

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

Mlle.Elmeddah Nawal

Mlle.Kassous Amina

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES

THÈME

**Effet du stress salin sur la croissance
et la solubilisation du phosphate par
des rhizobactéries**

Soutenu publiquement le : 30/05/2016

DEVANT LE JURY

Président	DJIBAOU I R.	M.C.AU. Mostaganem
Encadreur	BOUZNAD A.	M.C.B U. Mostaganem
Co-encadreur	CHIBANI H.R.	Doctorante U.Mostaganem
Examineur	MEKHALDI A.	Pr. U. Mostaganem

Le phosphore est un élément essentiel entrant dans la constitution de toutes les cellules vivantes, c'est un nutriment indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Il joue un rôle important dans le transfert d'énergie nécessaire à la croissance et l'amélioration de la productivité des végétaux. Il se trouve dans l'environnement sous organique et inorganique. **(Khan et al., 2010)**

Son contenu dans le sol ne dépasse généralement pas les 0.12%, seulement 0.1% de ce P total existe sous la forme inorganique soluble facilement assimilable par les plantes **(Goldstein, 1994)**.

La salinité du sol est considérée comme un facteur de stress réduisant la diversité des microbes en affectant leurs fonctions et leurs activités **(Moradiet al., 2011)**, De façon générale, les taux élevés de salinité inhibent la croissance de nombreuses bactéries du sol **(Polonenko et al., 1986)**. A fin qu'il réduit significativement l'absorption des nutriments des plantes, en particulier l'absorption de phosphate, qui se précipite avec les ions Ca dans les sols salins **(Grattan et Grieve, 1999)**.

Les bactéries solubilisant le phosphate, PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour augmenter la disponibilité du P aux plantes par minéralisation du P organique du sol et par solubilisation des phosphates précipités **(Kuceyet al., 1989; Pradhan et Sukla, 2005)**. La capacité de ces micro-organismes à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important à la promotion de la croissance des plantes par les rhizobactérie. l'utilisation des bactéries favorisant la croissance végétale (PGPR) peut se révéler utile dans l'élaboration de stratégies pour faciliter la croissance des plantes dans des sols salins **(Mayaket al., 2004; Kohleret al., 2009)**.

L'adaptation des PGPR aux fortes concentrations en sel est due à leur faculté de synthèse ou de transport à partir du milieu externe des solutés compatibles ou d'osmoprotecteurs. Ceux-ci ont pour rôles d'osmorégulation et protection cellulaire contre divers types de stress abiotique. **(Rhodes et Hanson, 1993)**.

L'objectif de notre présente étude Consiste à l'évaluer de l'effet de stress salin en utilisant différentes concentration de NaCl sur la croissance et la solubilisation de phosphate par des rhizobactéries solubilisant le phosphate isolées du sol salin.

Nous avons divisé notre travail en deux grandes parties :

La première partie, est consacrée à une étude bibliographique ou un bref rappel comporte deux chapitres, dans le premier chapitre nous avons rassemblé l'essentiel des recherches effectuées sur les microorganismes solubilisant le phosphate et le mécanisme de solubilisation. Le deuxième chapitre donne un aperçu sur la salinité et son effet sur les PGPR, ainsi que la tolérance de ces bactéries au stress salin.

La seconde partie est une partie pratique qui est divisée en deux principaux chapitres : le premier est réservé au matériel et méthodes pour expliquer les conditions expérimentales dans lesquelles est réalisée notre essai ainsi que les différentes méthodes d'analyses utilisés. En fin un dernier chapitre qui représente les différents résultats obtenus et leur discussion allant à une conclusion générale.

Partie 1 :
Synthèse
Bibliographique

Chapitre I :

Le Phosphore

1. Généralités sur le phosphore

La découverte du phosphore remonte à 1669 par l'alchimiste hambourgeois Henning Brandt (1669).c'est probablement le seul élément isolé initialement dans de la matière organique animale, puis végétale, le phosphore est le 11eme élément par ordre d'abondance dans les roches crustales et le 15^{ème} dans la classification périodique des éléments (**Bernard, 1994**).

Le Phosphore (P) est un élément essentiel de tous les organismes vivants. Chez les végétaux, il joue un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques comme la croissance, la photosynthèse et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (**Lindsay, 1979**). Il entre dans la composition des acides nucléiques et donc dans la composition de l'ADN où est inscrit le code génétique, ainsi que dans celle de l'ARN qui permet la transcription de l'information génétique en protéines. Il est impliqué dans les transferts d'énergie à l'intérieur des cellules par l'intermédiaire de molécules telles que l'ATP. Il entre dans la composition des phospholipides qui contrôlent la stabilité et les propriétés des membranes cellulaires (**Marschner, 1995**).

Bien que le contenu en P total « inorganique et organique » des sols ne dépasse généralement pas les 0.12%, seulement 0.1% de ce P total existe sous la forme inorganique soluble facilement assimilable par les plantes (**Goldstein, 1994**). Il peut exister sous plusieurs formes comme les phytates et polyphosphates faiblement biodisponibles et formant des complexes avec des cations, à l'origine de certaines limitations en minéraux importants pour la nutrition des plantes (**Dalal, 1977**).

1.1. Les différentes formes de phosphore dans le sol

Les formes du phosphore dans le sol sont multiples et variées, La présence de chacune de ces formes dépend des conditions d'acidité, d'alcalinité ainsi que de l'activité biologique du sol considère. Une première approche, permet d'identifier les formes suivantes :

1.1.1. Le Phosphore total

Les plus grandes parties du P sont liés à la phase solide du sol, sous forme minérale ou organique l'importance relative de ces compartiments varie selon le type d'écosystème.

Dans le sol cultivés de longue date, environ 3/4du P du sol est sous forme minérale et 1/4 est sous forme organique (**Michel et al ., 2011**).

La quantité de phosphore présente dans un sol est donc la conséquence directe de la richesse de la roche mère. Mais la connaissance de cette quantité ne donne qu'une indication très imparfaite sur l'aptitude du sol à fournir du phosphore aux végétaux et à satisfaire leurs exigences (**Peredacampos, 2008**).

1.1.2. Le phosphore minéral

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

1.1.2.1. Phosphore peu soluble « précipité »

Ces composés sont représentés généralement par les phosphates calciques (P-Ca), les phosphates de fer (P- Fe) et d'aluminium (P - Al) et les Fluorapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) sont les formes les plus couramment rencontrées sous forme de minerai et de composé de la plupart des sols cultivés (**Hountin, 1996**).

1.1.2.2. Phosphore échangeable

Ce sont les ions phosphoriques adsorbés sur le complexe du sol ; ils participent aux échanges constants (sol-solution) et constituent l'essentiel du «pool alimentaire » des plantes (**Fardeau, 1991**).

Les phénomènes d'adsorption et de désorption présentent des cinétiques rapides par rapport aux réactions de précipitation ou de dissolution ; pour cette raison, ils contrôlent les concentrations de phosphore dans la solution du sol et par conséquent, sa mobilité et sa biodisponibilité (**Razi, 2006**).

1.1.3. Le phosphore organique

On retrouve ces composés dans la matière organique fraîche et l'humus. Dans les sols cultivés de longue date, sa proportion varie entre 25 et 30 % du phosphore total (**Fardeau, 1993**), les principales formes organiques sont la phytine, les nucléoprotéines, les acides nucléiques, les phospholipides et les sucres phosphorylés (**Mortensen et Himes, 1964**).

1.1.4. Phosphore assimilable

Ces les fractions du phosphore absorbé facilement par la plante .Les végétaux absorbent le phosphore sous différentes formes anioniques : PO_4^{-3} , HPO_4^{-2} , $\text{H}_2\text{PO}_4^{-4}$. certains de ces anions se trouvent dans la solution du sol, d'autres sont adsorbés sur les surfaces externes des minéraux argileux, Les anions adsorbés sont rapidement mobilisables vers la solution du sol. Cette quantité de phosphore assimilable est très variable selon la période de temps considérée comme nécessaire pour alimenter la plante (**Pierzynski *et al.*, 2000**).

1.2. Cycle biogéochimique du phosphore dans le sol

Au contraire du carbone et de l'azote. Qui peuvent être tirés de l'atmosphère. Le phosphore ne peut provenir que de la désagrégation des roches qui contiennent du phosphate (**Cohen *et al.*, 2010**).

La dynamique du phosphore (P) dans les écosystèmes cultivés est représentée par un cycle biogéochimique (Figure.1) qui intègre les réserves et les mécanismes de transformation du P dans le sol, et les différents flux impliqués dans le transfert du P vers les compartiments de l'écosystème.

Le P peut être ajouté au sol sous forme d'engrais minéraux ou de ferme « fumier, lisiers », d'amendements organiques « composts, boues d'épuration, biosolides papetiers », ou de résidus de cultures. Dans le sol, le P existe sous différentes formes qui interagissent via différents mécanismes physico-chimiques, biologiques et biochimiques impliquant des réactions d'adsorption et de désorption, de précipitation et de dissolution, de minéralisation et d'immobilisation (Figure 01). Le cycle biogéochimique du P inclut aussi des flux de P sous forme de prélèvements par les plantes, et des pertes par érosion, ruissellement de surface et de profondeur, lessivage et drainage (**Kleinman *et al.*, 2009; Haygarth *et al.*, 1998**).

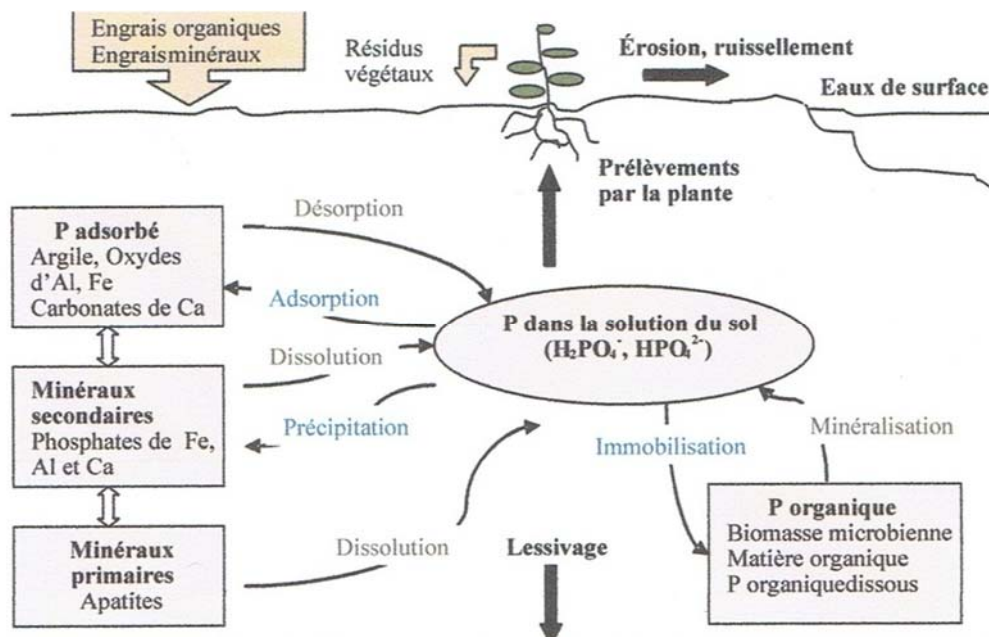


Figure 01 : cycle du phosphore dans le sol (adapté du pierzynski *et al.*, 2005).

1.3. Le transport de phosphore dans la plante

Lors de son prélèvement par une plante, le Pi doit affronter deux obstacles. D'une part, il doit être transféré contre un gradient de concentration puisqu'il est présent à des concentrations comprises entre 0.01 et 0.1mM dans les solutions de sols agricoles, alors que dans les cellules de la racine sa concentration atteint des valeurs comprises entre 5 et 20 mM (Raghothama, 1999).

D'autre part, Pi doit être transféré contre un gradient électrochimique puisque, comme la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, Pi sont chargés négativement « le Pi est présent sous la forme de H_2PO_4^- ou HPO_4^{2-} dans la solution du sol ». Pour résoudre ce problème, les plantes prélèvent leur Pi par l'intermédiaire de protéines de type H^+ -ATPase qui permettent le Co-transport de H^+ et de Pi depuis le milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule. Trois types de transporteurs ont été identifiés : Pht1, Pht2 et Pht3.

Les transporteurs de type Pht1 sont divisés en trois sous-groupes, i) ceux exprimés dans les parties aériennes et dans les racines, ii) ceux exprimés spécifiquement au niveau des cellules du rhizoderme et dans les poils absorbants lorsque la plante souffre de carence en Pi et iii) ceux exprimés dans les cellules du cortex racinaire au contact desquelles se développent les arbuscules des champignons endomycorhiziens (Rausch et Bucher, 2002 ; Rausch *et al.*, 2001).

Le prélèvement de Pi par la racine entraîne l'apparition d'une zone de déplétion au voisinage de la racine, dans laquelle la concentration en Pi en solution est beaucoup plus faible que celle observée dans la solution du sol éloignée de la racine. (**Huguenin-Elie et al., 2003**), puisque cet ion est très fortement adsorbé sur les particules de sol. Une fois dans les cellules de la racine, le Pi peut être soit utilisé dans le métabolisme cellulaire, soit être perdu par efflux vers l'apophase, ou alors être transporté par voie symplasmique dans le xylème. Le Pi est alors véhiculé vers les parties aériennes avec le flux évaporatif, puis il est transporté vers l'intérieur des cellules foliaires ou des tiges pour participer à leur métabolisme. Le Pi, ainsi que des formes organiques de P, peuvent ensuite être transférés dans le phloème et transportés vers d'autres organes non transpirants. (**Rausch et Bucher, 2002**).

1.4. Rôle du phosphore dans la plante

Le phosphore joue également plusieurs rôles dans la vie des plantes. Il est considéré comme un constituant essentiel des chromosomes, il intervient partout où il y a multiplication cellulaire d'où l'importance du phosphore dans les phénomènes de croissance et de reproduction. Il joue également un rôle déterminant dans le transfert d'énergie, il est indispensable à la photosynthèse et aux processus chimico-physiologiques de la plante (**Lambert, 1979**). Le phosphore participe aussi dans les fonctions suivantes :

- Maturation des grains : Pour les céréales, des teneurs élevées en phosphore réduit le temps de maturité et donne une paille plus solide.
- Formation des graines nécessite du phosphore : des quantités importantes de phosphore sont stockées dans les semences.
- Stimulation de la croissance des racines : Un apport localisé de phosphore (et nitrate) entraîne une prolifération des racines dans cette zone. Par contre, on a constaté moins de réponse de la racine à des apports localisés de potassium ou d'ammonium.

Il a été montré que le phosphore améliore la réponse de plusieurs cultures à la fertilisation azotée, surtout les céréales. Pour que les plantes utilisent le supplément d'azote (par exemple pour la synthèse des protéines ou de la chlorophylle), elles ont besoin de plus de phosphore pour fournir l'ATP nécessaire (**Moughli, 2000**).

En liaison avec les apports d'azote et de potasse, la fumure phosphatée favorise la résistance au froid des végétaux en permettant d'y accroître la concentration du suc cellulaire (Gervy, 1970).

Une bonne nutrition phosphatée se traduit par des effets de précocité qui réduisent les risques de gelées auxquelles divers cultures sont exposées, en arrière-saison. La participation du phosphore dans tous les processus de croissance, de synthèse et de mise en réserve explique la permanence de son rôle au cours des stades successifs de la vie végétale et fait comprendre son action bien connue sur la précocité (Gervy, 1970).

2. La solubilisation des phosphates insoluble

Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol (Tardieux-Roche, 1966a; Richardson, 2001). En effet, on trouve dans les sols un nombre important de microorganismes du sol, incluant des bactéries, des champignons et des algues (Berthelin *et al.*, 1991; Goldstein, 1986; Kim *et al.*, 1997; Oehl *et al.*, 2001; Sundara *et al.*, 2002). Bien que ces microorganismes soient généralement liés à la surface des particules de sol, c'est surtout au niveau de la rhizosphère que leur activité est la plus élevée (Andrade *et al.*, 1998; Kluepfel, 1993; Marschner *et al.*, 1997).

2.1. Bactéries solubilisant le phosphore (BSP)

Bactéries solubilisant phosphate BSP sont un groupe des bactéries utiles capables d'hydrolyser phosphore organiques et inorganique en formes accessible, et sont fréquentes dans la rhizosphère (Chen *et al.*, 2006), Le phosphore est un facteur limitant important dans la production agricole et la croissance mais dans le sol la plupart du P n'est pas disponible pour les plants une grande quantité se trouve sous formes organiques et inorganiques donc les BSP peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (Dobbelaere *et al.*, 2003). *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus* spp. *Bradyrhizobium* spp. *Entérobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium* spp sont des exemples de bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et l'acide 2- céto gluconique. Elles sont aussi capables de minéraliser le phosphate organique par l'excrétion des enzymes extracellulaires telles les phosphatases, les phytases (Kim *et al.*, 1998 ; Weyens *et al.*, 2010).

Les connaissances de la génétique de la solubilisation du phosphate sont encore rares, et les études au niveau moléculaire afin de comprendre comment précisément la PSM fait ressortir la solubilisation de P insoluble ne sont pas concluants (**Rodriguez *et al.*, 2006**). Cependant, certains gènes impliqués dans la solubilisation du phosphate minéral et organique ont été isolés et caractérisés. Les premières réalisations dans la manipulation de ces gènes par le génie génétique et la biotechnologie moléculaire suivie par leur expression dans des souches rhizobactérienne sélectionnés ouvrent une perspective prometteuse pour l'obtention de souches MSP avec le renforcement de la capacité de solubilisation du phosphate, et donc une utilisation plus efficace de ces microbes comme inoculant agricoles (**Fraga *et al.*, 2001**). Une augmentation de l'activité de la phosphatase extracellulaire de la souche recombinante a été obtenue.

2.2. Mécanismes de solubilisation microbienne

La solubilisation microbienne du phosphore peut résulter : 1° soit de réactions entre les phosphates insolubles et les produits de métabolisme microbien qui s'accumulent en dehors des cellules ; 2° soit de l'assimilation par les microorganismes telluriques des phosphates insolubles suivie d'une libération dans le sol de produits phosphorés facilement utilisables par les plantes.

2.2.1. Solubilisation microbienne directe

Les microorganismes synthétisent des substances qui agissent à la fois par abaissement du pH et par chélation des cations responsable de la fixation du phosphate (**Whitehead, 1963 ; Hu, 2005**).

Les phosphates de calcium solubilisés par toutes sortes d'acides, les phosphates de fer et l'aluminium sont solubilisés seulement par les acides qui séquestrent les cations Fe^{+3} et Al^{+3} ; l'acide le plus actif est l'acide citrique suivi des succinique, malique, oxalique, tartrique et lactique (**Swaby et Sperber, 1958**).

2.2.2. Solubilisation microbienne succédant à immobilisation transitoire

Certaines espèces microbiennes sont capables d'assimiler directement les phosphates insolubles ; elles accumulent en partie sous forme minérale (polyphosphates), et en partie sous forme organique. Le phosphore ainsi immobilisé transitoirement dans les cellules

microbiennes est ensuite libéré dans le sol suivant divers mécanismes qui mettent à la disposition des plantes :

1- Des ions ortho phosphoriques provenant soit des polyphosphates, soit de la dégradation (par les phosphatases du sol) des molécules phosphatés.

2-certains complexes phosphorés organiques pouvant pénétrer dans le végétal dans le végétal sans minéralisation préalable (**Tardieux- roche, 1966a ; Richardson, 2001**).

2.3. Facteurs influençant la solubilisation des phosphates inorganiques

Pour que le phosphate naturel puisse servir de source de phosphore et optimiser la croissance des plantes, il faut que ses conditions d'utilisation en application directe, ou sous forme acidulée, favorisent sa dissolution (**Bationo et al., 1998; Toro et al., 1998**). Ces conditions sont celles qui stimulent l'activité microbienne (**Germida et Jansen, 1993**).

2.3.1. pH

La microflore solubilisant les phosphates est dans son ensemble peu sensible au facteur pH. A toutefois remarqué une légère influence favorable des pH élevés (7.8 à 7.9) sur cette microflore. (**Tardieux-Roche, 1966b**). Chaque espèce microbienne a des limites propres de pH entre lesquelles elle est active. Un pH du sol et principalement de la rhizosphère relativement faible favorise l'activité des microorganismes dissolvant les phosphates inorganiques (**Hedley, 1990**). Ainsi, Engelstad *et al.*, (1974), ont montré, suite à une expérience aux champs, que le pH du sol a un faible effet sur la réponse du riz au superphosphate triple; cependant, l'efficacité des phosphates naturels dépend du pH.

2.3.2. Hydromorphie

En milieu hydromorphe, les teneurs en acides organiques peuvent être élevées dans l'ensemble du sol et non seulement à l'intérieur de micro habitats. C'est à l'abondance des acides organiques d'origine microbienne qu'attribue l'accroissement de la solubilisation du phosphate ferrique par des résidus végétaux se décomposant en anaérobiose (**Hyland et al., 2005**).

2.3.3. Matière organique

La teneur du sol en matière organique humifiée est sans effet sur la densité des microorganismes solubilisant les phosphates. Par contre, la matière organique fraîche s'avère favorable à la prolifération de ces microorganismes, puisqu'elle induit une activation de la solubilisation. (**Tardieux-Roche, 1966b**)

Chapitre II :

Stress Salin

1. Généralité sur la Salinisation et salinité des sols

1.1. Définition de la salinisation

La salinisation est un processus d'accumulation de sels à la surface du sol et dans la zone racinaire qui occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol, il s'en suit une diminution des rendements, et à terme, une stérilisation du sol (**Mermoud, 2006**).

Les causes techniques les plus importantes à l'origine de la diminution de la production sur de nombreux périmètres irrigués, particulièrement dans les zones arides et semi-arides. Il est estimé, à partir de diverses données disponibles que : Le monde perd au moins 3 ha de terres arables chaque minute à cause de la salinité du sol (**IPTRID, 2006**).

1.2. Définition de la salinité des sols

La salinité représente la quantité des sels minéraux qui se trouvent dissouts dans la solution du sol. Pour un même sol, elle varie avec la teneur en eau et avec la température.

La phase liquide du sol, comme toute eau arrivant au sol, est caractérisée par la contenance des sels spécifiques. La distribution des ions entre la solution du sol et la phase solide est gouvernée par les propriétés d'échange de la phase solide et contrôlée par le processus d'échange ionique. Dans les zones arides et semi-arides, l'examen chimique de la solution extraite du sol révèle l'existence de Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} et NO_3^- comme principaux composants (**Barbouchi et al., 2013**).

1.3. Les causes de la salinisation des sols

Elle est présente en deux origines, une naturelle et affecte 80 % des terres salinisées, dites salinisation primaire. La seconde est provoquée par des interventions humaines, liée fréquemment à des pratiques agricoles inappropriées et appelée salinisation secondaire (**IPTRID, 2006**).

1.3.1. La salinisation primaire

Elle se produit naturellement là où la roche mère du sol est riche en sels solubles ou bien en présence d'une nappe phréatique proche de la surface (**Rengasamy, 2002**). Dans les régions arides et semi-arides, où les précipitations sont insuffisantes pour lixivier les sels solubles du sol et où le drainage est restreint, des sols salins vont se former avec des concentrations élevées de sels «les sols salinisés» (**FAO, 2005**).

1.3.2. La salinisation secondaire

Elle se produit lorsque des quantités significatives d'eau chargée de sels sont apportées par irrigation. Qui peut être une cause humaine (**Munns et al., 2006**). En effet, 20 % des terres irriguées ont des problèmes de salinités. Lorsque l'irrigation est trop abondante pour être absorbée par les racines des plantes, le sol est humidifié en profondeur, permettant au sel de remonter à la surface (**Pitman et Läuchli, 2004**). Sans réseau de drainage adéquat pour la lixiviation et l'élimination des sels, ces apports entraînent une augmentation de la teneur en sels des sols, ce qui diminue leur productivité. La capacité des cultures capter l'eau et les micronutriments est réduite. Des ions toxiques se concentrent dans les végétaux et peuvent dégrader la structure du sol (**FAO, 2005**).

2. Notion de stress

On appelle stress toute pression dominante exercée par un paramètre, perturbant le fonctionnement habituel de la plante. Par ailleurs, la réponse du végétal dépend, entre autres, de ces paramètres environnementaux, (le type de contrainte, son intensité et sa durée) et génétiques (espèce et génotype) (**Hopkins, 2003a**).

Selon Dutuit *et al.*, (1994), le stress est le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant, par exemple par une carence.

Le stress est un ensemble de conditions qui provoquent des changements de processus physiologiques résultant éventuellement en dégâts, dommages, blessures, inhibition décroissance ou de développement. D'après Jones *et al.*, (1989): C'est une force ou influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner.

Au niveau cellulaire, un stress est causé par la variation d'un paramètre environnemental qui entraîne la mise en place des mécanismes de régulation de l'homéostasie. Les organismes sont généralement soumis à deux types de stress : les stress biotiques (dus à une agression par un autre organisme) et les stress abiotiques (qui sont dus principalement à des facteurs environnementaux) (**Bouزيد, 2010**).

2.1. Le stress biotique

Il est dû à l'interaction de la plante avec d'autres organismes comme les champignons, les insectes, les bactéries, les virus et les animaux. Ces organismes pathogènes infectant les

végétaux et particulièrement les cultures maraîchères vont affecter la croissance et le rendement et peuvent être à l'origine de leur mort (**Ben hassena, 2009**).

2.2. Le stress abiotique

Il est dû principalement à des facteurs environnementaux comme la sécheresse, les températures extrêmes, excès d'eau (asphyxie racinaire), la salinité... ets, qui est la principale cause de limitation de la production agricole dans le monde. Il se traduit par des modifications au plan morphologique, physiologique, biochimique et moléculaire qui réduisent la croissance et la productivité. (**Serrano et al., 1999**). On peut citer quelques types des stress abiotiques qui peuvent affecter les végétaux :

2.2.1. Le stress salin

Est un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions Na^+ et Cl^- (**Hopkins, 2003b**). Le stress salin est dû à la présence de quantités importantes de sels potentiels hydriques. Il réduit fortement la disponibilité de l'eau pour les plantes, on parle alors de milieu (physiologiquement sec) (**Trembun, 2000**). La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter sans grand dommage pour leur culture, varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées (**Levigneron et al., 1995**).

Ces mêmes auteurs précisent que, les conséquences d'un stress salin peuvent résulter de deux types d'effets que le sel provoque chez les plantes :

2.2.1.1. Le stress hydrique

Une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol (**Hopkins, 2003b**).

2.2.1.2. Le stress ionique :

L'un des effets de la salinité réside dans le déséquilibre nutritif qui s'installe suite à une perturbation du transport des solutés. En effet, la salinité limite l'absorption et le transport de K^+ , Ca^{+2} et d'autres nutriments nécessaires à la croissance comme le PO_4^- et NO_3^- (**Ballestros et al., 1997**). Un déséquilibre nutritionnel des ions essentiels a été noté pour les éléments majeurs tels que NO_3^- , K^+ et Ca^{+2} chez l'orge et chez le blé dur (**Klay, 2003**). Cette

limitation résulte d'une compétition entre les fortes concentrations de Na^+ avec K^+ et Ca^{2+} et à celle de Cl^- avec NO_3^- et PO_4^- (Davenport *et al.*, 2000).

3 .Conséquences de la salinité sur 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 (El Mekkaoui, 1990 ; Boukachabia, 1993) et d'une manière générale la hauteur, le diamètre des tiges des différentes espèces, ainsi que la grosseur des fruits, diminuent d'une façon importantes avec l'augmentation de la salinité : c'est le cas de riz et de la pomme de terre (Khan *et al.*, 1997) .

4. Les rhizobactéries dans les sols salins

Dans leur habitat naturel, les micro-organismes sont fréquemment exposés à des variations de pression osmotique du milieu environnant. En effet, la salinité élevée du sol peut interférer avec la croissance et l'activité des bactéries. Une diminution de celle-ci dans les sols salins conduit à une accumulation de la matière organique non dégradée, ce qui agit négativement sur la disponibilité des nutriments nécessaires à la croissance végétale (Zahran, 1997). Une augmentation brusque de l'osmolarité du sol modifie la disponibilité de l'eau à la cellule. L'abaissement de l'activité de l'eau extérieure a pour conséquence de modifier le volume cellulaire. Elle modifie aussi la pression de turgescence qui constitue la force mécanique nécessaire à l'élongation de la cellule durant la croissance (Csonka, 1989).

La membrane cytoplasmique des bactéries est perméable à l'eau mais constitue une barrière efficace vis-à-vis des solutés du milieu et des métabolites présents dans le cytoplasme (Csonka, 1989). La circulation des molécules d'eau à travers cette bicouche lipidique est accélérée par la présence de canaux dits aqueux (Kempf et Bremer, 1998). Si les bactéries n'ont aucun moyen de répondre ou de s'adapter à l'augmentation de la force ionique (Na^+ , Cl^-) dans le sol, le flux rapide de l'eau vers l'extérieur conduira à la plasmolyse cellulaire (Le Rudulier *et al.*, 2002).

5. La tolérance des rhizobactéries vis-à-vis le stress salin

Les rhizobactéries sont capables de s'adapter à des conditions défavorables et d'améliorer la croissance des plantes dans des milieux à forte osmolarité. Elles ont développé des mécanismes moléculaires leur permettant de survivre et de croître avec l'augmentation de la salinité :

5.1. Les solutés compatibles

Les micro-organismes réagissent au stress osmotique essentiellement par accumulation de solutés, comme « solutés compatibles». Ils peuvent être accumulés à des taux élevés ou transportés sans interférence avec les processus vitaux de la cellule. En fait, de nombreux solutés compatibles se sont avérés des stabilisateurs efficaces des enzymes. Ils fournissent une protection cellulaire non seulement contre les teneurs élevées en sel mais aussi contre les hausses de température, le gel-dégel et la dessiccation (**Yancey *et al.*, 1982**). Ces osmolytes sont accumulés soit par absorption à partir de l'environnement (osmolytes exogènes) ou par la biosynthèse *de novo* (osmolytes endogènes). Les cellules bactériennes peuvent synthétiser (une partie) des solutés compatibles à la suite d'un choc osmotique et les dégrader à la suite d'une réduction de la pression osmotique externe. Cependant, elles peuvent, en guise de réponse précoce et plus rapide, accumuler ou libérer dans le milieu extérieur ces solutés par l'intermédiaire de systèmes de transport spécifiques responsables de l'osmorégulation (systèmes d'efflux spécifiques et aquaporines).

Certains sont largement répandus dans la nature tandis que d'autres semblent être exclusivement présents dans des groupes spécifiques d'organismes (**Galinski, 1995**). Ces solutés sont des acides aminés (par exemple, le glutamate et la proline), des dérivés d'acide aminé (peptides et acides aminés N-acétylés), les amines quaternaires (par exemple, la glycine-bétaïne et la carnitine), les sucres (par exemple, le saccharose et le tréhalose), et les tétrahydropyrimidines (ectoïnes) (**Galinski et Truper, 1994**).

5.1.1. La proline

La proline étant un soluté compatible important, elle joue un rôle crucial dans l'osmorégulation et l'osmotolérance (**Rhodes et Hanson, 1993; Hasegawa *et al.*, 2000**). Dans les conditions de stress hydrique, la cellule entraîne une accumulation élevée de la proline endogène et pourrait donc constituer une approche efficace pour atténuer les effets néfastes de la dessiccation. En plus de son rôle dans l'ajustement osmotique, elle protège les

enzymes, les structures des protéines et les membranes des organites. Elle fournit également de l'énergie pour la croissance et la survie de la plante (**Chandrasekhar et Sandhyarani, 1996; Ashraf et Foolad, 2007; Hoque et al., 2007**).

5.1.2. Le tréhalose

Le tréhalose est un disaccharide non-réducteur. Il joue un rôle important dans la protection des différents organismes contre divers types de stress y compris la dessiccation, l'oxydation, la congélation, la chaleur et l'hyperosmolarité (**Bremer et Kramer, 2000**). La synthèse du tréhalose en réponse au stress osmotique externe est régulée par l'accumulation de K⁺-glutamate (**Kempf et Bremer, 1998**). Chez *E. coli* le tréhalose exogène est utilisé comme source de carbone et d'énergie et non pas comme osmoprotecteur (**Strom et Kaasen, 1993**). Plusieurs microorganismes accumulent le tréhalose : *Azotobacter chroococum*, *E. coli* et *Salmonella thyohimirium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhizobium meliloti* (**Talibart et al., 1997 ; Bremer et Kramer, 2000**) .

5.1.3. La glycine bêtaïne (GB)

C'est un osmolyte commun des algues et des plantes (halophytes) qui fonctionnent comme des osmoprotecteurs exogènes pour de nombreuses espèces bactériennes dont *E. coli* et *B. subtilis* (**Ghoul et al., 1990; Pichereau et al., 1998**). La GB fournit une preuve substantielle à l'appui de ce concept. Elle est synthétisée par quelques micro-organismes et est activement transportée et accumulée par une grande variété de cellules (**Csonka et Hanson, 1991**).

5.1.4. Les tétrahydropyrimidines (ectoïnes)

L'ectoïne est un soluté compatible synthétisé par de nombreuses bactéries halotolérantes. Elle agit comme un puissant osmoprotecteur pour *Escherichia coli* et *Sinorhizobium meliloti* mais affiche des comportements très contrastés chez ces deux bactéries. L'ectoïne est retrouvée à de fortes concentrations intracellulaires chez les entérobactéries mais n'est pas détectée dans les cellules stressées de *S. meliloti* (**Talibart et al., 1997**).

5.2. L'ACC désaminase (Aminocyclopropane-1-carboxylate)

Comme réponse à la salinité, la sécheresse et la température, les bactéries produisant une ACC désaminase stimulent la croissance des plantes par la régulation de la production massive d'éthylène. La bactérie réduit la production d'éthylène dans les plantes après exposition à des concentrations croissantes de sel. Cependant, la teneur en sodium de la plante n'a pas diminué alors que l'absorption de phosphore et de potassium a été légèrement augmentée, ce qui a contribué en partie à l'activation des processus impliqués dans la réduction de l'effet néfaste du sel (**Cheng *et al.*, 2007**).

5.3. Exopolysaccharides (EPS)

Les bactéries produisent des exopolysaccharides bactériens (EPS) qui se lient à différents cations. Ils diminuent la teneur en Na⁺ disponibles contribuant ainsi à alléger le stress salin chez les plantes (**Ashraf *et al.*, 2004**). Ainsi, ils augmentent nettement la tolérance de la plante en abaissant la concentration de sodium et par conséquent le rapport Na⁺/K⁺ (**Han et Lee, 2005**). Les EPS bactériens protègent aussi les bactéries de la dessiccation en modifiant leur microenvironnement (**Roberson et Firestone, 1992**).

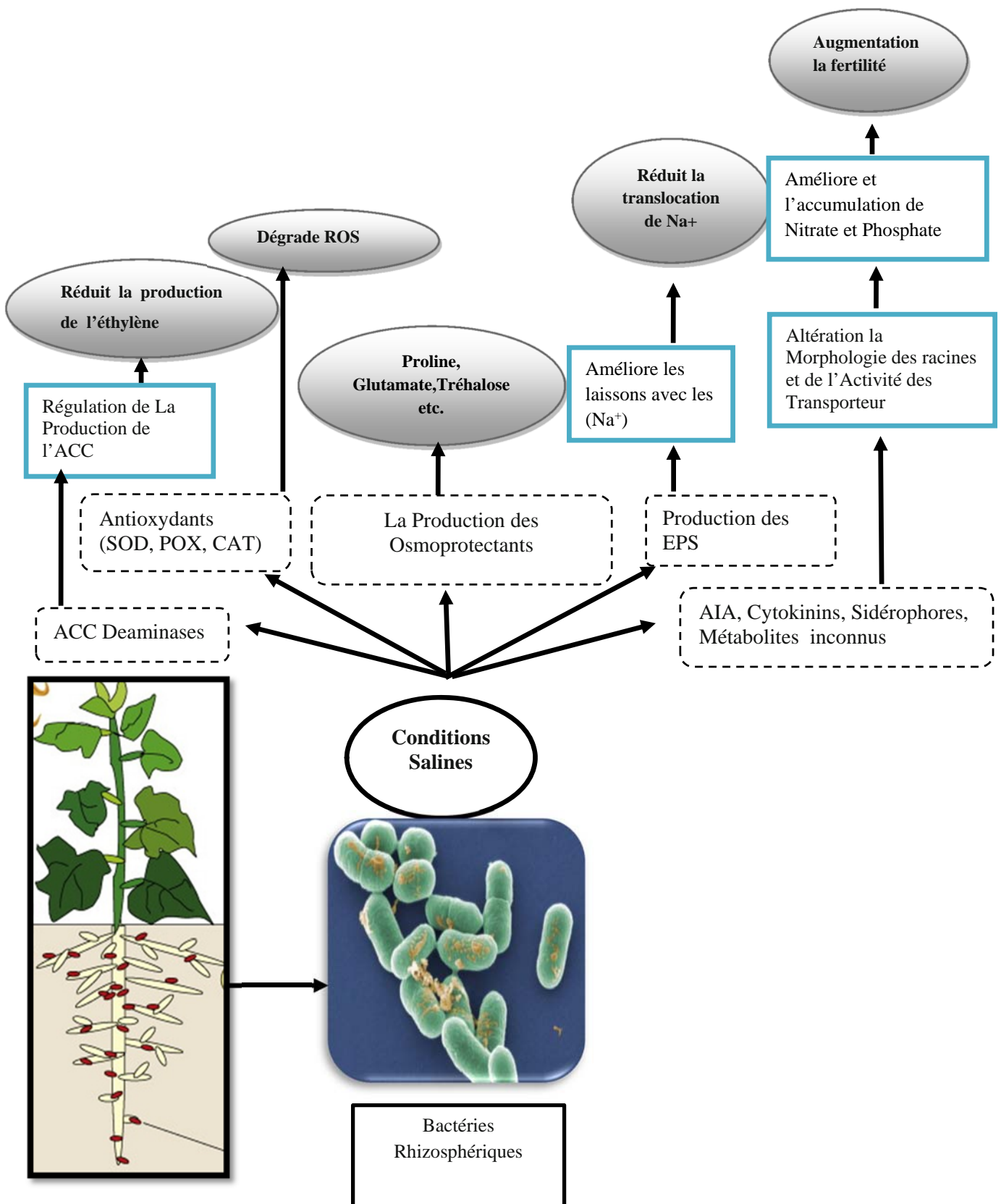


Figure 02 : Augmentation de la tolérance et la survie des plantes induite par les rhizobactéries en milieu salin (Ashraf *et al.*, 2008).

Partie 2 :
Etude
Expérimentale

Chapitre I :

Matériels

Et

Méthodes

Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet du stress salin en utilisant différentes concentrations de NaCl sur la croissance des rhizobactéries et étude de l'effet de la salinité sur la capacité de ces rhizobactéries à solubiliser le phosphate insoluble.

1. Matériels

1.2. Site d'étude

L'étude de « l'effet de stress salin sur la solubilisation du phosphate par des rhizobactéries » a été réalisée au laboratoire de microbiologie N°01 de recherche de l'université « ABDLHAMID IBN BADIS » de Mostaganem.

1.3. Les isolats bactériens utilisés

Les isolats bactériens utilisés dans cette étude sont des bactéries solubilisant le phosphate isolées du sol salin depuis la rhizosphère des plantes de blé. Ces isolats sont en nombre de 5 :R₁, R₂, R₃, R₄, R₅.

2. Méthodes

2.1. Solubilisation du phosphore

2.1.1. Test de solubilisation du phosphore inorganique sur milieu solide

La capacité des isolats à solubiliser le phosphore inorganique complexé a été testée selon la méthode décrite par Picosvskaya PVK (1948) (Annexes 01).

Les colonies des isolats bactériens, ont été prélevées avec une anse et repiquées en milieu de la boîte de pétri contenant le milieu PVK additionné le phosphate tricalcique Ca₃(PO₄)₂ comme seule source de phosphore.

Après 7 jours d'incubation à 30°C, la solubilisation du P complexé a été mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie. La capacité de solubilisation de phosphate par les isolats bactériens a été estimée par mesure du diamètre total (le diamètre du halo+ le diamètre de la colonie) pour chaque colonie.

2.2. Effet de salinité sur BSP

2.2.1 Effet du NaCl sur la croissance bactérienne

Le test de tolérance au sel a été réalisé sur des isolats bactériens sélectionnés, la cinétique de croissance bactérienne a été estimée la mesure de l'évolution de la densité optique au cours du temps. Dans chaque erlenmeyer de 250 ml un volume de 50 ml de bouillon nutritif BN (Annexes 02) contenant des concentrations croissantes de NaCl allant de 0 jusqu'à 900mM a été inoculé avec 1ml de suspensions bactériennes issues de pré culture fraîche diluée avec l'eau physiologique (Annexes 03) pour avoir une densité optique de 0,5. L'expérience a été réalisée en triplicata. Les cultures bactériennes ont été incubées à 30 °C sous agitation permanente pendant 48h (**Rojas-Tapias *et al.*, 2012**). Après incubation la densité optique des cultures bactériennes a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 600 nm.

2.2.2. Effet du NaCl sur la solubilisation du phosphate en milieu liquide

La capacité des isolats bactériens à dissoudre le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a été testée selon la méthode de jaune de vanado molybdate décrite par Jackson, (1973). Pour estimer la quantité du phosphate soluble, Dans des erlenmeyer de 250 ml un volume de 50 ml de milieu NBRIP (**Nautiyal, 1999**)(Annexes 04) contenant des concentrations croissantes de NaCl allant de 0 jusqu'à 900 mM a été inoculé avec 1ml de suspensions bactériennes issues de pré culture fraîche diluée avec l'eau physiologique pour avoir une densité optique de 1 (**Kumar, 2010**) . Ce test a été réalisé en triplicata. Les milieux de cultures inoculés ont été incubés à 30°C pendant 6 jours sous agitation à 160 rpm. Après incubation la quantité de phosphore libéré a été estimée par méthode spectrophotométrique.

2.3. Dosage de phosphore

Le Dosage de phosphore libéré a été réalisé par méthode de Jaune de vanado molybdate. Après incubation un volume a été prélevés des flacons et centrifugé à 6000rpm pendant 30 min. 1 ml du surnagent a été ajouté à 2,5ml de réactif de Barton (Annexe 05) ce volume a été complété à 50ml avec l'eau distillée. Après 10 min l'absorbance de la solution a été lue à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La quantité de phosphore libéré a été exprimée en $\mu\text{g/ml}$ par l'équation de régression de la courbe d'étalonnage.

2.4. La courbe d'étalonnage

0.298 g de KH_2PO_4 a été dissout dans 1000 ml d'eau distillée. Cette solution contient 50ug P/ml. Des volumes de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 ml de la solution standard du phosphore ont été versés dans des fioles jaugées de 50ml. 2, 5 ml de réactif de Barton a été ajouté dans chaque fiole de 50 ml et le volume a été complété par l'eau distillée. Après 10 min, la concentration P libéré a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible à 430nm.

Chapitre II :

Résultats

Et

Discussion

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

A MA CHÈRE MÈRE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon

Bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A MON PÈRE

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. et à ma belle-famille qui a fait de moi ce que je suis.

A MES CHÈRES AMEL, DJAHIDA, CHAHRA ET ASMA

Merci énormément pour leur soutien plus que précieux. Merci pour leur grand cœurs toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer.

Ma vie ne serait pas aussi magique sans leurs présences et leurs amours.

Je t'aime de tout mon cœur.

A ma collègue de travail AMINA et son famille que j'ai apprécié et j'apprécierai encore de travailler avec elle

Une pensée toute particulière pour tous mes proche amies et a tous les étudiants de la promotion 2016 de la biotechnologie des microorganismes et la Microbiologie appliquée (hicham et hayet).

NAWAL

1. Solubilisation du phosphore

1.1. Test de solubilisation du phosphate sur milieu solide

La capacité des isolats bactériens à solubiliser le phosphate inorganique a été testée sur un milieu solide Pikovskaya PVK contenant le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme seule source de phosphore.

Les rhizobactéries favorisent la croissance des plantes par plusieurs mécanismes. Les effets bénéfiques de ces bactéries sont principalement attribués à leur capacité à solubiliser le phosphate pour convertir les phosphates en une forme soluble permettant l'augmentation des rendements des plantes (**Illmer and Schinner, 1995**).

Ce test consiste à sélectionner des microorganismes les plus efficaces capables de produire des zones claires autour des colonies. Ces zones claires sont dues à la production d'acides organiques dans le milieu entourant les colonies en question (**Aseaet al., 1988; Halvorsonet al., 1990**).

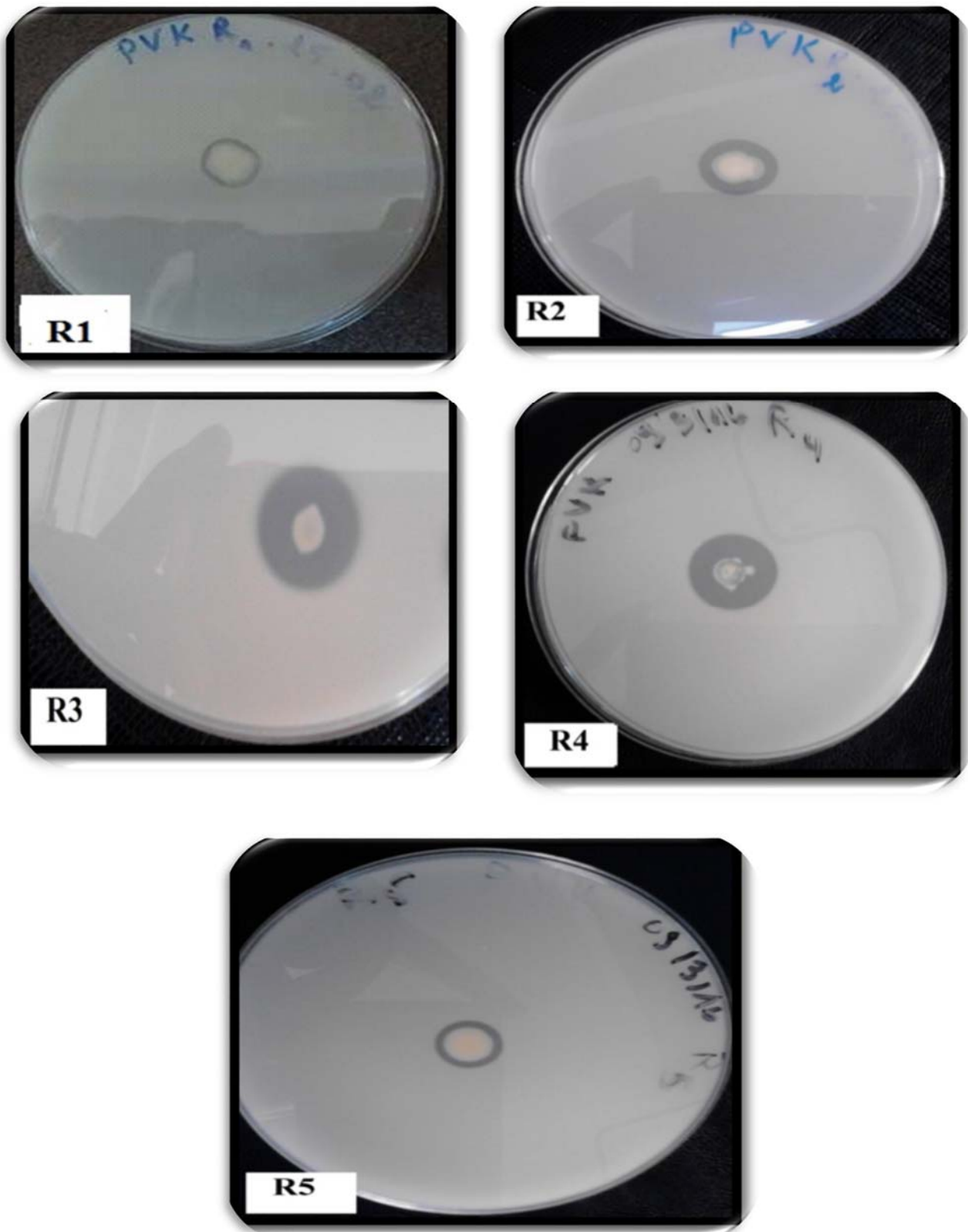


Figure 03: Mise en évidence de la solubilisation des phosphates sur milieu PVK solide.

2. Effet de stress salin sur les isolats bactériens

2.1 Effet du NaCl sur la croissance bactérienne

Le teste de tolérance au sel des isolats bactériennes (R₁, R₂, R₃, R₄, R₅) a été réalisée en milieu BN avec de concentration croissante de NaCl (0, 100, 200 ,300 ...900mM) après 48h d'incubation.

Les valeurs de la densité optique des cultures bactériennes varient entre 1 ,604 et 0,712 (Tableau 02).Une forte capacitéde tolérance au sel a été observée chez tous les isolats bactériens avec un maximum de croissance à 400 mM de NaCl chez R₂, R₃, R₄, R₅ et à 300 mM chez R₁. La valeur de la densité optique la plus élevée qui correspond à un maximum de croissance a été constatée chez l'isolat R₄ (DO 1,604).

Après obtention d'un maximum de croissance à des concentrations de 300 à 400 mM de NaClune faible diminution a été observée chez tous les isolats bactériens avec une diminution remarquable à 900 mM de NaCl (Figure 04).

Des résultats proches ont été obtenus par Cherif *et al.*,(2014)qui montrent que la croissance de la rhizobactérie isolée du sol salin *P. agglomerans* 2 augmentant à des concentrations de NaCl comprises entre 100 et 400 mM atteste une forte tolérance au sel. Ce dernier est un facteur indispensable à la croissance. Les bactéries isolées des environnements arides ou salins sont capables de survivre à des concentrations salines inhibitrices par rapport à celles isolées d'habitats non salins (**Tripathietal., 1998**).

2.2. Effet du Na Cl sur la solubilisation du phosphate en milieu liquide

La capacité de solubilisation de phosphate par les isolats bactériens a été testée en milieu liquide NBRIP contenant 0,5% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme seule source de phosphore sous stress salin avec des concentrations croissantes de NaCl (0, 100, 200, 300.....et 900 mM).

L'intensité de la couleur jaune indique la concentration de phosphore libéré par les isolats bactériens par addition de réactif de Barton aux surnageant (figure 05). La quantité de phosphore libérée a été mesurée en utilisant la courbe d'étalonnage préparée avec des concentrations connues de phosphore soluble .

Des résultats similaires ont été obtenus par Silini *et al.*, (2013), qui rapporte l'augmentation du taux de solubilisation avec l'augmentation des concentration de NaCl limité jusqu'à 200 et 400 mM par larhizobactérie *Bacillus*.

Les valeurs de pH des cultures bactériens varient entre 3,72 et 5,337 qui diminuent avec l'augmentation des taux de solubilisation. Il existe donc une corrélation négative significative entre pH et solubilisation de Phosphore. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs chercheurs (**Kumar et Narula, 1999 ;Whitelaw, 2000 ; MehanaetWahid, 2002 ; Son *et al.*, 2006**).

Plusieurs chercheurs ont associé la solubilisation des phosphates à une baisse du pH du milieu de culture (**Hedley *et al.*, 1990; Hinsinger, 2001**). En effet, certaines souches bactériennes chimioautrophes tirent leur énergie de croissance de l'oxydation de certains éléments chimiques avec production d'acides (**Pelmont, 1993; Swaby et Fedel, 1973**).

Selon Zaidi *et al.*, (2009) la libération d'acides organiques dans la rhizosphère par les microorganismes du sol est à l'origine de la solubilisation du phosphore minéral. Cet effet est d'autant plus efficace dans les sols basiques (**Solano *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2010**).

L'étude de la corrélation entre la solubilisation du P sur milieu PVK solide et milieu NBRIP liquide est non significative. Des résultats similaires ont été obtenus par l'isolat R₃ qui était le plus efficace sur milieu solide, par contre il a été moins performant en milieu liquide.

Cette contradiction entre le taux de solubilisation sur milieu solide et en milieu liquide peut être attribuée à la variation du taux de diffusion des différents acides organiques sécrétés par la bactérie, ces résultats sont similaires à ceux qui sont trouvés par Gupta *et al.*, (1994) Baiget *et al.*, (2010) et Yang *et al.*, (2012) qui ont rapportés que certain isolats avec

un petit halo clair sur milieu solide ont été très efficaces dans la dissolution du phosphate insoluble en milieu liquide et certains isolats ont produit un grand halo clair sur milieu solide, mais ont montré un faible taux de solubilisation de phosphate en milieu liquide.

Dans le bouillon nutritif les isolats les plus tolérants aux sels sont les plus efficaces dans la solubilisation des phosphates dans le milieu NBRIP à des concentrations élevées de NaCl. Ces constatations ont été claires chez l'isolat R₄ qui a été le plus tolérant à l'NaCl et il a pu solubiliser le phosphate à des taux élevés de NaCl.

Ces résultats sont en concordance avec ceux mentionnés par Son *et al.*, (2006) indiquant que la souche *Pantoea agglomerans* isolée des sols salins a toléré des concentrations de 1-5% d'NaCl et a pu solubiliser le phosphate à des taux élevés de NaCl.

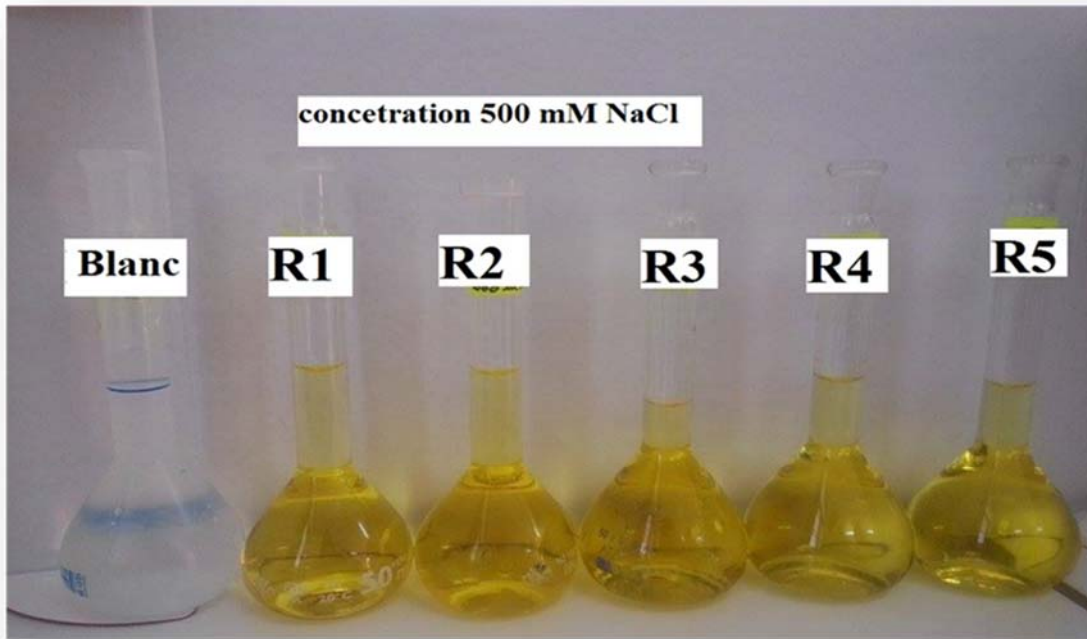


Figure 05 : le dosage de phosphore libéré par les isolats bactériens.

Conclusion

Conclusion

Ce travail présente d'étudier la solubilisation du phosphate par des rhizobactéries isolées des sols salins en étudiant la capacité des isolats bactériens (R₁, R₂, R₃, R₄, R₅) à solubiliser le phosphore et l'effet de salinité sur la croissance et la solubilisation du phosphates.

Les cinq rhizobactérieutilisés dans cette étude sont des bactéries solubilisant le phosphate isolées du sol salin depuis la rhizosphère des plantes de blé.

Dans un premier temps, ces isolats ont été soumis au test qualitatif sure le milieuPVK solide renfermant 0,5% de phosphate tricalcique (PTC), afin de garder ceux ayant l'activité solubilisatrice de PTC, après le temps d'incubation tous les isolats ont donné des halos de solubilisation de diamètre oscillant entre 1,1 cm et 1,8 cm. Par la suite, Des concentrations croissantes d'NaCl ont été utilisées pour évaluer la croissance et la solubilisation du phosphore par les rhizobactéries. La tolérance des isolats bactériens au sel a été réalisée en bouillant nutritif. La valeur de la densité optique la plus élevée qui correspondant à un maximum de croissance a été obtenus chez l'isolat R₄ (DO : 1,604) à 400 mM d'NaCl. En milieu NBRIP liquide en mesurant le pH et la quantité de phosphore libérée par les cultures bactériennes sous stress salin. Les résultats obtenus sont compris entre 594,476µg/ml et 135, 429µg/ ml de phosphore libéré. Cette dissolution biologique de phosphore inorganique est accompagnée par une diminution de pH du milieu, et l'intensité de cette acidification diffère d'un isolat à l'autre.

Enfin, Les résultats obtenus montrent que les isolats les plus tolérantes aux sels sont plus efficaces dans la solubilisation des phosphates dans le milieu NBRIP à des concentrations élevées d'NaCl.

L'inoculation des plantes par les rhizobacteries a induit une modification coordonnée des mécanismes physiologiques et l'augmentation des rendements de diverses cultures, même dans des conditions sévères , L'application de cette technologie microbienne dans le domaine des cultures agricoles permis la fertilité du sol , afin de contribuer à la lutte contre l'utilisation intensive des engrais et des pesticides chimiques et surtout la productivité des sols salés parintroduire des souches performantes qui peuvent mener à mieux solubiliser le phosphate dans le sol et tolérer à différentes conditions de stress environnemental telles que la salinité donc cette isolats ont stimulé la production de biomasse fraîche et l'accumulation L'osmoprotectionet par contre diminué la teneur du sel ,Utiliser les souches manipulées génétiquement dans la culture afin de progresser et assister à une grande production agricole

ainsi d'avoir des études expérimentales approfondies par leur inoculation in vivo pour déterminer leur efficacité dans l'amélioration de croissance de plantes en vue d'une application industrielle à grande échelle.

Références

Bibliographiques

A

- **Andrade, G., Linderman, R.G., Bethlenfalvay, G. J. (1998).** Bacterial association with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscularmycorrhizal fungus *Glomusmosseae*. *Plant and soil*. **202**: 79-87.
- **Asea, P.E.A., Kucey, R.M.N., Stewart, J.W.B. (1988).** Inorganic Phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil, *Soil Biol. Biochem.* **20**, 459-464.
- **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.
- **Ashraf, M., Foolad, M.R. (2007).** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* **59**: 206-216.
- **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.

B

- **Baig, D.N., Bukhari, D.A., Shakoori, A.R. (2010).** cry Genes profiling and the toxicity of isolates of *Bacillus thuringiensis* from soil samples against American bollworm, *Helicoverpa armigera*. *J Appl Microbiol* **109**: 1967-1978.
- **Ballesteros, S., Manga, D., Reales, J. M. (1997).** Haptic discrimination of bilateral symmetry in two-dimensional and three-dimensional unfamiliar displays. *Perception & Psychophysics*, **59**: 37-50.
- **Barbouchi, M., Lhissou, R., Chokmani, K., Abdelfattah, R., El Harti, A., Ben Aissa, N. (2013).** Caractérisation de la salinité des sols à l'aide de l'imagerie radar satellitaire : cas de la tunisie et du maroc. Rapport N° R1480. Québec (QC) G1K 9A9. <http://espace.inrs.ca/2090/1/R001480%5B1%5D.pdf>
- **Bationo, A., Kaola, S., Ayuk, E. (1998).** Fertility of soil for cereal production in the sahelo-soudanian zone and evaluation of natural phosphates. *Cahiers Agricultures*. **7(5)**: 365-371.
- **Ben Hassena, A. (2009).** Induction des réactions de défense chez les plantes pour lutter contre les maladies. Thèse de doctorat. Université du 7 novembre à carthage. Tunisie. p150.

- **Bernard, H.(1994).**Research methods in anthropology: qualitative and quantitative approaches (second édition). Walnut Creek, CA: AltaMira Press.
- **Berthelin, J., Leyval, C., Laheurte, F.,Giudici, P. (1991).**Some considerations on the relations between phosphate solubilizing rhizobacteria and their effect on seedlings and plants growth related to phosphorus mobilization. Dans plant growth-promoting rhizobacteria progress and prospects. Éditeurs: Keel, C., Koller, B., Défago, G. *IOBC-WPRS Bulletin*.XIV (8): 359 - 538.
- **Boukachabia, E. (1993).** Contribution à l'étude de quelques mécanismes morphologiques et biochimiques de tolérance à la salinité chez cinq génotypes de blé dur (*Triticum durum* Dest). Mémoire de Magister en production et physio vég. Annaba,108 p.
- **Bouزيد, S. (2010).** Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène Sur le comportement écophysio-logique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. Université Mentouri Constantine FSNV N° d'ordre : 081/ mag/ 2010 N° de série : 004/ SN/ 2010.
- **Bremer, E., Kramer, R. (2000).** Coping with osmotic challenges: osmoregulation through accumulation and release of compatible solutes in bacteria, p. 79-97. In G. Storz et R. Henge-Aronis (éd.), *Bacterial stress responses*. ASM Press, Washington.

C

- **Chandrasekhar, K.R.,Sandhyaran, S. I. (1996).** Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata*DC. *Ind. J. Plant Physiol.*1: 44-48.
- **Chen, Y.P., Rekha, P.D; Arun, A.B.,Shen, F.T., Lai, W.A., Young, CC. (2006).** Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil E.coli*, **34**:33-41.
- **Cheng, Z.,Park, E., Glick, B.(2007).** 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate desaminase from *Pseudomonas putida*UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J. Microbiol.*, **53**(7):912-918.
- **Cherif, H. (2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides.Thèse de doctorat.Université Ferhat Abbas,Sétif .162p.
- **Cohen, H., Rosenberg, E. (2010).**Le recyclage biogéochimique et une introduction à l'écologie microbienne.

- **Csonka, L.N. (1989).**Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress.*Microbiol.Rev.* **53**:121-147.
- **Csonka, L.N., Hanson, A.D. (1991).** Procaryoticosmoregulation: genetics and physiology. *Annu. Rev. Microbiol.* **45**: 569-606.

D

- **Dalal, R.C. (1977).** Soil organic phosphorus. In: Brady NC (éd) *Advances in agronomy*, Academic Press, Inc., New York, **29**:83-113.
- **Davenport, R.J., Munoz-Mayor, A., John,D;Essah, P.A., Tester, M.(2000).**The Na⁺ transporter At HKT₁ controls xylem retrieval of Na⁺ in Arabidopsis. *Plant cell. Environ.* **30**:497-507.
- **Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., Okon, Y. (2003).** Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. PlantSci.* **22**:107-149.
- **Drouet, T.H.(2010).** Pédologie, *BING-F-302. Ed. Lagev*, 140.
- **Dutuit, P; Pourrat, Y ., Dutuit, J .M.(1994).**La notion de stress de la cellule à l'écosystème. *Sécheresse*, **Vol. 5**, N°. 1: 23- 31.

E

- **El-Mekkaoui, M. (1990).** Etude des mécanismes de tolérance à la salinité chez le blé dur (*T. durum*des f) et l'orge (*H. vulgare*).Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Montpellier. 191 p.
- **Engelstad, O.P., Jugsujinda, A., Datta, S.K. (1974).**Response by flotted rice to phosphate rocks varying in citrate solubility. *Soil Sci. Am. Proc.***38**:524-529.

F

- **FAO Food and Agriculture Organization. (2005).** Salt-affected soils from seawater intrusion: strategies for rehabilitation and management. Report of the regional workshop, Bangkok, Thailand, p 62.
- **Fardeau, J.C. (1993).** Le phosphore assimilable des sols : sa représentation par un modèle fonctionnel a plusieurs compartiments. *Agronomie.* **13**: 317-33.
- **Fardeau, J. C. (1991).** Contribution à l'étude d'utilisation des phosphates naturels dans la fertilisation phosphatée d'un sol saharien, 11p.

- **Fraga, R., Rodriguez, H., Gonzalez, T.(2001)** .Transfer of the gene encoding the Nap an acid phosphatase from *Morganellamorganii* to a *Burkholderiacepacia* strain. *ActaBiotechnol***21**:359-369.

G

- **Galinski, E.A. (1995)**.Osmoadaptation in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* **37**: 273-328.
- **Germida, J., Jansen, H. (1993)**. Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils. *Fer. Res.***35**:101-114.
- **Gervy, R.(1970)**. Les phosphates et l'agriculture. Ed. Dunod. Paris. 298p.
- **Ghoul, M. (1990)**. Halotolerance d'*Escherichia coli*: effet des osmoprotecteurs naturels. Thèse de Doctorat. Université de Rennes. France I 50p.
- **Goldstein,A.H. (1994)**.Nvovement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilizationof exogenous phosphates by Gram-negative bacteria .In:A.Torriani-GoriniEyass,Editors,phosphate in Microorganisms:cellular and Molecular Biology (ed) .,Washington D.C.,197-203.
- **Goldstein, A.H. (1986)**. Bacterial solubilization of mineral phosphate: historical perspective and future prospects. *Am. J. A gric.***1**: 51-57.
- **Grattan, S.R., Grieve, C.M. (1999)** Salinity-mineralnutrient relations in horticultural crops. *ScientiaHrticulturae*, **78**: 127-157.
- **Gupta, A., Saxena, A.K., Murali, G.,Tilak, K.V.B.R. (1998)**.Effect of plant growth promoting rhizobacteriaoncompetitive ability of introduced *Bradyrhizobuimsp.*(Vigna) for nodulation. *J .Sci. Ind. Res.*, **57**: 720-725.

H

- **Halvorson, H. O., Keynan, A.,Komberg, H. L. (1990)**. Utilisation of calcium phosphate for microbial growth at alkaline pH.*Soil Biol. Biochem.* **22**: 887 - 890.
- **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.

- **Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J. (2000).** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **51**: 463-499.
- **Haygarth, P.M., Hepworth, L., Jarvis, S.C.(1998).** Forms of phosphorus transfer in hydrological pathways from soil under grazed grassland. *Eur. J. Soil Sci.* **49**:65-72.
- **Hedley, M. J., Stewart, J.W.B., Chauhan, B.S. (1982).** Changes in inorganic and organic fractions induced by cultivation practices and laboratory incubations. *American of soil science*, **46**: 970-976.
- **Hedley, M.J., Hussin,A., Bolan, N.S. (1990).** New approaches to phosphorus fertilisation. Phosphorus requirements for sustainable agricultura in Asia and Oceania. *Proceed. Symp.* 6-10 March 1989: pp. 125-14.
- **Hinsinger, P. (2001).** Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil.***237**:173–195.
- **Hopkins, W.G. (2003a).**Physiologie végétale – traduction de la 2^{ème}éd.américane par serge rambour révision scientifique de Charles-Marie Evradr Boeck Univ. Bruxelles .p 445-460.
- **Hopkins,W .G. (2003b).** Physiologie végétale. 2^{ème}éd. De Boeck, Bruscelles. 61-476.
- **Hoque, M.A ; Okuma, E. Banu, M.N.A ; Nakamura, Y., Shimoishi, Y., Murata,Y. (2007).** Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than the betaine by increasing antioxidant enzyme activities *.J. Plant Physiol.,* **164**: 553-561.
- **Hountin,J. A.(1996).** Capacité d'adsorption du phosphore et distribution des éléments C, N et P dans un sol agricole traité avec du lisier de porc pendant 14 ans. Thèse de Doctorat.Québec (CANADA), 166p.
- **Hu, C. (2005).**Induction of growth promotion and stress tolerance in Arabidopsis and tmato by plant growth promoting rhizobacteria. Dissertation. [http:// hdl.handle.net/10415/769](http://hdl.handle.net/10415/769).
- **Huguenin-Elie, O., Kirk, G.J.D.,Frossard, E.(2003).**Phosphorus uptake by rice from soil that is flooded, drained or flooded then drained. *European Journal of SoilScience;* **54**: 77-90.

- **Hyland, C., Ketterings, Q., Dewing, D., Stockin, K., Czymmek, K., Albrecht, G., Geohring, L. (2005).** Phosphorous basics- the phosphorous cycle. Agronomy fact sheet series- 12. Department of crop and soil science. Cornell University. 1-2.

I

- **Ilmer, P., Schinner, F. (1995).** Solubilization of inorganic calcium phosphates - solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.*, **27**(3): 257-263.
- **IPTRID. (2006).** Conférence électronique sur la salinisation. Extension de la salinisation et stratégie de prévention et réhabilitation. p 2-11.

J

- **Jackson, M.L. (1973).** Soil Chemical Analysis. Prentice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi, India.
- **Jones, H.G., Flowers, T.J., Jones, M. B. (1989).** Plants under stress. Cambridge, Cambridge University Press.

K

- **Kempf, B., Bremer, E. (1998).** Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress-responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.* **170**: 319-330.
- **Khan, M. A., Hamid, A., Salahuddin, A. B. M., Quasem, A., Karim, M. A. (1997).** Effect of sodium chloride on growth, photosynthesis and mineral ion accumulation of different types of rice (*Oryza sativa*). *J. Agronomy and science*: 149-161
- **Khan, M.S., Zaidi, A., Ahmad, M., Oves, M., Wani, P.A. (2010).** Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi- current perspective. *Arch. Agro. Soil. Sci.* **56**: 73-98.
- **Kim, K. Y., Jordan, D., Krishnan, H. B. (1997).** *Rahnella aquatilis*, a bacterium isolated from soybean rhizosphere, can solubilise hydroxyapatite. *FEMS Microbiology letters.* **153**: 273-277.
- **Kim, K.Y., Jordan, D., Donald, G. A. (1998).** Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biol. Fertil Soils.* **26**: 79-87.
- **Klay, I. (2003).** Intégration de la culture in vitro et in situ dans l'étude de la tolérance à la salinité chez le blé dur et le blé tendre- identification de nouvelles sources de tolérance chez l'*Aegilops*. D.E.A. 147p.

- **Kleinman, P.A., Sharpley, A., Saporito, L., Buda, A., Bryant, R. (2009).** Application of manure to no-till soils: phosphorus losses by sub-surface and surface pathways. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* **84**:215-227.
- **Kluepfel, D. E.(1993).** The behaviour and tracking of bacteria in the rhizosphere. *Ann. Rev. Phytopathol.* **31**: 441 - 472.
- **Kohler, J., Hernández, J.A., Caravaca, F., Roldán, A. (2009).** Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environ. Exp. Bot.* **65**, 245–252.
- **Kucey, R.M.N., Janzen, H.H., Legget, M.E. (1989).** Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.* **42**:199-228.
- **Kumar, A.(2010).** Development of a liquid biofertilizer with indigenous microbial strains of Himachal Pradesh. Thèse de doctorat .India.p171
- **Kumar, V., Narula, N. (1999).** Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, **28(3)**:301-305.

ℒ

- **Lambert, J.C.(1979).** La fertilisation phosphatée. revue cultivars. **115**: 96-97.
- **Lavelle, P., Spain, A.V.(2001).** Soil ecology. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. p 654.
- **Lee, D.H., Lee, C.B. (2000).** Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. *Plant Sci.* **159**:75–85.
- **Legros, J.P. (2009).** Les grands sols du Monde. presse polytechniques et universitaires Romandes, p 574.
- **Le Rudulier, D., Mandon, K., Dupont, L., Trinchant, J.C. (2002).** Salinity effects on physiology of soil microorganisms, p. 2774-2789. In G. Bitton (ed.), Encyclopedia of environmental microbiology. A Wiley-Interscience Publication. Canada.
- **Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., Casse-Delbart, F.(1995).** Les plantes face au stress salin. *Cahier Agriculture*; **4(4)** : 263-273.
- **Lindsay, W.L. (1979).** Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, Inc. New York.

M

- **Malboobi, M.A., Behbahani, M., Madanin, H., Owlia, P., Deljou, A., Yakhchali, B., Moradi, M., Hassanabadi, H. (2009).** Performance evaluation of potent phosphate solubilizing bacteria in potato rhizosphere. *World J. Microbiol Biotechnol*. doi:10.1005/s11274-009-0038.
- **Marschner, H. (1995).** mineral nutrition of higher plants, second edition, Academic Press, London. **78 (4):**527-528.
<http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1996.0155>
- **Marschner, P., Crowley, D. E., Sattelmacher, B. (1997).** Root colonization and iron nutritional status of a *Pseudomonas fluorescens* in different plant species. *Plant and soil*. **196:** 311-316.
- **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.
- **Mehana, T.A., Wahid, O.A. (2002).** Associative effect of phosphate dissolving fungi, rhizobium and phosphate fertilizer on some soil properties, yield components and the phosphorus and nitrogen concentration and uptake by *Vicia faba* L. under field conditions. *Pak J Biol Sci* **5:** 1226-31
- **Mermoud, A. (2006).** Cours physique du sol, Maitrise de la salinité des sols, pp 1 -14.
- **Michel, C.G., Walter, C.H.; Réng, J.C. (2011).** sols et environnement 2^{ème} éd. Dunod. France, 780p.
- **Moradi, A., Tahmourespour, A., Hoodaji, M., Khorsandi, F. (2011).** Effect of salinity on free living-diazotroph and total bacterial populations of two saline soils. *Afr. J. Microbiol. Res.* **05(2):** 144-148.
- **Mortensen, J. L., Himes, F. L. (1964).** Soil organic matter. *In* F. E. Bear ed. Chemistry of the soil New York, Reinhold Publishing Corp.
- **Moughli, L. (2000).** Les engrais minéraux : caractéristiques et utilisations. Ed. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Maroc (Bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture PNTTA, N° 72), 4p (Format PDF).
- **Munns, R., James, R. A., Lauchli, A. (2006).** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* **27:** 1025-1043.

N

- **Nautiyal, C.S. (1999).** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* **170**: 65-270.
- **Nguyen, C., Yan, W., Le Tacon, F., Lapyire, F. (1992).** Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P. D. Orton, *Plant Soil*, **143**: 193-199.

O

- **Oehl, F., Oberson, A., Fliessbach, M. P. A., Frossard, H. R. E. (2001).** Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils. *Biol. Fertil. Soils*. **34**: 31-41. *Official journal of the European Communities*, (1977): No L213/7 and L213/63.

P

- **Pelmont, J. (1993).** Bactéries et environnement : adaptations physiologiques. Presse Universitaire de Grenoble, p 899.
- **Peredacampos, M.V. (2008).** Contribution à l'étude des transporteurs de phosphate de la famille PHT1 chez le Peuplier (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) et le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* (Maire) P. D. Orton. Thèse de doctorat. Biologie Végétale et Forestière. Nancy (France), p 141.
- **Pichereau V., Pocard, J.A., Hamelin, J., Blanco, C., Bernar, T. (1998).** Differential effects of dimethylsulfoniumpropionate, dimethylsulfonioacetate, and other methylated compounds on the growth of *Sinorhizobium meliloti* at low and high osmolarities. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 1420–1429.
- **Pierzynski, G.M., Dowell, M., Sims, J.T. (2005).** Chemistry, cycling and potential movement of inorganic phosphorus in soils. Phosphorus: agriculture and the environment. Sims, J.T. and Sharpley, A.N. Eds. p 53-86.
- **Pierzynski, G.M., Sims, J.T., Vance, G.F. (2000).** Soils and environmental quality. 2nd éd, CRC. Pres. Newyork. 459p.
- **Pikovskaya, R.I. (1948).** Mobilization of P in soil in connection with vital activity by some microbial species. *Microbiologica*, **17**: 362-37.
- **Pitman, M., Läuchli, A. (2004).** Salinity: Environment - Plants - Molecules, chapter one: global impact of salinity and agricultural ecosystems.

- **Polonenko, D. R., Mayfield, C. I., Dumbroff, E. B. (1986).** Microbial responses to salt-induced osmotic stress. Effects of salinity on growth and displacement of soil bacteria. *Plant Soil*. **92**: 417-425.
- **Pradhan, N., Sukla, L. B. (2005).** Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *Afr. J. Biotechnol.* **5**(10): 850-854.

R

- **Raghothama, K. G. (1999).** Phosphate acquisition. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **(50)**: 665-693.
- **Rausch, C., Daram, P., Brunner, S., Jansa, J., Jaloi, M., Leggewie, G., Amrhein, N., Bucher, M. (2001).** A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature*. **(414)** : 462-470.
- **Rausch, C., Bucher, M. (2002).** Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta*. **(216)**: 23-37.
- **Razi, S. (2006).** Etude expérimentale de l'influence du gypse sur la dynamique du phosphore dans le sol et sa cinétique d'absorption par le Ray-grass. Thèse de magister agronomie. Batna: 3-36p.
- **Rengasamy, P. (2002).** Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soils: an overview. *Aus. J. of Exp. Agri.*, **42**: 351-361.
- **Richardson, A. (2001).** Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.* **28**: 897-906.
- **Rhodes, D., Hanson, A. D. (1993).** Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **44**: 357-384.
- **Robertson, E. B., Firestone, M. K. (1992).** Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 1284-1291.
- **Rodriguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., Bashan, Y. (2006).** Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil*, **287**: 15-21.
- **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.

S

- **Serrano, R., Mulet, J.M., Rios, G., Marquez, J.A., DE Larinoa, I.F., Leube, M.P., Mendizabal, I., Pascual-Ahuir, A., Proft, M., Ros, R., Montesinos, C. (1999).**A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress. *J of exp botany*.**50**: 1023-1036.
- **Silini, H.C., Silini, A., Ghoul, M., Yahiaoui, B., Arif, F. (2013).** Solubilization of phosphate by the Bacillus under salt stress and in the presence of osmoprotectant compounds African. *Afr. J. Microbiol. Res*, **7**(37):4562-4571.
- **Solano, B. R., Maicas, J. B., Mahero, F. J. G. (2008).** Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). pp 41-52. In: Ahmad I, Pichtel J, Hayat S (eds) *Plant bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth*. Wiley, Weinheim, Germany.
- **Son, T.T.N., Diep, C.N., Giang, T.T.M. (2006).** Effect of bradyrhizobia and phosphate solubilizing Bacteria application on Soybean in rotational system in the Mekong delta. *Omonrice*.**14**:48-57.
- **Strom, A.R., Kaasen, I. (1993).** Tréhalose metabolism in *Escherichia coli*: stress protection and stress regulation of gene expression. *Mol. Microbial*.
- **Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K. (2002).** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*. **77**: 43-49.
- **Swaby, R. J., Fedel, F. (1973).** Microbial production of sulphate and sulphide in some Australian soils. *Soil Biol. Biochem*.**5**: 773-781.
- **Swaby, R. J., Sperber, A. (1958).** Solubilisation microbienne directe. In *Ecologie microbienne du sol*. Dommerges J. 5^{ème} éd, Paris, 265p.

T

- **Talibart, R., Jebbar, M., Gouffi, K., Pichereau, V., Gouesbet, G., Blanco, C., Bernard, T., Pocard, J. A. (1997).** Transient accumulation of glycine betaine and dynamics of endogenous osmolytes in salt-stressed cultures of *Sinorhizobium meliloti*. *Appl. Environ. Microbiol*, **63**: 4657-4663.
- **Tardieux-Roche, A. (1966a).** Transformation microbienne du phosphore. In: *Ecologie microbienne du sol*. Dommerges J, 5^{ème} édition, Paris, p261 -265.

- **Tardieux-Roche, A. (1966b).** Contribution à l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. *Ann. Agron.* **17** (4) : 403-471.
- **Toro, M., Azcon, R., Barea, J. M. (1998).** The use of isotopique dilution techniques to evaluate the interactive effects of Rhizobium genotype, mycorrhizal fungi, phosphate solubilising rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *medicagosativa*. *Biology and Fertility of Soils.* **138** (2): 265-273.
- **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.
- **Tremblun, G. (2000).** Comportement auto-écologique de *Haloepelisamplexicaulis* : plante pionnière des sebkhas de l'ouest algérien. *Sécheresse.* **11** (2): 109 -116.

W

- **Weyens, N., Monchy, S., Vangronsveld, J., Taghavi, S., Vander Lelie, D. (2010).** Plant-Microbe Partnerships. In K.N. Timmis (éd.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. P. 254-2564.
- **Whitelaw, M.A. (2000).** Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* **69**:99-151.
- **Whitehead, D.C, (1963).** Solubilisation microbienne directe. In *Ecologie microbienne du sol*. Dommerges J. 5^{ème} éd, Paris, 263p.

Y

- **Yancey, P., Clark, M.E., Hand, S.C., Bomlus, R. D., Somero, G.N. (1982).** Living with water stress: evolution of osmolyte system. *Science.* **21**: 1214-1222.
- **Yang, Y., Li, X. M., Sun, Z. H., Yang, T., Tan, Z. L., Wang, B. F., Han, X. F., He, Z. X. (2012).** The growth performance and meat quality of goats fed diets based on maize or wheat grain. *J. Anim. Feed Sci.* **21** (4): 587-59.

Z

- **Zahran, H.H. (1997).** Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in Saline environments. *Biol. Fertil. Soils.* **25**: 211-223.

- **Zaidi, A., Khan, M.S, Ahemad, M., Oves, M. (2009).**Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *ActaMicrobiol. Immunol. Hung.* **56:** 263-284.
- **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.

Annexes

Annexes 01 :

Bouillon nutritif (g /l) :

Peptone	5g
Extrait de viande:	5g
NaCl:	5g
pH :.....	7 ± 0,2

Annexes 02 :

Eau physiologie :

Eau distillé.....	1L
NaCl.....	9g

Annexes 03 :

Milieu Pikovskaya (g /l) :

D –Glucose	10g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5g
NaCl.....	0.2g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.1g
KCl	0.2g
Extrait de levure	0,5g
MnSO ₄ .7H ₂ O.....	0.002g
FeSO ₄ .7H ₂ O.....	0.002g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5g
PH	7 ± 0,2
Agar agar.....	18g/l

Annexes 04:

Milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's phosphate) (Nautiyal, 1999) (g /l):

Glucose	10 g
Ca ₃ (PO ₄)	5 g
MgCl ₂ .6H ₂ O.....	5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O0, 25 g

(NH ₄) ₂ SO ₄	0, 1 g
PH.....	7 ± 0,2

Annexes 05 :

Gélose nutritive (g /l) :

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	5g
NaCl.....	5g
Agar.....	18g
pH :.....	7 ± 0,2

Dédicace

Je dédie ce travail à Ma famille

كاسوس Et aux personnes les plus chères au monde

Mes chers parents :

A mon père:

Rien au monde ne font les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes satisfaire qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma très chère mère :

Elle est l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon frère: Abderahman

A mes soeurs: Hanane, Bakhta, Khadidja.

A mon Binôme qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

Sans oublier mes brave Amies.

AMINA

Remerciements

Avant de commencer nous remercions Allah pour tout puissant de nous avoir guidé toutes ces années d'étude car il nous a donné la volonté, la patience, le courage pour terminer ce travail.

*Nous remercions on particulièrement **Mr. Bouzned. A** pour l'encadrement de ce travail.*

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

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

*Notre responsable de promotion **Mr. Djibaoui** et à tous l'enseignants(es) qui ont contribués à notre formation chacun par son nom*

Et à tous les membres du jury.

*Nous remercions le responsable de laboratoire de microbiologie **Melle Lazreug Hafida** qui nous a permis de travailler dans des conditions favorables.*

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

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

Liste des abréviations et nomenclature

ABA : Acide abscissique

ACC : Amino cyclopropane-1-Carboxylic

ADN : Acide Desoxyribo Nucléique

ARN: Acide Ribonucléique

BPS : Bactéries solubilisant le phosphate

BN : Bouillon Nutritive

DO: Densité Optique

EPS: Exopolysaccharides

FAO: Food and Agriculture Organization

ha: hectare.

GB: Glycine Bétaine

MSP : Microorganismes solubilisant le phosphore

mM: milli Molaire

NBRIP: National Botanical Research Institute of Phosphate medium

nm: nanomètre

Pi: Phosphore inorganique.

PGPR: Plant growth promoting rhizobacteria

POX: peroxydase

PTC: phosphate tricalcique

PVK: Pikovskaya's medium

rpm: rotation par minute

SOD: Super Oxyde Dismutase

UV: Ultra-Violet

Liste des tableaux

Tableau01: Solubilisation du phosphate sur le milieu solidePVK des isolats bactérienes...	23
Tableau 02:Effet de sel sur la croissance des isolats bactérienes	26
Tableau 03: Taux de phosphore solubilisé en µg /ml par les isolats bactéries sous stress Salin	31
Tableau 04:pH final obtenu lors de la solubilisation de phosphate en milieu NBRIP aux différentes concentrations du NaCl.....	32

Liste des figures

Figure 01: Cycle du phosphore dans le sol.....	6
Figure 02: Augmentation de la tolérance et la survie des plantes induite par les rhizobactéries en milieu salin.....	19
Figure 03: Mise en évidence de la solubilisation des phosphates sur milieu PVK solide.....	24
Figure 04: Effet de diverse concentration du NaCl sur la croissance des isolats bactériens...27	
Figure 05: Le dosage de phosphore libéré par des isolats	30
Figure 06: La courbe standard de phosphore.....	30
Figure 07: Taux de phosphore solubilisé et pH de solubilisation par l'isolat R ₁ en fonction de la salinité.....	32
Figure 08: Taux de phosphore solubilisé et pH de solubilisation par l'isolat R ₂ en fonction de la salinité.....	33
Figure 09: Taux de phosphore solubilisé et pH de solubilisation par l'isolat R ₃ en fonction de la salinité.....	33
Figure 10: Taux de phosphore solubilisé et pH de solubilisation par l'isolat R ₄ en fonction de la salinité.....	34
Figure 11: Taux de phosphore solubilisé et pH de solubilisation par l'isolat R ₅ en fonction de la salinité.....	34

Sommaire

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

Partie 1 : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Le Phosphore

1.Généralités sur le phosphore	3
1.1.Les différentes formes dans le sol	3
1.1.1.Le Phosphore total.....	3
1.1.2.Le phosphore minéral.....	4
1.1.2.1. Phosphore peu soluble « précipité ».....	4
1.1.2.2. Phosphore échangeable	4
1.1.3. Le phosphore organique	4
1.1.4. Phosphore assimilable	5
1.2. Cycle biogéochimique du phosphore dans le sol	5
1.3. Le transport de phosphore dans la plante	6
1.4. Rôle du phosphore dans la plante.....	7
2. La solubilisation des phosphates insoluble.....	8
2.1. Bactéries solubilisant le phosphore BSP.....	8
2.2. Mécanismes de solubilisation microbienne.....	9
2.2.1.Solubilisation microbienne directe.....	9
2.2.2. Solubilisation microbienne succédant à immobilisation transitoire.....	9
2.3.Facteurs influençant la solubilisation des phosphates inorganique.....	10

2.3.1. PH.....	10
2.3.2. Hydromorphie	10
2.3.3. Matière organique	11

Chapitre II : Stress salin

1. Généralité sur la salinisation et salinité des sols	12
1.1. Définition de la salinisation.....	12
1.2. Définition de la salinité des sols.....	12
1.3. Les causes de la salinisation des sols	12
1.3.1. La salinisation primaire	12
1.3.2. La salinisation secondaire	13
2. Notion de stress	13
2.1. Le stress biotique.....	13
2.2. Le stress abiotique	14
2.2.1. Le stress salin	14
2.2.1.1. Le stress hydrique.....	14
2.2.1.2. Le stress ionique.....	14
3. Conséquences de la salinité sur la plante	15
4. Les rhizobactéries dans les sols salins.....	15
5. La tolérance des rhizobactéries vis à vis le stress salin	16
5.1. Les solutés compatibles.....	16
5.1.1. La proline	16
5.1.2. Le tréhalose.....	17
5.1.3. La glycine bêtaïne (GB)	17
5.1.4. Les tétrahydro pyrimidines (ectoïnes).....	17
5.2. L'ACC désaminase(Aminocyclopropane-1-carboxylate).....	18
5.3. Exopolysaccharides(EPS)	18

Partie 2 : Etude Expérimentale

Chapitre I: Matériels et Méthodes

Objectif.....	20
1. Matériels.....	20
1.2.Site d'étude.....	20
1.3.Les isolats bactériens utilisés	20
2. Méthodes	20
2.1. Solubilisation du phosphore.....	20
2.1.1.Test de solubilisation du phosphore inorganique sur milieu solide	20
2.2. Effet de salinité sur BSP.....	21
2.2.1. Effet du NaCl sur la croissance bactérienne	21
2.2.2. Effet du NaCl sur la solubilisation du phosphate en milieu liquide.....	21
2.3. Dosage de phosphore	21
2.4. La courbe d'étalonnage..	22

Chapitre II: Résultats et discussion

1. Solubilisation du phosphore	23
1.1. Test de solubilisation du phosphate sur milieu solide.....	23
2. Effet de stress salin sur les isolats bactériens.....	25
2.1. Effet du NaCl sur la croissance bactérienne.....	25
2.2.Effet du NaCl sur la solubilisation du phosphate en milieu liquide.....	28
Conclusion.....	35

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

L'utilisation des microorganismes de la rhizosphère est le meilleur moyen biologique pour améliorer la solubilisation du phosphore dans un sol salin afin de réduire le stress salin qui peut interférer avec la croissance et l'activité des rhizobactéries. L'objectif de notre présente étude consiste à examiner l'effet du stress salin sur la croissance et la solubilisation du phosphate tricalcique de cinq rhizobactéries isolées du sol salin (R1, R2, R3, R4, R5) en utilisant des concentrations croissantes de NaCl (0, 100, 200.....900mM). La capacité de solubilisation du phosphate par les cinq bactéries solubilisant le phosphate a été testée sur milieu PVK solide où l'isolat R3 a été considéré comme la rhizobactérie la plus performante avec un maximum d'efficacité de 366,66%. La tolérance des isolats bactériens au sel en bouillant nutritif a révélée des résultats variables de densité optique, la valeur de la densité optique la plus élevée qui correspondant à un maximum de croissance a été obtenus chez l'isolat R4 (DO : 1,604) à 400mM de NaCl. En milieu NBRIP liquide la quantité de phosphore libérée par les cultures bactériennes sous stress salin varie entre 135, 429µg /ml et 879,714µg /ml. Le taux le plus élevé a été constaté chez les isolats R2 et R4 avec une quantité du phosphore soluble importante de 879,714µg/ml et 834,476µg/ml respectivement à des concentrations de 300 et 400mM du NaCl. Des valeurs de pH des cultures bactériennes varient entre 5,337 et 3,72 ont été obtenue qui diminues avec l'augmentation des taux de solubilisation. Les résultats obtenus montrent que les isolats bactériens utilisés dans cette étude ont tolérés des taux élevés de sel et ont pu solubiliser le phosphate insoluble même à des concentrations élevées de NaCl.

Mots clés : solubilisation de phosphate, bactéries solubilisant le phosphate, stress salin, phosphate tricalcique.

Abstract

The use of microorganisms from rhizosphere is the best way to improve biological solubilization of phosphorus in saline soil to reduce salt stress which can affect growth and activity of rhizobacteria. The aim of our present study is to evaluate the effect of salt stress on the growth and phosphate solubilization of phosphate tricalcique by five phosphate solubilizing bacteria isolated from saline soil (R₁, R₂, R₃, R₄, R₅) using increasing concentrations of NaCl (0, 100, 200.....900mM). The ability of phosphate solubilization by the five isolates has been tested on PVK solid medium where the R₃ isolate was considered to be the most effective one with a maximum efficiency of 366.66%. The salt tolerance of bacterial isolates in nutrient broth revealed variable results of optical density, the value of the highest optical density corresponding to maximum growth was obtained from the isolate R₄ (DO: 1,604) with 400 mM of NaCl. The quantities of released phosphorus by bacterial cultures in NBRIP liquid medium under salt stress ranged from 135, 429µg /ml and 879,714µg. The highest rate was detected with isolates R₂ and R₄ with a significant amount of soluble phosphorus of 879,714µg/ml and 834,476µg/ml respectively with 300 and 400 mM of NaCl. pH values of bacterial cultures ranged from 5.337 to 3.72 were obtained which with increasing of phosphate solubilization rate. The results obtained show that the bacterial isolates used in this study tolerated high levels of salt and were able to solubilize insoluble phosphate even at high NaCl concentrations.

Keywords: phosphate solubilisation, phosphate solubilizing bacteria solubilizing, salt stress, phosphate tricalcique.

المخلص

إستعمال الكائنات الدقيقة الموجود بمنطقة الجذور هي أفضل وسيلة لتحسين الإذابة البيولوجية للفوسفور في التربة المالحة للحد من الإجهاد الملحي يمكن أن تتداخل مع نمو ونشاط بكتيريا rhizobacteria. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الإجهاد الملحي على النمو وإنتاجية الفوسفات لخمس سلالات بكتيرية rhizobacteria معزولة من تربة مالحة (R₁, R₂, R₃, R₄, R₅) تم إختبار قدرة هذه السلالات على إذابة الفوسفات في الوسط الصلب PVK, إعتبرت السلالة R₃ الأكثر فعالية في إذابة الفوسفات مع الكفاءة القصوى 366.66%. استخدام NaCl بتركيز متدرجة (0mM, 100mM, 200mM, 300mM, 400mM, 500mM, 600mM, 700mM, 800mM, 900mM) لتقييم نمو وإذابة الفوسفات من طرف هذه السلالات, حيث أجريت قدرتها على النمو في الوسط BN تحت تأثير الإجهاد الملحي الذي يظهر مختلف نتائج للكثافة الضوئية وقد سجلت أعلى نسبة عند السلالة (DO : 1,604) R₄ في تركيز 400mM. أما الوسط السائل NBRIP الكمية المحررة للفوسفور من طرف السلالات تحت تأثير الإجهاد الملحي تختلف ما بين 135, 429µg/ml و 879,714µg/ml, حيث إعتبرت السلالتين R₂ و R₄ الأفضل من بين السلالات الباقية لتحرير كمية معتبرة و عالية للفوسفور المذاب و المقدر ب 834,476µg/ml و 879,714µg/ml على الترتيب عند تركيز 400 mM, قيم pH المحصل عليها تختلف ما بين 5.337 و 3.72 و الذي يتراجع مع تزايد معدل ذوبان الفوسفات. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن السلالات الأكثر تحملا للإجهاد الملحي هي الأكثر فعالية في إذابة الفوسفات في الوسط NBRIP بتركيزات عالية لكلوريد الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: إذابة الفوسفات, البكتيريا المذيبة للفوسفات, الإجهاد الملحي, فوسفات ثلاثي كالسيوم.

Introduction