

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle}. HAMOUM. Fatma

M^{lle}. HAMDI. Haizia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES

THÈME

**Etude de l'effet du stress salin sur la croissance
et le potentiel de production de quelques activités
liées à la PGP par des Rhizobactéries**

Soutenu publiquement le:

DEVANT LE JURY :

Président :	MEKHALDI. A	Pr.	U. Mostaganem
Encadreur :	BOUZNAD. A	M.C.B	U. Mostaganem
Co-encadreur :	HAMOUM. H	Doctorant	U. Mostaganem
Examineur :	DJIIBAOUI. R	M.C.A	U. Mostaganem

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction 1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Le stress salin

1. la salinité du sol.....	5
2. Origine des sols salés.....	5
2.1. Salinisation primaire.....	5
2.2. Salinisation secondaire.....	5
3. Stress chez les plantes.....	5
3.1. Types de stress.....	6
3.1.1. Le stress biotique.....	6
3.1.2. Le stress abiotique.....	6
3.1.2.1. Le stress hydrique.....	6
3.1.2.2. Le stress salin.....	6
4. L'effet de la salinité sur la physiologie des plantes.....	6
4.1. L'effet de la salinité sur la germination.....	7
4.2. L'effet de la salinité sur la croissance et le développement	7
4.3. L'effet de la salinité sur la biochimie de la plante	7
4.4. L'effet de la salinité sur le métabolisme de l'azote	7
4.5. Les effets de la salinité sur le rendement des plantes.....	8
5. la repense de la plante au stress salin	8
5.1. La régulation ionique et compartimentation	8
5.1.1. La compartimentation vacuolaire	8
5.1.2. Exclusion des ions toxiques	9

5.2. Biosynthèse de solutés compatibles.....	9
5.2.1 La proline.....	9
5.2.2. La glycine bêtaïne	10
5.2.3. Sucres et dérivés.....	10
5.3. Induction des enzymes antioxydantes	11
5.4. Induction des hormones végétales.....	11
5.5. Les polyphénols.....	11

Chapitre II : La promotion de la croissance végétale(PGP)

1. L'activité microbiologique de la rhizosphère.....	14
1.1. La rhizosphère.....	14
2. Les Rhizobactéries.....	15
3. Les rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (PGPR).....	16
4. Mode d'action des PGPR.....	16
4.1. Effets directs.....	16
4.1.1. Fixation d'azote.....	16
4.1.2. Solubilisation des phosphates.....	17
4.1.3. Production des sidérophores.....	18
4.1.4. Production des régulateurs de la croissance végétale.....	19
4.1.4.1. La production de phytohormones	19
4.1.4.1.1. L'acide indole acétique (AIA)	19
4.1.4.1.2. Les cytokinines.....	20
4.1.4.1.3. Les gibbérellines.....	20
4.1.5. Production d'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique désaminase (ACC-désaminase).....	20
4.2. Effets indirects.....	21
4.2.1. La compétition pour l'espace et les nutriments.....	21
4.2.1. L'antibiose.....	21
4.2.2. Résistance systémique induite : ISR (Induced Systemic Resistance).....	22
5. Diversité taxonomique des PGPR.....	23
5.1. Alpha-proteobacteria.....	23
5.2. Bêta-proteobacteria.....	23
5.3. Actinobacteria.....	24

5.4. Gamma-proteobacteria.....	24
5.4.1. Les entérobactéries.....	24
5.5. Firmicutes.....	25
6. Effets des PGPR sur la croissance végétale.....	25
7. Tolérance des PGPR au stress salin	26

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif de travail.....	29
2. souches microbiennes.....	29
3. Réactivation des souches.....	29
4. Croissances et survie des souches sous stress salin.....	29
5. L'effet de stress salin sur quelques activités liées à la PGPR.....	30
5.1. La solubilisation du phosphate en milieu liquide.....	30
2.2.1. La production de l'AIA.....	33

Résultats et discussion

1. Effet du stress salin sur la croissance bactérienne.....	36
2. Effet du stress salin sur la solubilisation du phosphate.....	38
3. Effet du stress salin sur la production de l'acide indole acétique (IAA).....	42
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	49

Annexe

Remerciement

Nous tenons à remercier en premier, le grand dieu «ALLAH» tout puissant, pour nous avoir donné la force, la volonté et la patience durant toutes nos années d'études.

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements à Mr.Bouzned.A, promoteur de ce travail pour ces fructueux conseils et critiques objectifs.

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

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

Notre responsable de promotion Mr.Djibaoui et à tous les enseignants(es) qui ont contribué à notre formation chacun par son nom

Un grand merci aux services communs des laboratoires et de la bibliothèque scientifique en particulier Melle. Hafida et Mme .Mokhtaria, et Mr. Hadj et Mr.Djamel.

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

Liste des abréviations

ABA : acide abscissique

ACC : acide 1-Aminopropyl-1-carboxylique

AIA : acide indole acétique

BN : bouillons nutritive

CAM : Calmoduline

DO : densité optique

EPS : exopolysaccharides

nm : Nanomètre

GB : Glycine Bétaine

GN : Gélose nutritive

mM: milli Molaire

MSP : Microorganismes solubilisant le phosphore

NBRIP : National Botanical Research Institute of Phosphate growth medium

PGPR : Plant growth promoting Rhizobacteria

PSB : Phosphate Solubilizing Bacteria

ROS : Reactive Oxygen Species (réactives de l'oxygène)

rpm: rotation par minute

SAM : S-Adenosyl- L-méthionine

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Effet du stress salin sur la croissance bactérienne	36
Tableau 2 : Quantités détectés du phosphore solubilisé	40
Tableau 3 : Quantité détectés de l'AIA	43

Liste des figures

Figure1 :Promotion de la croissance des plantes par les PGPR	22
Figure 2 : Réactivation des souches	29
Figure 3 : Croissances et survie des souches sous stress salin	30
Figure 4 : Courbe étalonnage de phosphate.....	31
Figure 5 : La solubilisation du phosphate en milieu liquide	32
Figure 6 : courbe étalonnage de l'AIA	33
Figure 7 : production de l'AIA	34
Figure 8 . Effet du sel sur la croissance bactérienne des isolates, A : Souche 1, B : souche 2, C : souche 3, D : souche 4, E : souche 5.....	37
Figure 9 . La solubilisation du phosphate sur le milieu liquide NBRIP sous stress salin :	39
Figure 10 .Taux de solubilisation du phosphate sous stress salin : A : souche 1, B :souche 2, C : souche 3, D : souche 4, E :souche 5	41
Fig.11 : de production de l'AIA sous stress salin : A : souche 1, B :souche 2, C : souche 3, D : souche 4, E :souche 5	44

Résumé

Les PGPR sont des bactéries du sol qui peuvent stimuler la croissance des plantes de façon directe ou indirecte en fournissant des substances qui sont habituellement en quantité limitée dans le sol. Pour l'objectif d'apprécier la croissance et la détermination de quelques activités des Rhizobactérie sous stress salin telle que la solubilisation du phosphate et la production de l'acide indole acétique (AIA). Cinq isolats bactériens isolés à partir du sol salin dans la région de Relizane ont été testés. La croissance de ces isolats sur bouillon nutritif appréciée par la mesure du trouble à des concentrations de sel allant de 0 à 500 mM révèle une bonne tolérance jusqu'à 500mM avec des taux élevés entre 200 et 300 mM du NaCl. La quantité de phosphore libéré par ces bactéries se traduit par une forte solubilisation avec des concentrations modérées de sel, et une diminution de la quantité de phosphate solubilisé au-delà du 400mM du NaCl. Le maximum de production de l'AIA a été enregistré chez la souche S₅ en absence de sel $87,295 \pm 2,033^a$ µg/ml, puis elle a diminué graduellement en présence du NaCl. La souche S₅ a été la plus performante où elle a pu solubiliser le phosphate et produire l'AIA avec les quantités les plus élevées ($941,619 \pm 79,248^a$ µg/ml, $87,295 \pm 2,033^a$ µg/ml) respectivement.

Mots clés : Rhizobactérie, AIA, la solubilisation du phosphate, stress salin

Abstract

PGPR are soil bacteria that can stimulate plant growth directly or indirectly by supplying substances that are usually in limited quantities in the soil. For the purpose of assessing the growth and determination of some activities of rhizobacteria under salt stress such as phosphate solubilization and production of indole acetic acid (IAA). Five isolated bacterial isolates from saline soils in the Relizane region were tested. The growth of these isolates on nutrient broth appreciated by the extent of the disorder to salt concentrations ranging from 0 to 500 mM revealed good tolerance up to 500 mM with high rates between 200 and 300 mM NaCl. The amount of phosphorus released by these bacteria leads to a strong solubilization with moderate salt concentrations, and a decrease in the amount of dissolved phosphate in excess of 400 mM NaCl. The maximum production of AIA was recorded in the S5 strain in the absence of salt $87.295 \pm 2,033a$ mcg / ml, then decreased gradually in the presence of NaCl. The S5 strain was the most efficient, that she was able to solubilize phosphate and produce AIA with the highest amounts ($941.619 \pm 79,248a$ mcg / ml, $87.295 \pm 2,033a$ mcg / mL), respectively.

Key words: Rhizobacteria, IAA, phosphate solubilization, salt stress.

ملخص

PGPR هي بكتريا التربة التي يمكن أن تحفز نمو النبات بشكل مباشر أو غير مباشر عن طريق توفير المواد التي عادة ما تكون بكميات محدودة في التربة. لغرض تقييم النمو وتحديد بعض أنشطة rhizobacteria تحت الضغط الملحي مثل إذابة الفوسفات وإنتاج حامض الأندول (IAA). تم اختبار خمس عزلات بكتيرية معزولة من التربة المالحة لمنطقة غليزان حيث كشف نمو هذه العزلات على المرق المغذي الذي قَدِّر وفقا لدرجة التعكر عند تراكيز الملح التي تتراوح من 0 إلى 500 ميلي مولر على قدرتها الجيدة لتحمل الملوحة بتركيز يصل إلى 500 ميلي مولر مع ارتفاع معدلات ما بين 200 و 300 ميلي مولر من كلوريد الصوديوم. كمية الفوسفور المحررة من طرف هذه البكتيريا تبين ذوبانه القوي عند تراكيز الملح المعتدلة، وانخفاض في كمية الفوسفات المحلل عند تركيز يتجاوز 400 ميلي مولر من كلوريد الصوديوم. تم تسجيل الإنتاج الأقصى من كمية AIA عند السلالة S₅ في حالة عدم وجود الملح $295,87 \pm 033,2^a$ ميكروغرام / مل، التي انخفضت تدريجيا في وجود كلوريد الصوديوم. سلالة S₅ هي الأكثر كفاءة حيث كانت قادرة على إذابة الفوسفات وإنتاج AIA بكميات أعلى ($941.619 \pm 248,79^a$ ميكروغرام / مل، $87.295 \pm 033,2^a$ ميكروغرام / مل)، على التوالي.

كلمات المفتاحية: بكتيريا التربة، حامض الأندول ، تحلل الفوسفات، الإجهاد الملحي.

Introduction :

La croissance des plantes est fortement influencée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques. La salinité est l'un des facteurs abiotiques majeurs limitant la productivité des plantes et par conséquent la production agricole. Dans le monde, plus de 800 millions d'hectares de terres sont touchés par des niveaux de sel qui pourrait sensiblement réduire la productivité des cultures (**Munns et Testeur, 2008**), en Algérie, 3.2 millions d'hectares de terres agricoles sont menacés par la salinité (**Belkhodja et Bidai, 2004**), cette salinisation est surtout rencontrée dans les zones arides et semi arides du pays.

Dans la plupart des sols salins, le chlorure de sodium est l'espèce de sel le prédominant, et son effet peut être observé par une diminution de la croissance, de la productivité et de la mort de la plante (**Munns et Tester, 2008**). La salinité du sol provoque le stress à la plante par deux façons : (1) rendant l'absorption d'eau par les racines plus difficiles, et (2) provoquant la toxicité de la plante via l'accumulation de concentrations élevées de sel dans la plante (**Munns et Testeur, 2008**). Plusieurs procédés biochimiques peuvent être affectés par la salinité, y compris la synthèse des protéines, la photosynthèse, et le métabolisme des lipides (**Parida et Das, 2005**). Cependant, la plupart des plantes possèdent plusieurs mécanismes pour diminuer les effets négatifs de la salinité y compris la réglementation et la compartimentation d'ions, la synthèse de solutés compatibles, l'induction des antioxydants, des enzymes, des hormones végétales, et des changements dans la voie de photosynthèse (**Cheeseman, 1988 ; Parida et Das, 2005**).

Plusieurs stratégies ont été développées afin de diminuer les effets toxiques causés par une salinité élevée sur la croissance des plantes, y compris génie génétique des plantes (**Wang et al., 2000**), et récemment, l'utilisation de Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (**Dimkpa et al., 2009**).

Les PGPR sont généralement définis comme des microorganismes qui peuvent se développer dans, sur, ou autour de tissus végétaux, et stimuler la croissance des plantes par une variété des mécanismes (**Vessey, 2003**). Ces mécanismes et leurs effets peuvent être classés comme direct ou indirect. Les mécanismes directs sont associés à une augmentation de la disponibilité des nutriments et comprennent la fixation biologique de l'azote (BNF) (**Graham et Vance, 2000**), la solubilisation du phosphate (**Rodriguez et al., 2007**), production de sidérophores (**Neilands, 1993**), et la synthèse des hormones de la plante telles que l'indole, cytokinines ou gibbérellines (**Costacurta et Vanderleyden, 1995**). Les

mécanismes indirects induisent la croissance des plantes par la protection des plantes contre les pathogènes.

Différents mécanismes indirects telles que la résistance systémique induite, la production de composés antimicrobiens et la concurrence pour les éléments nutritifs et les sites de colonisation par des agents pathogènes ont été décrit (**Kloepper *et al.*, 2004**). L'utilisation de PGPR est devenue un promettant alternative à atténuer le stress des plantes provoquée par la salinité (**Fu *et al.*, 2010 ; Mayak *et al.*, 2004 ; Shilev *et al.*, 2010**)

Le nombre d'espèces bactériennes identifiées comme PGPR a augmenté récemment en raison de nombreuses études portant sur une large gamme d'espèces végétales et sur les progrès réalisés en matière de taxonomie bactérienne ainsi que sur les progrès développés dans la compréhension des différents mécanismes d'action de ces rhizobactéries. À l'heure actuelle, les PGPR incluent des taxons bactériens très divers (Ashraf *et al.*, 2008). Un nombre très important de bactéries incluant des espèces de *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Bacillus* et *Serratia* ont montré une capacité d'améliorer la croissance de la plante (**Kloepper et Beauchamp, 1992 ; Glick, 1995**).

Les objectifs de ce travail découlent naturellement de ces acquis. Il s'agit à travers la présente étude d'évaluer la tolérance des isolats au stress salin puis l'évaluation de quelques activités liées à la PGP en présence du sel.

1. La salinité du sol :

Plusieurs auteurs ont défini la salinité des sols comme étant la présence de concentration excessive de sels solubles, ou lorsque les concentrations en Na, Ca, Mg sous formes de chlorures, carbonates, ou sulfates sont présentes en concentrations anormalement élevées (**Asloum, 1990**).

La salinité est actuellement un des facteurs qui affectent en grande mesure la fertilité et la productivité des sols, en diminuant le rendement des cultures, en particulier dans les zones méditerranéennes ou bien dans celles où les cultures dépendent de l'irrigation (**Middleton et Thomoa, 1992**). Elle constitue un facteur limitatif majeur de la productivité agricole, ces charges en sels soumettent les plantes à un stress permanent (**Gupta et Abrol, 1990**).

2. Origine des sols salés :

D'après Cherbuy (1991), la salinisation d'un milieu, implique la présence d'une source de sels qui peut être naturelle, dénommée primaire, et une salinisation anthropique, généralement liée à l'irrigation, que l'on appellera secondaire.

2.1. Salinisation primaire :

La Salinisation primaire liée à la présence naturelle relativement concentrée de sels à travers un long processus naturel de dégradation des roches salines et des apports éoliens des sels des mers et océans (**Stengel et al., 2009**).

2.2. Salinisation secondaire :

Le phénomène de la salinisation secondaire lié à l'irrigation constitue une menace particulièrement grave mais très difficile à évaluer de manière correcte (**Stengel et al., 2009**). Cette salinisation liée à l'irrigation se traduit par une accumulation de sels avec des effets sur les propriétés chimiques, physiques (dispersion des argiles, instabilité de la structure) et biologiques (effet sur le développement des plantes par la pression osmotique (**Cheverry et Rbert, 1998**)).

3. Stress chez les plantes :

On appelle stress toute pression exercée par un paramètre, perturbant le fonctionnement habituel de la plante. Certains physiologistes qui étudient les stress estiment que ce concept est trop restrictif, parce qu'il suscite des questions sur les mécanismes adaptatifs qui permettent la croissance de plantes dans des environnements qui pourraient être considérés comme stressants. Par ailleurs, la réponse des plantes dépend, entre autres, de ces

paramètres environnementaux, (le type de contrainte, son intensité et sa durée) et génétiques (espèce et génotype) (Hopkins, 2003).

3.1. Types de stress :

La plante et la plupart de ses cellules sont directement exposées aux changements des conditions environnementales qui peuvent être de deux natures distinctes :

3.1.1. Stress biotique :

Ce terme représente la totalité des paramètres physico-chimiques ou biologiques qui découlent de l'existence de l'action des êtres vivants. Les facteurs biotiques caractérisent donc l'ensemble des influences qu'exercent les êtres vivants entre eux et sur leur milieu (Ramade, 2003).

3.1.2. Le stress abiotique :

Il est dû principalement à des facteurs environnementaux comme la sécheresse, les températures extrêmes, excès d'eau et la salinité (Hopkins, 2003).

3.1.2.1. Le stress hydrique :

Il est provoqué par un déficit en eau constituant une menace permanente pour la survie des plantes, néanmoins, beaucoup d'entre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leurs permettent de survivre dans les régions de faible pluviosité dont la teneur en eau des sols est peu élevée (Hopkins, 2003).

3.1.2.2. Le stress salin :

Le stress salin est défini comme une concentration excessive en sel. Le terme stress salin s'applique surtout à un excès des ions, en particulier Na^+ et Cl^- (Hopkins, 2003). La salinité des sols constitue l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance des plantes cultivées. Cette salinité peut être naturelle ou induite par les activités agricoles comme l'irrigation ou l'utilisation de certains types d'engrais (Jabnoue, 2008).

Actuellement, sur 1.5 milliard d'hectares de terre cultivée dans le monde, environ 77 millions d'hectares (5%) sont affectés par la teneur excessive en sel. Ce chiffre ne cesse d'augmenter d'une année à l'autre à cause de la mauvaise qualité de l'eau d'irrigation (R'him *et al.*, 2013).

4. L'effet de la salinité sur la physiologie de la plante :

La salinité est l'un des facteurs limitant pour la croissance des plantes. Les effets de la salinité sont : l'arrêt de la croissance, le dépérissement des tissus sous forme de nécroses marginales, suivi par une perte de turgescence, par une chute des feuilles et finalement par la mort de la plante (Zid, 1982). La salinité provoque le plus souvent un retard dans le

développement (Gill, 1979 ; Elmekkaoui, 1990 ; Boukachabia, 1993) et d'une manière générale la hauteur, le diamètre des tiges des différentes espèces, ainsi que la grosseur des fruits, (Khan *et al.*, 1997 ; Bouaziz, 1980).

4.1. Effet de la salinité sur la germination :

Le stade plantule est le plus altérable dans le cycle de vie de la plante, et c'est la germination qui détermine le temps et le lieu pour que la croissance de la plantule ébauche. Ce stade de germination est souvent limité par la salinité du sol et se montre le plus sensible que les autres stades (Said *et al.*, 2011).

Selon Rejili *et al.*, (2006), les semences répondent au stress salin, en réduisant le nombre total des graines germées et en accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination. Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal.

4.2. Effet de la salinité sur la croissance et le développement :

La réponse immédiate du stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire et cette expansion s'arrête si la concentration du sel augmente (Wang et Nil, 2000), le stress salin résulte aussi dans la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, tiges et racines (Chartzoulakis et Klapaki, 2000).

4.3. Effet de la salinité sur la biochimie de la plante :

Dans les conditions salines, il y a un changement dans le modèle d'expression des gènes et des changements qualitatifs et quantitatifs dans la synthèse. Le stress salin induit une perturbation de la composition lipidique et protéique au niveau de la membrane cellulaire, affectant ainsi sa stabilité (Alem et Amri., 2005).

Aspinal et Pale (1981) signalent que la proline est l'acide aminé le plus caractérisé des plantes soumises au stress salin. L'importance de la proline comme indicateur aux agressions semble jouer un rôle dans le maintien des pressions sol-vacuole, mais aussi dans la protection des membranes et des systèmes enzymatiques, ainsi qu'un régulateur de pH. (Alem et Amri, 2005).

4.4. Effet de la salinité sur le métabolisme de l'azote :

La nitrification est aussi touchée par la salinité. En effet, la vitesse d'oxydation biologique de l'ammonium est ralentie en fonction du degré de salinité dans le sol ; il est de même de la vitesse d'apparition des nitrates NO_3^- , l'oxydation de l'ammonium est totalement inhibée en présence de salinité excessive, et il n'y a pas apparition de nitrate NO_3^- . (Salam., 2004).

4.5. Les effets de la salinité sur le rendement des plantes :

Les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif, caractérisé par la faible ramification, le faible diamètre des organes, le nombre réduit des nœuds et les réductions du nombre des feuilles et de la longueur de la tige et par conséquent l'augmentation du rapport racine/tige. Une baisse des poids de matière fraîche et sèche est aussi démontrée (**Rush et al., 1981**).

La salinité provoque le plus souvent un retard dans le développement (**Gill, 1979 ; Elmekkaoui, 1990 et Boukachabia, 1993**) et d'une manière générale la hauteur, le diamètre des tiges des différentes espèces, ainsi que le gosseur des fruits, diminues d'une façon importantes avec l'augmentation de la salinité (**Khan et al., 1997**).

5. la repense de la plante au stress salin :

Deux grandes stratégies de résistance au sel étaient connues chez les plantes : limiter l'entrée de sodium au niveau des racines ou séquestrer le sodium au niveau des feuilles (**Berthomieu et al., 2003**). La tolérance de la salinité est l'habilité des plantes à croître et compléter leur cycle de vie sur un substrat contenant une forte concentration de sel soluble. Les plantes développent un nombre important de mécanismes biochimiques et cellulaires pour faire face au stress salin.

5.1. La régulation ionique et compartimentation :

5.1.1. La compartimentation vacuolaire :

Consiste à évacuer du cytoplasme les ions Na^+ en excès vers la vacuole afin d'éviter leur effet toxique et inhibiteur à l'encontre des processus enzymatiques (**Flowers et al., 1977**). Ce mécanisme de compartimentation vacuolaire est assuré par l'action d'un antiport vacuolaire sodium/proton (Na^+/H^+) dont l'énergie est fournie par les pompes à proton ATPases.

Mais en réalité, du fait de l'existence des autres cations dans la cellule, l'accumulation de sodium dans la vacuole est réalisable contre son gradient de concentration seulement 4 à 5 fois plus élevé (**Hanana et al., 2009**). Ainsi, grâce à ce processus de compartimentation de sodium au sein de la vacuole, la cellule parvient à maintenir une faible concentration de sodium dans le cytoplasme, minimisant ainsi son effet toxique, et d'autre part, l'augmentation concomitante de la concentration de sodium dans la vacuole va engendrer une forte pression osmotique qui va favoriser l'absorption d'eau et donc améliorer la turgescence des cellules (**Glenn et al., 1999 ; Apse et Blumwald, 2007**).

5.1.2. Exclusion des ions toxiques :

L'autre stratégie permettant aux plantes de survivre en condition de stress salin consiste à exclure le sodium du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule. Dans ce cas, les plantes limitent l'entrée des éléments salins et les rejettent dans le compartiment apoplasmique (Blumwald *et al.*, 2004 ; Munns 2005). La régulation qualitative et quantitative du transport des ions permet de maintenir la concentration ionique dans une gamme de valeurs compatibles avec un métabolisme cellulaire normal. L'exclusion commence avec la sélectivité de la membrane racinaire, ce qui peut résulter d'une réduction de la perméabilité passive, de la présence de transporteurs sélectifs et d'un transport vers le milieu extérieur des ions déjà absorbés (Apse et Blumwald, 2007).

5.2. Biosynthèse de solutés compatibles :

Pour adapter l'équilibre ionique dans la vacuole, le cytoplasme accumule des composés de petite masse moléculaire nommés solutés (Zhifang et Loescher, 2003) parce que le point commun chez ces derniers est que ces composés peuvent être accumulés à des taux élevés sans perturber la biochimie intracellulaire (Bohert et Jensen, 1996). Ces solutés compatibles comprennent principalement :

5.2.1. La proline :

Les teneurs en proline s'accroissent rapidement chez de nombreuses mono- ou dicotylédones soumises à un stress salin (Yoshida *et al.*, 1999 ; Rhodes *et al.*, 2002 ; Silva-Ortega *et al.*, 2007). Cette augmentation de la concentration de proline cytoplasmique est consécutive à la stimulation de sa synthèse, résultant d'une élévation des quantités des messagers codant pour l'enzyme qui convertit le glutamate semi-aldéhyde en proline. Il existe deux voies de biosynthèse de la proline chez les plantes, celle de l'ornithine et celle du glutamate. Cette dernière semble être prédominante sous conditions de stress (Silva-Ortega *et al.*, 2008).

La proline agit en tant que composé soluble compatible dans l'ajustement osmotique pouvant atteindre de fortes concentrations sans exercer d'effet toxique comme le cas des ions (Yancey *et al.*, 1982 ; Silva-Ortega *et al.*, 2007). En plus du rôle osmotique attribué à la proline, celle-ci intervient dans la détoxification des formes actives d'oxygène (Hong *et al.*, 2000 ; Kocsy *et al.*, 2005) et la stabilisation des protéines (Ashraf et Foolad, 2007 ; Majumder *et al.*, 2010), protégerait l'intégrité de la membrane plasmique (Mansour, 1998) et constituerait une source de carbone et d'azote (Ahmad et Hellebust, 1988 ; Peng *et al.*, 1996; Sairam et Tyagi, 2004).

L'accumulation de la proline chez diverses espèces de plantes stressées a été corrélée à leur capacité de tolérance, et sa concentration est généralement plus élevée chez les plantes tolérantes que les plantes sensibles (**Ashraf et Foolad, 2007**).

5.2.2. La glycine bêtaïne :

Les glycines bêtaïnes qui ont la particularité d'être méthylées, sont issues soit de la proline, soit d'autres acides aminés. Elles interviennent au niveau de l'ajustement osmotique, de l'osmoprotection et de la protection des enzymes (**Gorham, 1992**).

La glycine bêtaïne est principalement présente au niveau des chloroplastes où elle joue une fonction vitale dans la protection des membranes thylakoïdes et par conséquent dans le maintien de l'efficacité photosynthétique (**Ashraf et Foolad, 2007**), et aussi dans l'osmoprotection en stabilisant les macromolécules et en préservant les membranes sous stress (**Yancey, 1994 ; Naidu 2003 ; Majumder et al., 2010**).

Certaines plantes cultivées accumulent aussi ce composé lorsqu'elles sont soumises à un stress salin ; c'est le cas de l'épinard, du tournesol, du blé, de l'avoine et du maïs (**Levigneron et al., 1995 ; Ashraf et Foolad, 2007**).

5.2.3. Sucres et dérivés :

Plusieurs études physiologiques ont démontré que l'accumulation des sucres et des polyols, principalement suite à l'hydrolyse de l'amidon (**Hoekstra et al., 2001 ; Phillips et al., 2002**), était stimulée par un stress salin chez différentes espèces végétales (**Gilmour et al., 2000 ; Streeter et al., 2001 ; Taji et al., 2002 ; Bartels et Sunkar, 2005 ; Majumder et al., 2010**).

Une forte corrélation a été établie entre l'accumulation des sucres et le niveau de tolérance à la salinité (**Gilmour et al., 2000 ; Streeter et al., 2001 ; Taji et al., 2002 ; Bartels et Sunkar, 2005**). Les nombreux cas où sont décelées des accumulations de sucres (saccharose) ou de leurs dérivés alcools, tels que les polyols, le mannitol, le sorbitol et le tréhalose (**Phillips et al., 2002 ; Sairam et Tyagi, 2004**), s'accompagnent aussi de l'augmentation de composés aminés (**Cushman, 2001**). L'augmentation de la concentration des polyols entraîne une augmentation du potentiel osmotique du cytoplasme, ce qui permet une plus grande compartimentation de sodium dans la vacuole. De plus, ces polyols agissent en tant qu'osmoprotecteurs des membranes et des protéines, probablement en éliminant les radicaux libres d'oxygène (**Bohnert et Jensen, 1996**). Ils peuvent également servir de source

de carbone pendant la période de stress durant laquelle les photosynthétats sont peu disponibles (Vernon *et al.*, 1993).

Le mannitol est la forme réduite du mannose. Ce sucre alcool un sucre qui sert comme soluté soluble pour faire face au stress salin (Zhifang et Loescher, 2003).

5.3. Induction des enzymes antioxydantes :

Le stress salin est complexe et implique un déficit hydrique à cause des effets osmotiques sur une large variété d'activités métaboliques (Cheeseman, 1988). Ce déficit hydrique conduit à la formation des espèces réactives d'oxygène (ROS) comme le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical hydroxyl (O[•]H) (Elstner, 1987). Les espèces d'oxygènes cytotoxiques activées peuvent perturber sérieusement le métabolisme à travers un dommage oxydatif des lipides, des protéines ou des acides nucléiques (Linn, 1988). Les plantes se défendent contre ces espèces réactives de l'oxygène avec l'induction des activités de certaines enzymes antioxydantes comme la catalase, peroxydase, glutathion réductase et le superoxyde dismutase ce qui élimine les ROS.

5.4. Induction des hormones végétales :

La concentration élevée du sel déclenche une augmentation dans les taux des hormones végétales, comme l'ABA et les cytokinines (Vaidyanathan *et al.*, 1999). L'acide abscissique est responsable de l'altération des gènes induits par le stress salin. Il s'est avéré que l'ABA vient alléger l'effet inhibiteur du NaCl sur la photosynthèse, la croissance et la translocation des assimilats (Popov *et al.*, 1995). L'ABA favorise la fermeture des stomates en changeant le flux des ions dans les cellules de gardes sous les conditions de stress salin. Il a été démontré que l'augmentation de l'absorption de Ca²⁺ est liée à l'augmentation de l'ABA dans le cas du stress salin et donc contribue au maintien de l'intégrité membranaire en diminuant l'accumulation de l'ion toxique Cl⁻ dans les feuilles, ce qui permet aux plantes de réguler l'absorption et le transport dans le cas d'excès de la salinité à long terme (Chen *et al.*, 2001).

5.5. Les polyphénols :

Les polyphénols constituent un groupe de substances variées et ubiquistes (Hopkins, 2003 ; George *et al.*, 2005). Chez les plantes, la synthèse et l'accumulation des polyphénols est généralement stimulées en tant que réponse des stress tel que la salinité (Naczki et Shahidi, 2004 ; Dixon et Paiva, 1995 ; Navarro *et al.*, 2006). Les composés phénoliques participent dans le processus de défense contre les ROS (espèces réactives à l'oxygène) qui sont produites lors du métabolisme photosynthétique établie sous les stress environnementaux

(Sreenivasulu *et al.*, 2000). L'augmentation de la concentration des polyphénols dans les tissus est une réponse de l'augmentation de la salinité indique l'induction du métabolisme secondaire qui est une méthode de défense adoptée par les plantes face au stress salin mais réduit la production de la biomasse (Kate, 2008 ; De Abreu et Mazzafra, 2005).

1. L'activité microbienne de la rhizosphère :

L'influence des racines vivantes s'exerce bien au-delà de la surface immédiate de la racine, elle s'étend dans une région du sol nommée rhizosphère. L'une des principales manifestations de cette influence est l'établissement de nombreuse association entre les racines et les microorganismes (**Hopkins, 2003**).

La rhizosphère est la zone du sol située près des racines et caractérisée par une activité microbiologique intense. C'est un environnement écologique dynamique où les microorganismes et les plantes interagissent pour l'exploitation des micros et macronutriments du sol présent en quantité limitée (**Gholami et al., 2012**). C'est également un environnement caractérisé par un volume très élevé de substances racinaires favorisant une grande population microbienne (**Miransari, 2011**). La microflore du sol est composée de différents types de microorganismes tels plusieurs genres bactériens fixateurs d'azote et des mycorhizes. Ceux-ci peuvent jouer un rôle de stimulation de croissance par l'apport d'éléments nutritifs et de protection des pathogènes environnants (**Amarger, 2002**).

1.1 La rhizosphère

Plus précisément, la rhizosphère comporte trois grandes composantes qui interagissent ensemble : la rhizosphère sol, la rhizoplane et les racines (**Barea et al., 2005**). La rhizosphère sol est la zone du sol influencée par les racines due à la libération de substrats qui influence l'activité microbiologique (**Barea et al., 2005**). Ainsi, durant leur croissance, les racines libèrent activement ou passivement une gamme de composés organiques, surtout des hydrates de carbone tels que galactose, glucose, fructose, mannose, xylose et arabinose, des acides carboxyliques et des acides aminés (**Chaboud, 1983**). Deuxièmement, la rhizoplane que plusieurs études ont démontré que les microorganismes du sol interagissent avec les racines des plantes et les constituants du sol à l'interface entre les racines et le sol (**Barea et al., 2002 ; Bowen et Rovira., 1999 ; Glick, 1995 ; Kennedy, 1998 ; Lynch, 1990 ; Linderman, 1992**). Finalement, les racines font partie du système dû au fait que certains microorganismes sont capables de coloniser leurs tissus (**Bowen et Rovira, 1999 ; Kennedy, 1998**) et influencer leur croissance.

Les interactions bénéfiques entre les plantes et les microorganismes dans la rhizosphère sont déterminants pour la santé des plantes et la fertilité des sols (**Gholami et al., 2012**). Les microorganismes du sol sont d'une grande importance dans le cycle des nutriments et dans l'entretien de la santé et de la qualité du sol (**Jeffries et al., 2003**). Ils sont impliqués

dans les activités fondamentales qui assurent la stabilité et la productivité du système agricole et de l'écosystème naturel (Barea *et al.*, 2005).

2. Les Rhizobactéries :

Un grand nombre de microorganismes vivent dans le sol. On compte les bactéries, les champignons, les protozoaires et les algues (Paul et Clark, 1996). Les bactéries sont les organismes les plus nombreux et représentent en moyenne 6.10^8 cellules par gramme de sol et un poids de 10 000 kg/ha équivalant à 5% du poids sec des composés organiques du sol. On définit alors les bactéries associées aux racines des plantes comme les rhizobactéries. Celles-ci sont généralement des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante (Kloepper, 1993). Si la plante libère des composés organiques, à l'inverse elle prélève de l'eau et des éléments minéraux indispensables à son métabolisme. Les échanges entre la plante et le sol sont influencés par les rhizobactéries et ce d'autant plus que leur densité et leur activité sont élevées. Les rhizobactéries sont des hétérotrophes typiques, elles nécessitent donc des composés organiques comme source d'énergie. Leurs besoins sont entièrement comblés à l'intérieur même de la rhizosphère. Les rhizobactéries utilisent en effet de nombreux substrats provenant de la plante : les cellules corticales et épidermales des racines qui se détachent, les polysaccharides du mucilage racinaire, les sucres et les acides aminés et organiques des exsudats racinaires, etc. (Campbell et Greaves, 1990). L'abondance des bactéries dans le sol s'explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme sources d'énergie et d'éléments nutritifs (Glick, 1995).

Les microorganismes rhizosphériques incluent les symbiotes (*Rhizobia*, actinobactéries et champignons mycorhiziens) et les saprophytes libres. Les microorganismes rhizosphériques en général, et les bactéries diazotrophiques en particulier, exercent sur les plantes divers effets. Par ailleurs, l'association des bactéries avec les racines a des influences importantes sur la santé de la plante, la productivité et la qualité du sol (Konate, 2007). La colonisation des racines par les bactéries est observée depuis longtemps, mais seulement dernièrement, son importance pour la croissance et le développement des plantes est devenu clair (Glick, 1995). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les antibiotiques, sidérophores, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (Voisard *et al.*, 1989 ; Van Peer *et al.*, 1991).

3. Les rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (PGPR) :

Les Rhizobactéries connues sous le terme PGPR stimulent directement la croissance des plantes en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux. Elles stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les *Rhizobia*. L'établissement de l'association PGPR-plante est primordial pour l'expression des effets bénéfiques. Les rhizobactéries sont les bactéries ayant la capacité de coloniser les racines de façon intense. Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum* sp, *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp (Hallmann *et al.*, 1997).

4. Mode d'action des PGPR :

De nombreux groupes de recherche travaillent sur les PGPR afin d'élucider leurs modes d'action. Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes exercés par les PGPR dont les modes d'action sont directs ou indirects, bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes indirects sont, en général, ceux qui se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement leur métabolisme (Cherif, 2014). Ces mécanismes pouvant être actifs simultanément ou séquentiellement à différentes étapes de la croissance des plantes (Figure1).

4.1. Effets directs :

Les PGPR influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (voie directe) par :

4.1.1. La fixation d'azote :

L'azote est un composant majeur non seulement pour les protéines, mais aussi pour les acides nucléiques, les coenzymes et de nombreux autres constituants cellulaires. La capacité de la cellule d'assimiler l'azote inorganique est donc exceptionnellement importante. Bien que l'azote gazeux soit abondant dans l'atmosphère, peu de microorganismes peuvent réduire ce gaz et l'utiliser comme source d'azote, la plupart d'entre eux doivent incorporer de l'ammoniac ou du nitrate (Prescott *et al.*, 2010).

Quelques bactéries fixatrices d'azote sont libres dans la rhizosphère (*Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Azomonas*, *Bacillus*,

Beijerinckia, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Dexia*, *Enterobacter*, *Herba spirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* et *Xanthobacter*) (Tilak *et al.*, 2006). En revanche d'autres fixatrices d'azote sont symbiotiques et fixent l'azote seulement en association avec certaines plantes. Il s'agit des *Rhizobia* (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*) (Tilak *et al.*, 2006 ; Gray et Smith, 2005) associées aux légumineuses.

4.1.2. La solubilisation des phosphates :

Le phosphore existe dans la nature dans une variété de composés organiques (dérivés de microorganismes et plantes) et inorganiques (provenant des engrais phosphatés appliqués aux formes qui sont insolubles ou très peu solubles (Paul et Clark, 1989). En effet, le phosphore est un des éléments les moins solubles dans le milieu naturel, avec moins de 5% de la teneur totale en phosphate de terre étant disponible pour les plantes (Dobbelaere *et al.*, 2003). Par conséquent, l'ajout d'engrais phosphatés est devenue une pratique courante dans l'agriculture moderne.

Les microorganismes du sol sont capables de solubiliser le phosphate minéral insoluble par la production de divers acides organiques. Cela se traduit par une acidification du sol environnant, en libérant des ions orthophosphate solubles qui peuvent être facilement absorbés par les plantes. En outre, ils sont capables de solubiliser des composés organiques phosphatés par l'action des enzymes phosphatases (Garcia *et al.*, 1992). En effet, la principale source d'activité de la phosphatase dans le sol est considérée comme étant d'origine microbienne. En particulier, l'activité de la phosphatase est sensiblement augmentée dans la rhizosphère (Rodriguez et Fraga, 1999). La solubilisation de Phosphate a souvent été citée comme un mécanisme susceptible de favoriser la croissance végétale par les PGPR.

Un grand nombre de bactéries solubilisant le phosphate (PSB) ont été isolés de la rhizosphère de plusieurs cultures. On a estimé que les micro-organismes de solubilisation des phosphates peuvent constituer 20-40% de la population cultivable des microorganismes du sol (Chabot *et al.*, 1993). Il y a eu un certain nombre de rapports sur la promotion de la croissance des plantes par des bactéries qui ont la capacité de solubiliser le P inorganique et / ou organique du sol après leur inoculation dans le sol ou graines de plantes. La production (par ces souches) d'autres métabolites bénéfiques à la plante, comme phytohormones, des antibiotiques, ou sidérophores, entre autres, a créé une confusion sur le rôle spécifique de solubilisation phosphate dans la croissance des plantes et la stimulation du rendement (Kloepper *et al.*, 1989).

Plusieurs rapports ont examiné la capacité des différentes espèces bactériennes pour solubiliser des composés inorganiques insolubles de phosphate tels que le phosphate tricalcique, le phosphate dicalcique, de l'hydroxyapatite et le phosphate de roche. Parmi les genres bactériens avec cette capacité, on a *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* et *Erwinia*. Il y a des populations importantes de bactéries solubilisant de phosphate dans le sol et dans la rhizosphère des plantes. Ceux-ci comprennent les deux souches aérobies et anaérobies, avec une prévalence de souches aérobies dans les sols submergés. Une concentration beaucoup plus élevée de bactéries de phosphate solubilisation se trouve couramment dans la rhizosphère en comparaison avec le sol nonrhizosphère (Rodriguez et Fraga, 1999).

4.1.3. La production des sidérophores :

Les sidérophores sont des molécules capables de complexer le fer (littéralement : porte-fer). Bien que le fer soit l'un des minéraux les plus abondants sur terre. Dans le sol, il est indisponible pour l'assimilation directe par les microorganismes car l'ion ferrique (Fe^{+3}), forme prédominante dans la nature, est peu soluble (Neilands *et al.*, 1987). La quantité de fer soluble dans le sol est beaucoup trop faible soit environ 10^{-18} M à pH 7,4, pour assurer la croissance microbienne, les microorganismes du sol sécrètent des molécules de faible poids moléculaire (~ 400-1000 daltons) appelés sidérophores (Castignetti et Smarrelli, 1986) qui sont des molécules capables de complexer le fer (littéralement : porte-fer) ; elles sont sécrétées par un organisme en vue d'assurer son alimentation en fer à partir des composés inorganiques quasi insoluble du fer trivalent (Gobat *et al.*, 2010), dont ces sidérophores lient le Fe^{+3} avec une très forte affinité (Castignetti et Smarrelli, 1986) et le transporte vers la cellule microbienne où il est repris par l'intermédiaire d'un récepteur cellulaire puis utilisé durant la croissance microbienne (Neilands et Leong, 1986; Briat, 1992). Les bactéries synthétisant les sidérophores lient le complexe fer-sidérophore à l'aide d'un récepteur spécifique situé sur la membrane cellulaire externe de la bactérie (O'Sullivan et O'Gara, 1991).

La capacité des sidérophores d'agir comme agents efficaces dépend de la plante cultivée, du phytopathogène spécifique à supprimer, de la composition du sol, de la bactérie productrice, et de l'affinité du sidérophore spécifique pour le fer. Ainsi, même si une PGPR est un agent efficace suppresseur du pathogène dans des conditions contrôlées, son comportement sur le terrain est extrêmement difficile à prédire (Ahmad *et al.*, 2008).

Les bactéries ayant un grand pouvoir de chélation du fer peuvent reconnaître et utiliser les sidérophores produits par d'autres souches, alors que ces dernières ne sont pas capables d'utiliser les sidérophores qu'elles produisent (Ahmad *et al.*, 2008).

4.1.4. Production des régulateurs de la croissance végétale :

Chez les végétaux les processus de croissance et de développement sont contrôlés par des substances synthétisées par le végétal et efficaces à très petites doses.

4.1.4.1. La production de phytohormones :

Les hormones végétales sont des substances chimiques de différentes natures agissant à très faible concentration sur la croissance et le développement des plantes (Gobat *et al.*, 2010). De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR. Bien que le rôle de la biosynthèse de ces phytohormones par ces micro-organismes ne soit pas entièrement expliquée, il est à noter que les mécanismes directs des PGPR sur la croissance des plantes comprennent la production d'hormones telles les auxines, les cytokinines, les acides gibbérélliques et l'abaissement du taux d'éthylène chez la plante (Costacurta et Vanderleyden 1995 ; Glick, 1995 ; Lucy *et al.*, 2004). L'auxine est le premier régulateur de croissance chez les végétaux. L'effet classique des auxines est de stimuler l'élongation des coléoptiles et des tiges. Il s'agit d'un effet sur l'élongation cellulaire (Mazliak, 1982).

4.1.4.1.1. L'acide indole acétique (AIA) :

L'acide indole acétique est l'auxine naturelle la plus largement répandue, c'est un acide faible. En solution à pH neutre, l'AIA se présente sous sa forme dissociée, anionique. Il est formé d'un noyau indole et d'une courte chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle. C'est la seule phytohormone pour laquelle un transport actif a été clairement démontré. Le phloème contribue aussi au transport de l'auxine des feuilles vers les racines. Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes. L'AIA intervient dans les premiers stades de l'embryogenèse. Il contrôle aussi bien l'organisation du méristème apical, la ramification des parties aériennes de la plante (dominance apicale), la formation de la racine principale, l'initiation des racines latérales et adventives (rhizogénèse) (Khalid *et al.*, 2004). Les auxines agissent sur les trois réponses cellulaires coordonnées qui sous-tendent l'ensemble des processus de croissance chez les plantes, à savoir la division, l'expansion cellulaire et la différenciation (Morot-Gaudry et Prat, 2009). Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire de l'AIA. Celle-ci peut être utilisée comme outil de dépistage des souches PGPR performantes (Khalid *et al.*, 2004). Les PGPR libèrent ces auxines dans la rhizosphère comme des métabolites secondaires

(Khan *et al.*, 2009). Ces bactéries synthétisent et sécrètent l'AIA qui sera absorbé par la graine ou la racine à partir du tryptophane et d'autres petites molécules présentes dans les semences ou les exsudats racinaires (Whipps, 1990 ; Fallik *et al.*, 1994).

4.1.4.1.2. Les cytokinines :

Les cytokinines sont des phytohormones dérivées de l'adénine, elles jouent un rôle-clé dans un grand nombre de processus physiologiques tels que le contrôle de la division cellulaires, nécessaire à la formation et la croissance des bourgeons et la croissance des tissus en culture. Les cytokinines favorisent la croissance des racines et la différenciation, et elles peuvent également stimuler la germination et retarder le vieillissement des feuilles (Nabors, 2008). Depuis, de nombreuses PGPR y compris *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* spp sont productrices de cette hormone (Nieto et Frankenberger, 1989 ; Timmusk *et al.*, 1999).

4.1.4.1.3. Les gibbérellines :

Les gibbérellines représentent une classe d'hormones qui affectent de nombreux aspects du développement chez les plantes. Elles favorisent la germination des grains et la croissance des bourgeons, ce sont une des catégories d'hormones impliquées dans l'élongation des tiges et la croissance des feuilles. Les gibbérellines stimulent également la floraison et le développement des fruits. Les gibbérellines sont également impliquées dans la promotion de la croissance de la racine car elles régulent l'abondance des poils racinaires (Bottini *et al.*, 2004). La capacité des bactéries à synthétiser des substances de gibbérellines a été initialement décrite chez les *Rhizobium* qui ont une influence sur le taux de cette hormone présent dans les nodosités (Nabors, 2008).

4.1.5. Le métabolisme de l'acide Aminocyclopropane carboxylique (ACC) : (activité ACC-Désaminase)

L'éthylène est une hormone a tout d'abord une action sur les graines en étant capable de lever la dormance. Elle favorise également la maturation des fruits et déclenche l'abscission des feuilles qui est contrôlée par une balance Auxine/Ethylène (Nabors, 2008). La migration de l'auxine dans les tissus serait ralentie par l'éthylène. Son action sur la croissance se traduit par une inhibition de l'élongation racinaire au profit de la croissance radiale (Crozier *et al.*, 2000). Sur les racines, l'application d'éthylène induit la formation d'un chevelu racinaire. La diminution de la teneur en éthylène des plantes a pu être réalisée en dégradant le précurseur direct à l'aide de l'ACC-désaminase (Stearns *et al.*, 2005).

L'éthylène est un gaz, sa formule à 2 carbones est très simple C₂H₄. Il est synthétisé à partir de la méthionine qui sous l'action de la SAM-synthase donne de la S-Adenosyl- L-

méthionine ou SAM. Ce composé intervient dans la synthèse des polyamines mais permet aussi d'obtenir de l'ACC (acide 1-Aminopropylène-1-carboxylique) par une réaction catalysée par l'ACC synthase qui fait partie du cycle de la méthionine, appelé également cycle de Yang. La régulation de la production de l'éthylène est principalement dépendante de l'ACC synthase. Des régulations peuvent cependant intervenir en aval par compétition sur l'ACC qui est le précurseur direct de l'éthylène en donnant l' α -ketobutyrate et l'ammonium par l'ACC désaminase ou pour la synthèse des polyamines. Cette voie est bien identifiée chez les PGPR, ces derniers sont capables d'exprimer une ACC désaminase pour contrôler la production d'éthylène et favoriser leur interaction avec la plante (Ma *et al.*, 2003 ; Ma *et al.* 2004). Une ACC désaminase d'origine bactérienne diminue la production d'éthylène.

4.2. Effets indirects :

Les PGPR protègent les plantes contre des infections par des agents phytopathogènes par :

4.2.1. La compétition pour l'espace et les nutriments :

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et, par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997).

Cependant, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est, dans certains cas, pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle générale (Reyes *et al.*, 2004). L'idée qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie fut beaucoup discutée. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005).

4.2.2. L'antibiose :

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

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

Certaines souches de PGPR ont la capacité à dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels β -1,3-gluconase, exo- et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001).

4.2.3. Résistance systémique induite : ISR (Induced Systemic Resistance)

La résistance systémique induite est une forme de résistance stimulée, spécifiquement, par les PGPR. Au cours des années 80, les PGPR ont surtout attiré l'attention en raison de leur capacité à stimuler la croissance végétale (Kloepper et Schroth, 1981). La possibilité que les PGPR puissent aussi induire des effets indirects en sensibilisant la plante à se défendre contre l'attaque microbienne. Ce concept de la résistance systémique induite (RSI) par les PGPR trouvait sa justification au travers de certaines études biochimiques indiquant que la protection des plantes traitées avec des PGPR était associée à des profonds changements métaboliques (Benhamou, 2002).

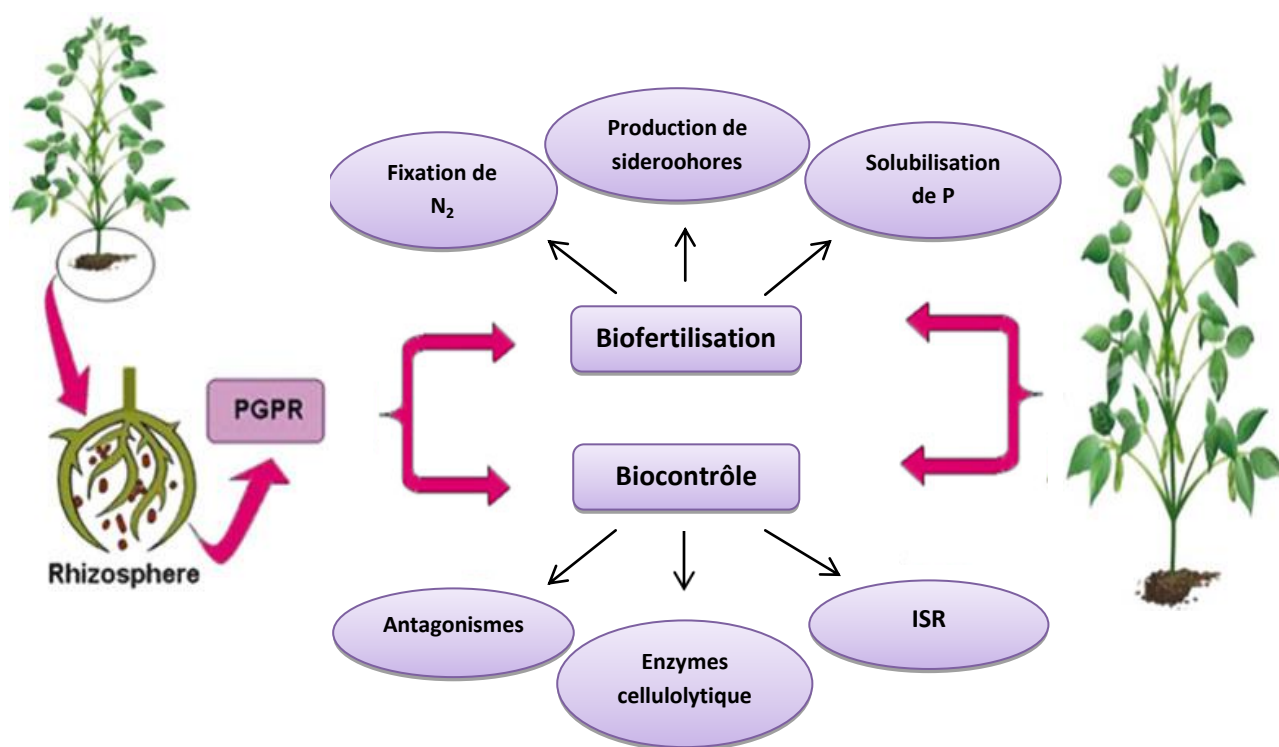


Figure 1 : Promotion de la croissance des plantes par les PGPR (Kumar, 2011).

5. Diversité taxonomique des PGPR :

Au cours des dernières années, le nombre des PGPR identifiées a augmenté d'une façon significative, principalement puisque le rôle de la rhizosphère comme écosystème a gagné de l'importance dans le fonctionnement de la biosphère et que les mécanismes d'action des PGPR ont été suffisamment étudiés. Ces microorganismes cultivables, présentant une diversité de genres et d'espèces, appartiennent majoritairement aux quatre phylums suivants : Proteobacteries, Firmicutes et Actinobacteries, actuellement, de nombreux genres bactériens incluent les PGPR (**Hugenholtz, 2002**).

5.1. Alpha-proteobacteria :

La classe des α -protéobactéries rassemble la majorité des protéobactéries capables de se développer même si la quantité de nutriments disponibles est très faible (**Tortora et al., 2003**).

Les PGPR appartenant à cette classe sont les *Rhizobia* d'abord classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Ces souches peuvent se comporter comme PGPR quand elles colonisent les racines des plantes non légumineuses dans une relation non spécifique. En effet, le genre *Rhizobium* contient également des souches PGPR qui plus tard ont été considérées comme de nouveaux genres : *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* (**Sawada et al., 2003**). Le genre *Gluconacetobacter* de la famille des *Acetobacteraceae* composé de bactéries endophytes obligatoires colonise les racines, la tige et les feuilles de la canne à sucre (**Tejera et al., 2003**). Les espèces du genre *Azospirillum* décrites dans la famille de *Rhodospirillaceae* sont considérées comme promoteurs de la croissance des plantes. Les souches appartenant à ce genre se produisent sous forme de cellules libres dans le sol ou associées aux racines, tiges, feuilles et graines principalement des céréales et des graminées fourragères (**Baldani et al., 2005**).

5.2. Bêta-proteobacteria :

Dans la famille Burkholderiaceae, le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées, elles sont isolées à partir des sols et des plantes. Quelques souches ont la capacité de fixer de façon symbiotique l'azote. *Ralstonia* est un genre également attribué à la famille des Burkholderiaceae. Il est, comme le genre *Burkholderia*, omniprésent (**Moulin et al., 2001**).

5.3. Actinobacteria :

Le genre *Frankia* est un fixateur symbiotique d'azote. Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont associées à des plantes actinorhiziennes pionnier de la colonisation des sols pauvres ou perturbés. D'autres Actinobacteria sont également des promoteurs de croissance des plantes mais ne participent pas à la symbiose. Ils appartiennent aux genres *Arthrobacter*, *Micrococcus* (Gray et Smith, 2005), *Curtobacterium* (Barriuso et al., 2005) et *Streptomyces* (Siddiqui et Mahmood, 1999).

5.4. Gamma-proteobacteria :

Les γ -proteobacteria constituent la classe de bactéries la plus nombreuse, et comprennent des microorganismes très diversifiés sur le plan physiologique (Tortora et al., 2003).

Dans la famille des Pseudomonadaceae, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer l'azote et ne pas noduler les plantes (Sturz et Christie, 2003). De plus, *Pseudomonas* est le genre le plus abondant dans la rhizosphère parmi les bactéries à Gram-négatif du sol, et l'activité PGPR de certaines de ces souches est connue depuis de nombreuses années, résultant d'une large connaissance des mécanismes impliqués. En outre, les genres inclus dans la famille des Enterobacteriaceae assurant la fonction de PGPR sont *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* et *Serratia* (Garrity, 2005).

5.4.1. Les entérobactéries :

Dans la classe des Gammaproteobacteria se trouve notamment l'ordre des Enterobacteriales. Cet ordre comprend trois familles : 1-famille des Enterobacteriaceae, 2-famille des Virionaceae et 3- famille des Pasteurellaceae. Celle des Enterobacteriaceae est la plus grande, englobe une large gamme de microorganismes dont 42 genres dans la dernière édition de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Garrity, 2005).

Les genres au sein de la famille Enterobacteriaceae qui comportent des membres décrit comme des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) sont *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* et *Serratia*, bien que certains de ces genres contiennent également des espèces signalées comme agents pathogènes des plantes, par exemple *Erwinia carotovora*. Ces genres de cette famille sont caractérisés par une taille de 0.3-1 μ m sur 1-6 μ m, des bâtonnets droits ; flagelles péritriches ou non mobiles, oxydase-négative (Rodriguez-Diaz et al., 2008).

Les entérobactéries ont le potentiel de contribuer au développement de systèmes agricoles durables. En règle générale, la fonction des Enterobactéries de trois manières différentes : la synthèse de composés particuliers pour les plantes, ce qui facilite l'absorption de certains nutriments du sol, et empêcher ou de diminuer des maladies les plantes. Les mécanismes de mise en valeur PGPR médiée par la croissance des plantes et le rendement de nombreuses cultures ne sont pas encore entièrement compris. Cependant, les explications possibles comprennent : la capacité à produire des enzymes essentielles, le 1-aminocyclopropane-1-carboxylate d'éthyle (ACC) désaminase pour réduire le taux d'éthylène dans la racine de plantes en développement, lipase et protéase et la capacité de produire des hormones telles que l'auxine, à savoir, AIA qui sont réalisés par quelques entérobactéries tels que *Klebsiella* et *Erwinia* (Ghodsalavi *et al.*, 2013), la fixation de l'azote par *Klebsiella pneumoniae* (Riggs *et al.*, 2001 ; Hayat *et al.*, 2010 ; Solano *et al.*, 2008). L'antagonisme contre les bactéries phytopathogènes en produisant des sidérophores et la solubilisation et la minéralisation des substances nutritives, les phosphates minéraux en particulier par *Enterobacter*, *Serratia* et *Erwinia* (Sturz et Nowak, 2000 ; Sudhakar *et al.*, 2000 ; Mehnaz et Lazarovits, 2006 ; Zhuang *et al.*, 2007).

5.5. Firmicutes :

Parmi les bactéries telluriques à Gram positif, les *Bacillus* sont les types les plus communs et les plus prédominants, ils représentent 95% de la flore isolée (Cherif, 2014). Ce sont des bactéries aérobies ou aéro-anaérobies facultatives formant des endospores. Depuis la découverte de la bactérie, la possession d'une spore a été utilisée comme une clé dans la classification. Les caractéristiques distinctives entre les membres du genre *Bacillus* et les autres bacilles sporulant sont la nature aérobie stricte ou facultative, la forme bacillaire et la production de catalase. Le genre *Bacillus* a subi des changements taxonomiques considérables, il est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de ses capacités de fixation d'azote, solubilisation de phosphate et que sont des précepteurs de fer, oxydants et réduisant le manganèse (Cherif, 2014).

6. Effets des PGPR sur la croissance végétale :

Depuis les dernières décennies, la réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde dans les champs et sous serres. Sur la base des données obtenues, il est évident que l'inoculation a entraîné des augmentations significatives des rendements de différentes cultures, sous différentes conditions. Elles peuvent affecter la croissance et le rendement d'une large gamme

de cultures telles que les céréales ou les légumes. Les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruits et des graines (**Van Loon et al., 1998 ; Ramamoorthy et al., 2001**).

7. tolérance des PGPR au stress salin :

La productivité des plantes sur sols salins est considérablement réduite en raison de l'activité biologique limitée due à la salinité et à la sécheresse. La croissance des microorganismes tolérants le stress associés avec les racines des plantes peut conduire à une meilleure fertilité des sols salins (**Hallman et al., 1997**). Les PGPR sont capables de s'adapter à des conditions défavorables les rendant aptes à se développer dans une diversité d'écosystèmes (**Rangarajan et al., 2001**). Par conséquent, les rhizobactéries des sols salins sont capables de croître à des niveaux de salinité variant entre 0 et 5% de NaCl.

Les rhizobactéries halotolérantes peuvent développer des mécanismes moléculaires intrinsèques pour survivre et croître en vertu de l'augmentation de la salinité (**Tripathi et al., 1998**). Les bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Halomonas*, *Chromohalobacter*, *Salinivibrio* sont parmi les PGPR les plus dominantes dans les sols salins (**Ahmad et al., 2005**).

1. Objectif de travail :

Il s'agit à travers la présente étude d'évaluer la tolérance au sel de cinq Rhizobactéries et leurs activités liées à la PGP sous stress salin (La solubilisation du phosphate et la production de l'AIA).

2. Souches bactériennes :

Dans cette étude, cinq ont été utilisées. Ceux-ci ont été précédemment sélectionnés (résultats non mentionnés) selon leur potentiel de production des activités liées à la PGP, les isolats ont été fournis par Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale (LMBV) préalablement isolées à partir du sol salin du périmètre de la Mina wilaya de Rélizane.

3. Réactivation des souches :

Les isolats préalablement conservés dans la gélose inclinée, ont été ensemencées dans des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive, après incubation à 30°C pendant 24 heures, les cultures ont été utilisées pour préparer l'inoculum (Figure 2).

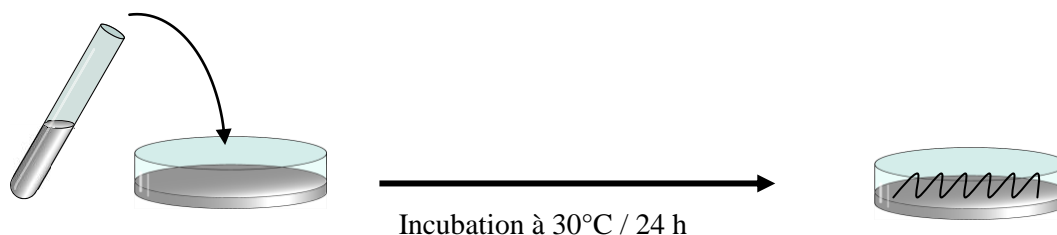


Figure 2 : Réactivation des souches

4. Croissances et survie des souches sous stress salin :

La tolérance des isolats au sel (NaCl) a été évaluée en bouillon nutritif. 1 ml de l'inoculum préalablement préparé (densité optique ajusté à $DO_{620} = 0,5$) a été inoculé dans des flacons de 250 ml contenant 50 ml du bouillon nutritif puis incubées à 30° C pendant 2 jours avec agitation à 160 rpm. La croissance bactérienne a été estimée par la mesure de la densité optique à 620 nm

L'expérience a été faite en trois répétitions, le stress salin été appliqué par l'ajout des concentrations croissantes du NaCl au milieu de culture, allant de 0 mM jusqu'à 500 mM : 0mM, 100mM, 200mM, 300mM, 400mM et 500mM (Figure 3).

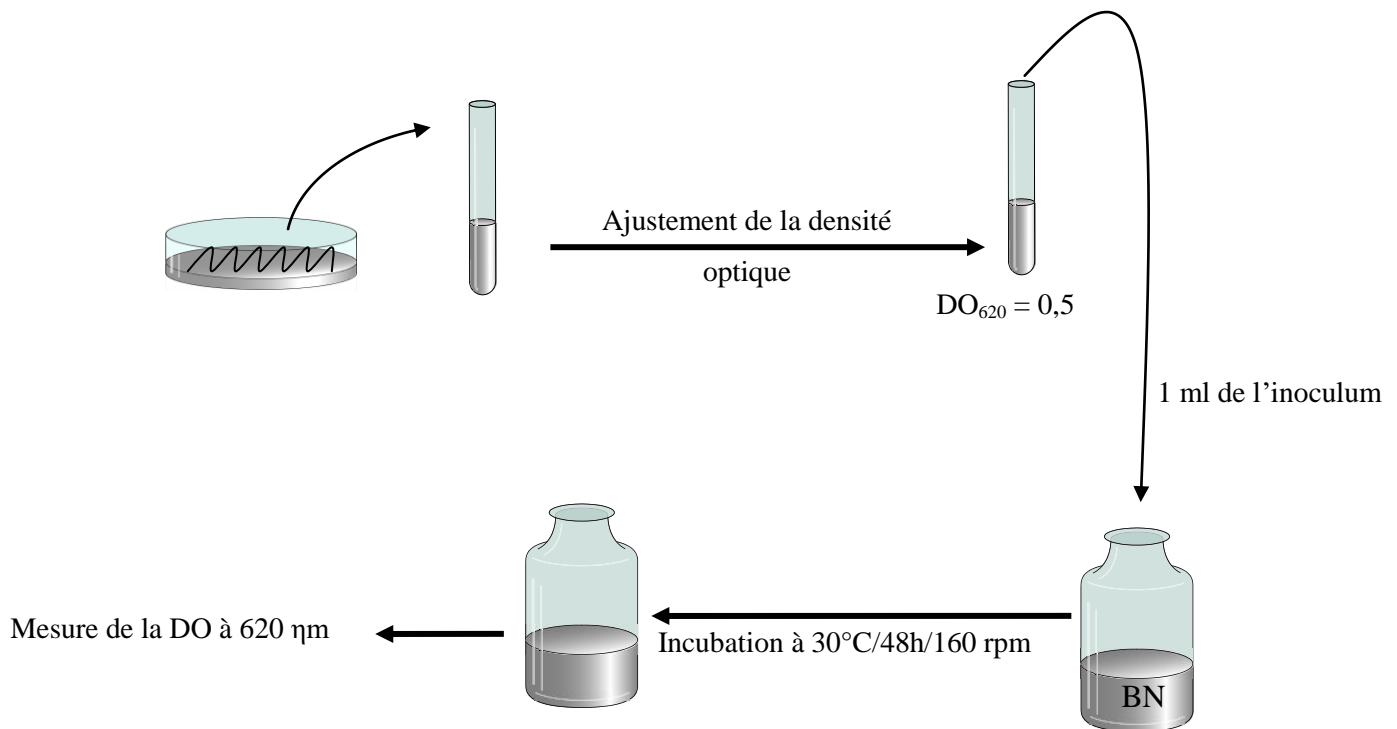


Figure 3: Croissances et survie des souches sous stress salin

5. Effet de stress salin sur quelques activités liées à la PGP :

Pour le but de déterminer L'effet du NaCl sur la production des substances favorisant la croissance des plantes par les PGPR, Les isolats sélectionnés ont été testées pour leurs capacités de solubiliser le phosphate et de produire l'AIA sous stress salin. L'expérience a été faite en trois répétitions, le stress salin a été appliqué par l'ajout du NaCl au milieu de culture avec des concentrations de 0 mM jusqu'à 500 mM.

Le principe de cette méthode consiste à mesurer la densité optique de la couleur jaune du complexe phospho-vanadomolybdique en milieu acide.. Après 10 minutes, la lecture de la densité optique a été effectuée à 430nm (Figure 7). Le phosphore soluble a été calculé à partir de l'équation de régression d'après la courbe d'étalonnage préparée par une solution de KH_2PO_4 (Figure 4).

5.2. La production de l'AIA :

La production d'acide indole acétique (AIA) a été détectée comme décrit par Loper et Scroth (1986). Les cultures bactériennes ont été cultivées pendant 4 jours en milieu NF

(Krieg et Döbereiner, 1984) additionné du tryptophane à 200 mg/l et de NH_4Cl à 1g/l, la culture a été centrifugée à 6000 rpm pendant 20 min.

L'estimation quantitative de l'AIA est effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage préparée par des concentrations croissantes du AIA (Sigma-Aldrich), dans un intervalle de 0 à 100 mg/l (Figure 6).

1 - Effet du stress salin sur la croissance bactérienne :

La tolérance bactérienne des différents isolats au stress salin a été faite en bouillon nutritif. L'estimation de la croissance bactérienne a été effectuée par la mesure de la densité optique à 620nm après 48 heures d'incubation.

La croissance bactérienne estimée à des concentrations de sel allant de 0 jusqu'à 500 mM révèle une bonne tolérance au sel jusqu'à 500mM avec des taux élevés entre 200 et 300 mM du NaCl (Figure 8).

Le maximum de croissance de chaque isolat avec sa concentration optimale du NaCl sont dans l'ordre : S₃ (1,573±0,044^a) à 200mM, S₁ (1,569±0,031^a) à 200mM, S₅ (1,545±0,031^a) à 300mM, S₂ (1,523±0,001^a) à 300mM et S₄ (1,442±0,021^a) à 200mM (Tableau 1).

Tableau 1. Effet du sel sur la croissance bactérienne (valeur de la DO)

La salinité des sols joue un rôle majeur dans le processus de sélection microbienne (Borneman *et al.*, 1996). L'utilisation des Rhizobactéries vivants librement dans le sol favorisant la croissance des plantes a reçu un intérêt considérable dans le monde entier (Upadhyay *et al.*, 2011).

Cette étude a été réalisée pour déterminer le comportement d'adaptation des Rhizobactéries sous stress salin. La croissance de ces isolats en bouillon nutritif appréciée par la mesure des troubles à des concentrations de sel allant de 0 à 500 mM révèle une bonne tolérance au sel jusqu'à 500 mM, des résultats similaires sont rapportés par Hafsa *et al.*, (2014), où la croissance bactérienne augmente à des concentrations de NaCl comprises entre 100 et 400mM ce qui atteste d'une forte tolérance au sel.

2. Effet du stress salin sur la solubilisation du phosphate

Les cinq isolats ont été testés pour leur capacité de solubiliser le phosphate inorganique sous stress salin en milieu NBRIP contenant le phosphate tricalcique Ca₃(PO₄)₂ comme seule source de phosphate.

L'apparition de la couleur jaune après dosage de phosphore libéré a montré que tous les isolats bactériens ont été capables de solubiliser le phosphate tricalcique (Figure 9).

En présence de concentrations croissantes du NaCl, les quantités de phosphore solubilisé varient entre 297,048 à 941,619 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau 2). Les quantités du phosphore libérées ont augmenté avec l'augmentation de la concentration du NaCl jusqu'à un seuil de 300 à 400 mM selon les isolats bactériens, une faible diminution de taux de solubilisation a été enregistrée chez tous les isolats bactériens à une concentration de 500 mM du NaCl (Figure 10).

Un maximum de taux de solubilisation a été enregistré chez les souches S_3 et S_1 à une concentration de 300 mM du NaCl avec des valeurs de 853,429 $\mu\text{g/ml}$ et 848,286 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Tandis que les souches S_4 et S_2 ont enregistré un maximum de solubilisation à 200 mM du NaCl avec des valeurs de 875,905 $\mu\text{g/ml}$ et 752,571 $\mu\text{g/ml}$ respectivement, la souche S_5 a été la plus performante où elle a pu solubiliser le phosphate avec les quantités les plus élevées à une concentration de 400 mM du NaCl avec une quantité de 941,619 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau2).

L'utilisation des microorganismes de la rhizosphère est le meilleur moyen biologique pour améliorer la solubilisation du phosphate dans le sol (**Pradhan et Sukla 2005 ; Singh et al., 2011**). La capacité de certains microorganismes à transformer le phosphate insoluble sous une forme accessible est une caractéristique fondamentale pour les bactéries PGPR (**Kucey et al., 1989**).

Nos isolats ont été testés en présence du sel pour leur capacité de solubilisation du phosphate. La quantité du phosphate libérée par les isolats bactériens a augmentée avec l'augmentation du sel jusqu'à un seuil de 400 mM du NaCl. Des résultats similaires ont montré que la solubilisation du phosphate par les Rhizobactérie s'améliore en présence de 100 mM du NaCl (**Kim et al., 1997 ; Kang et al., 2002 ; Silini Cherif et al, 2012**) En outre, les travaux de Banerjee *et al.*, (2010) montrent une meilleure solubilisation du phosphate dans les concentration 200mM et 250 mM du NaCl respectivement. Cependant, les taux de phosphate solubilisés ont diminué lorsque la concentration en sel dépasse les 400mM du NaCl. Il est convenu que les performances des microorganismes solubilisant le phosphate sont affectées par les conditions environnementales incluant la salinité (**Zhu et al., 2011**).

3. Effet du stress salin sur la production de l'acide indole acétique (IAA)

Les différents isolats ont été testés pour leur capacité de production de l'AIA en milieu NF additionné de 200mg/l de tryptophane et 1g/l de NH₄Cl, ils ont été testés sous stress salin avec des concentrations croissantes du NaCl.

L'apparition de la couleur rose après addition de réactif de Salkowski au surnageant a montré que tous les souches isolées ont été capables de produire l'AIA avec de taux variables.

Des quantités variables de l'AIA ont été produites sous stress salin par les isolats bactériens. Ces variations montrent des valeurs allant de 0,703µg/ml à 87,295µg/ml (Tableau 3). Une diminution de taux de production de l'AIA produit par les isolats bactériens a été observée avec l'augmentation des concentrations du NaCl où les quantités les plus élevées ont été enregistrées en absence de sel mais reste appréciable à 100 et 200 mM du NaCl. Le taux de production d'AIA le plus élevée est de 87,295µg/ml chez la souche S₅ suivie par S₄ (50,531 µg/ml), S₂ (39,646 µg/ml), S₁ (36,88 µg/ml) et S₃ avec 24,763 µg/ml d'AIA.

Après une concentration de 300mM du NaCl, une diminution importante a été enregistrée pour tous les isolats bactériens (Figure 11).

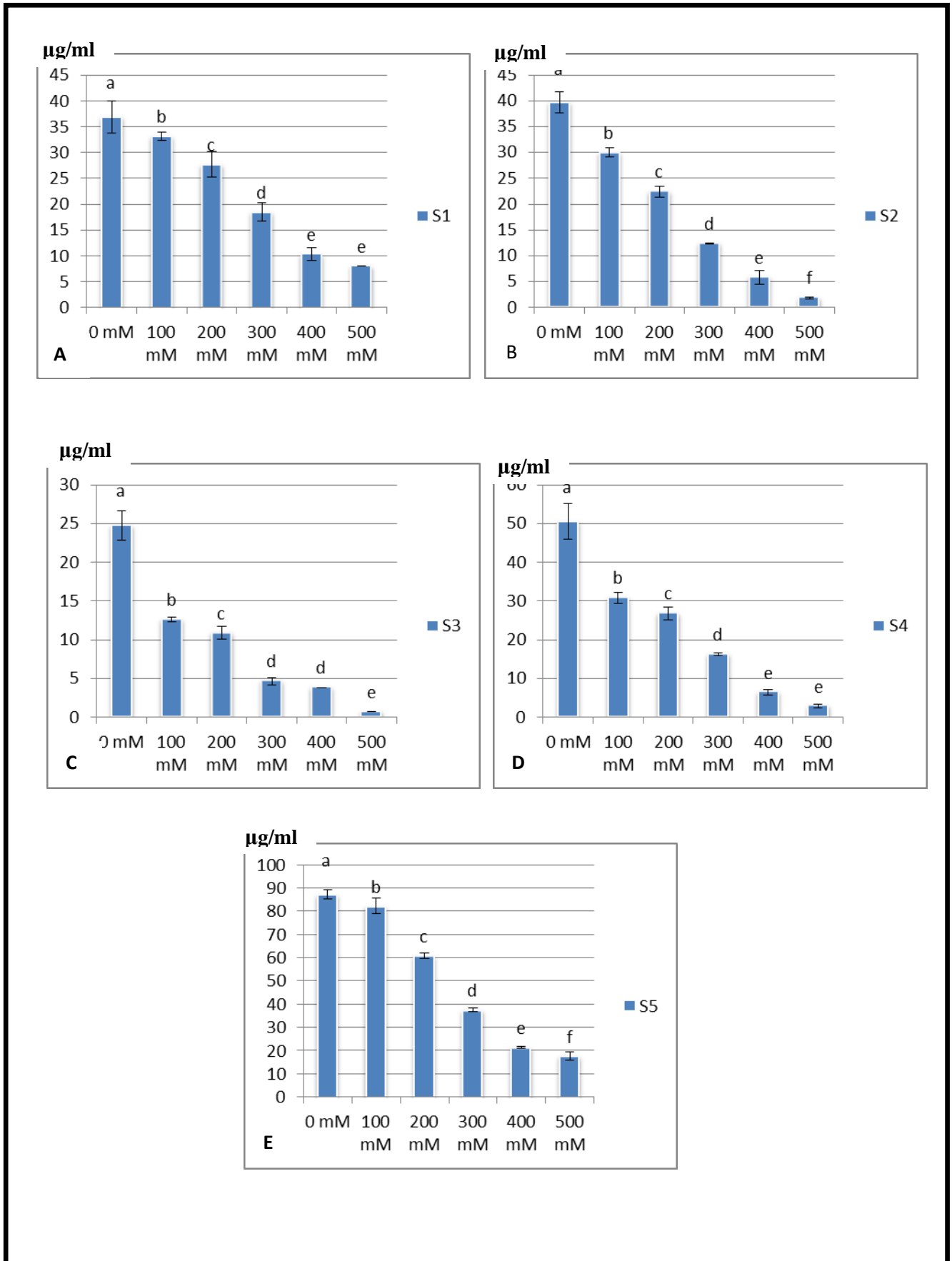


Figure 11 : La production de l’AIA sous stress salin : **A**: souche 1, **B**:souche 2, **C**: souche 3, **D**: souche 4, **E**:souche 5

L'acide indole-3-acétique (AIA) est considéré comme étant la meilleure auxine catégorisée trouvée dans les plantes (**Singhet al., 2013**). Il est connu pour son influence sur la croissance végétale en augmentant la disponibilité des nutriments et en influençant le développement des plantes (**Glick, 2010**).

Cinq Rhizobactéries ont été testées pour l'estimation quantitative de l'IAA dans la présence des concentrations croissantes de sel, Nos résultats suggèrent que leurs activités des est inversement proportionnelle à la concentration de sel car Il y avait une diminution de la production de l'AAI avec l'augmentation de la concentration de sel. La production de l'AIA par les Rhizobactéries testées atteint un maximum de 87,295 µg/ml en absence de NaCl. Ces résultats sont en concordance avec ceux mentionnés par Banerjee *et al.*, (2010) où il y a une production de AIA qui diminue rapidement à partir de 300 mM du NaCl et devient très faible aux fortes concentrations.

Conclusion

Cette étude a visé une évaluation des Rhizobactéries selon quelques activités liées à la promotion de la croissance des plantes sous stress salin : Celles ayant un rôle de biofertilisation telle que la solubilisation des phosphates et celles considérées comme biostimulatrices principalement productrices de l'AIA.

Les isolats ont été testés pour leur tolérance au sel, leur capacité de solubiliser le phosphate et à produire l'acide indole acétique sous stress salin. Les milieux correspondants bouillon nutritif, NBRIP et NF sont additionnés de concentrations croissantes du NaCl (de 0 jusqu'à 500mM).

La croissance bactérienne en présence du sel révèle une bonne tolérance jusqu'à 500mM avec des taux élevés entre 200 et 300 mM du NaCl

La solubilisation du phosphate s'exprime mieux entre 100 et 400 mM du NaCl. La quantité du phosphate solubilisé sous stress salin indique une augmentation progressive de cette capacité en fonction de la concentration de sel jusqu'à 400Mm, après ce seuil la capacité de solubilisation commence à diminuer.

Le maximum de production d'AIA a été enregistré chez la souche S₅ en absence de sel avec une valeur de $87,295 \pm 2,03$ µg/ml. Ce taux a diminué graduellement en présence du NaCl et cette diminution a été observée chez tous les isolats.

L'impact de la nature de l'environnement et les conditions de croissance sur les performances des souches vis-à-vis des différentes activités influe sur la solubilisation des phosphates et la production d'AIA pour les cinq isolats, l'amélioration de ces activités PGP à des concentrations de NaCl comprises entre 100 et 400 mM indique clairement le caractère halophile de ces isolats. Ces constatations laissent supposer l'utilisation de ces cinq souches *in-vivo* comme un biofertilisant efficace pour la croissance des plantes dans les zones salines.

- Ahmad, F; Ahmad, I; Khan, M.S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbial Research*, 163: 173-81.
- Ahmad, I; Hellebust, J.A. (1988).** The relationship between inorganic nitrogen metabolism and proline accumulation in osmoregulatory responses of two euryhaline microalgae. *Plant Physiol.* 88(2) : 348-354.
- Alem, C ; Amri, A. (2005).** Importance de la stabilité des membranes cellulaires tolérance à la salinité chez l'orge. *Maroc.* 4: 20-32.
- Amarger, N. (2002).** Genetically modified bacteria in agriculture. *Biochimie.* 84 (11): 1061-72.
- Amellal, N ; Burtin, G ; Bartoli, F ; Heulin, T. (1998).** Colonization of wheat roots by EPS-producing *Pantoea agglomerans* and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3740-3747.
- Amir, H.G; Shamsuddin, Z.H; Halimi, M.S; Marziah, M; Ramlan, M.F. (2005).** Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 36 :2059-2066.
- Amtmann, A; Leigh, R. (2010).** Ion homeostasis. Chap. 12. Dans *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation.* Sous la direction de Pareek, A ; Sopory, S.K ; Bohnert H.J ; Govindjee. 245-262.
- Apse, M.P; Blumwald, E. (2007).** Na⁺ transport in plants. *FEBS Lett.* 581(12): 2247-2254.
- Ashraf, M; Athar, H.R. Harris, P.J.C; Kwon T.R. (2008).** Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron.* 97: 45-110.
- Ashraf, M; Foolad, M.R. (2007).** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59(2) : 206-216.
- Ashraf, M; Hasnain, S; Berge, O; Mahmood, 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.
- Asloun, H ; (1990).** Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate, *Lycopersicum esculentum* L.) en culture hors sol pour les régions sahariennes. Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres. Thèse de doctorat, développement et amélioration des végétaux, Université de Nice Sophia- Antipolis. 24-32.
- Aspinal; Pale. (1981).** In Teggat, N. (2015). Etude de l'effet du stress salin sur la nodulation et sur quelques paramètres biochimiques et morphologiques de la lentille (*Lens.culinaris* L). Thèse de magister. Université d'Oran Es Senia, Oran, Algérie. 98.

- Baldani, J.I; Krieg, N.R; Divan-Baldani, V.L; Hartmann, A; Döbereiner, J. (2005).** In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2 ed. Springer- Verlag, Garrity. New York, Berlin, Heidelberg. 2: 7-26.
- Banerjee, S; Palit, R; Sengupta, C; Stranding, D. (2010).** Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. And *Bacillus* sp. Isolated from tomato rhizosphere. Aus. j. crop sci. 4: 378-383.
- Barea, J.M; Azcon, R; Azcon-Aguilar, C. (2002).** Mycorrhizosphere interactions to improve plant jitness and soil quality. van Leeuwenhoek international journal of general and molecular microbiology. 81: 343-51.
- Barea, L.M; Pozo, M.J; Azcon, R; Azcon-Aguilar, C. (2005).** Microbial cooperation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany. 56: 1761-1778.
- Bartels, D; Sunkar, R. (2005).** Drought and salt tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 24(1) : 23-58.
- Belkhodja, M ; Bidai, Y. (2004).** Réponse de la germination des graines d'Atriplex halimus L. sous stress salin. Sécheresse.15 : 331-335.
- Benhamou, N. (2002).** La résistance chez les plantes. 3 ed. TEC & DOC. Paris, France. 376.
- Berggren, I; van Vuurde, J.W.L; Martensson, A.M. (2001).** Factors influencing the
- Bernard, T; Jebbar, M; Rassouli, Y; Himdi-Kabbab, S; Hamelin, J; Blanco, C. (1993).** Ectoine accumulation and osmotic regulation in *Brevibacterium linens*. J. Gen. Microbiol. 139: 129-138.
- Berthomieu, P; Conéjéro, G; Nublat, A; Brackenbury, W. J; Lambert, C; Savio, C; Uozumi, N; Oiki, S; Yamada, K; Cellier, F; Gosti, F; Simonneau, T; Essah, P.A; Tester, M; Very, A.A, Sentenac, H; Casse, F. (2003):** Functional analysis of ATHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. Embo Journal. 22 : 2004-2014. Biotechnology. 16 :123-132.
- Blondeau, R. (1980).** Fixation biologique de l'azote atmosphérique. Paris, France. 102.
- Blumwald, E. (2000).** Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol. 12(4): 431-434.
- Blumwald, E; Grover, A; Good, A.G. (2004).** Breeding for abiotic stress resistance: challenges and opportunities. 2004 « New directions for a diverse planet ». In Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 September – 1 October 2004, Brisbane, Australia. Web site [www.cropscience.org.au](http://www.cropsscience.org.au).

- Bohnert, H.J; Jensen, R.G. (1996).** Metabolic engineering for increased salt tolerance - the next step. *Aust. J. Plant Physiol.* 23(5): 661-667.
- Borneman, J; Skroch, P.W; O'Sullivan, K.M. (1996).** Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1935-1943.
- Bottini, R ; Cassan, F ; Picolli, P. (2004).** Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 : 497–503.
- Bouaziz, E. (1980) :** Tolérance à la salure de la pomme de terre. *physiol. Vég.* 18 (1).
- Boukachabia, E. (1993) :** Contribution à l'étude de quelques mécanismes morphologiques et biochimiques de tolérance à la salinité chez cinq géotypes de blé dur (*Triticum durum* Dest). Mémoire de Magister en production et physio vég. Annaba. 108.
- Bowen G.D; Rovira, A.D. (1999).** The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy.* 66: 102.
- Briat, J.F. (1992).** Iron assimilation and storage in prokaryotes. *J. Gen. Microbiol.* 138: 2475-2483.
- Campbell, R; Greaves, M.P. (1990).** Anatomy and community structure of the rhizosphere in The Rhizosphere. ed. J.M. Lynch. John Wiley & Sons, Ltd, Essex. 11-34.
- Castignetti, D; Smarrelli, J.Jr. (1986).** Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *FEBS Lett.* 209 : 147-151.
- Chabot, R ; Antoun, H ; Cescas, M.P. (1993).** Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Can J Microbiol.* 39: 941-947.
- Chaboud, A. (1983).** Isolation, purification and chemical composition of maize root cap slime. *Plant Soil.* 73: 395-402.
- Chartoulakis; Klapaki, C. K; Klapaki, G. (2000).** Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.* 86: 247-260.
- Cheeseman, J.M; (1988).** Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant. Physiol.* 87: 547-550.
- Chen, S; Li, J; Wang, S; Huttermann, A; Altman, A. (2001).** Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl. *Trees-Struct. Funct.* 15:186-194.
- Chen, T.H; Murata, N. (2002).** Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5(3) : 250-257.
- Cherbuy, B ; (1991).** Les sols salés et leur réhabilitation étude bibliographique. Cemagraf, école. Nat. Renne. 170.

- Cherif, H. (2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. 162.
- Cheverry, C ; Rbert, M. (1998).** La dégradation des sols irrigués et de la ressource en eau : une menace pour l'avenir de l'agriculture et pour l'environnement de pays au sud de la Méditerranée.
- Cordovilla, M.P ; Liger, F ; Lluch, C. (1995).** Influence of host genotypes on growth symbiotic performance and nitrogen assimilation in faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Plant Soil*. 172: 289-297.
- Cordovilla, M.P; Ocan, A; Liger, F; Lluch, C. (1995).** Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legume-rhizobium symbiosis. *J. Plant. Nutr.* 18: 1595-1609.
- Costacurta, A; Vanderleyden, J. (1995).** Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 21 : 1-18.
- Crozier. (2000).** In Chaumeil, P. (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale et Forestière. Université de Henri Poincaré, Nancy I. France. 217.
- Cushman, J.C. (2001).** Osmoregulation in plants: Implication for agriculture. *Am. Zool.* 41(4): 758-769.
- Dimkpa, C ; Weinand, T ; Asch, F. (2009).** Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* 32: 1682-1694.
- Dobbelaere, S; Vanderleyden, J; Okon, Y. (2003).** Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci.* 22:107-149.
- Dursun, A; Ekinci, M; Donmez, M.F. (2008).** Effects of inoculation bacteria on chemical content, yield and growth in rocket (*Eruca vesicaria* subsp sativa). *Asian J Chem.* 20 :3197-3202.
- effect of deleterious *Pseudomonas putida* rhizobacteria on initial infection of pea roots by *Rhizobium leguminosarum* bv viciae. *Appl. Soil Ecol.* 17 : 97-105.
- El-mekkaoui, M. (1990) :** Etude des mécanismes de tolérance à la salinité chez le blé dur (*T. durum*) et l'orge (*H. vulgare*) : recherches de tests précoces de sélection. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Montpellier. 191.
- Elstner. (1987).** In Parida, A.K; Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.

- Fallik, E; Sarig, S; Okon, Y. (1994).** Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. In: *Azospirillum–Plant Associations*. Okon, Y. CRC Press, Boca Raton. 77-85.
- Flowers, T.J; Troke, P.F; Yeo, A.R. (1977).** The mechanisms of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28(1): 89- 121.
- 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 Manage.* 97: 1994-2000.
- Galinski, E.A; Trüper, H.G. (1994).** Microbial behaviour in saltstressed ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 15 :95-108.
- Garcia, C ; Fernadez, T ; Costa, F ; Cerranti, B ; Masciandaro, G. (1992).** Kinetics of phosphatase activity in organic wastes. *Soil Biol Biochem.* 25:361-365.
- Garrity, G.M. (2005).** Bergey’s manual of systematic bacteriology. 2^e ed. Springer, Berlin.
- Georgé, S; Brat, P; Alter, P; Amiot, M.J. (2005).** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived production. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1370-1373.
- Ghodsalavi, B; Ahmadzadeh, M; Soleimani, M; Madloo, P.B; Taghizad-Farid, R. (2013).** Isolation and characterization of rhizobacteria and their effects on root extracts of *Valeriana officinalis*. *Aust J Crop Sci.* 7:338-344.
- Gholami, A; Biyari, A; Gholipoor, M; Rahmani, H.A. (2012).** Growth promotion of maize (*Zea mays* L) by plant-growth promoting rhizobacteria under field conditions. *Communications in soil science and plant analysis.* 43: 1263-1272.
- Ghoul, M; Bernard, T; Cormier, M. (1990).** Evidence that *Escherichia coli* accumulates glycine betaine from marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 :551-554.
- Gill, K.S. (1979):** Effects of soil salinity on grain filing and grain development in burly. *Biologia plantarum.* 24 (4): 266-269.
- Giller, K.E; Wilson, K.J. (1991).** Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Wallingford, UK: CAB International.
- Gilmour, S.J; Sebolt, A.M; Salazar, M.P; Everard, J.D; Thomashow, M.F. (2000).** Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol.* 124(4): 1854-1865.
- Glenn, E; Brown, J.J; Blumwald, E. (1999).** Salt-tolerant mechanisms and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 18(2): 227-255.
- Glick, B.R. (1995).** The enhancement of plant growth, by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology.* 41: 109-117.

- Glick, B.R. (2010).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 4: 109-117.
- Glick, B.R; Cheng, Z; Czarny, J; Duan, J. (2007).** Promotion of plant growth by ACC-deaminase producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119 :329-339.
- Gobat, J.M; Aragno, M; Matthey, W. (2010).** Le sol vivant : Base de pédologie-Biologie des sols. 3^e ed. France. 817.
- Gorham, J. (1992).** Salt tolerance of plants. *Science Progress.* 76: 273-285.
- Graham, P.H; Vance, C.P. (2000).** Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crop Res.* 65: 93-106.
- Gray, E.J; Smith, D.L. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37:395-412.
- Gupta, R.K; Abrol, I.P. (1990),** Salt-affected soil: Their reclamation and management for crop production. *Advances in Soil Science.* Springer-Verlag, New York. 11: 288.
- Gupta, S.S. (2003).** Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45 :219-227.
- Haas, D; Défago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Natra. Rev. Microb.* 1129.
- Hallmann, J; Quadt-Hallmann, A; Mahaffee, W.F; Kloepper J.W. (1997).** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology.* 43: 895-914.
- Han, H.S; Lee, K.D. (2005).** Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 1: 210-215.
- Hanana, M; Cagnac, O; Zarrouk, M; Blumwald, E. (2009).** Rôles biologiques des antiports vacuolaires NHX : acquis et perspectives d'amélioration génétique des plantes. *Botany.* 87(11): 1023-1035.
- Hayat, R; Ali, S; Amara, U; Khalid, R; Ahmed, I. (2010).** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol.* 60:579-598
Heidelberg, New York. 2: 1-1085.
- Hinsinger, P; Gobran, G.R; Gregory, P.J; Wenzel, W.W. (2005).** Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical process. *New Phytol.* 168(2): 293-303.
- Hoekstra, F.A; Golovina, E.A; Buitink, J. (2001).** Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* 6(9): 431-438.

- Hong, Z ; Lakkineni, K ; Zhang, Z ; Verma, D.P.S. (2000).** Removal of feedback inhibition of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.* 122(4): 1129-1136.
- HOPKINS, W.G. (2003).** *Physiologie Végétale*. 2^e ed. De boeck. Paris, France. 514.
- Hughenoltz, P. (2002).** Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol.* 3, Reviews0003.
- Huss-Danell, K. (1990).** The physiology of actinorhizal nodules. In: Schwintzer, C. R; Tjepkema, J. D. *The biology of Frankia and actinorhizal plants*. San Diego : Academic Press. 129-156.
- Jabnoue, M. (2008).** Adaptation des plantes au stress salin : caractérisation de transporteurs de sodium et potassium de la famille HKT chez le riz. Thèse doctorat. Université de Montpellier II, France. 127.
- Jagnow. (1987).** Inoculation of cereal crops and forage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: Possible causes of success and failure with regard to yield response - a review. *Z Pflanzenernähr Bodenk.* 150: 361-368.
- Jeffries, P; Gianinazzi, S; Perotto, S; Turnau, K; Barea, J.M. (2003).** The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soil.* 37: 1-16.
- Jofre, E; Lagares, A; Mori, G. (2004).** Disruption of d'TDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Lett.* 231(2) :267-275.
- Kang, S.C; Ha, C.G; Lee, T.G, Maheshwari, D.K. (2002).** Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. *PS 102. Curr. Sci.* 82: 439-441.
- Kempf, B; Bremer, E. (1998).** Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress-responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.* 170: 319-330.
- Kennedy, A.C. (1998).** The rhizosphere and spermosphere. In Sylvia, D. M; Fuhrmann, J.J; Hartel, P.G; Zuberer, D.A; (dir). *Principles and applications of soil microbiology*. 389-407. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey.
- Khalid, A; Arshad, M; Zahir, Z.A. (2004).** Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* 96: 473-480.
- Khan, M.A; Hamid, A; Salahuddin, A.B.M; Quasem, A; Karim, M.A. (1997).** Effect of sodium chloride on growth, photosynthesis and mineral ions accumulation of different types of rice (*Ovsya sativa*). *J. Agronomy and science*: 149-161.

- Khan, M.S ; Zaidi, A ; Javed, M. (2009).** Microbial Strategies for Crop Improvement. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 371.
- Kim, K.Y; Jordan, D; McDonald, G.A. (1998).** *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilising bacteria, and microbial activity in soil: effect of carbon sources. Soil Biol. Biochem. 30 :995–1003.
- Kloepper, J.W. (1992).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: Metting, F.B. Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. Marcel Dekker Inc. New York. 255-274.
- Kloepper, J.W. (1993).** Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control agents, In: Metting, F.B. Jr. Soil Microbial Ecology. Marcel Dekker Inc. New York. 255-273.
- Kloepper, J.W; Beauchamp, C.J. (1992).** A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219-1232.
- Kloepper, J.W; Lifshit, R; Zablottwicz, R.M. (1989).** Free-living bacterial inoculation for enhancing crop productivity. Trends Biotechnol. 7:39-43
- Kloepper, J.W; Ryu, C.M; Zhang, S. (2004).** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94:1259-1266
- Kloepper, J.W; Scotch, M.N. (1981).** Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. Phytopathology. 71: 642-644.
- Kocsy, G ; Laurie, R ; Szalai, G ; Szilagyi, V ; Simon-Sarkadi, L ; Galiba, G ; Ronde, J.A. (2005).** Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stresses. *Physiol. Plant.* 124(2): 227-235.
- Krieg, N. R; Döbereiner, J. (1984).** Genus *Azospirillum*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. N.R. Krieg. 1: 94-104.
- Kucey, R.M.N; Janzen, H.H; Legget, M.E. (1989).** Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.* 42 :199-228.
- Kumar, S; Kamboj, J; Suman, S.S. (2011).** Overview for various aspects of the health benefits of *Piper longum* linn fruit. *J Acupunct Meridian Stud.* 4:134-140.
- Laberche, J.C (2004).** Biologie végétale. Paris, France. 270.
- Levigneron, A; Lopez, F; Vansuyt, G. (1995).** Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures.* 4: 263-273.
- Lewis, O.A.M. (1986).** Plants and nitrogen. Studies in Biology N° 166. Edward Annold Publishers Ltd, London-UK. 104

- Linderman, R.G. (1992).** Vesicular- arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In Bethlenfalvai, G.J; Linderman, R.G. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Madison, Wisconsin. 45-70.
- Linn. (1988).** In Parida, A.K; Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.
- Loper, J.E; Schroth, M.N. (1986).** Influence of bacterial sources of indole-2-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology.* 76: 386-389.
- Lucy, M; Reed, E; Glick, B.R. (2004).** Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Anton. Leeuw. Int. J. G.* 86: 1-25.
- Lynch, J.M. (1990).** The rhizosphere. John Wiley. New York.
- Maarouf, A. (2000).** Dictionnaire botanique, les phanérogames. Dunod. 129
- Maillard, J. (2001).** Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone aride : Risques et Recommandations. Handicap International. Novembre 2001. 35.
- Ma. (2003).** In Chaumeil, P. (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale et Forestière. Université de Henri Poincaré, Nancy I. France. 217.
- Ma. (2004).** In Chaumeil, P. (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale et Forestière. Université de Henri Poincaré, Nancy I. France. 217.
- Majumder, A.L; Sengupta, S; Goswami, L. (2010).** Osmolyte regulation in abiotic stress. Chap. 16. Dans *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation*. Sous la direction de Pareek, A ; Sopory, S.K ; Bohnert, H ; Govindjee, J. 349-370.
- Mansour, M.M.F. (1998).** Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiol. Biochem.* 36(10): 767-772.
- Mayak, S; Tirosh, T; Glick, B.R. (2004).** Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* 42 : 565-572.
- Mazliak, P ; Côme, D ; Durand, B ; Jacques, R ; Penon, P ; Roland, J.Cl. (1982).** *Physiologie végétale : Croissance et développement II*. Paris, France. 241.
- Mehnaz, S ; Lazarovits, G. (2006).** Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. *Microb Ecol.* 51(3): 326-335
- Middleton, N.J; Thomoa, D.S.G. (1992).** *World atlas of desertification*. London: Edward Arnold.

- Miller, K.J; Wood, J.M. (1996).** Osmoadaptation by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 50 :101-136.
- Miransari, M. (2011).** Soil microbes and plant fertilization. *Appl Microbiol Biotechnol.* 92 : 875-885.
- Morot-Gaudry, J. (2009).** *Physiologie végétale : Croissance et développement II.* 2 ed. Paris, France. 241.
- Moulin. (2001).** In Silini, A. (2013). Effet des molécules osmoprotectrices sur la survie et l'activité de *Azotobacter* et sur la croissance du blé dur en milieu salin. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. 138.
- Munns, R. (2002).** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25(2): 239–250.
- Munns, R. (2005).** Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167(3): 645-663.
- Munns, R; Tester, M. (2008).** Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59(1): 651–681.
- Nabors, M. (2008).** *Biologie végétale structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies.* 3^e ed. Pearson. Paris, France. 614.
- Naczka, M; Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food, *J chromatograph.* 1054: 95-111.
- Naidu, B.P. (2003).** Production of betaine from Australian *Melanleuca* spp. for use in agriculture to reduce plant stress. *Aust. J. Exp. Agric.* 43(9): 1163-1170.
- Navarro, J.M; Flores, P; Garrido, C; Martinez, V. (2006).** Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stage. *Food Chem.* 96: 66-73.
- Neilands, J.B. (1993).** Siderophores. *Arch. Biochem. Biophys.* 302, 1–3. Parida, A; Das, A; Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *J. Plant Biol.* 45: 28-36.
- Neilands, J.B; Konopka, K; Schwyn, B; Coy, M; Francis, R; Paw, B.H. (1987).** Comparative biochemistry of microbial iron assimilation. In: *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals.* Winkelmann, G; van der Helm, D; Neilands, J. B. Weinheim: VCH-Verlagsgesellschaft. 3-33.
- Neilands, J.B; Leong, S.A. (1986).** Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 37: 187-208.

- Nieto, K.F; Frankenberger, W.T. (1989).** Biosynthesis of Cytokinins in Soil. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 53 (3): 735-740.
- O'Sullivan, D.J; O'Gara, F. (1991).** Regulation of iron assimilation: nucleotide sequence analysis of an iron-regulated promoter from a fluorescent pseudomonad. *Mol. Gen. Genet.* 228: 1-8.
- Parida, A.K; Das, A.B. (2005):** Salt tolerance and salinity effect on plants: review. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 60: 324-349.
- Paterson, E. (2003).** Importance of rhizodeposition in the coupling of plant and microbial productivity. *Eur : J. Soil Sci.* 54 : 741-750.
- Paul, E.A; Clark, F.E. (1989).** Soil microbiology and biochemistry. Academic, San Diego, CA.
- Paul, E.A; Clark, F.E. (1996).** Soil Microbiology and Biochemistry. 2^e ed. Academic Press, New York.
- Peng, Z ; Lu, Q ; Verma, D.P. (1996).** Reciprocal regulation of D1- pyrroline- 5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants. *Mol. Gen. Genet.* 253(3) : 334-341.
- Pesson, P. (1971).** La vie dans les sols. 6^e ed. Gauthier- Villars. Paris, France. 470.
- Phillips, J.R; Oliver, M.J; Bartels, D. (2002).** Molecular genetics of desiccation and tolerant systems. Dans *Desiccation and survival in plants: Drying without dying.* Sous la direction de M. Black et H. Pritchard. CAB International, *Mol. Gen. Genet.* 319-341.
- Piano, S; Neyrotti, V; Migheli, Q; Gullino, M.L. (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3) :131-140.
- Pichereau, V; Pocard, J.A; Hamelin, J; Blanco, C; Bernard, T. (1998).** Differential effects of dimethylsulfoniumpropionate, dimethylsulfonioacetate, and other S-methylated compounds on the growth of *Sinorhizobium meliloti* at low and high osmolarities. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 :1420–1429.
- Popov. (1995).** In **Parida, A.K; Das, A.B. (2005).** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60, 324–349.
- Rathinasapabathi, B. (2000).** Metabolic engineering for stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathways. *Ann. Bot. (Lond.).* 86(4): 709-716.
- Pradhan, N; Sukla, L.B. (2005).** Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *Afr. J. Biotechnol.* 5(10): 850-854.

- Prescott; Harley; Klein; Willey; Sherwood; Woolverton (2010).** Microbiologie. Bruxelles, France. 1137.
- R'him, T; Tlili, I; Hnan, I; Ilahy, R; Benali, A; Jebari, H. (2013).** Effet du stress salin sur le comportement physiologique et métabolique de trois variétés de piment (*Capsicum annum* l.). *J. Appl. Biosci.* 66: 5060-5069.
- Ramamoorthy, V; Viswanathan, R; Raghuchander, T; Prakasam, V; Samiyappan, R. (2001).** Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot.* 20:1-11.
- Ramos, B. (2005).** Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis *Lactarius deliciosus-Pinus* sp. *Microb. Ecol.* 50:82-89.
- Rangarajan, S; Loganathan, P; Saleena, L.M; Nair, S. (2001).** Diversity of pseudomonads isolated from three different plant rhizospheres. *J. Appl. microbiol.* 91 : 742-749.
- Rejili, M ; Neffati, N ; Mouhhamed, V. (2006).** Comportement germinatif de deux populations de *Lotus creticus*. L en présence du NaCl. *Revue des région Arides* n° 17. 65.
- Reyes, M.E.Q; Rohrbach, K.G; Paull, R.E. (2004).** Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 33(2):193-203.
- Rhodes, D; Nadloska-Orczyk, A; Rich, P.J. (2002).** Salinity, osmolytes and compatible solutes. Dans *Salinity: environmentplants- molecules*. Sous la direction de A. Lauchli et U. Luttge. Kluwer, Boston. 181-204.
- Riggs, P.J; Chelius, M.K; Iniguez, A.L; Kaeppler, S.M; Triplett, E.W. (2001).** Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Aust J Plant Physiol* 28:829-836.
- Rodri'guez-Di'az, M; Bele'n, R.G; Clementina, P.C; Maria Victoria, M; Jesu's, G. (2008).** A review on the taxonomy and possible screening traits of plant growth promoting rhizobacteria. In: Iqbal, A; John, P; Shamsul, H. *Plant-bacteria interactions. strategies and techniques to promote plant growth*. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim.
- Rodríguez, H; Fraga, R; Gonzalez, T; Bashan, Y. (2007).** Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil.* 287: 15-21.75
- Rodríguez, H; Fraga, R. (1999).** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Adv.* 17:319-339
- 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.

- Rush, D.W; Epstein, E. (1981).** Breeding and selection for salt-tolerance by incorporation of wild germplasm into a domestic tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106: 699-704.
- Ryan, R.P; Germaine, K; Franks, A; Ryane, D.J; Dowling, D.N. (2008).** Bacterial Endophytes: recent developments and applications. *FEMS. Microbiol. Lett.* 278: 19.
- Said, B; Abdelmajid, H. (2011).** Effet de stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *atriplex* Revue « *natures& technologie* ». N° 05/juin 2011
- Sairam, R.K; Tyagi, A. (2004).** Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.* 86 : 407-421.
- Salam, F (2004).** La salinité et la production végétale. Tunisie. 163.
- Sawada, H; Kuykendall, L.D; Young; J.M. (2003).** Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen fixing legume symbionts. *J. Gen. Applied Microbiol.* 49: 155-179.
- Serraj, R; fleurat Lessard, P; Jaillard, B; Drevon, J.J. (1995).** Structural changes in the inner-cortex of soybean root-nodules are induced by short-term exposure to high salt or oxygen contents. *Plant Cell Environ.* 18: 455-462.
- Shabala, S; Cuin, T.A. (2007).** Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol. Plant.* 133(4): 651-669.
- Shilev, S; Sancho, E.D; Benlloch-Gonzalez, M. (2010).** Rhizospheric bacteria alleviate salt-produced stress in sunflower. *J. Environ. Manage;* in press.
- Shinozaki, K; Shinozaki, K. (2002).** Important roles of drought- and cold inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 29(4): 417-426.
- Siddiqui, Z.A; Mahmood, I. (1999).** *Bioresource. Technology.* 69:167–179.
- Silini-Cherif, H; Silini, A; Ghoul, M; Yadav, S. (2012).** Isolation and characterization of plant growth promoting traits of rhizobacteria. *Pantoea agglomerans* Ima2. *Pakistan journal of biological sciences.* 15: 267-276.
- Silva-Ortega, C.O; Ochoa-Alfaro, A.E Reyes-Aguero, J.A; Aguado-Santacruz, G.A; Jimenez-Bremont, J.F. (2007).** Salt stress increases the expression of *p5cs* gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiol. Biochem.* 46(1): 82-92.
- Silva-Ortega, C.O., Ochoa-Alfaro, A.E., Reyes-Aguero, J.A., Aguado-Santacruz, G.A., and Jimenez-Bremont, J.F. 2007.** Salt stress increases the expression of *p5cs* gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiol. Biochem.* 46(1): 82– 92.
- Singh, S.M; Yadav, L.S; Singh, S.K; Singh, P; Singh, P.N; Ravindra, R. (2011).** Phosphate solubilizing ability of two Arctic *Aspergillus niger* strains. *Polar Research.* 30 : 7283.

- Singleton, P. (2004).** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. London. 542.
- Solano, B.R ; Maicas, J.B ; Gutierrez Manero, F.J. (2008).** Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). In: Ahmad, I; Pichtel, J; Hayat, S. Plantbacteria interactions, strategies and techniques to promote plant growth. Wiley, Weinheim.
- Stearns. (2005).** In Chaumeil, P. (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale et Forestière. Université de Henri Poincaré, Nancy I. France. 217.
- Stengel, P; Bruckler, L; Balesdent, J. (2009).** Le sol. Paris, France. 182.
- Streeter, J.G; Lohnes, D.G; Fioritto, R.J. (2001).** Pattern of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. Plant Cell Environ. 24(4): 429-438.
- Sturz, A.V; Christie, B.R. (2003).** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil Till. Res. 72:107-123.
- Sturz, A.V; Nowak, J. (2000).** Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. Appl Soil Ecol. 15 : 183-190.
- Su, J ; Chen, P.L; Wu, R. (1999).** Transgene expression of mannitol-1-phosphate dehydrogenase enhanced the salt stress tolerance of the transgenic rice seedlings. Sci. Agric. Sin. 32 :101-103.
- Sudhakar, P; Chattopadhyay, G.N; Gangwar, S.K; Ghosh, J.K. (2000).** Effect of foliar application of Azotobacter, Azospirillum and Beijerinckia on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). J Agric Sci. 134:227-234.
- Taji, T; Ohsumi, C; Iuchi, S; Seki, M; Kasuga, M; Kobayashi, M; Yamaguchi-Tejera, N.A; Ortega, E; González-López J; Lluch, C. (2003).** Effect of some abiotic factors on the biological activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. J. Appl. Microbiol. 95: 528-535.
- Tester, M; Davenport, R.J. (2003).** Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. Ann. Bot. (Lond.). 5: 503-527.
- Tilak, K.V.B.R; Rauganayaki, N; Manoharachari, C. (2006).** Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and Rhizobium on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). Europ. J. Soil Sci. 57 :67-71
- Timmusk S.N.S; Nicander, B; Granhall, U; Tillberg, E. (1999).** Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. Soil Biol. Biochem. 31:1847-1852.

- Tortora, G.J; Funke, B.R; Case, C.L. (2011).** Introduction à la microbiologie. 2^e ed. Pearson. Canada. 945.
- Tripathi, A. K; Mishra, B. M; Tripathi, P. (1998).** Salinity stress responses in the plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* sp. J. Biosci. 23: 463-471.
- Vaidyanathan. (1999).** In **Parida, A.K; Das, A.B. (2005).** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60: 324-349.
- Van Loon, L.C; Bakker, P.A; Pieterse, C.M. (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- 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 WCS417r. *Phytopathology.* 81: 728-734.
- Vernon, D.M; Tarczynski, M.C; Jensen, R.G; Bohnert, H.J. (1993).** Cyclitol production in transgenic tobacco. *Plant J.* 4(1): 199-205.
- Vessey, J.K. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil.* 255: 571-586.
- Voisard, C; Keel, C; Haas, D; Defago, G. (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO J.* 8: 351-358.
- WANG, Y; NIL, N. (2000).** Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J.Hortic. Sci. Biotechnol.* 75: 623-627
- Werner, D. (1992).** Symbiosis of plants and microbes. London: Chapman Hall.
- Whipps, J.M. (1990).** Carbon utilization. In: *The Rhizosphere.* Lynch J.M. Wiley Interscience, Chichester, UK. 59-97.
- Whipps, J. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp Bot.* 52: 487-511.
- Yancey, P.H. (1994).** Compatible and counteracting solutes. Dans *Cellular and molecular physiology of cell volume regulation.* Sous la direction de K. Strange. CRC Press, Boca Raton, Fla. 82-109.
- Yancey, P.H; Clark, M.E; Hand, S.C; Bowlus, R.D; Somero, G.N. (1982).** Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science,* 217(4566): 1214-1222.
- Yoshida, Y; Nanjo, T; Miura, S; Yamaguchi-Shinozaki, K; Shinozaki, K. (1999).** Stress-responsive and developmental regulation of Delta (1)-pyrroline -5-carboxylate synthetase 1

(P5CS1) gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 261: 766-772.

Zahir, Z.A; Arshad, M; Prankenberger, W.T. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy.* 81: 97-168.

Zhifang; Loescher. (2003). In Parida, A.K; Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.

Zhu, J.K. (2011). Plant salt stress. *Encyclopedia of life sciences.*

Zhu; Meinzer. (1999). In Parida, A.K; Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.

Zhuang, X.L; Chen, J; Shim, H; Bai, Z. (2007). New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environ Int.* 33 : 406-413.

ZID, E. (1982) : Relations hydriques dans la feuille de *Citrus aurantium* : effets de l'âge et de la salinité. *Rev. FAC.Sc. Tunis.* 2 : 195-205.

Annexe

Bouillon nutritif (BN) :

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Nacl	5g
Eau distillée.....	1000ml
pH=7	

Gélose nutritif (GN) :

Peptone	10g
Extrait de viande.....	3g
Extrait de levure.....	3g
NaCl.....	5g
Agar-agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml
pH=7	
1000ml	
pH=6,8	

Eau physiologique :

Eau distillée stérile	1000ml
Chlorure de sodium NaCl	9g