alyemeni MN, Wijaya L, Alamri SA, Alam P, Ashraf M, et al. Potential of exogenously sourced kinetin in protecting *Solanum lycopersicum* from NaCl-induced oxidative stress through up-regulation of the antioxidant system, ascorbate–glutathione cycle and glyoxalase system. PLoS One. 2018;13(9):e0202175. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202175>
 60. Alia KV, Prasad SK, Saradhi PP. Effect of zinc on free radicals and proline in *Brassica* and *Cajanus*. Phytochemistry. 1995;39:45–47. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00919-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00919-K)
 61. Hoque MA, Hoque MM, Ahmed M. Declining groundwater level and aquifer dewatering in Dhaka metropolitan area, Bangladesh: causes and quantification. Hydrogeol J. 2007;15:1523–1534. <https://doi.org/10.1007/s10040-007-0226-5>
 62. Peng YL, Gao ZW, Gao Y, Liu GF, Sheng LX, Wang DL. Ecophysiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt–alkaline stresses. J Integr Plant Biol. 2008;50(1):29–39. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00607.x>
 63. Belkhodja M, Benkabilia M. Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. Egyptian Journal of Agricultural Research. 2000;78(1):185195.
 64. Yang CW, Xu HH, Wang LL, Liu J, Shi DC, Wang GD. Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. Photosynthetica. 2009;47(1):79–86. <https://doi.org/10.1007/s11099-009-0013-8>
 65. Zarea MJ, Hajinia S, Karimi N, Mohammadi Goltapeh E, Rejali F, Varma A. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biol Biochem. 2012;45:139–146. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.006>
 66. Bashan Y, Holguin G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). Can J Microbiol. 1997;43:103–121. <https://doi.org/10.1139/m97-015>
 67. Tripathi AK, Mishra BM, Tripathi P. Salinity stress response in the plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* spp. J Biosci. 1998;23(4):463–471. <https://doi.org/10.1007/BF02936140>
 68. Creus CM, Sueldo RJ, Barassi CA. Shoot growth and water status in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. Plant Physiol Biochem. 1997;35:939–944.
 69. Casanovas EM, Barassi CA, Andrade FH, Sueldo RJ. *Azospirillum*-inoculated maize plant responses to irrigation restraints imposed during flowering. Cereal Res Commun. 2003;31:395–402.
 70. Fu Q, Liu C, Ding N, Lin Y, Guo B. Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. Agric Water Manag. 2010;97:1994–2000. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.02.003>
 71. Sivritepe N, Sivritepe HO, Eris A. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. Sci Hort. 2003;97:229–237. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00198-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00198-X)
 72. Ahmad P, Ahanger MA, Alam P, Alyemeni MN, Wijaya L, Ali S, et al. Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in mung bean [*Vigna radiata* (L.) wilczek] through the modifications of physiobiochemical attributes and key antioxidant enzymes. J Plant Growth Regul. 2018;38(1):70–82. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9810-2>
 73. Ahanger MA, Agarwal RM. Salinity stress induced alterations in antioxidant

- metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiol Biochem.* 2017;115:449–460. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.017>
74. Fortmeier R, Schubert S. Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): the role of sodium exclusion. *Plant Cell Environ.* 1995;18:1041–1047. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00615.x>
75. Shabala S, Cuin TA. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol Plant.* 2008;133:651–669. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01008.x>
76. Ashraf M, Berge SH, Mahmood OT. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol Fertil Soils.* 2004;40:157–162. <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y>
77. Zhang H, Kim MS, Sun Y, Dowd SE, Shi H, Paré PW. Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. *Mol Plant Microbe Interact.* 2008;21:737–744. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-6-0737>
78. Timmusk S, Wagner EGH. The plant growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression. *Mol Plant Microbe Interact.* 1999;12:951–959. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.11.951>
79. Yang J, Kloepper JW, Ryu CM. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 2009;14:1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>
80. Yue H, Mo W, Li C, Zheng Y, Li H. The salt stress relief and growth promotion effect of Rs-5 on cotton. *Plant Soil.* 2007;297:139–145. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9327-0>
81. Upadhyay SK, Singh JS, Saxena AK, Singh DP. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biol.* 2012;4:605–611. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00533.x>

Oddziaływanie niektórych bakterii ryzosferowych *Pseudomonas* na wzrost i parametry fizjologiczne roślin bobu (*Vicia faba*) w warunkach zasolenia

Streszczenie

Oddziaływanie stresu solnego na wzrost i rozwój roślin jest zróżnicowane. Wynika bowiem zarówno z wpływu zasolenia na potencjał wodny, fotosyntezę i pobieranie składników pokarmowych jak i zmian w procesach fizjologicznych i biochemicznych. Oddziaływanie bakterii promujących wzrost roślin (PGPR), szczególnie jako czynników wzmacniających wzrost i rozwój roślin w warunkach zasolenia, należy do coraz częściej podejmowanych tematów badawczych. Głównym celem badań było określenie reakcji roślin bobu w warunkach zasolenia i ocena roli wyselekcjonowanych izolatów *Pseudomonas* spp. w poprawie tolerancji roślin na stres solny. W badaniach wykorzystano trzy izolaty *Pseudomonas* spp. (otrzymane odpowiednio: P1 i P7 z gleby zasolonej i P15 z gleby spod uprawy winorośli). Rośliny *Vicia faba* (OTONO) inokulowano wymienionymi izolatami, a następnie podlewano roztworem NaCl w dwóch stężeniach, tj. 100 i 150 mM L⁻¹ oraz wodą bez NaCl. Wykazano, że zasolenie obniżyło wielkość świeżej masy roślin, całkowitą zawartość chlorofilu i stosunek jonów Na⁺/K⁺, ale zwiększyło akumulację proliny zarówno w inokulowanych jak i nieinokulowanych roślinach. Traktowanie roślin *V. faba* izolatami P1, P7 i P15 znacznie zwiększyło produkcję świeżej biomasy w obecności i przy braku stresu solnego oraz pozytywnie wpłynęło na akumulację proliny i stosunek Na⁺/K⁺. Rośliny inokulowane zawiesiną bakterii *Pseudomonas* spp. charakteryzowały się większą całkowitą zawartością chlorofilu we wszystkich kombinacjach doświadczalnych z użyciem roztworu soli w porównaniu do kombinacji kontrolnej. Spośród badanych *Pseudomonas* spp. izolat P1 był najbardziej efektywny.