



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم. كلية علوم الطبيعة والحياة

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie قسم البيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Magister en biologie

Option : Sciences du Sol et Environnement.

Présenté par : Mr. IDDER Boubakeur

Thème

Effet de la salinité et des pesticides sur l'interaction plante-*Pseudomonas* spp :

Cas de la fève (*Vicia faba* L.)

Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, université de Mostaganem.
Laboratoire de microbiologie et biologie végétale, université de Mostaganem.

La composition du jury de soutenance :

Nom et prénom	Qualité	Grade	Appartenance administrative
Mr. BELKHOUSA Moulay	Prof.	Président	Université d'Oran.
Mr. MEKHALDI Abdelkader	Prof.	Examineur	Université de Mostaganem.
Mr. CHIBANI Abdelouahab	M.C.A.	Examineur	Université de Mostaganem.
Mr. DJIBAOUI Rachid	M.C.A.	Encadreur	Université de Mostaganem.
Mr. REGUIEG YSSAAD H.A.	Prof.	Co-Encadreur	Université de Mostaganem.

Année universitaire : 2013-2014

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Je remercie mon Dieu et je dis EL HAMDO LILLAH qui m'a fourni tous pour atteindre ce point là, tout le long de ce chemin afin de réaliser ce modeste travail.

Je tien à remercier **Mr. DJIBAOUI Rachid** et **Mr. REGUIEG YSSAAD H.A.** d'avoir accepté de m'encadrer, pour leur patience et leurs précieux conseils, aussi les membres du jury de ma soutenance d'avoir accepté de juger ce modeste travail, le président Mr BELKHODJA Moulay, les examinateurs Mr MEKHALDI Abdelkader et Mr CHIBANI Abdelouahab.

Aussi mes remerciements cordiaux à :

L'équipe du laboratoire de microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem et surtout Mme HAMED Djahira la technicienne du laboratoire, aussi l'équipe du laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols, qui ont facilité notre tâche ;

L'équipe de l'atelier d'Agronomie à Mazgaran de l'université de Mostaganem ;

Je remercie tous les enseignants de la faculté des sciences exacts et sciences de la nature et de la vie et particulièrement ceux qui nous ont accompagné dans ce parcours,

Enfin, je remercie tous qui nous ont aidé de près où de loin afin de concrétiser ce travail.

IDDER B.

Dédicace

Je dédie ce

modeste travail :

A mes très chers parents qui méritent beaucoup plus mieux que ça, pour leurs sacrifices afin de m'éduquer et m'instruire pour que je sois un jour leur fruit mûr.

A Ma petite famille, ma chère femme, qui était et est encore ma fioul tout le long du chemin, et mes petites adorables enfants Mohammed Aymen, Fatima Zohra et Aicha Tahira. A mes frères, sœurs, et oncles, A mes beaux parents, frères et sœurs.

A toute la famille IDDER et tous ceux qui
m'aiment.

IDDER B

Liste des Tableaux

Tableau 1: Quelques caractères permettant de caractériser <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. simiae</i> et <i>P. stutzeri</i> (Veron, 1989).	32
Tableau 2 : Répartition de la population microbienne (UFC.g ⁻¹ de sol) dans la rhizosphère du blé (<i>Triticum aestivum</i> L.) et dans le sol, ainsi que leur ratio (modifié d'après Gray et Williams, 1971).	34
Tableau 3: Localisation d'échantillonnage pour l'isolement des souches des bactéries.	44
Tableau 4: Les tests de la galerie API 20 NE	46
Tableau 5: Test de résistance à la salinité des bactéries isolées; (-) absence de croissance, (+) faible croissance, (++) croissance abondante.	55
Tableau 6: Test de résistance au cuivre des souches isolées; (-) absence de croissance, (+) faible croissance, (++) croissance abondante.	56
Tableau 7: Identification des isolats P1, P7 et P15 par la galerie API 20 NE.....	57
Tableau 8: Test d'antagonisme des <i>Pseudomonas</i> vis-à-vis 5 souches de microorganismes ; (Ac : Souche d'Actinomycète, B : Souche de <i>Bacillus</i> , C : souche de champignon).	58
Tableau 9: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève.	65
Tableau 10: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie racinaire de la fève.	65
Tableau 11: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève.	69
Tableau 12: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles de la fève.	70
Tableau 13: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève.	72
Tableau 14: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève.	75
Tableau 15: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en Potassium K ⁺ dans la fève.	79
Tableau 16: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en Sodium Na ⁺ dans la fève.	81
Tableau 17: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le rapport K ⁺ /Na ⁺ dans la fève.	83
Tableau 18: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève.	90
Tableau 19: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève.	91
Tableau 20: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève.	95
Tableau 21: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles de la fève.	96
Tableau 22: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a+b) dans les feuilles de la fève.	98
Tableau 23: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans de la fève.	101

Liste des Figures

Figure 1 Schématisation du bilan de la circulation du sodium dans les plantes inclure ou exclure (Levigneron <i>et al.</i> , 1995).	11
Figure 2 : Courbe de croissance en réponse au statut nutritionnel de la plante (d'après Reuter et Robinson, 1997).	22
Figure 3 : Les différentes parties de la fève <i>Vicia faba</i> L. (Thomé 1885).....	28
Figure 4 : Exemples de quelques mécanismes bactériens de résistances aux métaux (adapté de Heferburg, 2007). X correspond aux constituants cellulaires interagissant avec les cations métalliques et M aux cations métalliques (Ferret, 2012).	37
Figure 5 : Photos de test de germination des graines de la fève sous stress à la salinité et au cuivre.	49
Figure 6 : Photos de plantation de la fève utilisée dans l'expérimentation.....	50
Figure 7 : Souches incubées sur KingB avec production de pyoverdine à couleur jaune verdâtre.	54
Figure 8 : Test de résistance des bactéries isolées P1, P7 et P15 à la salinité.	55
Figure 9 : Test de résistance au cuivre des souches isolées P1, P7 et P15.....	56
Figure 10 : Test d'antagonisme des souches isolées P1, P7 et P15 avec 05 souches de microorganismes isolées d'un sol salé.....	58
Figure 11 : Spectre d'absorption de la pyoverdine produit par les souches P1, P7 et P15.....	59
Figure 12 : spectre d'absorption de la pyoverdine (Meyer et Abdallah, 1978).	59
Figure 13 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le taux de germination de la fève.	61
Figure 14 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur l'indice de germination de la fève. ...	61
Figure 15 : L'Effet combiné de l'inoculation bactérienne et de la salinité sur le poids frais de la fève ; (a) partie aérienne et (b) partie racinaire.	65
Figure 16 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur de la chlorophylle (a) et b dans les feuilles de la fève.....	69
Figure 17 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur de la chlorophylle (a) ⁺ b dans les feuilles de la fève.....	71
Figure 18 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève.	74
Figure 19 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur Potassium K ⁺ dans la fève. .	78
Figure 20 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur Sodium Na ⁺ dans la fève. ..	80
Figure 21 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le rapport K ⁺ /Na ⁺ dans la fève.....	83
Figure 22 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le taux de germination de la fève.....	87
Figure 23 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur l'indice de germination de la fève.	87
Figure 24 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur La biomasse, (a) : Partie aérienne ; (b) Partie racinaire.....	90
Figure 25 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur La teneur en chlorophylle (a) et b dans les feuilles de la fève.	95
Figure 26 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a)+b dans les feuilles de la fève.	98
Figure 27 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève.	101

Liste des abréviations

AAM	Alberta's Agriculture Ministry
ABA	Acide Abscissique
ACC	Acide 1-Aminocyclopropane ¹ -Carboxylic
ACTA	Association de Coordination Technique Agricole (France)
AIA	Acide Indole Acétique
CE	Commission Européenne (Règlement)
CEC	Capacité d'Echange Cationique
Eau milli-Q	Eau purifiée (par un système de filtres/résines/membranes)
EDS	Eau Distillée Stérile
EDTA	Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EPS	Exopolysaccharides
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
ICA	International Copper Association
OIV- ONIVINS	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
PGPR, (B)	Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (Bacteria)
UV	Ultra Violet
MDHAR	Monodéhydroascorbate Réductase
DHAR	Déshydroascorbate Réductase
NRA	Nitrate Reductase Activity

Résumé

La salinité et les résidus des pesticides accumulés dans les sols représentent des contraintes sérieuses pour les plantes. Ils peuvent induire des niveaux plus élevés de stress, réduisant la biomasse et altérant les processus physiologiques et biochimiques. À cet effet, les chercheurs ont fréquemment étudié l'effet des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) comme promoteur et améliorateur sous stress abiotique. Dans cette étude, trois souches de *Pseudomonas* ont été isolées (P1 et P7 d'un sol salé, et P15 d'un sol de viticole traité par le cuivre). Les isolats ont été présélectionnés vis-à-vis la tolérance à la salinité et au cuivre. Nous avons examiné le rôle de ces souches dans l'allègement du stress salin avec deux niveaux de concentration de NaCl (100 et 150 mM.l⁻¹), et du stress au cuivre avec trois niveaux de CuSO₄(2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹), et ceci sur la germination, la croissance et la physiologie des plantes de la fève (*Vicia faba*) de la variété OTONO.

D'après les résultats obtenus, le pourcentage de germination des graines inoculées et non inoculées de la fève a été diminué proportionnellement avec les concentrations de NaCl. La salinité a également diminué la production de la biomasse, la teneur en chlorophylle totale, le rapport de K⁺/Na⁺. Nous avons noté également que la salinité a augmenté l'accumulation de la proline dans les plantes, en présence et en absences de l'inoculation bactérienne. Toutefois L'inoculation des graines de la fève avec les souches P1 et P15 n'a manifesté aucun effet sur le taux et la rapidité de germination en présence ou en absence du stress salin, alors que P7 a significativement augmenté le taux de germination. Nous avons constaté aussi que l'inoculation des plantes de la fève, avec les souches P1, P7 et P15 a significativement augmenté la production de la biomasse fraîche en absence et en présence du stress salin, ceci a affecté positivement l'accumulation de la proline et le rapport K/Na, alors que, seule la souche P1 a augmenté la teneur en chlorophylle totale.

Sous conditions de stress au cuivre en présence et en absence des isolats bactériens, aucun effet remarquable de cuivre n'a été constaté sur le pourcentage de germination. La production de la biomasse et la teneur en chlorophylle totale ont été significativement diminués par ce stress. Le traitement au cuivre a augmenté la teneur en proline dans les plantes inoculées par P7 et P15 et celles non inoculées, alors que cette teneur a diminué dans les plantes inoculées par P1. Toutefois, seulement l'inoculation avec la souche P1 a montré un effet d'augmentation de potentiel de germination sous le traitement au cuivre à 20 mM.l⁻¹, alors que l'inoculation avec P1, P7 et P15 ont stimulé la production de biomasse fraîche et l'accumulation de la proline, et par contre diminué la teneur en chlorophylle totale.

Mots clés : Pesticides, cuivre, salinité, *Pseudomonas*, PGPR, *Vicia faba*, germination, proline, chlorophylle.

Abstract

Salinity and accumulation of pesticides residues in soils represent serious constraints for plants. This can induce high levels of stress, reducing biomass and altering physiological and biochemical processes in plants. For this purpose, researchers have often studied the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as promoter and enhancer the plant growth under abiotic stress. In this study, three *Pseudomonas* strains were isolated (P1 and P7 from a saline soil, and P15 from a vineyard soil treated with copper). The isolates were and screened by salinity and copper tolerance. the role of this bacterial isolates in reducing the affect of salt and cooper stress on germination, growth and physiology of bean *Vicia faba* (OTONO variety) was examined in presence of 100 and 150 mM.l⁻¹ of NaCl and 2,5 ; 10 and 20 mM.l⁻¹ of CuSO₄ respectively.

According to the results obtained, under salinity stress, the percentage of germination of the inoculated and non-inoculated bean seeds with bacterian strains was decreased in proportion to the concentrations of NaCl. Salinity has also decreased the production of biomass, total chlorophyll content and the Na⁺/ K⁺ ratio. We also observed the the salinity increased the proline accumulation in inoculated and uninoculated plants. However, inoculation of the bean seeds with P1 and P15 strains showed no effect on the rate and speed of germination, in both presence and absence of salt stress, whereas P7 has significantly increased the rate of germination. We also found that inoculation of the bean plants with the P1, P7 and P15 strains increased significantly the production of fresh biomass, in presence and absence of salt stress, and affected positively the accumulation of proline and the Na⁺/ K⁺ ratio. Only P1 strain increased total chlorophyll content in plants.

Under copper stress conditions with and without bacterial inoculation, no significant effect of copper, has been recorded on the germination rate. Whereas, the production of biomass and total chlorophyll content were significantly decreased by copper stress. Copper traitement increased proline content in inoculated plants with P7 and P15 isolate and uninoculated, however this content was decreased in inoculated plants whith P1. Only the inoculation with P1 strain showed an increasing effect on the germination potential under 20 mM.l⁻¹ copper traetment, while inoculation with P1, P7 and P15 stimulated production of fresh biomass and accumulation of proline, and otherwise decreased total chlorophyll content in plants.

Keywords: Pesticides, copper, salinity, *Pseudomonas*, PGPR, *Vicia faba*, germination, proline, chlorophyll.

الملخص

الملوحة ومخلفات المبيدات المتراكمة في التربة تمثل سلبيات تعيق نمو النبات، حيث يمكنها تشكيل مستويات عالية من الإجهاد، فيخفض إنتاج المادة الحيوية و يغير الآليات الفزيولوجية والبيولوجية. لهذا السبب، اهتم الباحثون بشكل كبير بتأثير البكتيريا الداعمة لنمو النبات (PGPR) كمحفز و محسن للنمو تحت ظروف الاجهاد غير الحيوي. في هذه الدراسة، تم عزل ثلاث انواع من جنس *Pseudomonas* (P1 و P7 من تربة مالحة، و P15 من تربة حقل عنب معالج بمبيدات ذات تركيبة باساس نحاسي) ثم انتقائها عن طريق اختبار تحمل الملوحة و تراكيز النحاس حتى يتسنى لنا دراسة مدى دورها في دعم النبات للتخلص من تأثير اجهاد الملوحة الممثل بمستويين من تركيز NaCl (100 و 150 م.مول) و اجهاد النحاس بثلاث مستويات من تركيز $CuSO_4$ (2.5 ، 10 و 20 م.مول). حيث تم دراسة تأثير الاجهاد على الانتاش و النمو و فزيولوجيا نبات الفول (*Vicia faba*) من صنف اوتونو.

حسب النتائج التي تم الحصول عليها تحت اجهاد الملوحة فان نسبة الانتاش لدى بذور الفول المطعمة و غير المطعمة بالاصناف البكتيرية ، انخفضت تناسبيا مع تراكيز كلوريد الصوديوم ، كما ان الملوحة خفضت ايضا انتاج المادة الحيوية و منسوب الكلوروفيل الكلي و نسبة K^+/Na^+ و زادت من تراكم البرولين في النبات في حضور و غياب التطعيم البكتيري. بيد ان تطعيم بذور الفول بالصنف P1 و P15 لم يبدي اي تأثير على نسبة و سرعة الانتاش في حضور و غياب اجهاد الملوحة، بينما الصنف P7 رفع جليا من نسبة الانتاش. لقد لاحظنا ايضا ان تطعيم نبات الفول بالاصناف P1 ، P7 و P15 زاد بوضوح من الوزن الرطب للمادة الحيوية ، في حضور و غياب اجهاد الملوحة، و اثرت ايجابيا على تراكم البرولين و نسبة K^+/Na^+ ، بينما وحدها السلالة P1 التي زادت من منسوب الكلوروفيل الكلي في النبات.

لم يظهر تحت ظروف اجهاد النحاس اي تأثير واضح للنحاس على نسبة الانتاش ، بينما انخفض انتاج المادة الحيوية و منسوب الكلوروفيل الكلي جليا بتأثير النحاس في حضور و غياب التطعيم البكتيري. لوحظ ايضا ان البرولين تراكم في النباتات غير المطعمة بالبكتيريا و كذا في النباتات المطعمة ب P7 و P15 و تناقص في النباتات المطعمة ب P1. كما ان التطعيم بالصنف P1 وحده اظهر تأثيره على زيادة قدرة الانتاش تحت ظروف الاجهاد ب 20 م.مول من تركيز محلول كبريتات النحاس، بينما تطعيم النباتات بالاصناف P1 ، P7 و P15 حفز على زيادة انتاج المادة الحيوية و تراكم البرولين، كما خفضت من منسوب الكلوروفيل الكلي في نبات الفول مع وبدون المعالجة باجهاد النحاس.

كلمات البحث: المبيدات، النحاس، الملوحة، *Pseudomonas* ، الفول، الانتاش، البرولين، الكلوروفيل.

SOMMAIRE

<u>Liste des Tableaux</u>	I
<u>Liste des Figures</u>	II
Liste des abréviations	III
Résumé	IV
Abstract	V
المُلخَص	VI
<u>SOMMAIRE</u>	VII
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE I : ANALYSE BIBLIOGRA-PHIQUE	4
1 Chapitre 1 : SALINITE DU SOL	6
Introduction	6
1.1 Notion de stress	6
1.2 Effet de la salinité sur les plantes	7
1.2.1 Effet de la salinité sur la germination	7
1.2.2 Effet de la salinité sur la croissance	7
1.2.3 Effet de la salinité sur l'eau dans la plante	8
1.2.4 Effet de la salinité sur l'anatomie de la feuille	8
1.2.5 Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques et les protéines	8
1.2.6 Effet de la salinité sur les lipides.....	9
1.2.7 Effet de la salinité sur le taux des ions.....	9
1.2.8 Effet de la salinité sur les enzymes antioxydantes.....	9
1.2.9 Effet de la salinité sur le métabolisme de l'azote	10
1.2.10 Effet de la salinité sur l'ultrastructure du chloroplaste.....	10
1.2.11 Effet de la salinité sur la photosynthèse	10
1.3 Mécanismes de résistance à la salinité	11
2 Chapitre 2 : PESTICIDES ET CUIVRE DANS LE SOL	14
Introduction :	14
2.1.1 Classification des pesticides	14
2.1.2 Composition des pesticides	15
2.1.3 Contamination des sols par les pesticides	16
2.1.4 Notion des résidus des pesticides	16

2.1.4.1	Elaboration des limites maximales des résidus.....	17
2.2	GENERALITE SUR LE CUIVRE.....	17
2.2.1	Sources de contamination en cuivre des sols.....	18
2.2.2	Contamination des sols viticoles par le cuivre (Fongicide pour la vigne).....	18
2.2.3	Impacts de la contamination du sol par le cuivre	19
2.2.3.1	Sur le fonctionnement de l'écosystème.....	19
2.2.3.2	Sur la communauté microbienne.....	19
2.2.4	Biodisponibilité et absorption du cuivre par la plante.....	19
2.2.4.1	Biodisponibilité.....	19
2.2.4.2	Absorption du cuivre par la plante	20
2.2.5	Le cuivre dans la plante	21
2.2.5.1	Translocation du cuivre	21
2.2.5.2	Distribution du cuivre dans la plante.....	21
2.2.5.3	Le cuivre : oligo-élément et rôles physiologiques.....	21
2.2.6	Le cuivre dans la plante entre carence et toxicité.....	22
2.2.6.1	Carence.....	22
2.2.6.2	Toxicité.....	23
2.2.7	Effet phytotoxique du cuivre.....	23
2.2.7.1	Sur la physiologie de plante.....	23
2.2.7.2	Sur la germination	24
2.2.7.3	Sur la partie aérienne.	25
2.2.7.4	Sur les racines.....	25
3	Chapitre 3 : Interaction Rhizobactérie-plante-Sol : Cas de la fève et de Pseudomonas. 27	
3.1	Généralité sur la fève, <i>Vicia faba</i> L.....	27
3.1.1	Origine et classification	27
3.1.1.1	Origine et répartition géographique et écologie.....	27
3.1.1.2	Classification systématique	27
3.1.2	Aspect et particularités.....	27
3.1.3	Exigences de la plante	28
3.1.3.1	Exigences édaphiques.....	28
3.1.3.2	Exigences climatiques.....	28
3.1.4	Caryotype et cycle cellulaire	29
3.1.5	Intérêt écotoxicologique.....	29

3.2	<i>Généralités sur Pseudomonas spp.</i>	29
	Introduction	29
3.2.1	<i>Classification du genre Pseudomonas</i>	30
	3.2.1.1 Historique de la classification	30
	3.2.1.2 Classification contemporaine	30
3.2.2	<i>Caractérisation de genre de Pseudomonas</i>	30
	3.2.2.1 Caractéristiques physiologiques	30
	3.2.2.2 Caractéristiques Métabolique	31
	3.2.2.3 Autres Caractéristiques biochimiques	31
3.3	<i>Interaction plante – Rhizobactérie-sol</i>	33
3.3.1	<i>Action de plante sur le sol</i>	33
	3.3.1.1 <i>Secrétions dans la rhizosphère</i>	33
	3.3.1.2 <i>Phytoremediation</i>	33
	3.3.2 <i>Interaction de Rhizobactéries-sol</i>	34
	3.3.2.1 <i>Les bactéries dans la rhizosphère</i>	34
	3.3.2.2 <i>Rhizobactéries dans les sols salins</i>	34
	3.3.2.2.1 <i>Effet de la salinité sur les bactéries du sol</i>	34
	3.3.2.2.2 <i>Mécanismes de tolérance à la salinité ou d'osmorégulation chez les bactéries</i>	35
	3.3.2.3 <i>Résistance des Rhizobactéries aux métaux dans le sol</i>	36
	3.3.2.3.1 <i>Mécanismes de résistance aux métaux</i>	36
	3.3.2.4 <i>Effet des bactéries sur la structuration et stabilisation du sol</i>	37
	3.3.2.5 <i>Bioremédiation des sols pollués</i>	37
	3.3.3 <i>Action des Rhizobactéries sur la plante</i>	38
	3.3.3.1 <i>Rhizobactéries ou PGPRs</i>	38
	3.3.3.2 <i>Les bactéries endophytes</i>	38
	3.3.3.3 <i>Rôles des rhizobactéries ou PGPR pour plantes</i>	38
	3.3.3.3.1 <i>Solubilisation du phosphore</i>	39
	3.3.3.3.2 <i>Fixation d'azote</i>	39
	3.3.3.3.3 <i>Production de biofilm</i>	40
	3.3.3.3.4 <i>Production de phytohormones</i>	40
	3.3.3.3.5 <i>Production des sidérophores</i>	41
	3.3.3.3.6 <i>Dénitrification</i>	41
	PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	43
1	<i>Matériel et Methodes de l'expérimentation</i>	44

1.1	<i>Prélèvement, isolement, sélection et identification des souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescentes.</i>	44
1.1.1	Prélèvement des échantillons du sol.	44
1.1.2	Isolement des souches de <i>Pseudomonas</i> spp	44
1.1.2.1	Analyse macroscopique	45
1.1.2.2	Analyse microscopique	45
1.1.3	Sélection et conservation des souches:	45
1.1.3.1	Sélection des souches performantes	45
1.1.3.1.1	Test de résistance à la salinité : consiste à mesurer la croissance des souches dans le milieu King B avec quatre (04) niveaux de concentration en NaCl (7 %, 8% ,9% et 10%)	45
1.1.3.2	Conservation des souches	45
1.1.4	Identification et caractérisation des souches	45
1.1.4.1	Identification via la réalisation de la Galerie Api 20NE	45
1.1.4.2	Caractérisation des souches	47
1.1.4.2.1	Test d'antagonisme :	47
1.1.4.2.2	Production et caractérisation de Pyoverdine	47
1.2	<i>L'Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la fève et le rôle de l'inoculation par <i>Pseudomonas</i>.</i>	48
1.2.1	<i>Présentation du dispositif expérimental</i>	48
1.2.2	<i>Test de germination :</i>	48
1.2.3	<i>L'effet de la salinité et du cuivre sur la plante et le rôle de l'inoculation avec <i>Pseudomonas</i>.</i>	49
1.2.3.1	Matériel de l'expérimentation	49
1.2.3.2	Méthode de l'expérimentation :	49
1.2.3.2.1	Préparation des pots de plantation :	49
1.2.3.2.2	Préparation des graines	50
1.2.3.2.3	Préparation de l'inoculum et repiquage des graines	50
1.2.3.2.4	Préparation de la solution d'irrigation et du traitement des stress.	50
1.2.3.3	Paramètres étudiés.	51
1.2.3.3.1	Paramètres biométriques :	51
1.2.3.3.1.1	La biomasse : Mesure du poids frais de la partie aérienne et souterraine (BPA, BPR) :	51
1.2.3.3.2	Paramètres biochimiques et physiologique	51
1.2.3.3.2.1	Teneur en chlorophylle :	51
1.2.3.3.2.2	Teneur en proline :	51
1.2.3.3.3	Paramètres chimiques :	52
1.2.3.3.3.1	Prélèvement et l'accumulation des éléments nutritionnels ions Na ⁺ et K ⁺	52

1.2.3.4	Analyse statistique	52
PARTIE III : RESULTATS ET DESCUSION		53
1	Resultas et discusion	54
1.1	Prélèvement Isolement et sélection des souches de <i>Pseudomonas spp</i> fluorescent ..	54
1.1.1	Isolement des souches de <i>Pseudomonas ssp</i>	54
1.1.1.1	Analyse macroscopique	54
1.1.1.2	Analyse microscopique	54
1.1.2	Sélection et conservation des souches:	55
1.1.2.1	Sélection des souches performantes	55
1.1.2.1.1	Test de résistance à la salinité :	55
1.1.2.1.2	Test de résistance au cuivre :	56
1.1.2.2	Conservation des souches	57
1.1.3	Identification et carctérisation des souches.....	57
1.1.3.1	Identification des souches :	57
1.1.3.2	Carctérisation des souches	57
1.1.3.2.1	Test d'antagonisme :	57
1.1.3.2.2	Production et caractérisation de la Pyoverdine	58
1.2	Effet de la salinité et du cuivre sur la fève et le rôle de l'inoculation par <i>Pseudomonas</i>.	60
1.2.1	Effet combiné de la salinité et de l'inoculation par des souches de <i>Pseudomonas</i> sur la fève. 60	
1.2.1.1	Sur la germination de la fève (Indice de germination et taux de germination)	60
1.2.1.2	Sur les paramètres biométrique : la biomasse (Poids frais de la partie aérienne et la partie racinaire) :	63
1.2.1.3	Sur les paramètres physiologiques et biochimiques	67
1.2.1.3.1	Teneur en pigments chlorophylliens dans les feuilles	67
1.2.1.3.2	Sur la Teneur en proline dans la partie aérienne de la fève	73
1.2.1.4	Sur les paramètres chimiques : la teneur en éléments nutritionnels dans la partie aérienne, Potassium (K ⁺), Sodium (Na ⁺).....	77
1.2.1.4.1	Teneur en Potassium (K ⁺).....	77
1.2.1.4.2	Teneur en sodium (Na ⁺)	79
1.2.1.4.3	Rapport K ⁺ /Na ⁺ :	81
1.2.2	Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne par des souches de <i>Pseudomonas</i> sur la fève.	86
1.2.3	Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne par des souches de <i>Pseudomonas</i> sur la fève.	86
1.2.3.1	Sur la germination de la fève : (Indice de germination et le taux de germination).....	86
1.2.3.2	Sur les paramètres biométriques: la biomasse (Poids frais de la partie aérienne et la partie racinaire) :	88
1.2.3.3	Sur les paramètres physiologiques et biochimiques	93
1.2.3.3.1	Teneur en pigments chlorophylliens dans les feuilles	93
1.2.3.3.2	Sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève.....	99

1.3 CONCLUSION GENERALE:	103
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	106
<i>Annexes</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<i>Annexe 1</i>	139
<i>Annexe 2</i>	140
<i>Annexe 3</i>	142
<i>Annexe 4</i>	143
<i>Photos de l'expérimentation</i>	143

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les sols agricoles subissent, depuis longtemps, des risques énormes par le fait de leur exploitation excessive et irrationnelle et risquent de ne jamais se restaurer, la salinité et la contamination par les résidus chimiques des pesticides sont considérés parmi ces menaces. L'effet de ces derniers revient négativement sur l'état de sol et par suite sur la productivité des cultures, et l'environnement en générale.

En 2002, la FAO a annoncé que la salinité réduit 1 à 2% par an la superficie de terre agricole exploitable, atteignant les régions arides et semi-arides. Par conséquent, plus de 800 millions d'hectares de terres à travers le monde sont touchées par des niveaux de salinité qui pourrait réduire considérablement la productivité des cultures (Munns et Tester, 2008). La salinité du sol 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). Le stress salin affecte de nombreux aspects du métabolisme de la plante et, par conséquent, la croissance et les rendements sont réduits (Cenk *et al.*, 2008). La salinité induit un stress osmotique en limitant l'absorption de l'eau dans le sol, et le stress ionique résultant de fortes concentrations d'ions de sel potentiellement toxiques dans les cellules végétales (Kohler *et al.*, 2009). Le stress salin affecte également de nombreuses activités physiologiques liées à l'accumulation d'ions (Lee *et al.*, 2008). Plusieurs processus biochimique peuvent être affecté par la salinité, y compris la synthèse des protéines, la photosynthèse et le métabolisme des lipides (Parida et Das, 2005). Dans la plupart des sols salins, le chlorure de sodium est l'élément de salinité prédominant, et son effet peut être observé par une diminution de la productivité ou par la mort de la plante (Munns et Tester, 2008). La salinité du sol provoque le stress des plantes de deux façons : rendre l'absorption d'eau par les racines plus difficile, et provoquant la toxicité de la plante via l'accumulation de fortes concentrations de sel dans la plante (Munns et Tester, 2008).

Dans un autre phénomène, l'utilisation intensive des pesticides accumule progressivement des résidus chimiques dans les sols arrivant des doses toxiques pour les plantes et l'environnement, la fréquence d'usage de ces produits dépend fortement de la demande insatiable de la production et la commercialisation agricole. Par exemple, le cuivre est un métal particulièrement phytotoxique, il est à la fois un fongicide et bactéricide capable d'altérer la structure, la respiration et d'autres processus microbiens (Chaney, 1980 ; Wheeler *et al.*, 1993 ; Wheeler et Power, 1995 ; Cetois *et al.*, 2003 ; Ranjard *et al.*, 2006 ; Sauvé, 1997). L'utilisation de sels de cuivre sous forme de bouillie bordelaise comme moyen de lutte contre le mildiou est à l'origine de l'accumulation du métal constatée dans tous les sols de vignoble : environ 7 700 000 ha dans le monde (OIV-ONIVINS, 1995). En viticulture traditionnelle, la vigne subit quatre à cinq traitements comportant 10 à 12 kg de bouillie, soit 50 à 60 kg de sel cristallisé, correspondant à environ 14 kg .ha⁻¹.an⁻¹ de métal. Cette dose est d'ailleurs fréquemment dépassée, le nombre de traitements étant porté à huit, dix et même quatorze pendant les années pluvieuses ou sur les terrains naturellement humides (Chaignon, 2001). Alors qu'un maximum de 6 kg de cuivre par hectare et par an est autorisé en agriculture biologique (CE, 2008), Le cuivre s'accumule dans les racines et particulièrement dans l'apoplasme, ainsi, sa phytotoxicité agit principalement sur la croissance et la morphologie du système racinaire (Woolhouse et Walker, 1981 ; Marschner, 1995). La réduction de l'élongation racinaire sous

l'effet de la rhizotoxicité de Cu, a pour effet principal de diminuer fortement la capacité de la plante à couvrir ses besoins en eau et en nutriments, à l'instar de ce qui se passe dans le cas beaucoup plus documenté de la rhizotoxicité aluminique en sols acides (Marschner 1991 ; Rengel 1996 ; Kochian *et al.*, 2004).

Face à ces risques de phytotoxicité provenant de la salinité et des résidus chimiques des pesticides dans le sol, de nombreux chercheurs ont étudié le développement de plusieurs stratégies afin de soulager l'effet des risques des sols contaminés sur les plantes et l'environnement. L'une des majeurs stratégies efficaces mis en évidence par les chercheurs ayant de plus en plus une grande importance en terme d'aspect agronomique, environnementale et économique, il s'agit de l'inoculation avec des souches bactériennes favorisant la croissance des plantes (PGPR ou PGPB). Les PGPRs peuvent stimuler non seulement la croissance et le rendement de plantes, mais allègent également les effets des stress biotiques ou abiotiques (Lugtenberg et Kamilova, 2009). Les PGPRs sont aussi capables d'augmenter la croissance des plantes et la biomasse aérienne tout en protégeant la plante des effets toxiques des métaux (Wani *et al.*, 2007a ; Rajkumar et Freitas, 2008). L'utilisation de 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 (Mayak *et al.*, 2004a; Kohler *et al.*, 2009). L'augmentation en rendement des cultures dues aux PGPRs ont été liées surtout à la production des phytohormones de croissance aussi bien que la solubilisation de phosphate (Kohler *et al.* 2006).

Dans ce contexte plusieurs auteurs ont rapporté l'effet amélioratif de l'interaction plantes-PGPR par l'utilisation de différentes souches bactériennes bio-inoculantes, tels que *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* et plusieurs souches de *Bacillus* à gram positif (Zahir *et al.*, 2004 ; Berg, 2009). Yao *et al.* (2010) a rapporté que l'inoculation avec *Pseudomonas putida* Rs198 a stimulé la croissance et la germination de cotonnier sous conditions de stress salin. Relativement, peu de mécanismes ont été évidemment démontrés en expliquant l'augmentation de la résistance aux stress environnementaux des plantes traitées avec des bactéries du genre *Pseudomonas*. En tenant en considération que les plantes sont souvent plus sensibles à la salinité pendant les stades de croissance et de germination (Al-Karaki, 2001). Les souches de *Pseudomonas* utilisées, *P. trivialis* 3Re27 et *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 ont une excellente capacité de colonisation des racines et de promouvoir la croissance des plantes et ont montré aussi un antagonisme devant des souches fongiques phytopathogènes. Ils sont également tolérants à la salinité, et capables de soulager le stress salin dans les plantes de pois, de soja, de blé, de concombre et de tomate (Berg *et al.*, 2005; Egamberdieva et Kucharova 2009, Egamberdieva *et al.*, 2010).

Le présent travail vient dans le même contexte de l'étude d'interaction Plante-Rhizobactérie, où nous recherchons l'effet de stress salin et stress de cuivre en tant que résidu des pesticides dans le sol sur la germination, la biomasse, la teneur en chlorophylle, l'accumulation en proline et le prélèvement des éléments nutritionnels d'un part, et de l'effet de l'inoculation par des souches de *Pseudomonas* isolées et sélectionnées sur la germination, la croissance des plantes et la tolérance des plantes au stress salin et au stress du cuivre, d'autre part.

Notre travail a été réalisé en trois parties suivantes :

1. Analyses bibliographique : comprend trois chapitres :
 - La Salinité du sol : comprend l'effet du stress salin sur différents processus physiologiques des plantes ;
 - Les Pesticides et le Cuivre : contient des généralités sur la classification et l'utilisation des pesticides et la contamination des sols par les pesticides, puis la contamination des sols par le cuivre en tant que pesticide et son effet sur les différentes parties et stades végétatives des plantes ;
 - L'interaction Sol-Plante-Rhizobactérie cas de la fève et de *Pseudomonas* : comprend des généralités sur la plante de la fève puis des généralités sur *Pseudomonas*, sa classification et sa caractérisation physiologique et biochimique, et en fin les différents effets interactionnels entre le sol, la plante et les rhizobactéries.
2. Matériel et méthodes : Une description du matériel et des méthodes utilisées dans l'isolement, l'identification, la sélection et la caractérisation des souches de *Pseudomonas* utilisées, et dans l'expérimentation de germination et de plantation de la fève ;
3. Résultats et discussions : Présentation des résultats obtenus et leur discussion et une conclusion générale.

**PARTIE I :
ANALYSE
BIBLIOGRA-
PHIQUE**

CHAPITRE I :

LA SALINITE

DU SOL.

1 Chapitre 1 : SALINITE DU SOL

Introduction

La salinité du sol réduit la superficie terrestre qui peut être employée pour l'agriculture de 1 - 2 % annuellement, frappant les régions arides et semi-arides les plus dures (FAO, 2002). Actuellement, plus de 800 millions d'hectares de terre dans le monde entier sont affectés par les niveaux du sel qui pourraient sensiblement réduire la productivité des cultures. Dans la plupart des sols salins, le chlorure de sodium est l'espèce prédominante de la salinité, et on peut observer son effet par diminution de productivité ou la mort de plante. La salinité de sol cause le stress Salin de deux manières : (1) rendre le prélèvement d'eau par les racines plus de difficile, et (2) entraînant la toxicité de plante par l'intermédiaire de l'accumulation des concentrations élevées en sel à la plante (Munns et Tester, 2008). Avec la salinité réduisant la croissance des plantes par la toxicité provoquée principalement par le prélèvement excessif de NaCl particulièrement (FAO, 2005). La salinité est également un facteur principal de limitation de la croissance des plantes et de la productivité des cultures (Allakhverdiev *et al.*, 2000). Puisque la salinité est un problème mondial croissant, les tentatives intensives de recherches visent à améliorer la tolérance des plantes cultivées de salinité, y compris la fixation d'azote des légumineuses (Dilfuza, 2013). La croissance de plantes et la photosynthèse sont conséquemment affectées par les effets négatifs complexes des interactions osmotiques, ioniques, et alimentaires (Shannon, 1997). Plusieurs processus biochimiques peuvent être affectés par salinité, y compris la synthèse de protéine, 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 comprenant le règlement et le compartimentage des ions, de la synthèse des solutés compatibles, de l'induction des enzymes antioxydantes, de l'induction des hormones des plantes, et des changements des voies photosynthétiques (Cheeseman, 1988 ; Parida et Das, 2005). Plusieurs stratégies ont été développées afin de diminuer les effets toxiques provoqués par la salinité élevée sur la croissance des plantes, y compris le génie génétique des plantes (Wang *et al.*, 2003), et récemment l'utilisation des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) (Dimkpa *et al.*, 2009a).

1.1 Notion de stress

En 1868, la notion physiologique du stress a été dégagée en premier lieu par Claude Bernard. Selon lui, les réactions déclenchées par le stress visaient à maintenir l'équilibre de notre organisme. L'ensemble de ces réactions internes ont été nommé homéostasie par le physiologiste américain Bradford (1915). L'association de ces trois notions stress-homéostasie-adaptation constitue l'approche biologique du stress et permet notamment d'expliquer l'influence du stress qui est de permettre, lorsqu'il est appliqué dans certaines limites, l'adaptation à l'environnement, et donc au maintien de la vie (Bouzid, 2010).

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 organismes) et les stress abiotiques (qui sont dus principalement à des facteurs environnementaux) (Bouزيد, 2010).

1.2 Effet de la salinité sur les plantes

La salinité du sol ou de l'eau est causée par la présence d'une quantité excessive de sels. Généralement un taux élevé de Na^+ et Cl^- cause le stress salin. Le stress salin a un triple effet: il réduit le potentiel hydrique, cause un déséquilibre ionique ou des perturbations en homéostasie ionique et provoque une toxicité ionique. Cet état hydrique altéré conduit à une croissance réduite et limitation de la productivité végétale. Depuis que le stress salin implique aussi bien le stress osmotique qu'ionique (Hayashi et Murata, 1998), l'arrêt de la croissance est directement relié à la concentration des sels solubles ou au potentiel osmotique de l'eau du sol (Greenway et Munns, 1980 in Parida et Das, 2005).

1.2.1 Effet de la salinité sur la germination

Les semences des glycophytes et des halophytes répondent de la même manière au stress salin, en réduisant le nombre total des graines germées et en accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination (Ismail, 1990 in Lachiheb *et al.*, 2004).

Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal a été évoquée (Ungar, 1978; Kabar, 1986 in Debez *et al.*, 2001). A titre d'exemple ; le taux de germination du cotonnier chute de 70% en présence de 12 g/l de chlorure de sodium (NaCl) et la germination des tubercules de pomme de terre peut être retardée de 3 à 7 jours selon le degré de salinité du sol (Levigneron *et al.*, 1995). La luzerne qui voit sa germination affectée négativement par la présence du sel et peut être inhibée complètement à des concentrations supérieures à 15 g/l de NaCl (Chaibi, 1995). Tandis que chez l'*Atriplex halimus* L. la vitesse de germination est ralentie à partir de 10 g/l de NaCl et davantage inhibée à des concentrations plus élevées (Debez *et al.*, 2001). Selon Benrebiha (1987), la germination d'*Atriplex halimus* et d'*Atriplex nummularia* est inhibée dès que la concentration en NaCl dépasse 4 g/l à 20°C. La germination des graines des plantes, qu'elles soient halophytes ou glycophytes, est affectée par la salinité. Selon l'espèce, l'effet dépressif peut être de nature osmotique ou toxique :

- Les effets osmotiques se traduisent par l'inaptitude des graines à absorber des quantités suffisantes en eau pour les ramener à leur seuil critique d'hydratation, nécessaire au déclenchement du processus de germination,

- Les effets toxiques sont liés à une accumulation cellulaire de sels qui provoquent des perturbations des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination, empêchent la levée de dormance des embryons et conduisent à une diminution de la capacité de germination (Rejili *et al.*, 2006).

1.2.2 Effet de la salinité sur la croissance

La réponse immédiate du stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire ce (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). La salinité accrue est accompagnée par une réduction significative dans la biomasse racinaire, la hauteur de la plante, le nombre de feuilles par plante, la longueur des racines et la surface racinaire chez la tomate (Mohammad *et al.*, 1998 in Nouri , 2012).

1.2.3 Effet de la salinité sur l'eau dans la plante

Le potentiel hydrique et le potentiel osmotique des plantes deviennent de plus en plus négatifs avec l'augmentation de la salinité ainsi que la pression de la turgescence (Romeroaranda *et al.*, 2001). Dans les conditions de concentrations élevées de salinité accrue, le potentiel hydrique de la feuille et la vitesse d'évaporation diminuent significativement chez l'halophyte *Suaeda salsa* alors qu'il n'y a pas de changement dans le contenu relatif en eau (Lu *et al.*, 2002).

1.2.4 Effet de la salinité sur l'anatomie de la feuille

La salinité cause une augmentation de l'épaisseur de l'épiderme, l'épaisseur du mésophylle, la longueur et le diamètre des cellules palissadiques dans les feuilles de l'haricot, du coton et de l'atriplex (Longstreth et Nobel, 1979). La salinité réduit aussi l'espace intercellulaire dans les feuilles (Delphine *et al.*, 1998) .

L'épaisseur du mésophylle et de l'épiderme ainsi que l'espace intercellulaire diminuent significativement dans les feuilles de la mangrove (*Bruguiera parviflora*) parviflora traitées avec le NaCl (Parida et Das, 2005).

Le stress salin cause le développement de la vacuolisation et un gonflement partiel du réticulum endoplasmique, le gonflement de la mitochondrie, la vésiculation et la fragmentation du tonoplaste et la dégradation du cytoplasme par le mélange de la matrice cytoplasmique et vacuolaire des feuilles de la patate douce (*Ipomoea batatas*) (Mitsuya *et al.*, 2000).

1.2.5 Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques et les protéines

Le taux de la chlorophylle et des caroténoïdes des feuilles diminue en général sous les conditions de stress salin. Les feuilles les plus âgées commencent à développer une chlorose et finissent par tomber pendant une période prolongée de stress salin (Agastian *et al.*, 2000 in Nouri , 2012). Par contre, Wang et Nil (2000) ont rapporté que le contenu de la chlorophylle augmente sous les conditions de salinité chez l'Amaranthus. Chez *Grevillea*, la protochlorophylle, la chlorophylle et les caroténoïdes diminuent significativement sous le stress salin, mais la vitesse du déclin de la protochlorophylle, la chlorophylle est plus importante que celle de la chlorophylle (a) et les caroténoïdes. Les pigments anthocyanines augmentent significativement dans ce cas de stress salin (Kennedy et De Fillippis, 1999).

Le contenu des protéines solubles des feuilles diminue en réponse à la salinité (Parida *et al.*, 2002). Agastian *et al* (2000) ont rapporté que les protéines solubles augmentent à des niveaux bas de salinité et diminuent en hautes concentrations de salinité chez les mûres.

1.2.6 Effet de la salinité sur les lipides

Les lipides sont la source la plus efficace du stockage de l'énergie, ils fonctionnent comme des isolateurs des hormones et organes délicats, et jouent un rôle important comme des constituants des structures de la plupart des cellules membranaires (Singh *et al.*, 2002). Ils ont aussi un rôle vital dans la tolérance à différents stress physiologiques chez une variété d'organismes comme les cyanobactérie. L'insaturation des acides gras contrecarre le stress salin ou hydrique. Wu *et al.*, (1998) ont analysé le changement de la composition des lipides soumis à un stress salin dans la membrane plasmique des racines chez *Spartina patens* et ont rapporté que les pourcentages molaires des stérols et les phospholipides diminuent avec l'augmentation de la salinité, mais le ratio stérols/phospholipides n'est pas affecté par le NaCl.

1.2.7 Effet de la salinité sur le taux des ions

L'absorption des hautes concentrations de NaCl engendre une compétition avec l'absorption d'autres ions, spécialement le K⁺, ce qui conduit à une déficience en K⁺. Letraitement accru de NaCl induit une augmentation dans le taux du Na⁺ et Cl⁻ et une diminution dans le taux du Ca²⁺, K⁺ et le Mg²⁺chez de nombreuses plantes (Khan, 2001 in Haouala *et al.*, 2007). La salinité fait augmenter le contenu de Na⁺, Ca²⁺et Cl⁻ chez *Vicia faba* et le rapport K⁺/Na⁺diminue (Gadallah, 1999 in Haouala *et al.*, 2007). Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur les plantes : la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions. L'accumulation des ions Na⁺ dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tels que K⁺et Ca²⁺. Il y aurait une compétition entre Na⁺ et Ca²⁺ pour les mêmes sites de fixation apoplasmique. L'accumulation des ions Na⁺ affecte l'absorption de K⁺ et ceci en fonction de la concentration du premier élément, cependant, la présence de Na⁺en faible concentration peut augmenter l'absorption de K⁺, tandis qu'une concentration élevée en Na⁺ l'absorption de K⁺ chez le riz est diminué (Levitt, 1980 in Haouala *et al.*, 2007) et la canne à sucre (Nimbalkar, Joshi, 1975 in Haouala *et al.*, 2007). Cette absorption peut même s'arrêter complètement chez le haricot (Hamza, 1977 in Haouala *et al.*, 2007) et le laurier rose (Hajji, 1980 in Haouala *et al.*, 2007) cultivés en présence de chlorure de sodium à 12 g.l⁻¹.

1.2.8 Effet de la salinité sur les enzymes antioxydantes

En cas de stress biotique ou abiotique, on observe chez les plantes une production rapide et massive d'espèces réactives de l'oxygène. De nombreuses études ont été menées, notamment chez les plantes, afin de préciser quels facteurs entraînent ce phénomène. De nombreuses conditions environnementales ont ainsi été définies : la sécheresse, les stress thermiques (hautes et basses températures), l'exposition aux métaux lourds, aux ultraviolets, aux polluants aériens tels que l'ozone et le SO₂, les stress mécaniques, les carences en nutriments, les attaques de pathogènes, la salinité et les fortes expositions à la lumière (Ben Naceur *et al.*, 2005). Le stress salin cause un déficit hydrique comme conséquence à l'effet osmotique sur les activités métaboliques des plantes. Ce déficit hydrique cause un stress oxydatif à cause de la formation des espèces réactives de l'oxygène comme les superoxydes, les radicaux hydroxyle et

peroxyde. Les espèces réactives de l'oxygène qui sont le produit des stress hyperosmotique et ionique causent des disfonctionnements dans la membrane et la mort cellulaire (Bohnert et Jensen, 1996). Les plantes se défendent contre ces espèces réactives de l'oxygène par l'induction de l'activité de certaines enzymes antioxydantes comme la catalase, la peroxydase, la glutathion réductase et le superoxyde dismutase, qui éliminent les espèces réactives de l'oxygène. L'activité des enzymes antioxydantes comme l'ascorbate peroxydase, la glutathion réductase, la monodéshydroascorbate réductase (MDHAR) et la déshydroascorbate réductase (DHAR) augmentent sous les conditions de stress salin chez le blé alors que l'ascorbate total et le contenu de la glutathion diminuent (Hernandez *et al.*, 2000).

1.2.9 Effet de la salinité sur le métabolisme de l'azote

L'activité de la nitrate réductase (NRA) diminue dans les feuilles de beaucoup de plantes pendant le stress salin (Flores *et al.*, 2000 in Nouri, 2012). La première cause de la réduction de la NRA dans les feuilles est un effet spécifique associé à la présence du Cl^- dans le milieu externe. Cet effet de Cl^- semble être dû à la réduction de l'absorption du NO_3^- et par conséquent une concentration réduite du NO_3^- dans les feuilles, bien que l'effet direct du Cl^- sur l'activité de l'enzyme qui ne peut être écarté (Flores *et al.*, 2000 in Nouri, 2012). Chez le Mais (*Zea Mays*) le taux des nitrates diminue dans les feuilles, mais augmente dans les racines sous le stress salin et la NRA des feuilles diminue aussi dans la salinité (AbdElBaki *et al.*, 2000). L'exposition des racines nodulées des légumineuses comme le soja et l'haricot à NaCl cause une réduction rapide de la croissance végétale. (Serraz *et al.*, 1998 in Parida et Das, 2005). L'activité de la nitrogénase diminue chez l'haricot par une exposition à courte durée à la salinité.

1.2.10 Effet de la salinité sur l'ultrastructure du chloroplaste

Chez les plantes traitées avec le NaCl, la microscopie électronique a montré que la structure des thylacoïdes du chloroplaste devient désorganisée, le nombre et la taille des plastoglobules augmentent et le taux d'amidon diminue (Hernandez *et al.*, 1999). Dans le mésophylle de la patate douce (*Ipomoea batatas*), les membranes des thylacoïdes sont gonflées et la plupart sont perdues sous un stress salin sévère (Mitsuya *et al.*, 2000).

1.2.11 Effet de la salinité sur la photosynthèse

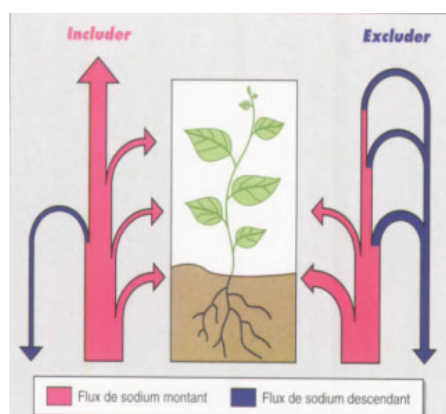
Le développement des plantes est le résultat de l'intégration et la régulation des processus physiologiques dont le plus dominant est la photosynthèse. La croissance du végétal autant que la production de biomasse est une mesure de la photosynthèse nette et comme les stress environnementaux affectent la croissance donc affectent la photosynthèse. Le stress salin cause des effets à long et à court terme sur la photosynthèse.

Les effets à court terme se manifestent après quelques heures jusqu'à un à deux jours de l'exposition au stress, et la réponse est importante ; il y a complètement arrêt de l'assimilation du carbone. L'effet à long terme s'exprime après plusieurs jours de l'exposition au sel et la diminution de l'assimilation du carbone est due à l'accumulation du sel dans les feuilles en développement (Munn et Termatt, 1986), aussi on a rapporté qu'il y a suppression de

la photosynthèse sous les conditions d'un stress salin (Kao *et al.*, 2001 in Parida et Das, 2005) et qu'elle ne diminue pas mais plutôt stimulée par de petites concentrations de sel (Kurban *et al.*, 1999). La diminution de la vitesse photosynthétique est due à plusieurs facteurs : la déshydratation des membranes cellulaires ce qui réduit leur perméabilité au CO₂ , la toxicité du sel, la réduction de l'approvisionnement en CO₂ à cause de la fermeture hydroactive des stomates, la sénescence accrue induite par la salinité et le changement dans l'activité des enzymes causé par le changement dans la structure cytoplasmique. (Iyengar et Reddy, 1996).

1.3 Mécanismes de résistance à la salinité

La résistance d'une plante à la salinité s'exprime par sa capacité à survivre et à se reproduire dans des conditions de stress salin (PIRI *et al.*, 1994). Les plantes développent plusieurs stratégies pour limiter le stress salin (**Figure 1**), qui diffèrent selon la catégorie de la plante (Berthomieu *et al.*, 2003). Chez les plantes sensibles au NaCl, le Na⁺ s'accumule dans les racines, puis exclu des feuilles, ces plantes sont dites «excluser». A l'inverse, les plantes tolérant le NaCl, sont dites «incluser» car elles ont en général des feuilles plus chargées en Na⁺ que les racines lorsqu'elles sont cultivées en présence de sel (Haouala *et al.*, 2007) (**Figure 1**).



Chez les plantes de types incluser, les flux de sodium sont essentiellement ascendants (en rose) et le sel est accumulé dans les parties aériennes. Chez celles de type excluser, la plus grande partie du sodium véhiculé vers les feuilles est réexporté vers les racines via le phloème (en bleu). Les intensités relatives des flux sont symbolisées par la largeur des traits.

Figure 1 Schématisation du bilan de la circulation du sodium dans les plantes incluser ou excluser (Levigneron *et al.*, 1995).

1.3.1 Exclusion

La plante empêche le sel de remonter dans la sève jusqu'aux feuilles. La présence de l'endoderme dans les racines ainsi que le transport sélectif, leur permet d'absorber les ions nutritifs utiles et de réexcréter les ions Na⁺ (Genoux *et al.*, 1991). Quelques halophytes peuvent empêcher l'absorption excessive de sel par exclusion du sel au niveau des racines et de la partie inférieure de la tige. Dans ce cadre, la sortie de Na⁺ des vaisseaux du xylème en échange d'une entrée de K⁺ venant des cellules parenchymateuses du xylème et du parenchyme avoisinant, joue un rôle important dans la tige et les racines (Luttge *et al.*, 2002).

1.3.2 Inclusion

La plante retient le sel qui parvient aux feuilles au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de pompes moléculaires. Les vacuoles sont des compartiments fermés au sein de la cellule, le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (Berthomieu *et al.*, 2003), ou excrété par des glandes vers l'extérieur (Alem et Amri, 2005). L'excrétion dans les glandes à sel est très spécifique ; d'abord Na^+ , Cl^- et HCO_3^- sont excrétés contre le gradient de concentration, alors que des ions comme Ca^{++} , NO_3^- , SO_4^{--} et H_2PO_4^- sont maintenus contre leur gradient (Hopkins, 2003).

1.3.3 La réexcrétion

La plante a la capacité de réexpédier aussitôt l'excès de sel parvenu jusqu'au feuilles vers ses racines, par l'intermédiaire de sa sève descendante par le phloème. Les racines peuvent ensuite réexcréter le sel à l'extérieur et l'éliminer vers le sol (Berthomieu *et al.*, 2003).

**CHAPITRE II :
PESTICIDES
ET CUIVRE
DANS LE SOL.**

2 Chapitre 2 : PESTICIDES ET CUIVRE DANS LE SOL

2.1 GENERALITE SUR LES PESTICIDES

Introduction :

Le terme "pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances ou produits qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications (Kouzayha, 2011).. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de «formulants» (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005). Les pesticides sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Les formulations sont en général composées d'une ou de plusieurs substances actives et d'un ou de plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux ; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation (Couteux et Lejeune, 2006). En 2005, 489 substances actives, appartenant à environ 150 familles chimiques différentes, sont encore disponibles et se répartissent en fonction de leurs usages. Ces substances actives sont formulées et commercialisées sous des formes de préparations ou produits commerciaux : environ 6 000 substances sont homologués, mais environ 2 500 sont réellement distribués. Il faut également souligner l'existence des « biocides », pesticides réservés à des usages domestiques non agricoles tels que l'entretien des espaces publics, des infrastructures de transport et des jardins des particuliers (Kouzayha, 2011). Au Liban, pour l'année 2000, 5% seulement des pesticides vendus serviraient à des buts non agricoles et se partagent équitablement entre les usages amateurs et les usages collectifs (MoE, 2001).

2.1.1 Classification des pesticides

Il y a trois façons de classer les pesticides : selon leur usage, selon l'organisme vivant visé et selon leur nature chimique. Ces différentes classifications sont destinées à répondre aux différentes questions de chaque personne susceptible d'utiliser ou de travailler avec les pesticides. L'agronome utilise préférentiellement la classification selon l'usage tandis que pour connaître les différentes propriétés des pesticides vaut mieux se référer à la classification chimique (El Mouden, 2010).

Dans la classification chimique les pesticides ont été répartis en trois catégories : les pesticides inorganiques, les pesticides organo-métalliques et les pesticides organiques. Cette classification distingue les pesticides selon les groupements chimiques fonctionnels qui les composent et permet ainsi une meilleure compréhension des propriétés des pesticides et donc de leur devenir dans les milieux naturels (El Mouden, 2010). Les pesticides inorganiques sont peu

nombreux mais utilisés en grande quantité. C'est notamment le cas du soufre et du cuivre qui ont une action fongicide. Ils sont principalement destinés au traitement des vignes, des arbres fruitiers, de la pomme de terre et des cultures maraîchères. Aujourd'hui, il n'existe plus d'insecticides inorganiques et le seul herbicide encore utilisé est le chlorate de sodium (désherbant total) (Van Der Werf , 1996).

Les pesticides organo-métalliques sont des fongicides constitués d'un cation métallique (zinc, cuivre par exemple) et d'un anion organique (dithiocarbamate par exemple). Parmi ces pesticides on peut citer le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse). Les pesticides organiques représentent la catégorie la plus importante. Ils sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (Gil et Sinfort, 2005) : c'est l'ensemble des molécules qui dérivent d'un groupe d'atomes qui constituent une structure. Il est à noter que les propriétés d'un pesticide ne dépendent pas seulement d'un groupe fonctionnel particulier mais également de l'existence de motifs moléculaires particuliers. Le nombre de substances appartenant à une même famille est variable et parfois une famille n'est représentée que par un seul pesticide. Ainsi, parmi les 80 familles chimiques de pesticides, on peut citer les acides carboxyliques, les carbamates, les dithiocarbamates, les hétérocycles azotés (triazines, pyrimidine et bipyrimidium), les dérivés organophosphorés, les azoles, les pyrétrinoïdes et les sulfonylurées. Cependant, l'appellation de ces familles est parfois arbitraire et peut donc varier selon les ouvrages (Cross, 2001 in El Mouden, 2010).

2.1.2 Composition des pesticides

Les pesticides sont disponibles en différentes formulations. Ils peuvent se présenter sous forme de poudres mouillables, de liquides pâteux ou de liquides plus ou moins fluides, de granulés solubles. Leur application par pulvérisation est le souvent utilisée pour traiter les cultures. Une bouillie liquide de pesticide est obtenue en additionnant de l'eau, la substance active et l'adjuvant. Afin de faciliter ultérieurement la compréhension, il est préférable, au préalable, de bien définir chacun de ces termes (El Mouden, 2010).

- **Les matières ou substrats actives** sont des substances hautement toxiques aux micro-organismes, mais aussi les virus qui confèrent au produit l'effet d'empoisonnement désiré. Le rôle de ces produits est d'assurer la destruction et/ou de prévenir l'action des animaux, végétaux, microorganismes ou virus nuisibles. Ces substances sont classées suivant leur structure chimique et forment des familles. L'appartenance à une même famille se traduit généralement par un mode d'action similaire. Selon leur formulation, les produits peuvent être élaborés à partir d'une ou plusieurs matières actives (Marlière, 2001 in El Mouden, 2010).

- **L'adjuvant** : toute substance qu'on additionne à la bouillie pour assurer la stabilité des matières actives durant le stockage et/ou l'utilisation. Ces matières additives sont souvent appelées des adjuvants, des solvants, ou des excipients. Leur absence peut compromettre l'efficacité d'un traitement. En principe, ces composés sont inactifs sur les organismes cibles. Ces adjuvants peuvent être de plusieurs types selon la cible à traiter (El Mouden, 2010).

2.1.3 Contamination des sols par les pesticides

La contamination des sols par différentes substances, dont les pesticides, a été reconnue comme l'une des principales menaces qui pèsent sur les sols européens (CEC, 2002). Les pesticides dans les sols peuvent provenir des activités agricoles mais également des activités d'entretien des espaces verts et jardins ou de désherbage des réseaux routiers et ferrés. La vitesse d'infiltration des pesticides dans le sol dépend du sol (humidité, taux de matière organique, pH) et du pesticide (Maysaloun, 2008). Il est connu que les insecticides organochlorés sont assez persistants dans l'environnement et certains, bien qu'interdits d'usage peuvent rester présents dans le sol pendant plusieurs années (lindane, alpha-HCH). A l'heure actuelle les insecticides utilisés (organophosphorés, pyréthrinoides, carbamates et autres) se dégradent rapidement, par contre les herbicides sont assez persistants dans les sols et leurs produits de dégradation sont souvent stables. La pollution chronique par certaines substances minérales persistantes (cuivre dans les fongicides employés en viticulture) (Chaignon *et al.*, 2003) et l'existence éventuelle de "résidus liés" (non extractibles par les méthodes classiques d'analyse) pose la question du risque environnemental à long terme (Barraclough *et al.*, 2005).

2.1.4 Notion des résidus des pesticides

Lorsqu'on utilise un produit phytosanitaire sur les cultures au cours de leur croissance ou lors de la conservation des récoltes, il peut rester des traces du produit utilisé ou de ces métabolites sur les denrées alimentaires. C'est ce qu'on appelle résidus (Briand, 2002). Donc on peut qualifier le terme de résidus comme étant la somme de la molécule mère et de tous ses métabolites issus de sa dégradation ou de sa métabolisation (El Mouden, 2010).

L'accumulation de résidus de pesticides est en fonction de cinq facteurs (Carole Bedos, 2002):

1. L'espèce cultivée et l'organe récolté ;
2. La dose d'utilisation du produit ;
3. La fréquence des traitements ;
4. Les conditions climatiques.

Le degré du respect des conditions d'emploi en particulier le délai de carence (DAR) : temps qui sépare le dernier traitement à la récolte. Ces résidus sont les plus souvent présents à de faibles concentrations, souvent inférieures à une partie analysée par million = 1ppm (1mg de produit analysé par kg de nourriture) (El Mouden, 2010).

Avant la mise en vente d'un produit phytosanitaire, des études toxicologiques sont réalisées pour déterminer son innocuité vis-à-vis de l'homme et de l'environnement. C'est pourquoi plusieurs paramètres sont définis. Nous citons en particulier la dose sans effet (DSE), la dose journalière admissible (DJA) (El Mouden, 2010).

2.1.4.1 Elaboration des limites maximales des résidus

• Dose sans effet et dose journalière admissible

La dose sans effet (DSE) c'est la dose la plus élevée d'une substance qui ne provoque aucun effet toxique détectable chez les animaux soumis à des études expérimentales. La DSE est généralement exprimée en mg de substance par kg de poids corporel et par jour (Glotfelty *et al.*, 1984).

La dose journalière admissible (DJA) c'est la quantité d'une substance pouvant être quotidiennement consommée au cours d'une vie entière sans présenter le moindre risque ou effet secondaire (Lyma *et al.*, 1990). Elle s'exprime en milligramme (ou microgramme) de résidus par kilogramme de poids corporel (Rüdel, 1997). Elle est déterminée en divisant la dose sans effet (DSE) de l'animal le plus sensible par 100.

• Limite maximale de résidus (LMR).

La limite maximale de résidus (LMR) c'est la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commercialisables (Stork, 1994). Elle est donnée par l'équation suivante :

$$LMR = (DJA \times P) / C$$

DJA : dose journalière admissible.

P : poids d'un homme en kg.

C : quantité d'aliments consommée chaque jour (kg/j).

Cette LMR est exprimée en milligrammes (mg) de résidus par kilogramme (kg) de produit récolté, ou en part par million (ppm) (El Mouden, 2010).

2.2 GENERALITE SUR LE CUIVRE

Le cuivre est un métal essentiel à la vie, mais comme toute substance, il devient toxique à trop forte dose. Un sol contenant moins de 1 à 2 mg/kg de cuivre extractible à l'EDTA, soit 16 à 31 $\mu\text{mol/kg}$, est considéré comme pauvre en cuivre (Foltete, 2010). Les plantes qui y poussent risquent des carences. Le seuil de toxicité varie en fonction des sols et des auteurs entre 50 et 120 mg/kg de cuivre extractible à l'EDTA, soit 0,8 à 1,9 mmol/kg (Baize *et al.*, 2006).

Le cuivre est depuis longtemps connu pour son effet fongicide sur les végétaux, utilisé particulièrement pour la lutte contre le mildiou. La bouillie bordelaise (mélange de sulfate de cuivre et de chaux) a été, et est encore largement utilisée dans ce but. Probablement 200 000 t/an de cuivre sont utilisées ainsi autour du monde (ICA, 1995), auxquelles s'ajoutent de faibles quantités d'autres composés cuivrés comme l'oxyde et l'oxychlorure de cuivre, les mélanges arsenic-cuivre ou vert de Paris et de nombreuses formulations combinant le cuivre avec des fongicides organiques : environ 2 000 produits phytosanitaires contenant du cuivre sont

répertoriés. Le cuivre est parfois utilisé pour d'autres usages : en complément des engrais sur les sols tourbeux ou arénacés pauvres et déficients en cuivre, ce qui augmente de ce fait le rendement des collectes. Pour des raisons semblables, le cuivre est donné en complément alimentaire pour l'élevage des moutons et autres animaux de pâturage. Pour finir, citons des applications marginales de sulfate de cuivre dans les plans d'eau - réservoirs pour contrôler le développement algal (Haughey *et al.*, 2000), et la maladie tropicale de la bilharziose, qui est également contrôlée en traitant les cours d'eaux et les lacs infectés avec une solution de sulfate de cuivre (Gilbin, 2001).

2.2.1 Sources de contamination en cuivre des sols

Les activités anthropiques peuvent entraîner ponctuellement un enrichissement des sols en Cu jusqu'à des concentrations près de 150 fois supérieures au fond pédo-géochimique (Vulkan *et al.*, 2000). Les activités industrielles sont généralement à l'origine des niveaux de contamination les plus élevés mais qui restent en principe localisée, i.e. dans des situations de pollution « concentrée ». Des concentrations de 1000 à 8700 mg Cu kg⁻¹ ont été couramment rapportées dans des sols situés à proximité de sites d'exploitation minière et d'industries métallurgiques (Kabata-Pendias et Pendias, 1992, Vulkan *et al.*, 2000). Des niveaux de contamination plus faibles mais s'étendant sur plusieurs dizaines de kilomètres, i.e. dans des situations de pollution « diffuse », ont également été répertoriés en périphérie des sites de fonderies (Adriano, 2001). Les activités agricoles sont également à l'origine de la contamination en Cu des sols, principalement de façon diffuse. L'apport d'amendements organiques (boues de station d'épuration, fumiers et lisiers de porc en particulier) peuvent engendrer un accroissement des concentrations en Cu dans les sols jusqu'à des valeurs de l'ordre de 600 mg kg⁻¹ (Baker et Senft, 1995 ; Adriano, 2001). Cependant, la source de contamination diffuse des sols agricoles la plus répandue est liée à l'application de fongicides à base de Cu sur les cultures, principalement en viticulture et en arboriculture (Loué, 1993).

2.2.2 Contamination des sols viticoles par le cuivre (Fongicide pour la vigne)

Le cuivre est aujourd'hui encore très utilisé pour traiter les végétaux contre les maladies cryptogamiques, avec en particulier le traitement de la vigne contre le mildiou. D'une part, des applications répétées de cuivre au cours des années a conduit à contaminer parfois très fortement les sols viticoles. D'autre part, le cuivre est aujourd'hui utilisé avec un ensemble de produits phytosanitaires organiques susceptibles d'interagir avec celui-ci. La stratégie de lutte contre le mildiou est préventive. Le seul traitement consiste en une pulvérisation répétée de « bouillie bordelaise », solution constituée d'eau, de sulfate de cuivre (agent destructeur des sporocystes) et de chaux. Le premier traitement est positionné avant les premières contaminations initiatrices de l'épidémie (Gilbin, 2001).

Pendant de très nombreuses années, la « Bouillie bordelaise », à base de cuivre, fut employée pour les soins apportés à la vigne. Avec l'essor des produits phytosanitaires de synthèse dans la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, le cuivre a été utilisé en combinaison avec d'autres fongicides organiques. Mais récemment, avec l'essor de la viticulture biologique, la restriction des produits utilisables (aucun fongicide de synthèse) se traduit par l'utilisation unique de cuivre comme

protection phytosanitaire contre le mildiou (bouillie bordelaise, oxychlorure de cuivre, carbonate de cuivre) (Gilbin, 2001).

La bouillie bordelaise contient entre 10 et 20 g/L de sulfate de cuivre, soit en admettant que le produit de base est la poudre pentahydratée (poudre bleue à dissolution instantanée), 40 à 80 mM.l⁻¹/L. En agriculture biologique, un maximum de 6 kg de cuivre par hectare et par an est autorisé (CE, 2008).

2.2.3 Impacts de la contamination du sol par le cuivre

2.2.3.1 Sur le fonctionnement de l'écosystème

Lorsque le sol est contaminé en Cu, il y a une diminution et un ralentissement des processus de nitrification (Sauvé *et al.*, 1997) et de minéralisation (Dumestre *et al.*, 1999), qui se traduit par une moindre décomposition de la litière (Hutchinson et Symington 1997). Il peut donc y avoir une couche de litière plus importante mais l'inverse est aussi rapporté car la production de litière par les plantes est aussi plus faible (Boon *et al.*, 1998). Dans les sols contaminés, la contamination s'accompagne souvent d'une mauvaise structure physique du sol (compaction, tassement...), d'une faible rétention de l'eau, d'une pauvreté en nutriments (Whiteley et Williams, 1993), d'une acidité du sol (Simmons *et al.*, 2008), d'une sécheresse et d'une forte érosion (Wong, 2003). En sol contaminé en Cu les déshydrogénases et les catalases qui sont impliquées dans la respiration du sol sont inhibées (Ratnikov *et al.*, 2005).

2.2.3.2 Sur la communauté microbienne

Le nombre, la diversité et l'activité des micro-organismes du sol diminuent en sol contaminé au Cu (Sauvé *et al.*, 1997). La structure des communautés microbiennes est modifiée et les activités phosphatases diminuent dans le sol (Brunner *et al.*, 2008, Wang *et al.*, 2008). Le nombre de nodules au niveau des racines des légumineuses est aussi plus faible (Mench *et al.*, 2003). Certains microorganismes sont capables de s'adapter. Le nombre de colonies fongiques diminue en sol contaminé en Cu; les colonies qui survivent sont des espèces capables d'utiliser un plus grand nombre de sources de carbone que des espèces présentes en sol non contaminé (Simmons *et al.*, 2008, Teng *et al.*, 2008). La diminution de la diversité des microorganismes serait due à une diminution des sources de nutriments à dégrader (Teng *et al.*, 2008). Les effets sont variables d'une espèce à l'autre, par exemple, les bactéries et les protozoaires ne subiraient pas les effets du Cu tandis que le nombre de nématodes diminuerait (Boon *et al.*, 1998). Quel que soit l'organisme considéré, les seuls capables de survivre dans ces sols sont des organismes adaptés à la contamination.

2.2.4 Biodisponibilité et absorption du cuivre par la plante.

2.2.4.1 Biodisponibilité

Pour un système sol - plante, la biodisponibilité de Cu est l'aptitude de Cu à être transféré d'un compartiment du sol vers le système racinaire de la plante, lieu de son prélèvement (Juste *et al.*, 1995). Ce transfert s'effectue essentiellement par l'intermédiaire de l'absorption de Cu contenu dans la solution du sol par les racines (Loué, 1993; Marschner, 1995). La biodisponibilité de Cu dépend donc de la spéciation, de toutes les propriétés physico-chimiques

qui gouvernent la spéciation, et par conséquent la mobilité de Cu dans le sol, mais aussi de l'espèce végétale considérée (Mitchell *et al.*, 1978; Sims, 1986; Ebbs *et al.*, 1997)

La biodisponibilité du Cu dépend étroitement des propriétés physicochimiques (pH), de la granulométrie et de la composition des sols. Un pH acide favorise sa mobilité et sa biodisponibilité (Sauvé *et al.*, 1997; Temminghoff *et al.*, 1997). De plus, l'absorption est d'autant plus importante que la CEC du sol diminue (Brun *et al.*, 2001).

La biodisponibilité des ions Cu^{2+} est limitée par sa fixation sur les acides humiques et sa complexation avec les oxydes de fer et de manganèse (Barančíková et Makovníková, 2003; Nowack *et al.*, 2010). La présence de calcium dans les sols freinerait également l'absorption des ions cuivre par les végétaux (Alva *et al.*, 1993).

L'estimation de la biodisponibilité d'un élément trace dans un sol, reste une approche couramment utilisée dans une optique de prédiction de carence ou de toxicité d'un élément pour une plante. Il existe deux approches classiques pour évaluer et prédire la biodisponibilité de Cu : (i) mesurer l'extractibilité de Cu par des extractants chimiques et/ou (ii) analyser les teneurs en Cu dans la plante (Chaignon, 2001).

2.2.4.2 Absorption du cuivre par la plante

Le cuivre est presque totalement complexé dans l'environnement racinaire, mais selon certains auteurs (Kabata-Pendias et Pendias, 1992; Mc Laughlin *et al.*, 1998) il semble se dissocier de sa forme complexée avant l'absorption (théorie de l'ion libre). L'absorption des éléments traces par les racines peut être à la fois passive (non métabolique) et active (métabolique) (Chaignon, 2001). Le transfert des solutés de faibles poids moléculaires (éléments traces complexés ou non, acides organiques, acides aminés, sucres) de la solution du sol vers l'espace pariétal (parois cellulaires et apoplasme ou espace intercellulaire) se fait passivement par diffusion (Marschner, 1995). Les parois cellulaires (ou pectocellulosiques), constituées d'un réseau de cellulose, pectines et glycoprotéines poreux, se comportent comme des échangeurs d'ions spécifiques (Allan et Jarrell, 1989) : Cu peut alors être fixé sous forme cationique par les charges négatives des parois cellulaires (absorption sur notamment les groupements carboxyles $-\text{COOH}$, déprotonés à pH neutre ou alcalin, $\text{pK}^\circ = 3,9-4,7$). Il peut aussi être lié sous forme non ionique par des réactions de coordination aux groupements contenant de l'azote, aux phosphatases et peroxydases également présents dans les parois cellulaires. Enfin il peut migrer à l'intérieur des cellules racinaires en traversant la membrane plasmique (passage de l'apoplasme vers le symplasme) : il s'agit alors du processus d'absorption sensu stricto (Marschner, 1995).

L'absorption de Cu dans les cellules des racines pourrait se faire par transport passif et/ou par transport actif via des canaux spécifiques d'un élément ou non spécifiques et/ou des co-transporteurs (complexes) (Sentenac et Grignon, 1981; Marschner, 1995).

2.2.5 Le cuivre dans la plante

2.2.5.1 Translocation du cuivre

Le cuivre est peu mobile au sein de la plante, ses déplacements dépendant étroitement de l'état nutritionnel général, et en particulier du métabolisme de l'azote (Loué, 1993) : le cuivre est relativement immobile pour les plantes souffrant de carence, tandis que sa mobilité est maximale dans le cas d'une consommation de luxe (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Les racines ont en effet une forte capacité à immobiliser le cuivre, au niveau des parois cellulaires, et les mécanismes de translocation sont encore mal connus. Dans les feuilles, le cuivre semble principalement lié aux plastocyanines, tandis que dans le xylème et le phloème, où les concentrations sont de l'ordre de traces, les concentrations sont liées à celles d'amino-acides. Sur une culture de maïs, Jarausch Wehrheim *et al.* (1996) ont montré que le cuivre était dans un premier temps accumulé au niveau des racines, puis, après 14 semaines de culture, l'élément était mobilisé vers les parties aériennes.

2.2.5.2 Distribution du cuivre dans la plante

Une fois prélevés, les métaux se redistribuent dans la plante par l'intermédiaire de transporteurs plus ou moins spécifiques, de manière à maintenir l'homéostasie et un fonctionnement physiologique adéquat de la plante (Puig *et al.*, 2007). Dans le cas de Cu, son affinité importante pour l'apoplasme racinaire se traduit par une accumulation de Cu préférentielle dans les racines (Marschner, 1995). Le rapport des concentrations totales de Cu entre les racines et les parties aériennes peut considérablement varier et être compris entre 2,5 et 166 en fonction du niveau d'exposition des plantes (Brun *et al.*, 2001 ; Santibañez *et al.*, 2008). Lorsque seule la fraction symplasmique de Cu racinaire est considérée, le rapport entre Cu dans les racines et Cu dans les parties aériennes diminue, bien que le pool racinaire reste 2 à 20 fois supérieures (Michaud *et al.*, 2008). Cette localisation préférentielle de Cu dans les racines rend le pool racinaire beaucoup plus sensible que les parties aériennes aux variations de la disponibilité de Cu dans le sol (Bravin, 2008).

2.2.5.3 Le cuivre : oligo-élément et rôles physiologiques

Les oligo-éléments comme Cu, sont des éléments indispensables à la vie mais qui se trouvent présents en proportion très faibles dans les tissus biologiques (Loué, 1993). En 1930, Cu est reconnu élément trace essentiel pour les plantes (Alloway, 1995). Certains éléments traces cationiques plurivalents comme Cu peuvent se présenter sous différents états d'oxydation ($\text{Cu}^{2+} + e^- \leftrightarrow \text{Cu}^+$) et jouent ainsi un rôle d'accepteur ou de donneur d'électrons, très important dans les multiples systèmes enzymatiques mettant en jeu des réactions d'oxydoréduction. Ils sont en outre nécessaires aux enzymes, soit comme activateurs soit comme constituants spécifiques de systèmes enzymatiques (Loué, 1993; Clemens, 2001). Les flux d'absorption de Cu sont parmi les plus bas de ceux de tous les éléments traces et Cu est ainsi absorbé par la plante en très petite quantité. Dans le cas d'une croissance optimale, en fonction des espèces et des cultivars, les concentrations en Cu dans les plantes atteignent des valeurs comprises entre 5 et 15 voire 20 mg.kg^{-1} de matières sèches (MS) dans les parties aériennes (Reuter et Robinson, 1997) (Figure 2).

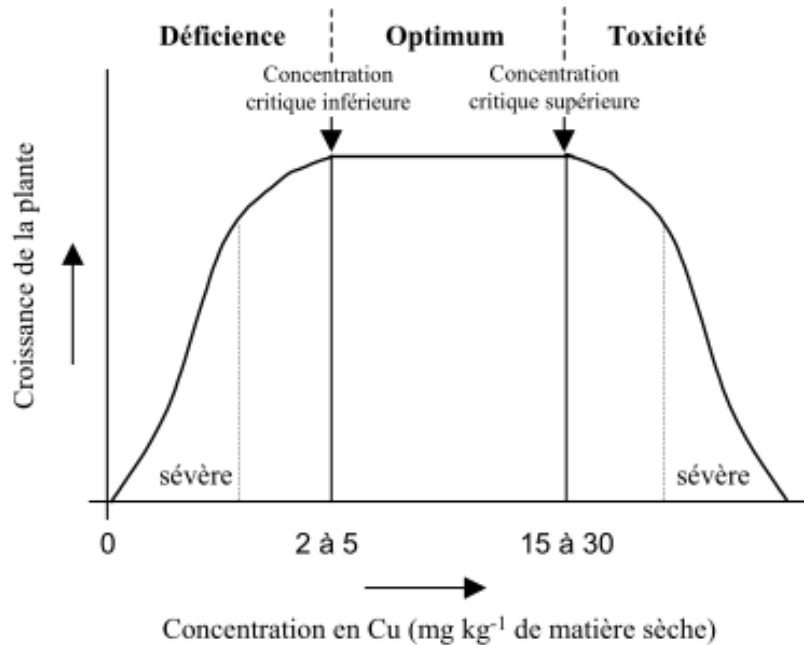


Figure 2 : Courbe de croissance en réponse au statut nutritionnel de la plante (d'après Reuter et Robinson, 1997).

Le cuivre a un rôle important dans divers processus métaboliques. En effet, il est un constituant de quatre formes de protéines (Loué, 1993; Marschner, 1995; Clemens, 2001) :

- les plastocyanines : le cuivre des chloroplastes est complexé à plus de 50 % par les plastocyanines. Ces protéines participent à la chaîne de transport des électrons au cours de la photosynthèse.

- les peroxydases et phénols oxydases : ces enzymes sont abondantes dans les parois cellulaires et participent à la synthèse des plastocyanines. Les polyphénols oxydases sont impliqués dans la synthèse de la lignine.

- les ascorbates oxydases : ce sont des enzymes (oxydases) contenant au moins quatre atomes de Cu par molécule et qui catalysent les réactions d'oxydation de l'acide ascorbique.

- les cytochromes oxydases : ces molécules contiennent deux atomes de Cu et deux atomes de Fe. Elles catalysent la dernière oxydation de la chaîne des transporteurs d'électrons des mitochondries (respiration).

En cas de carence en Cu, l'activité de ces enzymes décroît assez rapidement aboutissant à un dysfonctionnement du métabolisme de la plante et à une inhibition de sa croissance (Chaignon, 2001).

2.2.6 Le cuivre dans la plante entre carence et toxicité.

2.2.6.1 Carence

Dans les sols à faible concentration en cuivre total naturellement , ou à faible mobilité, comme les sols calcaires et les sols riches en matière organique dans lesquels le Cu est

fortement complexé aux substances organiques, la fourniture de Cu peut être insuffisante pour les plantes (Marschner, 1995). La croissance de la plante est alors sévèrement réduite et des symptômes de déficience peuvent se manifester (Figure 2).

Dans ce cas, les concentrations en Cu dans la plante sont inférieures à un seuil de 2 à 5 mg.kg⁻¹ de MS, suivant les espèces végétales et l'état de développement de la plante (Marschner, 1995).

La carence du Cu retarde la floraison, nuit à la fertilité du pollen, nuit à la formation des parois cellulaires surtout après la mi-saison. L'application d'azote accentue la carence en cuivre. L'utilisation de sulfate de cuivre devient alors nécessaire. L'utilisation intensive de déchets d'origine industrielle ou urbaine, de lisiers et de fumiers riches en cuivre peut faire augmenter la teneur du sol mais simultanément immobiliser le cuivre qui devient non disponible aux plantes, ce qui mène à la carence en cet élément (problème de métaux lourds). Le Cu est fortement lié à la matière organique du sol et n'est pas facilement lessivé. Les fortes doses d'azote et de phosphore et un excès de zinc peuvent entraver l'absorption du cuivre par la plante. (AAM, 1999).

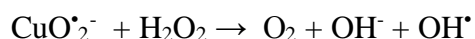
2.2.6.2 Toxicité

Dans les conditions de l'exposition à une concentration excessive de cuivre, les plantes sensibles subissent un ralentissement de leur croissance et un stress oxydatif qui influe sur les activités des enzymes de détoxification des radicaux libres et augmente la peroxydation lipidique (Cuypers *et al.*, 2000; Landberg et Greger, 2002). Lorsque la teneur en Cu augmente dans le sol, la teneur en Cu observée dans la plante peut atteindre une concentration critique, variable selon l'espèce végétale, à partir de laquelle apparaissent des symptômes de phytotoxicité (Marschner, 1995). Reuter et Robinson (1997) indique que le seuil de toxicité en Cu est atteint à partir d'une concentration en Cu de 15 à 30 mg kg⁻¹ MS dans les feuilles de plantes cultivées (Figure 2). Or, dans les mêmes conditions, ces plantes accumulent dans leurs racines des concentrations allant jusqu'à 500 mg Cu kg⁻¹ MS (Marschner, 1995). Les sites d'accumulation de Cu se trouvent donc dans les racines et particulièrement (jusqu'à 60-70%) dans l'espace pariétal intercellulaire de cellules racinaires (Cathala et Salsac, 1975; Mitchell *et al.*, 1978; Allan et Jarrell, 1989).

2.2.7 Effet phytotoxique du cuivre

2.2.7.1 Sur la physiologie de plante.

La phytotoxicité de Cu se manifeste immédiatement par une croissance réduite des racines, qui sont épaissies, moins ramifiées, avec des radicelles de couleur anormalement foncée, puis éventuellement des parties aériennes (Marschner, 1995; Lexmond et van der Vorm, 1981). Il existe également une augmentation des agents antioxydants comme le GSH et l'ascorbate dans les cellules (Gupta *et al.*, 1999; Upadhyay et Panda 2009; Wang *et al.*, 2004). On sait en effet que le cuivre catalyse la réaction d'Haber-Weiss (Haber et Weiss 1934) dans les cellules, libérant des espèces réactives de l'oxygène :



Ce stress oxydant induit une chlorose et une nécrose des feuilles (Drażkiewicz *et al.*, 2004). Le métabolisme hydrique est également perturbé, et le taux de protéines est diminué (Jouili et El Ferjani 2003). Il perturbe le métabolisme lipidique et la structure membranaire (Ouariti *et al.*, 1997). Le cuivre peut augmenter ou diminuer le taux de chlorophylle foliaire et modifie la fluorescence chlorophyllienne et l'activité du photosystème II (Cook *et al.*, 1997; Pätsikkä *et al.*, 2002). L'excès de cuivre a également un effet cytotoxique, qui se manifeste par une diminution de l'indice mitotique des cellules méristématiques racinaires (Yildiz *et al.*, 2009). Comme le cadmium, le cuivre peut être génotoxique, et causer des aberrations chromosomiques visibles au cours de la mitose, à type de ponts chromosomiques ou de métaphases « collantes » conduisant à une fragmentation des chromosomes (effet clastogène). Il désorganise également le fuseau mitotique, provoquant des délétions chromosomiques (effet aneugène) (Souguir *et al.*, 2008; Yildiz *et al.*, 2009). Ces deux derniers effets provoquent à la fin de la mitose la formation de micronoyaux. La fréquence de micronoyaux est augmentée dans les racines de *Vicia faba* et *Pisum sativum* à partir de 2,5 mM de CuSO₄ pour une exposition de 42h en milieu liquide. Par contre, d'après Steinkellner *et al.*, (1998), le sulfate de cuivre n'induit pas de micronoyaux dans les cellules filles méristématiques de *Vicia faba* et *Allium cepa* après une exposition de 2h en milieu liquide suivie d'une période de récupération de 36h, pour des concentrations allant jusqu'à 125 mM. Le cuivre cause également des dommages génotoxiques visibles par le test des comètes dans les méristèmes racinaires d'*Allium cepa* (Yildiz *et al.*, 2009).

2.2.7.2 Sur la germination

Dans des sols contaminés en Cu, la germination est plus lente (Kumpiene *et al.*, 2005). Le Cu agit sur 2 stades, la germination des graines et l'installation des plantules (Cox et Hutchinson, 1980). Le développement initial des semis serait plus faible pour une zone contaminée, cependant il n'y aurait pas d'effet du Cu sur le nombre de graines germées (Salemaa et Uotila, 2001) car lors de la germination les graines utilisent leurs propres réserves plutôt que celles du sol (Mahmood *et al.*, 2005). Par contre, chez des espèces sensibles comme le riz, le pourcentage de germination est affecté négativement et il n'y a plus que 20% de germination pour une contamination de 2 mM de Cu (Ashan *et al.*, 2007).

Lors d'une exposition des graines au Cu, des diminutions du contenu en huile, de la concentration en protéines, en méthionine, en carbohydrates, en lipides et une augmentation des phénols se produisent (Malan et Farrant, 1998 ; Khurana *et al.*, 2006).

Le Cu inhibe le transport des nutriments à partir des cotylédons. Il y a moins d'acides aminés dans les cotylédons à cause d'une inhibition de la protéolyse, réduction du transport des sucres et des carbohydrates vers les cellules en croissance, et inhibition des amylases et phosphatases (Mihoub *et al.*, 2005). La reproduction des plantes adultes est modifiée, le nombre et le poids des graines produites sont plus faibles (Brun *et al.*, 2003) et la reproduction végétative est favorisée (Vidic *et al.*, 2006).

2.2.7.3 Sur la partie aérienne.

Une contamination en Cu du sol entraîne une exposition des racines via la solution du sol et l'imprégnation en Cu du végétal induit une diminution de la biomasse aérienne des plantes d'autant plus importante que la contamination est élevée (Cook *et al.*, 1997, Vinit-Dunand *et al.*, 2002). Ces diminutions seraient dues à des faibles niveaux de Ca dans les feuilles car le Ca affecte la division et l'élongation cellulaire (Cook *et al.*, 1997). Il y a apparition de symptômes tels que les chloroses, les nécroses sur limbe supérieur des feuilles et l'épinastie (Cuypers, 2000 ; Demirevska-Kepova *et al.*, 2004). Les chloroses seraient dues à des modifications de l'homéostasie d'éléments essentiels comme le Fe (Chatterjee et Chatterjee, 2000 ; Michaud *et al.*, 2007).

Les feuilles jaunissent et des spots marron apparaissent sur le limbe, c'est une réponse « dose – dépendante » (Franchin *et al.*, 2007) . Des symptômes similaires sont retrouvés chez l'orge (Guo *et al.*, 2007). En stress, la transpiration de la plante augmente et le contenu en eau est plus faible (Demirevska-Kepova *et al.*, 2004, Ashan *et al.*, 2007). Les feuilles sont petites, crispées et ont une teinte vert foncé, c'est le « bronzing » (Bessoule et Mench, 2002) et elles ferment leurs stomates pour limiter les pertes en eau et les chloroplastes sont altérés ou dégradés (Chatterjee et Chatterjee, 2000).

2.2.7.4 Sur les racines.

En excès de cuivre, la longueur des racines diminue ; il y a apparition de nécroses (Inaba et Takenaka, 2005), de malformations (Cook *et al.*, 1997), modification du sens de croissance des racines qui poussent pour s'éloigner de la contamination (Archambault et Winterhalder, 1995) et modification de l'architecture du système racinaire (Fuentes *et al.*, 2007). Les racines sont rabougries, épaisses et deviennent marrons pour une concentration supérieure à 1µM dans la solution nutritive (Michaud *et al.*, 2008). La cuticule des racines est plus épaisse, plus cassante et marron, en particulier au niveau des méristèmes, il y a moins de poils absorbants et le système racinaire est déformé (Sheldon et Menzies, 2005).

La diminution de la croissance des racines a pour conséquence celle de la surface de prélèvement de la plante et donc une diminution du prélèvement en eau et nutriments (Brun *et al.*, 2003). L'inhibition de la croissance racinaire peut s'expliquer par les processus de lignification. Quand le Cu est en excès dans les cellules des racines la concentration en H₂O₂ et les quantités de peroxydases impliquées dans la synthèse de la lignine augmentent (Lin *et al.*, 2005). L'augmentation de la lignine peut engendrer une diminution de l'accessibilité du Cu aux cellules (Cuypers, 2000). La lignine peut aussi se lier avec les polysaccharides des parois cellulaires, ce qui va les rigidifier et gêner la croissance des cellules (Dos Santos *et al.*, 2004).

CHAPITRE 3 :
**« Interaction : Rhizobactérie-
plante-Sol ; cas de la fève et
de *Pseudomonas* »**

3 Chapitre 3 : Interaction Rhizobactérie-plante-Sol : Cas de la fève et de *Pseudomonas*.

3.1 Généralité sur la fève, *Vicia faba* L

3.1.1 Origine et classification

3.1.1.1 Origine et répartition géographique et écologie

La fève *Vicia faba* L. (broad bean en anglais) décrite par Linné en 1753 est une plante Dicotylédone herbacée originaire d'Asie ou du Moyen-Orient (Abdallah, 1979 ; Ladizing, 1975 in Nouri (2012), ou L'Est de l'Europe et Portugal (Schultze-Motel, 1972 in Belkhodja, 1996). Sa culture est très ancienne et pratiquée dans le monde entier. La fève est localisée dans l'étage bioclimatique de 250 mm de pluie, tolère bien le froid (Herzog, 1984) et les hautes températures (Carlu, 1952).

3.1.1.2 Classification systématique

- Règne *Plantae*
- Sous-règne *Tracheobionta*
- Division *Magnoliophyta*
- Classe *Magnoliopsida*
- Sous-classe *Rosidae*
- Ordre des *Fabales*
- Famille des *Fabaceae*
- Genre *Vicia*
- Espèce *faba*

Il en existe deux sous-espèces, *paucijuga* et *eu-faba*. Dans la sous-espèce *eu-faba* qui nous intéresse, on dénombre trois Variétés différentes (Gallais et Bannerot, 1992) :

- *Vicia faba major*, la fève maraîchère à grosses graines destinées à la consommation humaine ;
- *Vicia faba minor*, la petite fève ou féverole utilisée pour l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba equina*, la fève à cheval à grains moyens aussi appelée féverole ou févette dans certaines régions. Comme son nom l'indique elle est également destinée à l'alimentation du bétail.

3.1.2 Aspect et particularités

La Figure n° 3 représente l'aspect des feuilles, fleurs et racines de *Vicia faba* L. Il s'agit d'une plante robuste, grimpante, qui peut atteindre plus d'un mètre. Ses feuilles, composées de deux à sept folioles, sont alternes sur la tige de section carrée. Ses fleurs, disposées en racème (grappe), sont blanches avec un point noir sur les ailes, zygomorphes (à symétrie axiale) et hermaphrodites, à pollinisation entomophile. Sa floraison dépend de la photopériode et de la température (Evans, 1959). Ses fruits sont des gousses, caractéristiques de la famille des Fabacées (Foltete, 2010).

Comme chez tous les représentants de cette famille, connus sous le nom de légumineuses, les racines de la plante possèdent des nodules à l'intérieur desquelles des cellules géantes servent d'abri à une bactérie symbiotique, appartenant à l'espèce *Rhizobium leguminosarum*. Cette

bactérie est capable de capter le diazote atmosphérique et de le fixer dans le sol sous forme d'ions utilisables par les plantes (Foltete, 2010).



Figure 3 : Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (Thomé 1885).

3.1.3 Exigences de la plante

3.1.3.1 Exigences édaphiques

Cette plante méditerranéenne est peu exigeante sur le type de sol pas trop acide. Mais la fève préfère les sols profonds, silico-argileux riches en matières nutritives et en humus son pH optimal se situe aux environs de 6 à 7,5 mais elle tolère bien les pH compris entre 5,5 et 8. (Kolev, 1976).

3.1.3.2 Exigences climatiques

Sa température optimale de pousse se situe aux environs de 20 °C. Il s'agit d'une plante annuelle. Elle peut se semer sous des climats très cléments à l'entrée de l'hiver, en octobre ou novembre pour donner des fruits dès la mi-avril (Foltete, 2010).

3.1.4 Caryotype et cycle cellulaire

Le caryotype de *Vicia faba* L est très simple. Toutes les Variétés de la plante sont diploïdes, et possèdent six paires de grands chromosomes, dont cinq paires de chromosomes acrocentriques et une paire de chromosomes métacentriques mesurant 15 µm de long, soit environ le double de la longueur des premiers (Duc,1997). Le noyau de ses cellules renferme 26,7 pg d'ADN dont beaucoup d'hétérochromatine (Bennett, 1976), ce qui est très élevé par rapport à beaucoup d'autres plantes. En comparaison, le pois *Pisum sativum* n'en possède que 9,8 pg (Grant et Owens, 2001). Le cycle cellulaire normal de la plante dure environ 19,3h au total (Evans et Scott, 1963).

3.1.5 Intérêt écotoxicologique.

La fève est robuste, sa germination est rapide, elle permet, par la rapidité de sa germination et de sa croissance, de disposer très facilement de jeunes pousses dont les racines secondaires seront déjà utilisables pour les tests au bout d'une dizaine de jours seulement. De plus, cette plante, utilisée aussi en agriculture, peut pousser sur des sols de différentes natures, d'où son intérêt dans les expériences de terrain. La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétal très utilisé en écotoxicologie dans un grand nombre d'études. Elle est utilisée dans un grand nombre d'études de mutagénèse par le test des aberrations chromosomiques à cause de la simplicité de son caryotype (De Marco *et al.*, 1995; Sang et Li 2004). De plus, la grande quantité d'ADN contenue dans son noyau (Bennett, 1976), la rend très sensible aux molécules génotoxiques (Ferrara *et al.*, 2004). Ainsi, elle est l'un des modèles les plus utilisés dans le test des micronoyaux, pratiqué sur les cellules-filles de ses méristèmes racinaires (Cotelle, 1999; Degrassi et Rizzoni ,1982; Duan *et al.*, 1999; Marcato-Romain *et al.*, 2009). Un autre test de génotoxicité, le test des comètes, est également pratiqué sur différents tissus de la plante (Cotelle, 1999; Koppen et Verschaeve, 1996; Lin *et al.*, 2007). *Vicia faba* L est en outre aussi employée pour étudier les réponses des marqueurs du stress oxydant (Radetski *et al.*, 2004) et d'autres défenses antitoxiques de la plante comme les phytochélatines (Beraud, 2007).

3.2 Généralités sur *Pseudomonas* spp.

Introduction

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, famille des Pseudomonaceae, ordre des Pseudomonales (Moore *et al.*, 2006). Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux. Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003).

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à coloration de Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. Mais cette définition

ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatifs, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (Palleroni, 2008).

3.2.1 Classification du genre *Pseudomonas*

3.2.1.1 Historique de la classification

Dès le découvert du genre *Pseudomonas* en 1894, une succession des approches de classifications élaborées par plusieurs chercheurs en basant sur différents principes de classification jusqu'à l'émergence de 21^{ème} siècle. Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S, fût entreprise par Anzai *et al.*, (2000). En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient au groupe des *Pseudomonas* sensu stricto; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 classes (Mezaache, 2012) :

- Le groupe des *P. syringae*.
- Le groupe des *P. chlororaphis*.
- Le groupe des *P. fluorescens*.
- Le groupe des *P. putida*.
- Le groupe des *P. stutzeri*.
- Le groupe des *P. aeruginosa* et le groupe des *P. pertucinogena*.

3.2.1.2 Classification contemporaine

L'édition actuelle du Bergey's (Palleroni, 2005) compte de nombreuses méthodes utilisées dans la classification des *Pseudomonas*. Ces méthodes révèlent les efforts fournis pour la caractérisation des espèces de *Pseudomonas*, incluant la sensibilité à certains composés, les caractéristiques génétiques et écologiques, le pouvoir pathogène et la structure antigénique (Peix *et al.*, 2009) (Voir l'annexe 1). Comprennent les tests tels que : la forme cellulaire, le type de flagelle, l'utilisation des sources de carbones tel que : les acides organiques, les polyols, les acides aminés, la capacité de croissance dans des conditions de culture variables, la synthèse d'exo-enzymes et la production d'antibiotiques (Palleroni, 2005).

3.2.2 Caractérisation de genre de *Pseudomonas*

3.2.2.1 Caractéristiques physiologiques

Ces bactéries ont une longévité faible en culture même à 4°C. Tous les modes de conservation possibles sont proposés: lyophilisation, eau distillée stérile avec une anse de culture à température ordinaire de 18°C (*Pseudomonas* phytopathogènes), gélose inclinée avec huile de paraffine en surface d'une gélose molle, tube à vis comme pour les Entérobactéries, congélation (Djoudi, 2012).

Pour la sensibilité aux agents lytiques plusieurs espèces de *Pseudomonas* sont lysogènes et bactériocinogènes, *P. aeruginosa* par exemple présente une autolyse tardive (4 à 5 jours) ou précoce (taches irrisées à reflets métalliques sur gélose (Marvodi *et al.*, 2001 in Djoudi, 2012).

3.2.2.2 Caractéristiques Métabolique

Les membres du genre *Pseudomonas* montrent une grande adaptabilité nutritionnelle, la plupart peut croître sur plus de 50 substrats différents, et certains peuvent utiliser plus de 100 composés organiques comme source de carbone et d'énergie. En raison de cette versatilité, les espèces de *Pseudomonas* sont très actives dans la dégradation des composés organiques dans le sol et dans les environnements aquatiques (Perry *et al.*, 2004).

Les *Pseudomonas* constituent le modèle des bactéries oxydantes ou dite oxybiontiques. Le rendement de la croissance est strictement dépendant de la concentration en oxygène dissout donc de l'agitation. Les enzymes de la glycolyse sont absentes. L'oxydation complète du glucose en aérobiose est réalisée dans le shunt de l'hexose mono-phosphate ou voie de Warburg-Dickens-Horecker par l'intermédiaire du 6p-gluconate. La voie du 2-céto-3-désoxygluconate (voie d'Entner-Doudoroff) aboutissant au pyruvate qui alimente le cycle de Krebs) D'où l'intérêt du milieu de Hugh et Leifson (acidification dans le tube sans vaseline en aérobiose) (Perry *et al.*, 2004).

Paradoxalement, pour des organismes aérobies stricts, certains *Pseudomonas* peuvent tirer leur énergie d'une réaction catabolique en anaérobiose, par hydrolyse de l'arginine (système de l'arginine dihydrolase « ADH ») qui est constitutif, L'attaque des hydrates de carbone par oxydation peut être à la base de l'identification des *Pseudomonas*, mais toutes les espèces ne donnent pas de produits acides à partir de sucres comme le glucose ; certaines donnent une alcalinisation ou restent inactives (André, 2000).

Les *Pseudomonas* du sol sont capables de métaboliser certains composés aromatiques, tels que les acides vanilliques, isovanilliques et 4-hydroxybenzoïque (Borel, 1987).

3.2.2.3 Autres Caractéristiques biochimiques

Les réactions de Voges-Proskauer et du rouge de méthyle sont toujours négatives en raison de l'absence de métabolisme fermentatif (Le Minor et Véron, 1989). *Pseudomonas fluorescens* peut provoquer une alcalinisation importante avec formation d'urée, d'ammoniac et de carbonate (Guiraud, 1998). La présence d'une lécithinase, qui souvent ne peut être révélée qu'en milieu liquide (Pilet *et al.*, 1986).

Les caractéristiques métaboliques de principales espèces de *Pseudomonas* sont données dans le Tableau 01.

Tableau 1: Quelques caractères permettant de caractériser *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. simiae* et *P. stutzeri* (Veron, 1989).

Caractère	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	<i>P.putida</i>	<i>P.simiae</i>	<i>P.stutzeri</i>
Oxydase	+	+	+	+	+
Respiration nitrates	+	D	-	+	+
Nombre de flagelles	1	> 1	> 1		1
Croissance à 4 °C	-	+	D	+	-
Croissance à 41 °C	+	-	-	-	d
Pyocyanine	+	-	-	-	-
Pyoverdine	+	+	+	+	-
Arginine dihydrolase	+	+	+	+	-
ONPG	D	-	-	-	-
Hydrolyse l'esculine	-	-	-	-	-
Lysine décarboxylase	-	-	-		-
Phénylalanine désaminase	-	-	-		d
Amylase	-	-	-		+
Gélatinas	D	+	-	+	-
Lécithinase	D	+	-		-
DNase	D	-	-		-
Hémolyse	D	D	-		-
Acétate*	+	+	+		+
Glucose*	+	+	+	+	+
Tréhalose*	-	+	-	-	-
Maltose*	-	-	-	-	+
Inositol*	-	+	-	+	-
Mannitol*	+	+	-	+	d
Arginine*	+	+	+		-
Glucose**	+	+	+	-	+
Fructose**	+	+	+		+
Mannose**	D	+	+		+
Lactose**	-	D	D		-
Maltose**	-	D	D		+
Mannitol**	D	+	D		d
	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	<i>P.putida</i>	<i>P.simiae</i>	<i>P.stutzeri</i>

* : Assimilation ; ** : Acidification oxydative ; **D**: Variable ; (+) : Présent ; (-) : Absent.

3.3 Interaction plante – Rhisobactérie-sol

3.3.1 Action de plante sur le sol

3.3.1.1 Secrétions dans la rhizosphère.

Les plantes secrètent dans le sol différents composés organiques sous plusieurs formes, des exsudats qui ce sont des composés hydrosolubles de faible poids moléculaire tels que les sucres, les acides aminés, les acides organiques, les phytosidérophores, les flavonoïdes, les hormones et les vitamines. Ils sortent de la racine en suivant le gradient de concentration entre le cytosol de la racine et la solution du sol. La part des exsudats est la plus importante dans la rhizodéposition (Uren, 2007). Ainsi que des substrats secrétés à des poids moléculaires plus élevée, elles sont constituées des mucilages, des polymères de carbohydrates et des enzymes. Leur libération dans le sol est dépendante du métabolisme énergétique. Elles jouent un rôle très important dans le maintien de la stabilité du sol (Kennedy et de Luna, 2004). Les lysats sont également libérés quand les cellules des tissus corticaux des racines s'autolysent, ils incluent aussi les cellules desquamées de la coiffe et les membranes cellulaires (Bell-Perkins et Lynch, 2002). En outre, des secrétions sous formes des gaz comme l'éthylène, le CO₂ et d'autres composés volatiles sont exportés vers le sol par respiration (Rabhi, 2011).

Les rhizodépôts impliquent un effet qualitatif et quantitatif sur la microflore de la rhizosphère, celle-ci peut soit utiliser les biomatériaux libérés comme source d'éléments nutritifs soit être inhibée par eux (Walker *et al.*, 2003 ; Brimecombe *et al.*, 2008). Du fait de leur solubilité dans l'eau, leur mobilité, ainsi que leur incorporation rapide dans les cellules microbiennes, les rhizodépôts peuvent changer le taux de décomposition de la matière organique du sol dans l'environnement de la racine (Brimecombe *et al.*, 2007).

3.3.1.2 Phytoremediation

Si pendant longtemps la capacité des végétaux à accumuler des métaux a été considérée comme une caractéristique préjudiciable, les techniques de dépollution par les plantes ont créé un revirement de situation. En effet, la phytoremédiation exploite les propriétés de certaines espèces végétales (strates herbacées, plantes, arbustes, arbres, algues) à interagir avec des composés chimiques, organiques ou inorganiques, pour dépolluer in situ un terrain contaminé. Ainsi, les plantes absorbent, accumulent et détoxifient les contaminants du sol à travers des processus physiques, chimiques et biologiques (Prasad *et al.*, 2010). Ces plantes présentent des mécanismes constitutifs et adaptatifs pour accumuler et tolérer des concentrations élevées en contaminants au niveau de leur rhizosphère (Yang *et al.*, 2005). Le plus souvent, ce sont les micro-organismes de cette dernière qui dégradent les composés organiques. Néanmoins, il arrive que les produits issus de la dégradation, pouvant ou non être accumulés par le végétal, soient plus dangereux que le polluant d'origine (Ferret, 2012).

A terme, la biomasse produite, contenant le polluant (tiges, feuilles), doit être traitée d'une façon adéquate consistant souvent à récolter les végétaux pour les incinérer. Les différentes études réalisées à ce jour permettent d'envisager six types de stratégies de phytoremédiation particulièrement prometteuses (Ferret, 2012) : La phytoextraction, la phytodégradation, la phytostimulation, la phytostabilisation, la phytovolatilisation et la rhizofiltration.

3.3.2 Interaction de Rhizobactéries-sol

3.3.2.1 Les bactéries dans la rhizosphère

La croissance végétale peut être affectée par les bactéries de différentes façons. En effet, des bactéries peuvent être à l'origine de maladies, inhiber la croissance des plantes, tandis que d'autres peuvent, activement ou non, favoriser la croissance à travers différents mécanismes (fixation d'azote, solubilisation des phosphates, production de sidérophores, phytohormones, ACC déaminase) (Ma *et al.*, 2011). Dans la rhizosphère, la concentration en bactéries peut être 10 à 1 000 fois supérieure à celle du reste du sol (Tableau 2) (Lugtenberg et Kamilova, 2009). Néanmoins, pour exercer leurs effets bénéfiques dans l'environnement des racines, les bactéries doivent être compétentes, c'est-à-dire rivaliser avec les autres micro-organismes de la rhizosphère, aussi bien pour bénéficier des nutriments sécrétés par la plante que coloniser les sites disponibles (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

L'ensemble de ces interactions est affecté par la matière organique, le pH, la température, les nutriments ainsi que les niveaux de pollution (Bais *et al.*, 2006 ; Glick, 2003).

Tableau 2 : Répartition de la population microbienne (UFC.g⁻¹ de sol) dans la rhizosphère du blé (*Triticum aestivum* L.) et dans le sol, ainsi que leur ratio (modifié d'après Gray et Williams, 1971).

Micro-organismes	Rhizosphère (R)	Sol (S)	Ratio R / S
Bactéries	1,2.10 ⁹	5,3.10 ⁷	23
Actinomycètes	4,6.10 ⁷	7,0.10 ⁶	7
Microflore ammonifiante	5,0.10 ⁸	4,0.10 ⁶	125
Microflore dénitrifiante	1,26.10 ⁸	1,0.10 ⁵	1260
Champignons	1,2.10 ⁶	1,0.10 ⁵	12

3.3.2.2 Rhizobactéries dans les sols salins

3.3.2.2.1 Effet de la salinité sur les bactéries du sol

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).

Une plasmolyse subite aboutit à l'inhibition de certaines fonctions cellulaires comme l'adsorption de nutriments, la réplication de l'ADN ou la biosynthèse de macromolécules (Lucht et Bremer, 1994).

3.3.2.2 Mécanismes de tolérance à la salinité ou d'osmorégulation chez les bactéries

La colonisation bactérienne des racines dépend des facteurs biotiques et abiotiques tels que les exsudats racinaires, la concurrence, les nutriments, le pH, la température et la concentration en sels. Les bactéries tolérantes aux sels présentent de nombreux mécanismes de l'exploitation de leurs environnements et diffèrent grandement dans leurs capacités biochimiques à utiliser les différents réservoirs de carbone organique comme sources d'énergie et de la nourriture (Van Veen *et al.*, 1997).

Le terme "osmoadaptation" décrit l'ensemble des manifestations physiologiques et génétiques de l'adaptation à un environnement de forte ou de faible osmolarité (Galinski, 1995). L'osmorégulation est le processus majeur d'osmoadaptation contrôlant l'afflux et l'efflux de solutés de la cellule dans des conditions de culture osmotiquement stressantes (Csonka, 1989). En réponse à des teneurs élevées de sel du milieu externe, la cellule bactérienne maintient une osmolarité interne supérieure à celle de l'environnement extracellulaire (Pocard *et al.*, 1994). Elle accumule dans le cytoplasme des molécules osmotiquement actives afin de restaurer une pression de turgescence cellulaire (Kempf et Bremer, 1998). La stratégie d'osmoadaptation chez les bactéries halotolérantes, et modérément halophiles consiste en premier lieu en l'accumulation d'ions K^+ et de glutamate (réponse primaire) (Sleator et Hill, 2001 ; Le Rudulier *et al.*, 2002) puis des molécules organiques, non chargées, de faible poids moléculaire si le choc persiste ou augmente (réponse secondaire) (Lucht et Bremer, 1994 ; Bartlett et Roberts, 2004). Ces molécules accumulées sont appelées des solutés compatibles du fait de leur compatibilité avec les fonctions cellulaires même à des concentrations élevées (Yancey *et al.*, 1982).

Les bactéries halophiles sont, en revanche, adaptées à la vie dans un environnement hyper-salé. Les halobactéries ont développé des mécanismes d'adaptation leur permettant de disposer d'une machinerie cellulaire capable de supporter de fortes concentrations intracellulaires de sel, principalement du KCl (Oren, 1999).

3.3.2.3 Résistance des Rhizobactéries aux métaux dans le sol.

Les métaux toxiques dans le sol sont plus solubles que le fer, et pénètrent dans les bactéries (Nies, 1999). Face aux différents dommages provoqués à la cellule, les concentrations intracellulaires en métaux doivent être confrontées par les bactéries grâce à des systèmes de régulation de l'homéostasie ou de résistance des métaux.

3.3.2.3.1 Mécanismes de résistance aux métaux.

Afin de confronter la toxicité des métaux, les bactéries ont développé différentes stratégies de résistances face à des concentrations toxiques de métaux (Bruins *et al.*, 2000) (Figure 4) : les bactéries utilisent des composés produits autour de membrane sous forme de « revêtement » de polysaccharides extracellulaires, absorbant les ions métalliques et les empêchant d'interagir avec les composés cellulaires vitaux (Scott et Palmer, 1990). Scott *et al.*, ont montré que *P. putida* peut ainsi lier 100 % du Cd^{2+} ajouté dans le milieu de culture, à une concentration de $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ (Scott *et al.*, 1990). Les bactéries utilisent également un mécanisme de « l'efflux actif » le plus utilisé par les micro-organismes. C'est un mécanisme de transport actif pour exporter les métaux toxiques depuis leur cytoplasme jusqu'au milieu extracellulaire (Bruins *et al.*, 2000). Chez *P. aeruginosa*, l'ion Cu^{2+} est exporté par un mécanisme impliquant 4 protéines séquestrant le cuivre dans le périplasma (Cooksey, 1994). Les bactéries peuvent aussi immobiliser les métaux par la séquestration intracellulaire des métaux au sein du cytoplasme afin d'éviter l'exposition des composants cellulaires essentiels aux métaux. Cd^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} sont les métaux les plus fréquemment séquestrés (Bruins *et al.*, 2000; Haferburg et Kothe, 2007). Cette stratégie a été mise en évidence chez *P. putida* pour le Cd^{2+} par la synthèse de trois protéines de faible poids moléculaire, riches en cystéines (Trevors *et al.*, 1986).

Les bactéries peuvent adopter des mécanismes d'induction des gènes responsables des enzymes impliqués dans la réduction des composés métalliques, ou de la réduction de la sensibilité des cibles cellulaires des métaux qui se déroule par la mutation, diminuant ainsi la sensibilité sans altérer les fonctions de base de la cellule (Ferret, 2012). En outre, par la production de sidérophores en liant le métal dans le milieu extracellulaire, le sidérophore diminue la concentration en métaux libres, affectant sa diffusion dans la bactérie et ainsi sa toxicité (Hannauer *et al.*, 2012). Une souche de *P. aeruginosa* produisant la pyoverdine et la pyochéline apparaît plus résistante aux métaux qu'une souche ne synthétisant pas de sidérophores (Braud *et al.*, 2010).

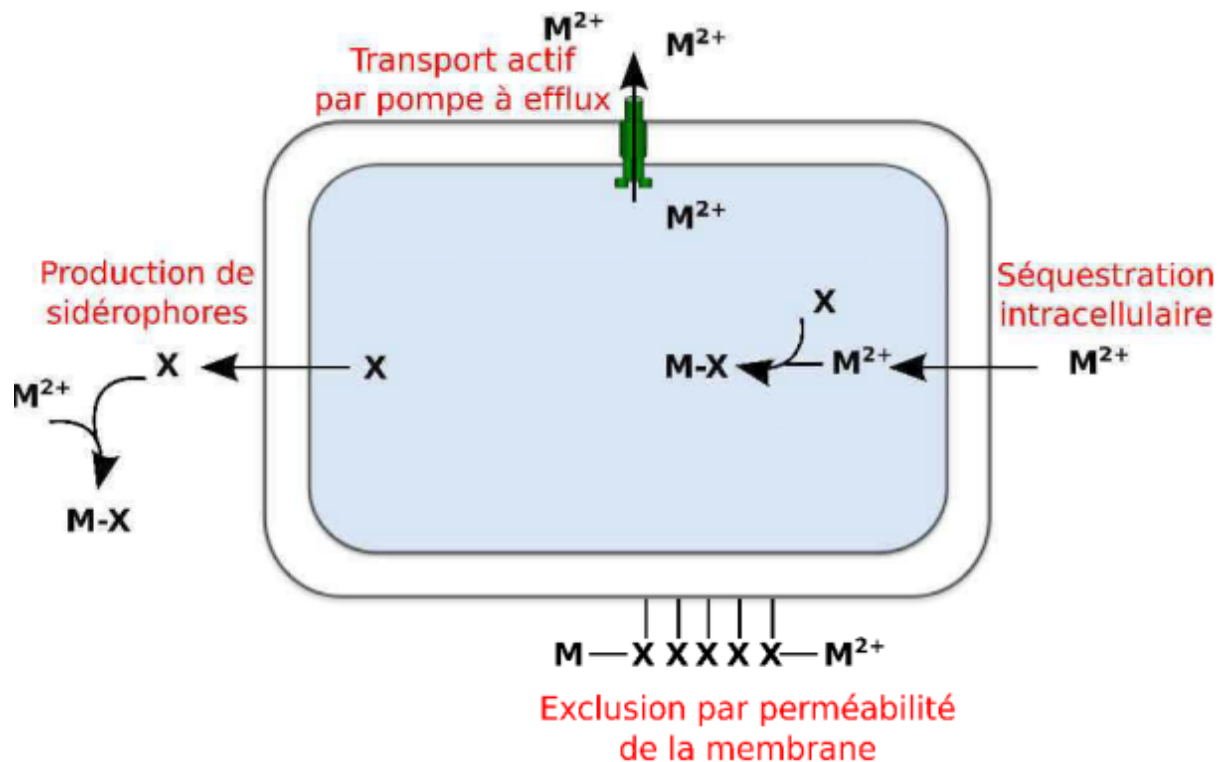


Figure 4 : Exemples de quelques mécanismes bactériens de résistances aux métaux (adapté de Hefenburg, 2007). X correspond aux constituants cellulaires interagissant avec les cations métalliques et M aux cations métalliques (Ferret, 2012).

3.3.2.4 Effet des bactéries sur la structuration et stabilisation du sol

La principale contribution des microorganismes rhizosphériques à la stabilité du sol est associée à la production de sécrétions, dont les exopolysaccharides (EPS). Ces derniers se présentent sous forme de gels hydratés autour des cellules. Ils constituent l'interface entre les microorganismes et leur environnement immédiat. Les EPS participent à la formation des agrégats bactériens et par conséquent ils aboutissent à l'amélioration de l'aération du sol, à l'infiltration de l'eau et à la progression de la racine (Sandhya *et al.*, 2009).

3.3.2.5 Bioremédiation des sols pollués

Les techniques de bioremédiation utilisent les propriétés dépolluantes de microorganismes (essentiellement des bactéries, mais aussi des champignons) endogènes ou exogènes au site contaminé (Boopathy, 2000 ; Vidali, 2001). La biodégradation d'un composé est souvent le résultat de l'action de multiples organismes (Vidali, 2001). Majoritairement, la bioremédiation peut être appliquée in situ. Ces techniques, relativement peu coûteuses, sont appréciées par nombreux chercheurs (McGrath *et al.*, 2002). Elles peuvent être subdivisées en plusieurs catégories selon le principe biologique ou mode de dépollution mis en œuvre (Ferret, 2012) : L'atténuation naturelle, la biodégradation, la bio-immobilisation, la biolixiviation, la bioslurry, la biorestauration, la bioaugmentation et la biostimulation.

3.3.3 Action des Rhizobactéries sur la plante

3.3.3.1 Rhizobactéries ou PGPRs.

Parmi les bactéries de la rhizosphère, certaines peuvent fortement agir sur la nutrition des plantes par des mécanismes variés, et notamment les bactéries dites PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria) également appelées rhizobactéries (Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Ma *et al.*, 2011). Parmi les PGPR, de nombreux genres sont recensés tels *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* (Gray et Smith, 2005). La colonisation bactérienne des racines se réalise progressivement à partir de cellules isolées qui se développent ensuite en biofilm (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

En outre la stimulation de croissance et de développement du végétal, les bénéfices apportés par ces bactéries incluent la suppression d'organismes pathogènes ou délétères (Chakraborty *et al.*, 2006 ; Lemanceau et Alabouvette, 1991), l'approvisionnement en éléments inorganiques (Dimkpa *et al.*, 2009b), la fixation d'azote (Dobbelaere *et al.*, 2003), la tolérance aux stress abiotiques (Dimkpa *et al.*, 2009b), la production de phytohormones (Vessey, 2003) et une meilleure résistance aux contaminants (Ma *et al.*, 2011).

3.3.3.2 Les bactéries endophytes

Ces bactéries sont définies comme celles capables de coloniser les tissus internes de la plantes, sans provoquer d'infections ou d'effet négatif à leur hôte (Schulz et Boyle, 2006). Ces bactéries résident alors dans l'apoplasme ou le symplasme de la plante. Parmi ces bactéries, de nombreux genres sont retrouvés, tels que *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, capables de coloniser une grande variété d'espèces végétales (riz, maïs, soja, carotte, bananier...) (Rosenblueth et Martinez-Romero, 2006). En général, les bactéries endophytes proviennent de communautés bactériennes de la rhizosphère, de la phyllosphère, ou de graines. Outre leur capacité à pénétrer dans les plantes par des orifices naturels ou par des blessures, les bactéries endophytes utiliseraient activement des enzymes hydrolytiques, telles la cellulase et la pectinase, pour atteindre l'intérieur des plantes (Hallmann *et al.*, 1997).

Dans les parties aériennes des végétaux (feuilles et gaines foliaires) où se développe une microflore active, les bactéries endophytes confèrent une meilleure tolérance aux stress métalliques et peuvent stimuler la croissance de leur plante hôte par plusieurs mécanismes comme la fixation de l'azote, la résistance aux pathogènes, la production de régulateurs de croissance et l'augmentation des prélèvements en éléments nutritifs et eau (Ryan *et al.*, 2008). En général, les effets bénéfiques procurés aux végétaux sont supérieurs à ceux des rhizobactéries (Pillay et Nowak, 1997).

3.3.3.3 Rôles des rhizobactéries ou PGPR pour plantes

Aussi bien dans les écosystèmes naturels qu'anthropisés, les bactéries associées aux végétaux, en plus de stimuler la croissance, jouent un rôle clé dans l'adaptation de leurs hôtes aux changements d'environnements (Ma *et al.*, 2011). Différents mécanismes, directs

(solubilisation du phosphore et du potassium, fixation de l'azote, séquestration du fer par les sidérophores, production d'hormones,...) ou indirects (réduction du nombre de pathogènes par la production d'antibiotiques ainsi que du fer disponible dans la rhizosphère pour les phytopathogènes, ...) sont impliqués (Glick, 1995 ; Lucy *et al.*, 2004).

3.3.3.3.1 Solubilisation du phosphore

Le phosphore est un élément majeur, essentiel pour la croissance et le développement de la plante, constituant généralement le macro-élément limitant la production de biomasse. De plus, les teneurs élevées en éléments traces métalliques dans les sols peuvent interférer avec son prélèvement, provoquant alors des retards dans la croissance (Zaidi *et al.*, 2006). En présence de PGPR, le phosphore insoluble peut être rendu biodisponible à travers des réactions d'acidification, de chélation ou la libération d'acides organiques (Chung *et al.*, 2005) ou encore en les minéralisant et ceci par sécrétion de phosphatases (Gyaneshwar *et al.*, 2002). Une augmentation de la disponibilité du phosphore pour la plante et ainsi une augmentation de la biomasse grâce à l'inoculation des bactéries comme *Bacillus* a été décrite (Pal, 1998).

3.3.3.3.2 Fixation d'azote

Certaines bactéries, dites fertilisantes, fournissent les nutriments aux plantes. En effet, des bactéries fixatrices d'azote, appelées rhizobia, comme *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*, peuvent former des nodules sur les racines de légumineuses (soja, pois, arachide, luzerne, ...) dans lesquels elles convertissent l'azote en ammoniacal qui, à l'inverse de l'azote peut être utilisé par les plantes (Vanrhijn et Vanderleyden, 1995). L'infection racinaire se déroule en plusieurs étapes. Initialement, les bactéries sont attirées par les exsudats racinaires ainsi que par de faibles quantités de flavonoïdes. Le mode d'infection le plus courant est l'infection intracellulaire, les bactéries pénétrant dans la plante à travers les poils absorbants. La pénétration des bactéries s'accompagne alors de divisions cellulaires au niveau du cortex, qui aboutiront par la suite à la formation d'un nodule racinaire, site de la fixation d'azote atmosphérique (Pawlowski et Bisseling, 1996). Les symbioses légumineuses-rhizobia sont les plus étudiées, du fait de leur importance économique (Vessey, 2003), l'association entre des plantes dites actinorhiziennes et l'actinomycète du sol *Frankia* représente un exemple intéressant. Outre sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, ces bactéries présentent également des facultés d'adaptation aux sols pauvres et carencés (Duhoux et Franche, 2003). Les plantes actinorhiziennes correspondent aux plantes ligneuses (*Casuarina*, *Cerocarpus*, ...) excepté le genre *Datisca*. L'établissement de la symbiose implique le développement d'un nouvel organe, l'actinorhize ou nodule actinorhizien, site de fixation de l'azote par la bactérie (Duhoux et Franche, 2003).

Contrairement aux nodules des légumineuses, représentant un organe nouveau, l'actinorhize s'apparente, par son origine et sa structure, à une racine adventive modifiée (Pawlowski et Bisseling, 1996).

3.3.3.3.3 Production de biofilm

La majorité des bactéries favorise un mode de vie à l'état fixé. Les bactéries adhèrent alors aux surfaces sous forme de communautés structurées, décrites sous le terme de biofilm (Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Bien que de nombreux travaux se soient focalisés sur les surfaces abiotiques, le biofilm peut également se développer sur des surfaces biotiques, notamment lors des interactions bactéries-plantes. Il a pu être montré que la majorité des *Pseudomonades* associées aux racines favorisait la croissance de la plante hôte (Lugtenberg *et al.*, 2001), formant majoritairement des biofilms autour des racines (Ramey *et al.*, 2004). Espinosa-Urgel *et al.*, (2002) ont montré que *Pseudomonas putida* était capable de répondre très rapidement à la présence d'exsudats racinaires, convergeant alors vers les sites racinaires où la bactérie établit alors un biofilm. D'autres études ont montré que les *Pseudomonades* favorisant la croissance des plantes ne formaient que de fins biofilms discontinus sur la surface des racines (Bloemberg *et al.*, 2000) tandis que celles étant pathogènes constituaient un biofilm dense et ceci sur toute la surface racinaire (Walker *et al.*, 2004). Néanmoins, le rôle exact du biofilm dans ces interactions est peu documenté. Dans les écosystèmes humides, le biofilm présent sur les racines serait impliqué dans la séquestration des métaux (Morris et Monier, 2003). La formation de « plaques de fer » sur les racines de plantes pourrait représenter environ 10 % du poids sec des racines (Hansel *et al.*, 2001). Ces plaques sont constituées d'oxydes de fer complexés avec du manganèse, du plomb et du zinc. Elles seraient dues à l'activité des bactéries associées aux racines, oxydant le fer, et seraient favorisées par la libération d'oxygène par les racines. Ces oxydes de fer et les autres métaux se retrouvent alors emprisonnés dans le biofilm et seraient alors disponibles pour la plante hôte (Hansel *et al.*, 2001). De plus, dans le cas des plantes aquatiques, le biofilm jouerait également un rôle dans l'adhésion sur les roches (Morris et Monier, 2003).

3.3.3.3.4 Production de phytohormones

a. Acide Indole-3-acétique (AIA)

Cette phytohormone est impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994). Communément produite par les rhizobactéries (Barazani et Friedman, 1999). Les rhizobactéries produisant l'AIA sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines. Cet effet résulte en une surface racinaire plus grande, et une accessibilité pour plus de nutriments pour la plante. Patten et Glick (2002a) ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P. putida*, chez la plante hôte, dans le développement de son système racinaire.

b. Cytokinines

Les cytokinines forment une classe de phytohormones qui stimulent les divisions cellulaires, l'élargissement et le développement des tissus (Salisbury, 1994). Ce sont des signaux impliqués dans la médiation du stress environnemental des racines vers les parties supérieures de la plante. La production de cytokinines a été rapportée chez *P. fluorescens* (Garcia *et al.*, 2001).

c. La 1-Amino-cyclopropane¹-carboxylate (ACC) désaminase

L'éthylène est la seule phytohormone gazeuse. Il est connu pour être l'hormone des blessures, parce que sa production dans la plante peut être induite par n'importe quel perturbation physique ou chimique des tissus (Salisbury, 1994). Parmi ses nombreux effets sur la croissance et le développement de la plante, la production d'éthylène peut causer l'inhibition de la croissance des racines. Glick *et al.*, (1998) ont émis, une théorie selon laquelle le mode d'action de certains PGPR serait par l'intermédiaire d'une ACC-désaminase. Cette enzyme clive l'ACC précurseur immédiat de l'éthylène. L'ACC-désaminase diminuerait la production d'éthylène au niveau des racines de la plante hôte et résulterait en leurs allongements. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des producteurs d'ACC-désaminase (Glick *et al.*, 1994). La transformation des *Pseudomonas* spp. par des gènes codant cette enzyme, permet à celles-ci de croître sur un milieu dont la seule source de carbone et d'azote est le ACC, et de stimuler l'élongation des racine (Shah *et al.*, 1998). Cette stimulation de la croissance est aussi exprimée dans des situations de stress, tels que les inondations (Grichko et Glick, 2001), ou encore dans les sols contaminés par les métaux lourds (Burd *et al.*, 1998; Belimov *et al.*, 2001).

3.3.3.3.5 Production des sidérophores

Le fer est un co-facteur indispensable pour de nombreuses réactions enzymatiques, mais aussi un élément indispensable pour tout organisme vivant. Pour acquérir du fer en quantité suffisante, certaines plantes, dites de stratégie II (*Poaceae*), tout comme les bactéries, peuvent produire des sidérophores afin d'augmenter leur prélèvement en fer. Néanmoins, les affinités des phytosidérophores pour le métal restent plus faibles que celle des sidérophores bactériens. Les racines peuvent alors incorporer le fer des complexes sidérophores bactériens-fer par des mécanismes de dégradation du chélateur s'accompagnant de la libération du fer ou d'incorporation directe de ces complexes (Rajkumar *et al.*, 2010). Plusieurs exemples d'augmentation du prélèvement en fer par la plante avec une stimulation simultanée de la croissance ont été montrés comme une action directe de l'inoculation par des bactéries PGPR (Barzanti *et al.*, 2007; Carrillo-Castaneda *et al.*, 2003).

3.3.3.3.6 Dénitrification

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. La dénitrification est composée de quatre réactions par lesquelles les nitrates sont réduits en di nitrogène (N₂), par des métallo-enzymes comme la nitrate réductase, nitrite réductase, oxyde nitrique réductase, et l'oxyde nitreux réductase. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont les dénitrifiants les plus communs des sols des régions tempérées (Gamble *et al.*, 1977). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capable de s'adapter aux manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988). La respiration sur nitrate et la réduction des nitrites sont impliquées dans la compétition des souches modèles de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le sol (Philipot *et al.*, 1995; Ghiglione, 2000).

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

1 Matériel et Methodes de l'expérimentation

1.1 Prélèvement, isolement, sélection et identification des souches de *Pseudomonas* fluorescentes.

1.1.1 Prélèvement des échantillons du sol.

Les échantillons des sol ont été prélevés de deux régions, un dans la région de Metmar wilaya de Relizan d'un sol à déférent niveaux de salinité et l'autre dans la région Ouriaah wilaya de Mostaganem, d'un sol d'un viticole traité par des pesticides à base de cuivre (il est utilisé abondement comme un fongicide et certainement dans les cultures de vigne) (Tableau 3) .

Tous les échantillons ont été prélevés d'un sol rhizosphérique près des racines des plantes de 15 à 25 cm de profondeur.

Tableau 3: Localisation d'échantillonnage pour l'isolement des souches des bactéries.

Région de Metmar Relizan Sol salé			
NIVEAU DE SALINITE (mmhos.cm ⁻¹)	Point	X	Y
0 à 2	Point 1	00°29'19,4" E	35°43'26" N
	Point 2	00°29'19,8" E	35°43'25,4" N
2 à 4	Point 3	00°29'19,0" E	35°43'30,6" N
	Point 4	00°29'19,9" E	35°43'30,7" N
4 à 8	Point 5	00°29'19,4" E	35°43'40,5" N
	Point 6	00°29'21,8" E	35°43'40,8" N
8 à 16	Point 7	00°29'18,2" E	35°43'52,3" N
	Point 8	00°29'18,5" E	35°43'52,01" N
plus de 16	Point 9	00°29'17,5" E	35°44'7,6" N
	Point 10	00°29'18,4" E	35°44'7,8" N
Région de Ouriaah Mostaganem, Sol traité par le cuivre			
Point 1		0° 1'42.91"E	35°51'26.13"N
Point 2		0° 1'43.30"E	35°51'26.45"N
Point 3		0° 1'42.68"E	35°51'26.23"N
Point 4		0° 1'42.43"E	35°51'26.43"N

1.1.2 Isolement des souches de *Pseudomonas* spp

L'isolement se fait par la méthode de suspensions-dilutions décrite par Vidhyasekaran *et al.* (1997). Les racines sont d'abord débarrassées de la terre facilement détachable, ensuite de chaque échantillon est récupéré 1 g du sol adhérent aux racines. Chaque échantillon est suspendu dans 10 ml d'eau distillée stérile, et agité, pour isoler les bactéries de la rhizosphère appartenant au groupe des *Pseudomonas* (Tamietti et Pramotton, 1990)

Une série de suspensions-dilutions au 1/10^{ème} est réalisée à partir de chaque échantillon (biotope). Pour chaque analyse, 2 suspensions-dilutions sont réalisées, on a alors procédé à un

type d'isolement qui consiste à étaler 100µl de chaque suspensions-dilutions en boites de Pétri contenant 20 ml du milieu King B décrit par King *et al.* (1954) (Annexe 2).

Après 48 h, d'incubation on a déterminé les colonies des souches fluorescentes (celles produisant un pigment fluorescent) et ça se fait soit à l'œil nu, soit en utilisant une lampe UV (366nm), et donc on a procédé à une simple analyse macroscopique et microscopique.

1.1.2.1 Analyse macroscopique

Cette étude est réalisée par observation à l'œil nu de la taille, la forme, la couleur, et l'aspect des colonies.

1.1.2.2 Analyse microscopique

Cette étude est réalisée par l'observation sous microscope optique de la forme, la disposition des bactéries et à la suite d'une coloration de Gram.

1.1.3 Sélection et conservation des souches:

1.1.3.1 Sélection des souches performantes

Les souches ont subis une gamme de trois tests pour la présélection de performance :

1.1.3.1.1 Test de résistance à la salinité : consiste à mesurer la croissance des souches dans le milieu King B avec quatre (04) niveaux de concentration en NaCl (7 %, 8% ,9% et 10%).

1.1.3.1.2 Test de résistance au cuivre : consiste à mesurer la croissance des souches dans le milieu King B avec six (06) niveaux de concentration de Cu,So₄ (100, 200,300,400,500,600 mg.L⁻¹).

1.1.3.2 Conservation des souches

Les souches sélectionnées ont été conservés dans des tubes inclinés de milieu King B dans une température de 4°C, et chaque deux mois un repiquage est effectué.

1.1.4 Identification et caractérisation des souches

1.1.4.1 Identification via la réalisation de la Galerie Api 20NE

L'identification des souches sélectionnées a été effectuée par la méthode biochimique via la galerie API 20NE.

La galerie API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bactéries Gram négatif non entérobactéries comme les *Pseudomonas* spp. Cette galerie comporte huit tests conventionnels liés à l'activité de divers enzymes (Nitrate réductase ou dénitrification, tryptophanase ou formation de l'indole à partir du tryptophane, fermentation du glucose, Arginine déshydrogénase ou formation de l'ammoniac à partir de l'arginine, uréase, Esculinase, gélatinase ou liquéfaction de la gélatine et la β-galactosidase) et 12 tests d'assimilation de sucres (Glucose, Arabinose, Mannose, Mannitol, N-acétyl-D glucosamine, Maltose, Gluconate, Caprate, Adipate, Malate, Citrate et Phényl-acétate). A ces tests le 21 ème test s'ajoute, il s'agit de la recherche du cytochrome oxydase ou test de l'oxydase (Tableau 4) (Amkraz, 2013).

Tableau 4: Les tests de la galerie API 20 NE

Tests	Sigle
réduction des Nitrates en nitrites et/ou Azote (Dénitrification)	NO ₃
Tryptophanase	TRP
Fermentation du Glucose	GLU
Arginine DiHydrolase	ADH
Uréase	URE
Esculinase (β-glucosidase)	ESC
Gélatinase	GEL
β-galactosidase	PNPG
Utilisation de sucres comme source de carbone	
Glucose	GLU
Arabinose	ARA
Mannose	MNE
Mannitol	MAN
N-acétyl-D glucosamine	NAG
Maltose	MAL
Gluconate	GNT
Caprate	CAP
Adipate	ADI
Malate	MLT
Citrate	CIT
Phényl-acétate	PAC
Test supplémentaire N° 21	
Oxydase (cytochrome-oxydase)	OX

Des cultures jeunes (de 18 à 24 h) des bactéries à identifier ont été préparées sur milieu de culture TSA en boîte de Pétri. Une à quatre colonies est utilisée pour la préparation d'une suspension bactérienne de turbidité égale à 0.5 de Macfarland dans 2 ml d'eau physiologique stérile (en ampoule fournie avec la galerie). Les tubes des huit tests conventionnels (du test NO₃ au test ONPG) sont remplis avec les suspensions déjà préparées en utilisant une pipette jetable de 1 ml. Pour les autres tests (Glu à PAC), un volume de 200 µl des suspensions ont été mélangées au milieu API (fourni en ampoule avec la galerie) et homogénéisées en évitant la formation des bulles. Les cupules et les tubes des tests d'assimilation ont été remplis avec ce mélange en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe mais jamais concave. En effet, des cupules incomplètement ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects. Les cupules des tests Glu, ADH et URE sont couvertes d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe. Le fond et le couvercle de chaque boîte d'incubation sont réunis et 5 ml d'EDS sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Les galeries ainsi inoculées sont incubées à 30 °C pendant 24 h. Après incubation, tous les tests se révèlent spontanément sauf les tests TRP et NO₃ qui sont rapidement obtenus après addition de réactifs appropriés et les

résultats du test oxydase correspondent au 21^{ème} test. Les profils numériques (composé de 7 chiffres, un chiffre pour chaque trois tests successifs) de chacun des huit isolats ont été déterminés selon les recommandations du fabricant. L'identification est réalisée à partir de la base de données contenue dans le Catalogue Analytique (Ref. 20 090) (Amkraz, 2013).

1.1.4.2 Caractérisation des souches

1.1.4.2.1 Test d'antagonisme :

Les souches P1, P7 et P15 vont être examinées par un test d'antagonisme vis-à-vis cinq solats de microorganismes isolés à partir d'un sol salé (Région de Metmar).

Dans ce test on a utilisé les souches *Pseudomonas* sélectionnées à partir des deux tests précédents pour voir leur effet sur l'inhibition de la croissance pour 5 souches isolées d'un sol salé, deux de genre *Bacillus* et deux Actinomycètes et un champignon.

Ce test consiste à ensemercer la souche de *Pseudomonas* en trait dans des boîtes de pétri contenant le milieu king B ou PDA, après 48h d'incubation à 30°C on ensemece aseptiquement un trait-de chaque microorganisme testé- perpendiculaire au trait de *Pseudomonas*.

Après 72h d'incubation, l'inhibition de croissance a été évaluée par la distance entre le trait de *Pseudomonas* et l trait de microorganisme test à l'aide d'un pied à coulisse.

1.1.4.2.2 Production et caractérisation de Pyoverdine

a. Production de Pyoverdine :

On ensemece la souche performante P8 dans 3tubes contenant 3ml de king B (Annexe A) et incubés pendant 24h. Chaque tube est versé dans un erlen meyer de 500ml contenant 125ml de bouillon nutritif, les erlens sont incubés dans un incubateur agitateur à 30°C pendant 40h avec une agitation de 250t/min.

b. L'extraction de Pyoverdine

La culture est centrifugé à 6000t/min pendant 10min, on ajoute ½ le volume du surnageant du mélange chloroform/phénole (1V/1V) dans un ballon à décanter, on le laisse une nuit puis on prend la phase organique, on ajoute à cette phase 1,5 le volume par le diéthyléther on agite bien puis on le laisse se séparé pendant environ 3h dans un ballon à décanter, la phase organique est passé a travers un papier filtre de Watman n1 contenant du sulfate de sodium anhydre, le filtra est concentré a sec (Meyer et Abdallah, 1978).

c. Caractérisation de la Pyoverdine par spectrophotomètre UV-Visible

Le filtra est repris dans un volume de 1 ml d'eau milliQ pour être quantifié. Un procédé effectué par spectrophotométrie dans un tampon d'acétate de sodium 50 mM pH5 en utilisant la loi de Beer Lambert : Par la mesure du couple « longueur d'onde (λ)-absorbance (A) ». A laide de la loi de Beer Lambert ($A=\epsilon.l.C$) où A est l'absorbance, ϵ le coefficient d'extinction molaire ($\epsilon_{400}=\epsilon=20.000.M^{-1}.cm^{-1}$) soit $C=A_{400}/20.000$ (Meyer et Abdallah, 1978)

Les échantillons extraits seront balayés de 220 à 700 nm dans un spectrophotomètre UV-Visible.

1.2 L'Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la fève et le rôle de l'inoculation par *Pseudomonas*.

1.2.1 Présentation du dispositif expérimental

1.2.1.1 Localisation de l'expérimentation :

L'expérimentation a été faite à la serre des expérimentations dans l'atelier d'Agronomie de Mazzagran, suite à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, localisée à la commune de Mazzagran Wilaya de Mostaganem, dont les coordonnées géographiques : (x : 35°53'31,9''N ; y : 0°5'7,4''E ; alt. : 132m). L'expérimentation a duré huit semaines à partir de 2 Novembre 2013 sous conditions climatiques avec une température moyenne sous la serre de 28°C au jour et 23°C à la nuit, et une hygrosopie: de 55 à 75%.

1.2.1.2 Choix de matériel de l'expérimentation :

L'expérimentation est réalisée en mode *in vitro* pour le test de germination et *in vivo* pour les tests de plantation, on a choisis pour ces tests le matériel suivant :

Matériel végétal : variété de la fève (*Vicia faba L.*) OTONO d'origine espagnol ;

L'inoculum : solution bactérienne de 2 souches de *Pseudomonas* isolées originaire d'un sol salé et une autre d'un sol traité par pesticides à base de cuivre ;

Facteur de la salinité : solution de chlorure de sodium (NaCl) rajoutée dans l'eau d'irrigation ;

Facteur de pesticide : solution de sulfate de cuivre (CuSO₄, 7H₂O) rajoutée dans l'eau d'irrigation.

1.2.2 Test de germination :

L'objectif de ce test est de montrer l'effet inhibiteur de la salinité et du cuivre sur la germination des graines de la fève d'un côté, et de l'effet de l'inoculation des graines par les souches de *Pseudomonas* sur la stimulation de germination des graines sous stress de salinité et de cuivre de l'autre côté.

1.2.2.1 Matériels de l'expérimentation :

on a utilisé des graines de la fève de variété Otono dans une culture *in vitro* sur des boîtes Pétri de 8 cm de diamètre, les graines sont traitées par trois solutions bactériennes de *Pseudomonas* et un témoin par EDS, et chaque groupe sera traité par six solutions stériles deux avec des concentrations de NaCl (100 et 150 mM) et trois avec des concentrations de CuSO₄, 7H₂O (2.5, 10 et 20 mM) et un témoin avec l'eau distillée stérile.

1.2.2.2 Méthode de l'expérimentation :

Les graines sont désinfectées à l'eau de javel à 25% pendant 15min puis rincées cinq fois à l'eau distillée stérile, puis sont submergées aseptiquement pendant une demi heure dans quatre béciers chacun contient une solution bactérienne des 3 trois souches de *Pseudomonas* et le quatrième contient l'eau distillée stérile, puis sont déposées aseptiquement entre deux feuilles de papier filtre dans six boîtes Pétri avec huit répétitions et placées dans une étuve avec une température de 28°C, les boîtes seront imbibées tous les 48 h par une solution stérile à six traitements différents (un de l'eau distillée, deux de 100 et 150 mM de NaCl et trois de 2.5, 10 et 20 mM de CuSO₄, 7H₂O), les boîtes seront incubées pendant 10 dix jours.

L'évaluation de la germination sera effectuée par un comptage quotidien des graines germées,

la germination a été définie par une rupture de péricarpe au-dessus de l'embryon, le taux et l'indice de germination ont été calculés.

L'indice de germination prend en considération le taux et le temps de germination, où il donne plus de points d'avantage aux graines qui germent en premier lieu, cet indice est calculé selon la méthode de Walker-Simmons et Sesing, (1990), selon la formule suivante :

$$\text{Indice de Germination} = Ig = \frac{(10 \times n_1 + 9 \times n_2 + \dots + 1 \times n_{10})}{T_j \times T_g}$$

n_1, n_2, \dots, n_{10} représentent le nombre des graines du premier, seconde et jusqu'au 10ème jour respectivement. Les chiffres 10, 9, 8 sont les points donnés au nombre de graines germées dans le premier, le second lieu, jusqu'au dernier respectivement, la valeur maximale de germination est 1 et la minimale est 0. (Sachin et Misra, 2009).



Figure 5: Photos de test de germination des graines de la fève sous stress salin et stress au cuivre.

1.2.3 L'effet de la salinité et du cuivre sur la plante et le rôle de l'inoculation avec *Pseudomonas*.

Le but de cette expérimentation est de montrer l'effet de la salinité et du cuivre sur la croissance, le métabolisme et la physiologie de la fève d'un côté, et de l'effet de l'inoculation de la plante par les souches de *Pseudomonas* sur la stimulation de la croissance, la nutrition et la tolérance de la fève à la salinité et au cuivre de l'autre côté.

1.2.3.1 Matériel de l'expérimentation

On utilise dans notre expérimentation les plantes de la fève (*Vicia faba* L.) d'une variété OTONO et des pots de plastique à 5 L de volume et 30 cm de diamètre remplis du sable de la plage originaire de la région de Sablette wilaya de Mostaganem (35°53'05,79 N, 0°02'41.54 E).

L'inoculation sera avec trois souches présélectionnées de *Pseudomonas*.

1.2.3.2 Méthode de l'expérimentation :

1.2.3.2.1 Préparation des pots de plantation :

Le sable a été lavé 5 fois par l'eau de robinet puis une fois par l'esprit de sel puis 2 fois par l'eau de robinet puis une fois par l'eau de javel et finalement trois fois par l'eau déminéralisée.

1.2.3.2 Préparation des graines

Les graines ont été désinfectées à l'eau de javel à 25% pendant 15 min puis rincées cinq fois à l'eau distillée stérile, puis déposées sur des papiers filtres imbibés par l'eau distillée stérile, on laisse les graines germer pendant 3 jours.

1.2.3.3 Préparation de l'inoculum et repiquage des graines

Des colonies de 24h des trois souches sélectionnées sont utilisées pour ensemercer des tubes de 3 ml de bouillon nutritif, les tubes sont incubés à 30°C pendant 24h, puis versés aseptiquement dans des flacons de 250 ml contenant 120 ml de bouillon nutritif et incubés à 30°C pendant 48h.

La première inoculation a été faite par le mélange d'un volume de 120 ml de la suspension bactérienne avec 4 kg / pot du sable simultanément avec la mise en pots des graines germées et une deuxième après 4 semaines de semi.

Les graines germées sont repiquées dans 48 pots au nombre de 4 graines par pot et 12 pots pour chaque traitement d'inoculation.

1.2.3.4 Préparation de la solution d'irrigation et du traitement des stress.

Après une semaine de repiquage, les pots sont irrigués d'une manière régulière par la solution HOAGLAND (Annexe 3).

Dès la cinquième semaine de repiquage et pendant trois semaines, les solutions d'irrigation (solution HOAGLAND) sont dotés par des traitements de NaCl, et de $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ à différentes concentrations, six traitements sont utilisés pour l'irrigation :

- Un témoin (0 mM.l^{-1} de NaCl et de CuSO_4);
- Deux de salinité (NaCl) : S1(100 mM.l^{-1}) ; S2(150 mM.l^{-1}) ;
- Trois du cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) : C1(2,5 mM.l^{-1}) ; C2(10 mM.l^{-1}) ; C1(20 mM.l^{-1}).



Figure 6: Photos de plantation de la fève utilisée dans l'expérimentation

1.2.3.3 Paramètres étudiés.

Après huit semaines de semi de la fève dont trois semaines d'application du traitement de stress de salinité et de cuivre, on va procéder à la récolte des plantes et l'analyse des paramètres physiologique, chimique et biochimiques.

1.2.3.3.1 Paramètres biométriques :

1.2.3.3.1.1 La biomasse : Mesure du poids frais de la partie aérienne et souterraine (BPA, BPR) :

Les mesures sont effectuées juste après l'enlèvement des plants, on sépare soigneusement la partie aérienne de la partie racinaire, on les lave et on pèse les deux parties séparément avec une balance de précision.

1.2.3.3.2 Paramètres biochimiques et physiologique

1.2.3.3.2.1 Teneur en chlorophylle :

a. Extraction :

L'extraction de la chlorophylle (a) et (b) est réalisée selon la méthode de Francis *et al.* (1970). Qui consiste à une macération des feuilles dans le mélange de l'acétone et de l'éthanol (75 % et 25%) de volume et de 80% et 20% de concentration. En effet, 100 mg de matière végétale coupée en petits morceaux (les feuilles sont mises dans des boîtes noires pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière) est ajouté 10 ml d'un mélange d'acétone et d'éthanol de volumes respectifs 75 et 25 % moyennant deux concentrations de 80 et 20%.

b. Dosage :

Après 10 min de centrifugation à 5000 tours.mn⁻¹ à 4°C, on procède à la lecture des densités optiques des solutions avec un spectrophotomètre, à deux longueurs d'ondes : (645 et 663 nm). Les concentrations en chlorophylles totales (Chlorophylles a et b), exprimées en mg. g⁻¹ de matière fraîche MF sont données selon les formules :

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/g MF}) = 12,7 \times \text{DO (663)} - 2,59 \times \text{DO (645)} \times V / (1000 \times W) .$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/g MF}) = 22,9 \times \text{DO (645)} - 4,68 \times \text{DO (663)} \times V / (1000 \times W) .$$

$$\text{Chl (a+b)} (\mu\text{g/g MF}) = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

V : volume solution extraite et W le poids de matière fraîche de l'échantillon

1.2.3.3.2.2 Teneur en proline :

La proline est analysée selon la méthode de Bergman et Rtlxley (1970).

a. Extraction :

On pèse le matériel végétal soit 100 mg de racine et 100 mg de la partie aérienne de la plante (tige et feuille). Ce matériel végétal a été broyé dans 1.25 ml d'éthanol 95%, suivi de trois rinçage et lavage avec 1.25 ml d'éthanol 70% chaque fois. Des surnageant combinés environ 5ml, sont prélevés 2.5ml auquel sont ajoutés 1 ml de chloroforme et 1.5 d'eau distillée. Le matériel végétal est gardé toute la nuit à 0 °C.

b. Dosage :

On prélève 1 ml de la phase supérieure du matériel végétale, déjà décanté en évitant de toucher à la phase inférieure puis sont ajoutés 2 ml de solution de Na Cl 5 M et 5ml d'eau distillée .Après agitation , 2 ml de solution sont placés dans tube à essais au auquel sont ajoutés 2 ml de

solution tampon phosphate (H_3PO_4 5.33M+ Na_2HPO_4 3.88 M à PH 2.5) et enfin 4ml de solution de ninhydrine (0.125g dans 2 ml de H_3PO_4 6M, plus 3 ml de CH_3COOH glacial)

Les tubes sont agités et placés au bain-marie bouillant pendant 60 mn pour le développement de la coloration .Une fois le mélange refroidi, la densité optique est lue au moyen d'un spectrophotomètre à 505nm.

1.2.3.3.3 Paramètres chimiques :

1.2.3.3.3.1 Prélèvement et l'accumulation des éléments nutritionnels ions Na^+ et K^+

a. Extraction des minéraux de la plante Na^+ et K^+ .

Les procédés d'extraction et de dosage des éléments minéraux sont effectués sur les feuilles, et les racines des plantes stressées et témoins par la méthode analytique décrite par (Lafon *et al.*, 1996) et qui consiste à déterminer la composition en éléments d'une plante en procédant d'abord, par calcination et ensuite à la destruction complète de la matière organique (Martin-Prevel *et al.*, 1984), le résidu est ensuite analysé. Après étuvage de matériel végétal sec est broyé à l'aide d'un mortier pour l'obtention d'une poudre fine, conservée dans des piluliers hermétiquement fermés par des bouchons plasma et mis dans un congélateur pour le reste des opérations. Après séchage à l'étuve à 70 °C pendant 16 heures, 100mg de matière sèche et incinérés à 450°C pendant 2 heures au four à moufle. Après refroidissement, 2 ml de HNO_3 /capsule sont ajoutés, puis on remet au four pendant 1 heure. La cendre obtenue est dissoute dans 3 ml d' HCl (6N) puis filtrée, et le volume est amené à 50 ml.

b. Dosage des minéraux de la plante Na^+ et K^+ .

A partir de la solution de l'extrait, les dosages de Na^+ et K^+ sont effectués par Spectrophotomètre à flamme.

1.2.3.4 Analyse statistique

Les données obtenues sont soumises à une analyse de la variance à deux Facteurs en randomisation fixes de classification, les moyennes sont comparées selon le test de Student et Fisher, réalisés par le logiciel STATBOX 6.40 et confirmés par *statistica* 7. On considère que les résultats sont significatifs quand $P \leq 0,05$. On a aussi utilisé l'Excel 2007 pour l'établissement des graphes.

PARTIE III : RESULTATS ET DESCUSION

1 Resultas et discusion

1.1 Prélèvement Isolement et sélection des souches de *Pseudomonas* spp fluorescent

1.1.1 Isolement des souches de *Pseudomonas* ssp

Après le prélèvement des échantillons, une incubation à 30°C pendant 48h sur milieu King B pauvre en fer qui stimule quelques souche de *Pseudomonas* de synthétiser des sidérophores à couleurs jaune verdâtre ce qui nous permet de les détecter,

Les colonies à couleur jaune verdâtre ont été repiquées et purifiées et ont subis une série d'analyses pour leur l'identification.

Les colonies distinguées sont nommées P1, P6 et P7 (isolées du sol salé) P11, P13, P14 et P15 (isolées de sol traité par des pesticides le cuivre)

1.1.1.1 Analyse macroscopique

Cette analyse a été faite par l'observation a l'œil nu des colonies incubées sur le milieu King B à 30°C pendant 48h,

Les colonies apparaissent avec une forme renflée, foncée, circulaire, muqueuse et homogène, avec une pigmentation brillante à couleur jaune verdâtre (Figure 7).

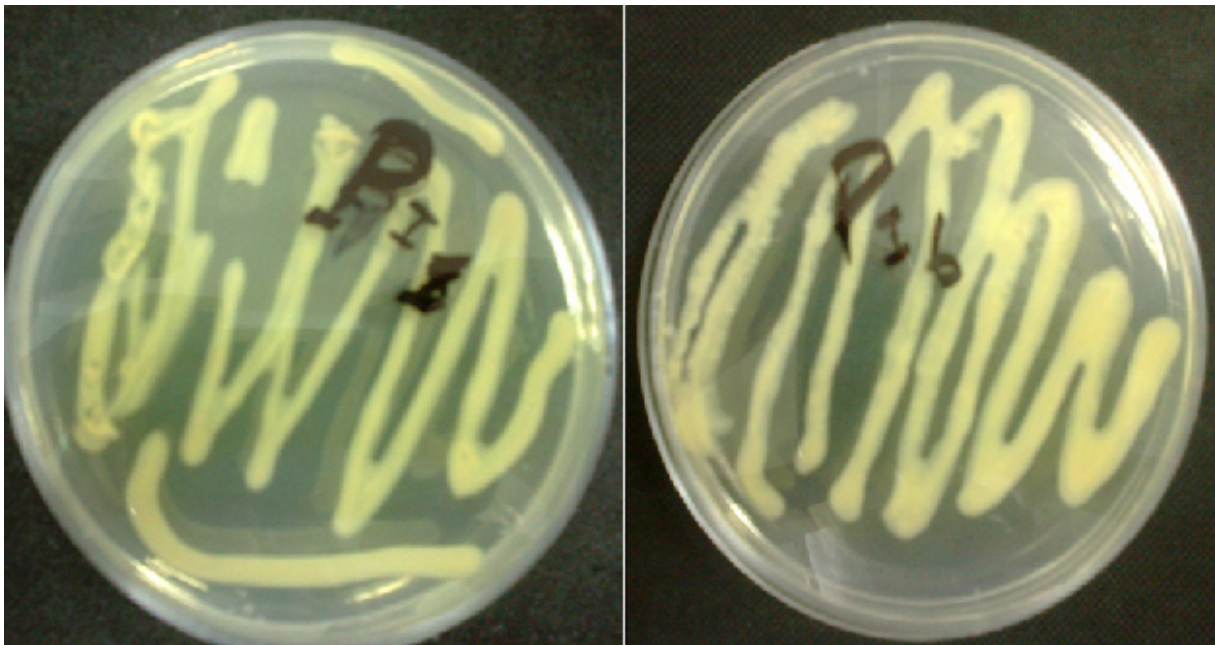


Figure 7 : Quelques isolas incubées sur KingB avec production de pyoverdine à couleur jaune verdâtre.

1.1.1.2 Analyse microscopique

Les souches isolées sont de formes bacillaires, droites ou plus ou moins courbées, se manifestent avec une coloration de Gram négative.

1.1.2 Sélection et conservation des souches:

1.1.2.1 Sélection des souches performantes

Les souches isolées ont subis deux tests de sélection de performance :

1.1.2.1.1 Test de résistance à la salinité :

Les résultats de la croissance des souches dans des milieux King B avec quatre (04) niveaux de concentration en NaCl (7 %, 8 %, 9% et 10%) sont indiqués dans le Tableau 5 :

Tableau 5: Test de résistance à la salinité des bactéries isolées; (-) absence de croissance, (+) faible croissance, (++) croissance abondante.

souches	Après : 24h				48h				72h				96h			
	Doses de salinité				Doses de salinité				Doses de salinité				Doses de salinité			
	7%	8%	9%	10%	7%	8%	9%	10%	7%	8%	9%	10%	7%	8%	9%	10%
P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P7	+	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
P11	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-
P13	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-
P14	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-
P15	++	+	-	-	++	+	-	-	++	++	-	-	++	++	++	+

La souche P7 a poussé avec une abondante croissance dans le milieu à 10% de NaCl et la souche P15 a poussé avec une faible croissance dans le milieu à 10% de salinité alors que les souches P11, P13 et P14 n'ont poussé que dans le milieu à 7% de salinité et les souches P1 et P6 n'ont manifesté aucune résistance dans tous les milieux du test (**Figure 8**).

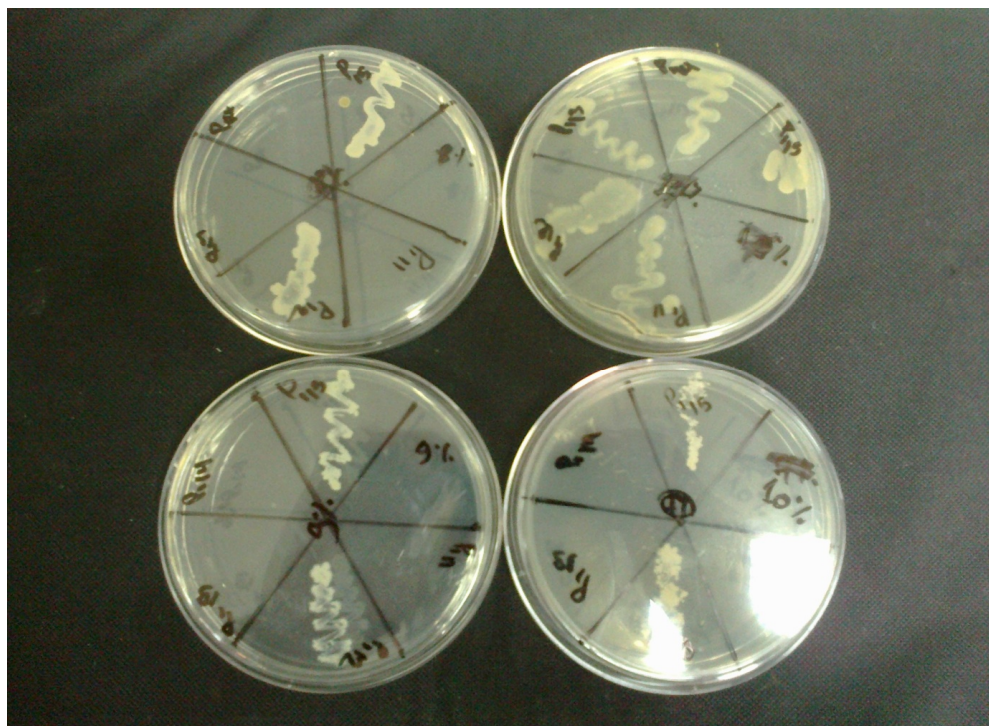


Figure 8: Test de résistance des bactéries isolées P1, P7 et P15 à la salinité.

1.1.2.1.2 Test de résistance au cuivre :

Les résultats de la croissance des souches dans des milieux King B avec six (06) niveaux de concentration de Cu,So4 (100, 200,300,400,500,600 mg.L⁻¹) indiqués dans le Tableau 6 .

Tableau 6: Test de résistance au cuivre des souches isolées; (-) absence de croissance, (+) faible croissance, (++) croissance abondante.

Souches	Après : 24h						48h						72h						96h					
	Doses du Cuivre (x10 ² mg.L ⁻¹)						Doses du Cuivre (x10 ² mg.L ⁻¹)						Doses du Cuivre (x10 ² mg.L ⁻¹)						Doses du Cuivre (x10 ² mg.L ⁻¹)					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
P1	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-
P6	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-
P7	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-
P11	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-
P13	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-
P14	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-
P15	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-

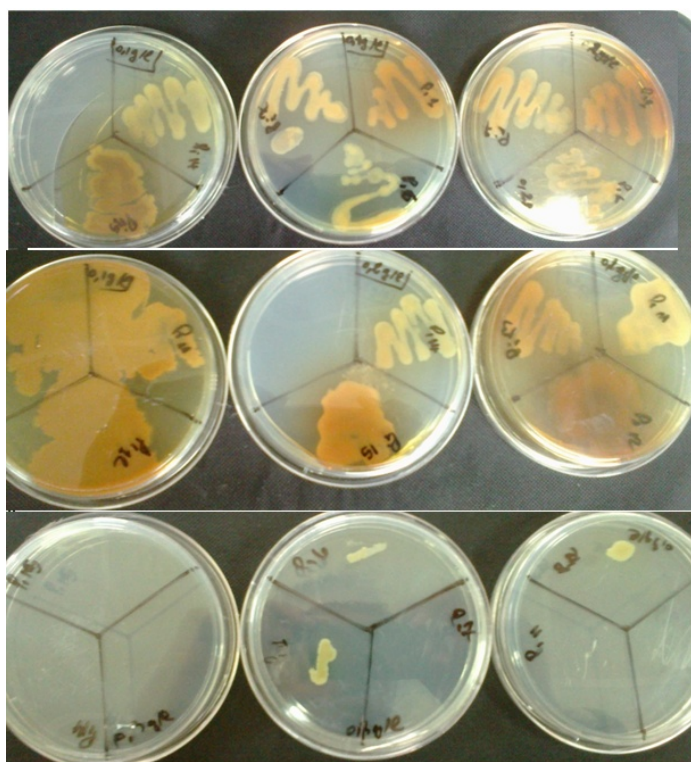


Figure 9: Test de résistance au cuivre des souches isolées P1, P7 et P15.

Toutes les souches ont poussé abondamment dans le milieu à 200 mg.L⁻¹ alors que les deux souches P1 et P6 ont pu pousser dans le milieu à 300 mg.L⁻¹ (figure 9).

Après les deux tests de résistance à la salinité et au cuivre, les trois souches P1, P7 et P15 ont été sélectionnées comme souches performantes pour les utiliser en inoculation des graines et des plantes de la fève.

1.1.2.2 Conservation des souches

Les souches sélectionnées ont été conservés dans des tubes inclinés contenant le milieu King B à une température de 4°C, et chaque deux mois un repiquage est effectué.

1.1.3 Identification et caractérisation des souches

1.1.3.1 Identification des souches :

L'identification des souches sélectionnées a été effectuée par la méthode biochimique via la galerie des tests Api 20NE, les résultats sont enregistrés dans le tableau n°7.

Tableau 7: Identification des isolats P1, P7 et P15 par la galerie API 20 NE

souche	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PGPN	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OXY
P ₁	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
	1	0	0	1	0	0	1	0	4	0	2	4	1	0	4	1	0	4	1	0	4
	1			1			5			6			5			5			5		
P ₇	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
	0	0	0	1	0	0	1	0	4	1	2	4	1	0	4	1	0	4	1	0	4
	0			1			5			7			5			5			5		
P ₁₅	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	4	0	0	4	1	2	4
	0			0			4			1			4			4			7		

D'après le catalogue analytique de l'identification par galerie API 20NE, les codes enregistrés dans le tableau n° 7 pour les souches P1 : 1156555 ; P7 : 0157555 et P15 : 0041447, sont en concordance avec les souches *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* respectivement.

1.1.3.2 Caractérisation des souches

1.1.3.2.1 Test d'antagonisme :

Les souches P1, P7 et P15 ont subis un test d'antagonisme vis-à-vis cinq souches de microorganismes isolés à partir d'un sol salé (Région de Metmar, Relizan), les souches ont été ensemencées dans des milieux King B ou PDA par la méthode expliquée précédemment.

Après 72h d'incubation, l'inhibition de croissance a été évaluée par la distance entre le trait de *Pseudomonas* et le trait de microorganisme test à l'aide d'un pied à coulisse, les résultats sont enregistrés en (mm) dans le Tableau 8.

Tableau 8: Test d'antagonisme des *Pseudomonas* vis-à-vis 5 souches de microorganismes ; (Ac : Souche d'Actinomycète, B : Souche de *Bacillus*, C : souche de champignon).

Souches pseudo-monas spp	Souches antagonistes				
	Ac 1	Ac 2	B 1	B 2	C 1
	Distance d'inhibition (mm)				
P1	1	2	2	1	2
P7	3	2	6,5	2	0
P15	10	6,2	9,2	9,1	5,5

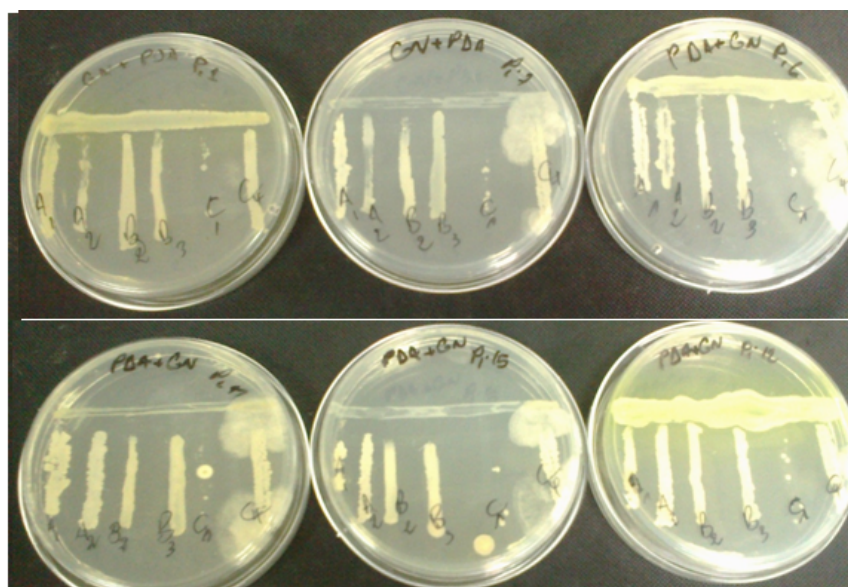


Figure 10: Test d'antagonisme des souches isolées P1, P7 et P15 avec 05 souches de microorganismes isolées d'un sol salé.

1.1.3.2.2 Production et caractérisation de la Pyoverdine

Après l'incubation au bouillon nutritif pendant dans un incubateur agitateur à 30°C pendant 40h avec une agitation de 250t/min, l'extraction et la quantification de pypoverdine a été faite selon la méthode de Meyer et Abdallah (1978), utilisant la loi de Beer Lambert pour les échantillons balayés par un spectrophotomètre UV-Visible de 220 à 700 nm, l'analyse de spectre est représenté par les graphes dans la Figure n° 11.

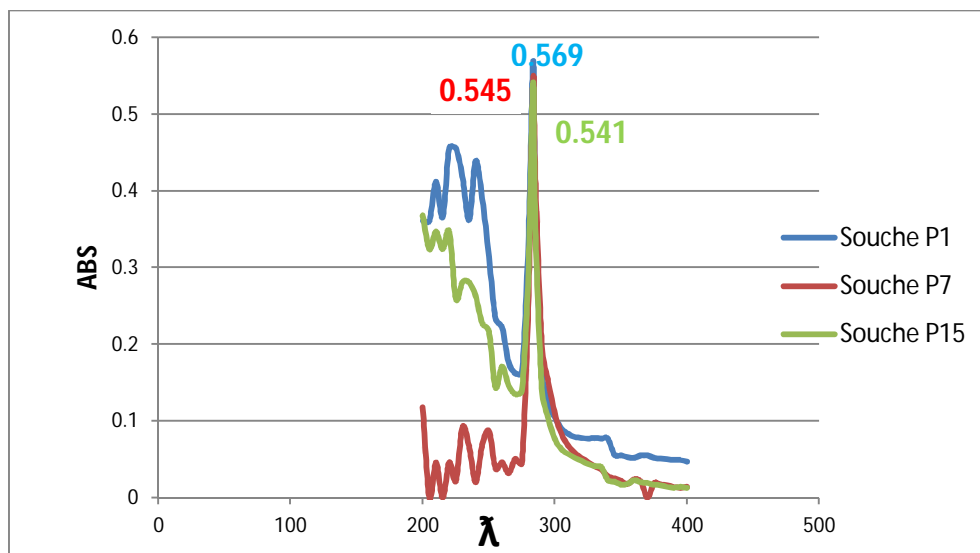


Figure 11: Spectre d'absorption de la pyoverdine produit par les souches P1, P7 et P15.

La production de pyoverdine mesurée des souches P1, P7 et P15 pour $\lambda=283\text{nm}$ est de 0,0113, 0,0109 et 0,0108 $\text{M}\cdot\text{cm}^{-1}$ respectivement, avec une supériorité de la souche P1.

Les spectres d'absorption des produits montrent un enregistrement d'un pic principal de spectre dans la gamme UV à $\lambda=283\text{nm}$, cet pic est caractéristique à la pyoverdine, ce qui convient avec les résultats de Meyer et Abdallah, (1978)(**Figure 12**)

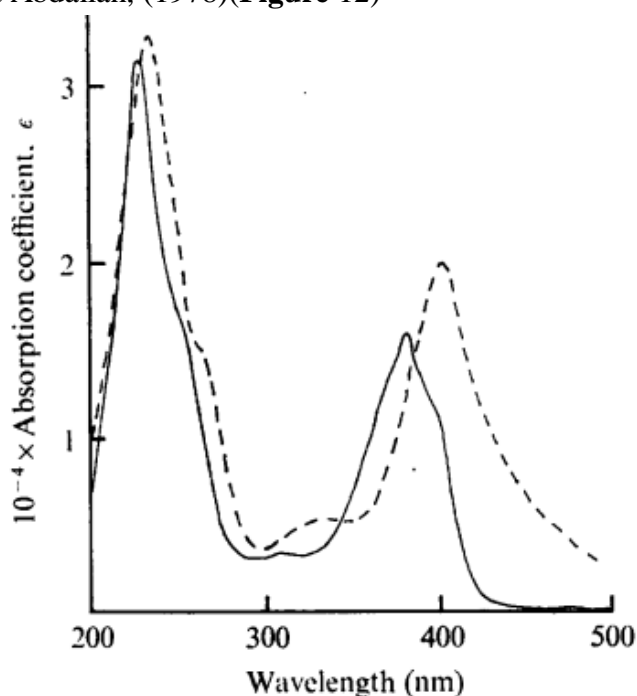


Figure 12: Spectre d'absorption de la pyoverdine (Meyer et Abdallah, 1978).

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

1.2.1 Effet combiné de la salinité et de l'inoculation par des souches de *Pseudomonas* sur la fève.

1.2.1.1 Sur la germination de la fève (Indice de germination et taux de germination)

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats de test de germination pour les graines non inoculées montrent que l'effet de stress salin sur l'indice de germination et le taux de germination est inversement proportionnel avec la concentration du traitement salin. Le traitement salin à 100 mM.l⁻¹ a provoqué des diminutions de 45,23% de l'indice de germination et de 40% de taux de germination par rapport au traitement non salin (0 mM.l⁻¹), néanmoins le traitement à 150 mM.l⁻¹ a réduit les valeurs de l'indice de germination et taux de germination à 0.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1 :

En présence de l'inoculation avec la souche P1, le traitement salin à 100 mM.l⁻¹ n'a enregistré aucune variation pour les valeurs de l'indice de germination et de taux de germination par rapport au traitement non salin (0 mM.l⁻¹), où on a noté les valeurs 0.262 et 37,5% pour l'indice de germination et taux de germination respectivement. En revanche, les valeurs de l'indice de germination et taux de germination sont égal à 0 pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

la comparaison des graines non inoculés avec celles de l'inoculation P1 montre une diminution de 50 et 8,69% de l'indice de germination pour les traitements salin à 0 et à 100 mM.l⁻¹ respectivement, cependant le taux de germination a diminué 40% pour le traitement non salin (0 mM.l⁻¹), par contre il n'a pas varié pour le traitement à 100 mM.l⁻¹, alors que l'indice et le taux de germination à la dose 150 mM.l⁻¹ présentent la valeur zéro (0).

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7 :

Les résultats montrent que les traitements salin ont un effet inversement proportionnel avec la concentration saline sur l'indice de germination et le taux de germination avec des diminutions de 50 et 62,5% et 57,81 et 65,62% pour les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement par rapport au traitement non salin,

Comparativement aux graines non inoculés, l'inoculation P7 a augmenté le taux de germination à 60 et 33,33% et l'indice de germination à 52,38 et 17,39% pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement. Alors que la souche P7 a également engendré le taux de germination de 0 à 37,5% et l'indice de germination de 0 à 0,275 pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15 :

L'effet des traitements salins sur l'indice de germination et le taux de germination est inversement proportionnel avec la concentration saline, où il a été noté une diminution de taux de germination et l'indice de germination de 40 et 4,76% respectivement pour le traitement à 100 mM.l⁻¹, alors que le traitement à 150 a réduit le taux de germination et l'indice de germination à 0.

Comparativement aux résultats des graines non inoculés, on a observé que l'inoculation P15 a induit pour les traitements salins à 0 et 100 mM.l⁻¹ une diminution de 7,14 et 13,04% de l'indice de germination, alors que le taux de germination n'a pas varié. Néanmoins l'indice de germination et le taux de germination n'ont varié pas de 0 pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

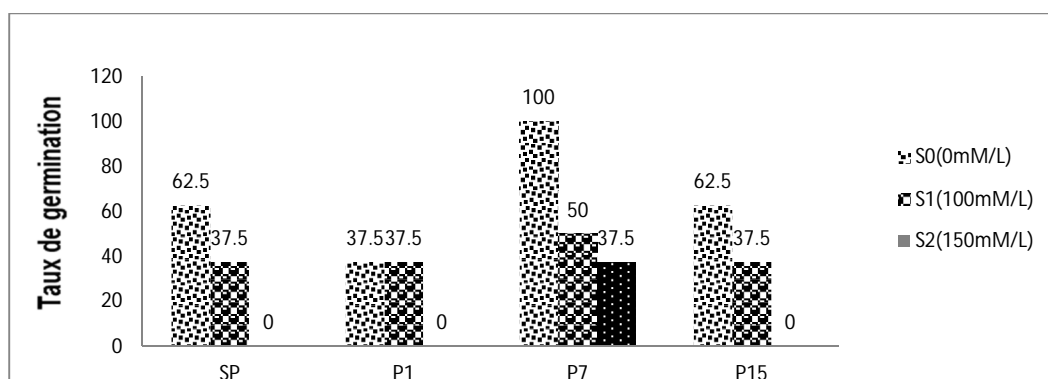


Figure 13 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le taux de germination de la fève.

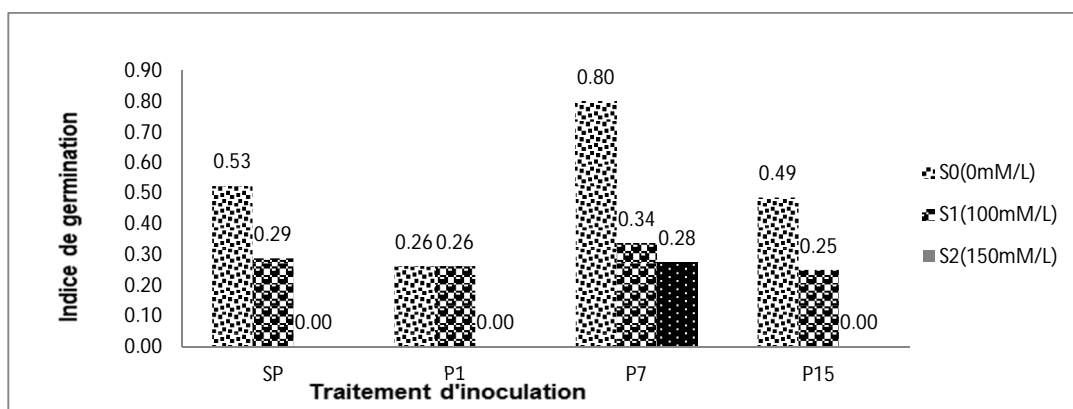


Figure 14 : Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur l'indice de germination de la fève.

Discussion :

Les résultats obtenus du test de germination montrent que le stress salin a affecté inversement proportionnel l'indice et le taux de germination, cependant le traitement à 150 mM.l⁻¹ a provoqué une inhibition totale des graines non inoculés et inoculés par les souches P1 et P15, ce qui signifie qu'un effet d'inhibition et de blocage de germination a été induit par la salinité, ces résultats sont confirmées par plusieurs études similaires, Belkhodja et Bidai (2004) ont rapporté qu'en absence ou en présence de NaCl dans le milieu amendé à faible concentration (100 meq), les graines d'*Atriplex halimus* ont germé mieux et dès que la concentration en sel augmente, une réduction des taux de graines germées se produit sous les concentrations intermédiaires (350 meq de NaCl), suivie par une inhibition de la germination pour les graines exposées à haute salinité (600 meq de NaCl). Thiam *et al.* (2013) ont rapporté que la salinité a affecté significativement la réduction de la germination des graines des différentes variétés de pois de vache (*Vigna unguiculata*), quelques variétés ont germé dans des faibles traitements salins (10-50 mM.l⁻¹) alors que des hautes concentrations de NaCl (100, 150 et 200 mM.l⁻¹) conduit à une réduction significatif de pourcentage de germination chez des variétés et à une inhibition complète chez d'autres, L'inhibition totale de la germination des variétés sensibles a résulté de la difficulté d'hydratation des graines issue de haut potentiel osmotique, ça peut s'expliquer par le temps confié au graines pour impliquer des mécanismes d'ajustement leur tension osmotique interne. Autres résultats obtenus des différentes études sur l'effet de NaCl sur la germination des graines de pois de vache faites par Prado *et al.* (2000); Padilla *et al.* (2009) et Dantas *et al.* (2005), montrent qu'en plus la réduction de pourcentage de germination, le stress salin a retardé la germination, Botia *et al.* (1998) ont expliqué la réduction par l'altération des enzymes et des hormones responsables des éclatements de germination dans les graines, alors que Gill *et al.* (2003) a lié cette réduction au problème d'hydratation des graines due au haut potentiel osmotique qui inhibe l'émergence de radicule du Fhusk.

La corrélation entre l'effet des souches P1, P7 et P15 sur la germination et les concentrations de NaCl, montre que les souches P1 et P15 ont un effet inhibiteur tandis que la souche P7 a affecté significativement l'augmentation de germination, Puente *et al.*, (1999) a confirmé que parmi les microorganismes bénéfiques, il existe qui inhibe la germination, ainsi que des études de l'effet des différentes souches sur différentes espèces. Rueda-Puente *et al.* (2010); Rozema (1975), et Yao *et al.* (2009) ont rapporté l'effet positives de ce type des microorganismes sur la germination (pourcentage et rapidité de germination), la stimulation de la germination se fait par la sécrétion de l'AIA et la production des sidérophores (Zheng *et al.*, 2008).

La réduction de germination des graines traitées par les souches P1 et P15 peut aussi revenir au faible colonisation de ces microorganismes sous les concentrations salines plus élevées minimisant leur effet de stimulation, ces informations sont démontrées par plusieurs études précédentes, le stress salin a diminué le nombre de cellules de rhizobium capables de coloniser les racines *Galega officinalis* (Egamberdieva *et al.*, 2013). La salinité inhibe l'absorption du calcium, ce qui réduit la croissance des racines et des poils des racines de ce fait provoque la réduction de surface d'infection de potentiel rhizobial et l'altération de nodules (Bouhmouch *et al.*, 2005). Une réduction de pourcentage de colonisation mycorrhizale a été observé en différentes espèces de citron (Duke *et al.*, 1986; Murkute *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2010a,b; Zou et Wu, 2011), la colonisation mycorrhizale est diminué par la salinité, haut niveau de mycorrhisation a été observé pour 50 mM.l⁻¹ de NaCl et considéré adéquat pour le développement mycorrhizal.

1.2.1.2 Sur les paramètres biométrique : la biomasse (Poids frais de la partie aérienne et la partie racinaire) :

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

En l'absence de l'inoculation bactérienne, on a noté que le poids frais optimum de la partie aérienne et de la partie racinaire sont celles enregistrées pour le traitement de salinité à 150 mM.l⁻¹ avec une augmentation de 26,51 et 11,11% respectivement, par rapport au traitement non salin, alors que la traitement à 100 mM.l⁻¹ a provoqué une diminution de 2,75 et 12,65% respectivement.

L'analyse statistique de test de Student à P=5% montre que l'effet de la salinité sur le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire de la fève en absence de l'inoculation bactérienne est non significatif

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1 :

L'effet de la salinité sur le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire de la fève est inversement proportionnel avec la concentration saline, où les doses à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont induit une diminution de 1,12 et 31,05% pour la partie aérienne et 0,61 et 35,85% pour la partie racinaire respectivement, par rapport à la dose témoin (0 mM.l⁻¹).

La comparaison des valeurs de ce groupe avec celles de groupe non inoculé, montre que la souche P1 a conduit à une augmentation de 36,43 et 38,71% du poids de la partie aérienne et de 68,38 et 91,58% de la partie racinaire pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement, tandis que pour le traitement à 150 mM.l⁻¹ le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire a été diminué de 25,65 et 2,78% respectivement.

L'analyse statistique de Student à P=5% montre que l'effet de la salinité et de l'inoculum P1 sur le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire de la fève est non significatif.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7 :

Le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire de la fève est inversement proportionnel avec les doses de la salinité, où les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont induit une diminution de 5,58 et 7,45% pour la partie aérienne et 10,99 et 11,29% pour la partie racinaire respectivement, par rapport à la dose témoin (0 mM.l⁻¹).

Le poids frais de la partie racinaire de groupe d'inoculation P7 dans tous les niveaux de salinité est clairement plus importants comparativement avec ceux de groupe non inoculé (SP) avec un taux d'augmentation de 30,31 ; 32,78 et 4,04% pour les traitements à 0, 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement, ainsi que pour la partie aérienne, l'effet P7 sur le poids frais se traduit par une augmentation de 28,78 et 25,04% pour les doses de salinité 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement, mais pour le traitement à 150 mM.l⁻¹ où il a été noté une diminution de 5,79%.

Selon le test Student P=5%, aucun effet significatif n'apparaît ni de l'inoculation par la souche P7 ni des doses de la salinité sur le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15 :

Les résultats obtenus montrent que la biomasse de la fève pour les deux parties aérienne et racinaire relatives au traitement P15 est inversement proportionnelle avec la concentration saline, où nous avons enregistré une régression de 18,20 et 29,58% dans la partie aérienne et de 24,84 et 50,7% dans la partie racinaire pour les doses 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

La comparaison des résultats obtenus avec celles de groupe des plantes non inoculées (SP) montre une augmentation importante en biomasse pour les traitements salins à 0 et 100 mM.l⁻¹ avec un taux de 128,36 et 96,49 % pour la partie racinaire et 66,45 et 40% pour la partie aérienne respectivement. Alors que pour le traitement salin à 150 mM.l⁻¹ le poids frais a varié légèrement avec une augmentation de 1,28% pour la partie racinaire et une diminution de 7,35% pour la partie aérienne.

D'après le test Student P=5%, le Traitement avec l'inoculation par la souche P15 a un effet significatif sur le poids frais des racines des plantes traitées par chacune des doses salines de 0 mM.l⁻¹ et 100 mM.l⁻¹, alors que la salinité n'a pas un effet significatif sur la biomasse des plantes inoculées avec la souche P15.

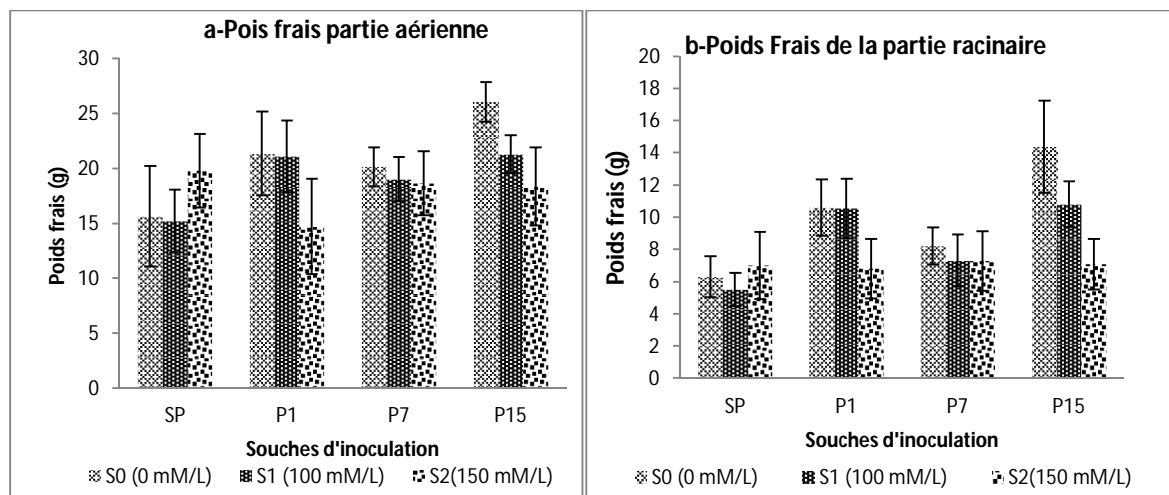


Figure 15: L'Effet combiné de l'inoculation bactérienne et de la salinité sur le poids frais de la fève ; (a) partie aérienne et (b) partie racinaire.

Tableau 9: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Poids frais partie aérienne (g)	Souche	Dose NaCl	Poids frais partie aérienne (g)
0 mM.l ⁻¹	SP	15,638 ± 9,173	SP	0 mM.l ⁻¹	15,638 ± 9,173
	P1	21,335 ± 7,651 NS		100 mM.l ⁻¹	15,208 ± 5,764 NS
	P7	20,140 ± 3,570 NS		150 mM.l ⁻¹	19,785 ± 6,727 NS
	P15	26,030 ± 3,610 NS		0 mM.l ⁻¹	21,335 ± 7,651
100 mM.l ⁻¹	SP	15,208 ± 5,764	P1	100 mM.l ⁻¹	21,095 ± 6,538 NS
	P1	21,095 ± 6,538 NS		150 mM.l ⁻¹	14,710 ± 8,674 NS
	P7	19,015 ± 4,059 NS		0 mM.l ⁻¹	20,140 ± 3,570
	P15	21,290 ± 3,456 NS		100 mM.l ⁻¹	19,015 ± 4,059 NS
150 mM.l ⁻¹	SP	19,785 ± 6,727	P7	150 mM.l ⁻¹	18,638 ± 5,823 NS
	P1	14,710 ± 8,674 NS		0 mM.l ⁻¹	26,030 ± 3,610
	P7	18,638 ± 5,823 NS		100 mM.l ⁻¹	21,290 ± 3,456 NS
	P15	18,330 ± 7,107 NS		150 mM.l ⁻¹	18,330 ± 7,107 NS

Tableau 10: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie racinaire de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Poids frais partie racinaire (g)	Souche	Dose NaCl	Poids frais partie racinaire (g)
0 mM.l ⁻¹	SP	6,300 ± 2,543	SP	0 mM.l ⁻¹	6,300 ± 2,543
	P1	10,608 ± 3,511 NS		100 mM.l ⁻¹	5,503 ± 2,086 NS
	P7	8,210 ± 2,318 NS		150 mM.l ⁻¹	7,000 ± 4,171 NS
	P15	14,388 ± 5,728 *		0 mM.l ⁻¹	10,608 ± 3,511
100 mM.l ⁻¹	SP	5,503 ± 2,086	P1	100 mM.l ⁻¹	10,543 ± 3,683 NS
	P1	10,543 ± 3,683 NS		150 mM.l ⁻¹	6,805 ± 3,705 NS
	P7	7,308 ± 3,229 NS		0 mM.l ⁻¹	8,210 ± 2,318
	P15	10,813 ± 2,851 *		100 mM.l ⁻¹	7,308 ± 3,229 NS
150 mM.l ⁻¹	SP	7,000 ± 4,171	P7	150 mM.l ⁻¹	7,283 ± 3,705 NS
	P1	6,805 ± 3,705 NS		0 mM.l ⁻¹	14,388 ± 5,728
	P7	7,283 ± 3,705 NS		100 mM.l ⁻¹	10,813 ± 2,851 NS
	P15	7,090 ± 3,148 NS		150 mM.l ⁻¹	7,090 ± 3,148 NS

Discussion :

Les résultats obtenus dans les plantes non inoculées révèlent une régression en poids induite par la dose saline de 100 mM.l⁻¹, contrairement à la dose 150 mM.l⁻¹ où on enregistre une augmentation en biomasse. Pour les plantes inoculées par les souches P1, P7 et P15, les doses salines de 100 et 150 mM.l⁻¹ ont provoqué une réduction en biomasse pour les parties aérienne et racinaire. Mayak *et al.*, (2004a) montrent que des plus grandes réductions de croissance sont provoquées par des concentrations de sel dans la solution d'irrigation. Abdel Latef (2010) a confirmé que le stress salin réduit la matière sèche des racines, des tiges et des feuilles et la surface des feuilles dû aux effets directs de la toxicité d'ion ou aux effets indirects des ions salins qui causent un déséquilibre osmotique sol/plante.

Plusieurs auteurs expliquent la réduction en biomasse induite par la salinité en fonction de la mesure de l'éthylène. L'éthylène est impliqué dans la transduction d'un signal entre la détection du stress salin et la réponse en termes de processus physiologiques (Wilkinson *et al.*, 1995). L'élévation en production de l'éthylène en réponse au stress salin a été précédemment détectée dans les plantes de tomate (O'Donell *et al.*, 1996) et de concombre (Feng *et al.*, 1992). L'éthylène a augmenté proportionnellement avec le stress salin dans des plantes de tomate (Mayak *et al.*, 2004a). Éthylène affecte différentes phases de croissance végétative dans les plantes conduisant à une réduction globale de croissance (Smalle *et al.*, 1997), l'éthylène peut inhiber l'élongation des tiges et de racines de plante (Jusaitis, 1986; Penrose et Glick, 2003).

Beaucoup des PGPRs produisent l'enzyme ACC-déaminase (1-aminocyclopropane⁻¹-carboxylate) et métabolisent l'ACC, le précurseur pour la synthèse de l'éthylène de plantes, de ce fait réduisant l'inhibition de la croissance de racines par l'éthylène provoqué par le stress (Glick *et al.*, 1995 ; Glick *et al.*, 1999 ; Jacobson *et al.*, 1994 ; Mayak *et al.*, 2004a). L'inoculation des plantes stressées avec des bactéries contenant le ACC-désaminase peuvent réduire la concentration en éthylène (une conséquence de réduction du niveau de ACC, le précurseur immédiat d'éthylène) (Mayak *et al.*, 2004a). Les résultats de la présente étude montrent le rôle de l'inoculation P1, P7 et P15 dans la promotion de la croissance dans les conditions salines et non salines, avec l'émergence d'une croissance significative des racines inoculée par la souche P15, traités par 100 mM.l⁻¹ de NaCl et non traitée. Nombreuses recherches précédentes montrent le rôle bénéfique des PGPRs (bactéries motivants la croissance des plantes) pour les plantes, les PGPRs sont des bactéries libre-vivantes qui influencent directement ou indirectement sur la croissance de plantes (Ashraf *et al.*, 2004; Rabie et Almadini 2005; Mayak *et al.*, 2004b ; Berg 2009; Han et Lee 2005a,b). *P. extremorientalis* TSAU20 est capable de réduire le stress salin de blé développé dans un sol salin (Egamberdieva et Kucharova 2009), l'association symbiotique avec l'*Azospirillum* a amélioré la croissance de blé (Zarea *et al.*, 2011), l'effet amélioratif des PGPRs sur la croissance des plantes sous les conditions salines a été démontré dans différentes espèces des plantes comme la tomate, le poivre, le canola, l'haricot, et la laitue (Hasnain et Sabri 1996; Glick *et al.*, 1997; Mayak *et al.*, 2004b; Yildirim et Taylor 2005; Barassi *et al.*, 2006). Il a été observé des effets significatifs de l'inoculation avec des bactéries contenant le ACC-déaminase sur le poids frais et sec de tige /racine à des niveaux plus élevés de salinité (à conductivité électrique 8 et 12 dS m⁻¹) (Nadeem *et al.*, 2006), plusieurs chercheurs ont rapporté une meilleure croissance des racines des plantes inoculées avec des bactéries

contenant le ACC-déaminase (Glick *et al.*, 1995; Mayak *et al.*, 2004b; Shaharoon *et al.*, 2006). *Pseudomonas putida* Rs-198 peu sécréter IAA, qui peu améliorer la croissance des plantes et alléger l'effet des inhibiteurs de croissance en diminuant la teneur en ABA des plantes. (Yao *et al.*, 2009 ; Zheng et Yue, 2008 ; Patten et Glick, 2002b).

Toutefois, nous avons observé une réduction du poids frais de la partie aérienne des plantes traitées par la dose saline à 150 mM.l⁻¹ et inoculées par les souches P1, P7 et P 15, aussi bien une variation plus ou moins légère du biomasse des racines, ce qui indique l'effet inhibiteur de haute salinité sur le développement de nodulation et colonisation des souches d'inoculation, plusieurs recherches ont prouvé l'effet inhibiteur de stress salin sur l'association des plantes avec des bactéries symbiotiques, le stress Salin inhibe la croissance, la nodulation, et le fixation de l'azote de plusieurs légumineuses, telles que le soja (*glycine max*) haricot commun (*phaseolus vulgaris*), et la fève (*faba de vicia*) (singleton et Bohlool 1984 ; Rabie *et al.*, 2005). Les plantes de *Galega officinalis* inoculées avec son rhizobium symbiotique ont souffert de retard en croissance et de l'altération de nodulation lorsque ils développées dans des conditions salines. L'effort de sel a également diminué le nombre de cellules de *rhizobium* capables de coloniser des enracinement des bouts de *Galega officinalis*. Une explication pour la réduction de la croissance de légumineuse pourrait être que l'effort de sel cause un échec de l'infection et du processus de nodulation (Egamberdieva *et al.*, 2013).

1.2.1.3 Sur les paramètres physiologiques et biochimiques

1.2.1.3.1 Teneur en pigments chlorophylliens dans les feuilles

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les échantillons des plantes non inoculées et stressés à la dose saline de 100 mM.l⁻¹ enregistrent une augmentation de 10,36 et 26,40% en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b). Par contre, la dose de 150 mM.l⁻¹ a provoqué une diminution de 24,61 et 19,20% en teneur de chlorophylle (a) et chlorophylle (b) respectivement.

L'analyse statistique de test de Student (P=5%) montre un effet significatif du traitement salin 150 mM.l⁻¹ sur la chlorophylle (a), et un effet significatif du traitement salin 100 mM.l⁻¹ sur la chlorophylle (b) dans les plantes non inoculées.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1 :

Les résultats obtenus de groupe des plantes inoculées par la souche P1 montrent que la teneur en chlorophylle (a) et chlorophylle (b) est proportionnelle avec les traitements salins appliqués. Le traitement à 100 mM.l⁻¹ n'a manifesté aucun effet sur la teneur en chlorophylle (a), mais elle a provoqué une augmentation de 21,21% de teneur en chlorophylle (b) par rapport au traitement non salin (0 mM.l⁻¹), ainsi que le traitement à 150 mM.l⁻¹ a affecté la teneur en chlorophylle (a) et chlorophylle (b) par une accumulation de 19,95 et 30,73% respectivement.

La comparaison des résultats des plantes inoculées par la souche P1 avec celles non inoculées (SP) montre l'effet de la souche P1 avec une accumulation très importante de 12,95 ; 2,34 et

79,72% en chlorophylle (a) et de 9,33 ; 4,85 et 76,89% en chlorophylle (b) pour les doses 0, 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

D'après L'analyse statistique de test Student (P=5%), l'inoculation par la souche P1 a un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) pour le traitement salin à 150 mM.l⁻¹, et aucun effet significatif de la salinité sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les plantes inoculées par la souche P1 n'a été enregistré.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Les résultats obtenus des plantes inoculées avec la souche P7 montrent que la chlorophylle (a) s'accumule proportionnellement dans les feuilles avec la concentration des traitements salins appliqués, ou il a été noté une augmentation de 1,31 et 6,31% pour les traitements salins 100 et 150 mM.l⁻¹ par rapport à le traitement à 0 mM.l⁻¹. Alors que la teneur en chlorophylle (b) a été élevée dans les plantes traitées par la dose à 100 mM.l⁻¹ et diminué pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

Comparativement avec les plantes non inoculées (SP), l'inoculation bactérienne par la souche P7 a provoqué une diminution de 1,55% en chlorophylle (a) et une augmentation de 1,3% en chlorophylle (b), pour le traitement à 100 mM.l⁻¹ on a enregistré un abaissement de 9,62 et 17,72% en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) respectivement. Mais par contre pour le traitement à 150 mM.l⁻¹ on a observé une augmentation de 38,83 et 24,42% en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) respectivement.

D'après L'analyse statistique de test Student (P=5%), l'inoculation par la souche P7 a un effet significatif sur la teneur en chlorophylle (a) pour le traitement salin à 150 mM.l⁻¹, mais aucun effet significatif de la salinité sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les plantes inoculées par la souche P7 n'a été constaté.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

D'après les résultats obtenus pour le groupe des plantes inoculées par la souche P15, l'effet du traitement salin à 100 mM.l⁻¹ sur la teneur des pigments chlorophylliens est manifesté par une diminution de 18,53 et 15,30% en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) respectivement, cependant que le traitement à 150 mM.l⁻¹ a enregistré une augmentation de 26,40 et 37,24% de chlorophylle (a) et chlorophylle (b) respectivement.

En comparaison avec les résultats du groupe non inoculé (SP) et sous l'effet de l'inoculation par la souche P15 sur les pigments chlorophylliens, la diminution est de 7,77 et 31,92% de la chlorophylle (a) pour la dose 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement et en augmentation de 54,63 % pour la dose 150 mM.l⁻¹. La diminution de la chlorophylle (b) est de 29,95% à la dose 100 mM.l⁻¹ et une augmentation de 4,53 et 77,55% pour les doses 0 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

D'après L'analyse statistique de test Student (P=5%) l'inoculation par la souche P15 a un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) pour les doses de salinité 100 et 150 mM.l⁻¹, ainsi que les deux doses salines de 100 et 150 mM.l⁻¹ ont

un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle (a), et que le traitement à 100 mM.l⁻¹ a un effet significatif et la dose le traitement à 150 mM.l⁻¹ a un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle (b) dans les plantes inoculées par la souche P15.

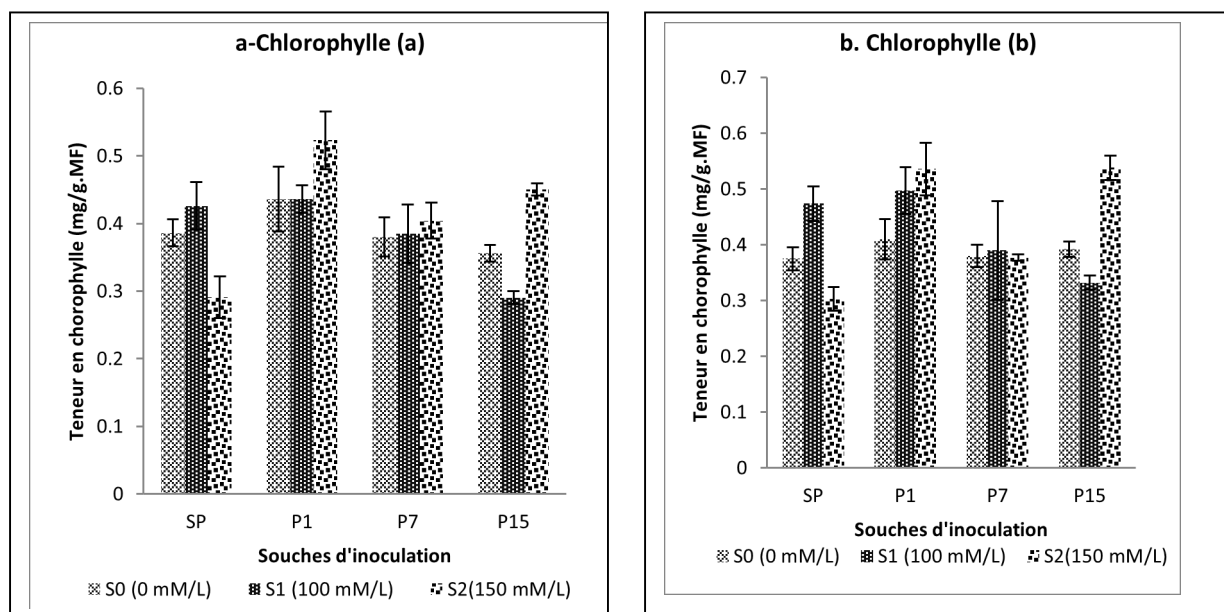


Figure 16: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur de la chlorophylle (a) et (b) dans les feuilles de la fève.

Tableau 11: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Chlorophylle (a)			Souche	Dose NaCl	Chlorophylle (a)			
0 mM.l ⁻¹	SP	0,386	±	0,040	SP	0 mM.l ⁻¹	0,386	±	0,040	
	P1	0,436	±	0,096		NS	100 mM.l ⁻¹	0,426	±	0,070
	P7	0,380	±	0,058		NS	150 mM.l ⁻¹	0,291	±	0,062
	P15	0,356	±	0,025		NS				
100 mM.l ⁻¹	SP	0,426	±	0,070	P1	0 mM.l ⁻¹	0,436	±	0,096	
	P1	0,436	±	0,041		NS	100 mM.l ⁻¹	0,436	±	0,041
	P7	0,385	±	0,087		NS	150 mM.l ⁻¹	0,523	±	0,086
	P15	0,290	±	0,019		**				
150 mM.l ⁻¹	SP	0,291	±	0,062	P7	0 mM.l ⁻¹	0,380	±	0,058	
	P1	0,523	±	0,086		**	100 mM.l ⁻¹	0,385	±	0,087
	P7	0,404	±	0,053		*	150 mM.l ⁻¹	0,404	±	0,053
	P15	0,450	±	0,018		**				
					P15	0 mM.l ⁻¹	0,356	±	0,025	
						100 mM.l ⁻¹	0,290	±	0,019	
						150 mM.l ⁻¹	0,450	±	0,018	

Tableau 12: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Chlorophylle b		Souche	Dose NaCl	Chlorophylle (b)			
0 mM.l ⁻¹	SP	0,375	± 0,041	SP	0 mM.l ⁻¹	0,375	± 0,041		
	P1	0,410	± 0,073		NS	100 mM.l ⁻¹	0,474	± 0,062 *	
	P7	0,380	± 0,041		NS	150 mM.l ⁻¹	0,303	± 0,042 NS	
	P15	0,392	± 0,028	NS	P1	0 mM.l ⁻¹	0,410	± 0,073	
100 mM.l ⁻¹	SP	0,474	± 0,062	100 mM.l ⁻¹		0,497	± 0,084	NS	
	P1	0,497	± 0,084	NS		150 mM.l ⁻¹	0,536	± 0,094	NS
	P7	0,390	± 0,177	NS	P7	0 mM.l ⁻¹	0,380	± 0,041	
P15	0,332	± 0,025	**	100 mM.l ⁻¹		0,390	± 0,177	NS	
150 mM.l ⁻¹	SP	0,303	± 0,042	150 mM.l ⁻¹		0,377	± 0,012	NS	
	P1	0,536	± 0,094	**	P15	0 mM.l ⁻¹	0,392	± 0,028	
						100 mM.l ⁻¹	0,332	± 0,025	*
						150 mM.l ⁻¹	0,538	± 0,043	**

A. Teneur en chlorophylle totale (a+b) :

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

D'après les résultats des plantes non inoculées (**Figure** : 17), on note une augmentation de de 18,39% de la la chlorophylle totale à la dose saline de 100 mM.l⁻¹, alors que l'application du stress salin de 150 mM.l⁻¹ a provoqué une diminution de 21,94% par rapport un traitement non salin (0 mM.l⁻¹).

Le test de Student (p<0.05) révèle un effet significatif du traitement salin 150 mM.l⁻¹ sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes non inoculées (Tableau 13).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Les résultats des plantes inoculées avec P1 révèlent que l'effet de salinité sur la teneur en chlorophylle totale est proportionnel avec la concentration saline, où les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont provoqué une augmentation de 10,15 et 25,02% respectivement par rapport à le traitement à 0 mM.l⁻¹.

En parallèle, l'inoculation avec la souche P1 a provoqué une élévation de la chlorophylle totale à 11,30 ; 3,55 et 78,28 % pour les traitements à 0 ; 100 et 150 mM.l⁻¹.

Le test Student (p<0.05) révèle un effet hautement significatif de l'inoculation P1 sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes traitées par la dose saline à 150 mM.l⁻¹ (**Tableau 12**). Alors qu'aucun effet significatif des doses salines sur la chlorophylle totale n'a été enregistré.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Les résultats obtenus des plantes inoculées avec P7 (**Figure 17**) montrent que l'accumulation de la chlorophylle totale dans les plantes inoculées par P7 est proportionnelle avec les

concentrations salines appliquées, avec une légère augmentation de 1,97 et 2,76% induite par les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

Alors que l'effet de l'inoculation P7 sur la chlorophylle totale a été manifesté négativement pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ avec une réduction de 0,13 et 13,980% respectivement, toutefois pour le traitement à 150 mM.l⁻¹ la teneur a été augmentée de 31,48%, comparativement avec les résultats des plantes non inoculées.

Le test de Student montre que l'inoculation P7 a un effet significatif ($p < 0.05$) sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes traitées par le traitement salin à 150 mM.l⁻¹ et que les traitements salin n'ont pas un effet significatif sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes inoculées avec la souche P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

On observe dans les plantes inoculées par la souche P15 et stressées à la dose saline de 100 mM.l⁻¹ une diminution en chlorophylle totale de 16,84%. Tandis que le traitement à 150 mM.l⁻¹ a provoqué une augmentation de 32,09% en chlorophylle totale par rapport à la dose 0 mM.l⁻¹.

En comparaison avec les résultats des plantes non inoculées, l'inoculation P15 a diminué la teneur en chlorophylle totale de 1,71 et 30,97% pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement, alors que la chlorophylle totale a été augmentée de 66,33% pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

L'inoculation P15 a un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes traitées par les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹, aussi que les traitements salins à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes inoculées par la souche P15.

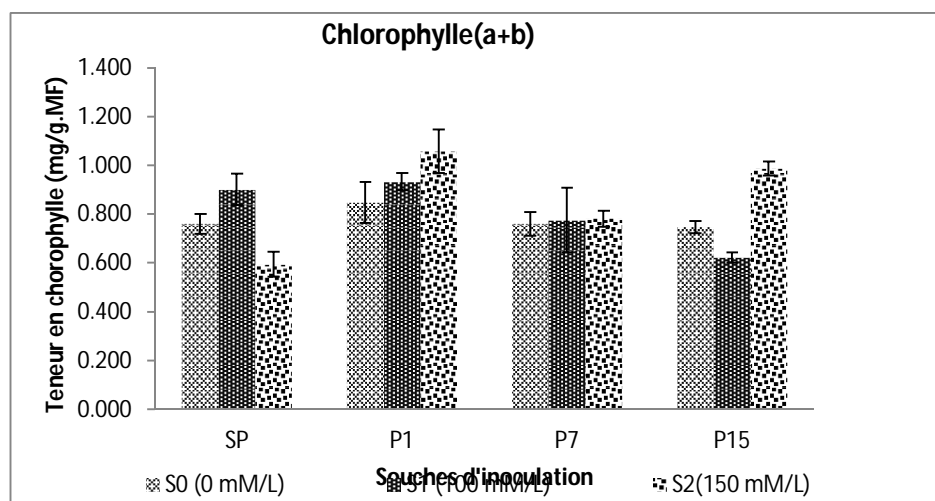


Figure 17: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur de la chlorophylle (a + b) dans les feuilles de la fève.

Tableau 13: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Chlorophylle (a) ^{+b}	Souche	Dose NaCl	Chlorophylle (a) ^{+b}
0 mM.l ⁻¹	SP	0,761 ± 0,081	SP	0 mM.l ⁻¹	0,761 ± 0,081
	P1	0,847 ± 0,168 NS		100 mM.l ⁻¹	0,901 ± 0,129 NS
	P7	0,760 ± 0,098 NS		150 mM.l ⁻¹	0,594 ± 0,103 *
	P15	0,748 ± 0,050 NS		0 mM.l ⁻¹	0,847 ± 0,168
100 mM.l ⁻¹	SP	0,901 ± 0,129	P1	100 mM.l ⁻¹	0,933 ± 0,070 NS
	P1	0,933 ± 0,070 NS		150 mM.l ⁻¹	1,059 ± 0,178 NS
	P7	0,775 ± 0,264 NS		0 mM.l ⁻¹	0,760 ± 0,098
	P15	0,622 ± 0,042 **		100 mM.l ⁻¹	0,775 ± 0,264 NS
150 mM.l ⁻¹	SP	0,594 ± 0,103	P7	150 mM.l ⁻¹	0,781 ± 0,064 NS
	P1	1,059 ± 0,178 **		0 mM.l ⁻¹	0,748 ± 0,050
	P7	0,781 ± 0,064 *		100 mM.l ⁻¹	0,622 ± 0,042 **
	P15	0,988 ± 0,058 **		150 mM.l ⁻¹	0,988 ± 0,058 **

Discussion :

La teneur optimum de la chlorophylle totale de la fève non inoculée est obtenu à la dose saline de 100 mM.l⁻¹, par contre le stress salin à 150 mM.l⁻¹ a réduit la teneur en chlorophylle totale (Figure15), La salinité diminue la photosynthèse et dégrade la chlorophylle et le complexes chlorophylle-protéine (Srivastava *et al.*, 1988; Sheng *et al.*,2008), les concentration en chlorophylle ont significativement réduit par les traitements de salinité en raison de la suppression des enzymes spécifique responsable à la synthèse des pigment photosynthétique (Murkute *et al.*, 2006 ; 2009) ou de l'effet antagonique du Na⁺ sur l'absorption des minéraux (par exemple, le Mg) rentrant dans le synthèse de pigments photosynthétique de ce fait reduire la concentration en chlorophylles (Sheng *et al.*, 2008 ; Giri et Mukerji, 2004), la réduction de photosynthèse est en grande partie due à la fermeture stomatale qui probablement réduite la conductibilité mésophyllienne, c.-à-d., le parenchyme de chlorophylle (Orcutt et Nilsen, 2000).

La teneur en chlorophylle dans les plantes inoculées avec P1, P7 et P15 sous stress salin est supérieur à celle relative au traitement non salin (Figure 15), Les plantes inoculées sous le stress salin atteignent des niveaux de capacité photosynthétique supérieur même que celle des plantes non stressées, prouvant qu'en cet estimation, la mycorrhization est capable d'équilibrer entièrement le stress (Zuccarini, 2007). Comparativement avec les plantes non inoculées, l'inoculation P1 a enregistré une augmentation de la chlorophylle dans les conditions salines et non salines, la chlorophylle (a) augmenté dans la plante stressée à 150 mM.l⁻¹ avec les souches P7 et P15. Nos résultats s'accordent avec plusieurs recherches précédentes reportant que l'inoculation bactérienne augmente la chlorophylle dans les feuilles (Han et Lee, 2005 ; Heidari et Golpayegani, 2012 ; Stefan *et al.*, 2012).

1.2.1.3.2 Sur la Teneur en proline dans la partie aérienne de la fève

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats des échantillons non inoculés montrent que L'effet de la salinité sur l'accumulation de la proline dans la partie aérienne de la fève est proportionnel à la concentration du traitement salin, où on a constaté une augmentation de 255,90% pour la dose saline de 150 mM.l⁻¹ et de 19,25% pour la dose saline de 100 mM.l⁻¹ par rapport à la dose 0 mM.l⁻¹.

L'analyse statistique de test de Student ($P < 0,05$) révèle que le traitement à 150 mM.l⁻¹ a un effet significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes non inoculées.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Dans le groupe des plantes inoculées par la souche P1, l'effet du stress salin sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève est proportionnel à la concentration du traitement salin, où il est noté une augmentation de 2,93 et 29,30% en teneur de proline pour les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement en comparaison avec le traitement à 0 mM.l⁻¹.

La comparaison des résultats de ce groupe avec celles de groupe non inoculé révèle une augmentation de 69,56 et 46,35% de la teneur en proline pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹, alors qu'une diminution de 38,39% pour le traitement à 150 mM.l⁻¹ a été observée.

D'après le test Student ($P > 0,05$) l'inoculation par la souche P1 a un effet significatif sur la teneur en proline dans les plantes traitées par la dose saline à 0 mM.l⁻¹, et la salinité n'a aucun effet significatif sur la teneur en proline dans les plantes inoculées avec la souche P1.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Les résultats des plantes **inoculées par** la souche P7 révèlent un effet proportionnel de la salinité sur l'accumulation de la proline dans la partie aérienne de la fève. On note une augmentation de la teneur en proline dans les plantes stressées à 100 et 150 mM.l⁻¹ de 25,5 et 27,5% respectivement par rapport à la dose 0 mM.l⁻¹.

En comparaison avec les plantes non stressées, les plantes inoculées par la souche P7 enregistrent une augmentation de 24,22 et 30,72% de teneur la en proline pour les

doses salines de 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement et une diminution de 55,49% pour la dose saline de 150 mM.l⁻¹.

Le test de Student (P<0,05) n'a révélé aucun effet significatif de l'inoculum bactérien P7 sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève traité par la salinité, alors qu'un effet significatif de dose saline de 150 mM.l⁻¹ sur la teneur en proline dans les plantes traitées par l'inoculum P7 a été enregistré.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Les valeurs de la teneur en proline dans les plantes inoculées par la souche bactérienne P15 montrent une accumulation proportionnelle de la proline avec les concentrations salines. Les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont induit une accumulation de 2,46 et 48,76% de la proline respectivement par rapport à avec le traitement à 0 mM.l⁻¹.

En comparaison les résultats des plantes inoculées avec P15 avec celles non inoculées (SP), l'effet de l'inoculum bactérien P15 sur l'accumulation en proline est manifesté par une élévation de 26,08 et 8,33% pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement et par une diminution de 47,29% pour le traitement à 150 mM.l⁻¹.

D'après le test de Student (P<0,05), un effet significatif de l'inoculation P15 sur la teneur en proline pour le traitement non salin (0 mM.l⁻¹), ainsi qu'un effet significatif du traitement salin 150 mM.l⁻¹ sur la teneur en proline dans la fève inoculé par la souche P15.

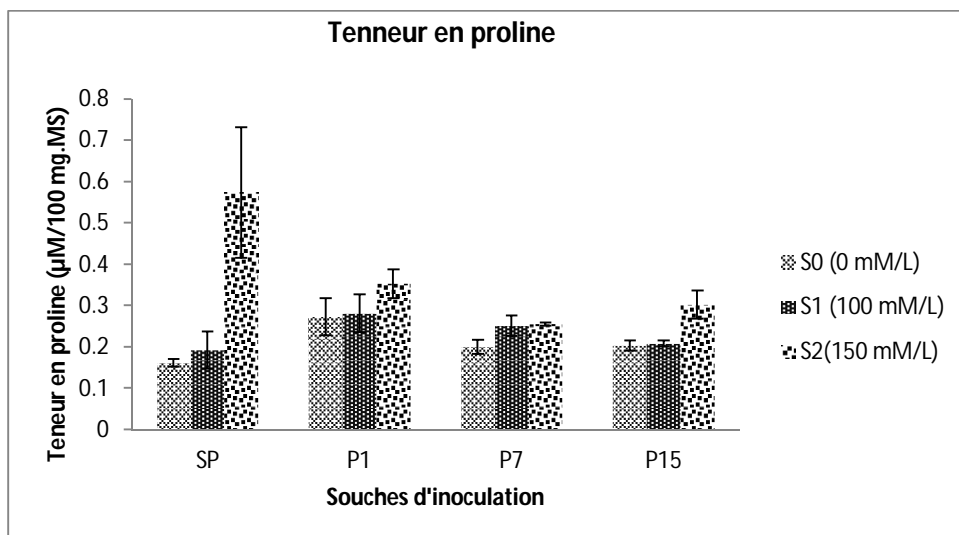


Figure 18: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève.

Tableau 14: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Proline	Souche	Dose NaCl	Proline
0 mM.l ⁻¹	SP	0,162 ± 0,019	SP	0 mM.l ⁻¹	0,162 ± 0,019
	P1	0,273 ± 0,089 *		100 mM.l ⁻¹	0,192 ± 0,091 NS
	P7	0,200 ± 0,034 NS		150 mM.l ⁻¹	0,573 ± 0,316 *
	P15	0,203 ± 0,026 *	P1	0 mM.l ⁻¹	0,273 ± 0,089
100 mM.l ⁻¹	SP	0,192 ± 0,091		100 mM.l ⁻¹	0,281 ± 0,092 NS
	P1	0,281 ± 0,092 NS		150 mM.l ⁻¹	0,353 ± 0,070 NS
	P7	0,251 ± 0,051 NS	P7	0 mM.l ⁻¹	0,200 ± 0,034
P15	0,208 ± 0,014 NS	100 mM.l ⁻¹		0,251 ± 0,051 NS	
150 mM.l ⁻¹	SP	0,573 ± 0,316		150 mM.l ⁻¹	0,255 ± 0,008 *
	P1	0,353 ± 0,070 NS	P15	0 mM.l ⁻¹	0,203 ± 0,026
	P7	0,255 ± 0,008 NS		100 mM.l ⁻¹	0,208 ± 0,014 NS
	P15	0,302 ± 0,068 NS		150 mM.l ⁻¹	0,302 ± 0,068 *

Discussion :

L'accumulation de la proline est un indice physiologique sensible de la réponse des plantes au stress salin et d'autres stresss (Peng *et al.*, 2008). Elle est également une des stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement (Belkhodja et Benkabilia,2000). Sous stress salin, les plantes accumulent quelques composantes organiques (proline, sucres solubles, et ainsi de suite) et ions inorganiques pour maintenir un ajustement osmotique plus élevé (Yang *et al.*, 2009a). Il a été connu que le stress salin a affecté beaucoup d'activités physiologiques relatives à l'accumulation des ions et des osmolytes tels que la proline (Lee *et al.*,2008). L'accumulation de la proline a résulté de la diminution de la synthèse de protéine, conversion de glutamate en proline, et a induit la régulation de pH (Steward, 1981 ; Venekamp, 1989).

Pour la présente étude, les résultats obtenus montrent que la proline s'accumule dans les plantes de la fève proportionnellement avec les concentrations de traitement à NaCl, comme il a été enregistré, en présence et en absence de l'inoculation bactérienne P1, P7 et P15, une teneur de proline plus élevée dans les plantes exposées aux stress salin que dans les plantes non stressées par la salinité. Ces résultats sont conformes à ceux de plusieurs auteurs, qui ont observé une augmentation en proline (Thiam *et al.*, 2013), glutamine, et d'autres acides aminés (Camara *et al.*2000), L'accumulation de proline aux plantes est un indicateur de tolérance de stress général ou de tolérance de salinité ainsi qu' elle maintien l'ajustement osmotique et protège les macromolécules intracellulaires contre la déshydratation et sert également comme extracteur de radical hydroxyle (Alia *et al.*, 1995; Hoque *et al.*, 2007). L'osmose a induit la

fermeture stomatale et l'accumulation des apports toxiques de Na^+ dans les cellules de cytosol dans les conditions salines qui réduisent la capacité des plantes pour utiliser entièrement la lumière ont absorbé par les pigments photosynthétiques et conduit à la formation des diverses espèces réactives de l'oxygène (Tavakkoli *et al.*, 2011). Mäkelä *et al.* (2000) a rapporté que la proline protège les plantes supérieures contre le salin/osmotique stress, non seulement en ajustant la pression osmotique, mais également en stabilisant beaucoup d'unités fonctionnelles telles que complexe II de transport d'électron, les membranes et les protéines et les enzymes telles que RUBISCO. L'accumulation de proline est l'une plus souvent des modifications rapportées induites par le stress hydrique et salin aux plantes et est souvent considérée pour être impliqué dans des mécanismes de résistance de stress. Parmi ses rôles possibles qu'elle a attribué à stabiliser la structure des macromolécules et des organelles par les stabilisantes des protéines et des membranes contre l'effet de dénaturation des hautes concentrations de salinité et d'autres éléments solubles nocifs (Munns, 2002).

Dans notre étude les plantes inoculées, la proline est plus élevée que dans celles non inoculées, sous traitement salin (100 mM.l^{-1}) et non salin (0 mM.l^{-1}), ce qui explique l'effet de l'inoculation bactérienne sur l'accumulation en proline et par conséquent sur la tolérance des plantes vis-à-vis différents stress, dans le même contexte Zarea *et al.*, (2011) a confirmé que les niveaux de la proline dans les feuilles ont augmenté en réponse à l'inoculation avec des micro-organismes. l'accumulation de proline était considérablement inférieure pour les plantes non inoculées et une accumulation importante de proline dans les feuilles des plantes inoculées avec *Piriformospora indica*. *Azospirillum* pourrait également accumuler la proline et le glutamate en réponse au NaCl et limiter l'influx de Na^+ dans les racines (Bashan et Holguin, 1997), une augmentation de proline et de sucres solubles totale a été observé dans les plantes traitées par les PGPRs, qui ont probablement apporté une contribution significative à la promotion de croissance de plantes sous le stress salin, en augmentant plusieurs stratégies de défense métabolique (Zarea *et al.*, 2011), et plusieurs auteurs ont confirmés l'effet d'inoculation bactérienne sur l'augmentation de proline sous conditions salines (Tripathi *et al.*, 1998 ; Creus *et al.*, 1997 ; Casanovas *et al.*, 2003).

Toutefois, Sous le traitement salin à 150 mM.l^{-1} , nous avons enregistré une teneur en proline dans plantes inoculées avec P1, P7 et P15 inférieure à celle dans les plantes non inoculées, Hamdia *et al.* (2004) ; Nadeem *et al.* (2007) et Rojas-Tapias *et al.* (2012) ont prouvé que la teneur en proline des plantes est augmentée par le stress salin, mais diminuée par l'inoculation avec PGPB. Ces résultats peuvent indiquer que même sous des concentrations salines élevées, l'inoculation avec des souches bactériennes peu réduire l'effet de stress salin

par la réduction des apports en Na^+ dans les plantes ,et de ce fait, réduire l'accumulation de proline en tant que réponse au stress ,cette notion a été mentionnée par Fu *et al.* (2010), qui a trouvé que l'inoculation avec la souche *Pseudomonas* sp. DW1 n'a aucun effet sur la concentration de Na^+ dans la partie aérienne des plantes développées sous 0.57 g et 1g de $\text{NaCl}(\text{Kg}.\text{sol})^{-1}$, mais il y avait des diminutions significatives dans les traitements inoculés que dans les non inoculés, sous 2 g et 3 g de $\text{NaCl}(\text{Kg}.\text{sol})^{-1}$. *Azospirillum* peu limiter l'influx de Na^+ dans les racines, et peu également accumuler la proline et le glutamine en réponse au NaCl (Ashraf *et al.*, 2004). Une basse concentration en Na^+ et haute concentration en K^+ montré dans les feuilles des plantes colonisées par *P. mendocina* et *G. mosseae* sous condition de haut stress salin (Kohler *et al.*, 2009). Zhang *et al.* (2008a) a rapporté que l'inoculation avec *Bacillus subtilis* GB03 pourrait améliorer le niveau de la tolérance de salinité chez *Thaliana Arabidopsis* par la régulation du transporteur de potassium HKT1.

1.2.1.4 Sur les paramètres chimiques : la teneur en éléments nutritionnels dans la partie aérienne, Potassium (K^+), Sodium (Na^+).

1.2.1.4.1 Teneur en Potassium (K^+).

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats obtenus pour les plantes non inoculées et stressés à des doses salines de 100 et 150 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ montrent une diminution de 35,94 et 29,55% de la teneur en potassium respectivement par rapport à la dose 0 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$.

D'après le test Student $P < 0.05$, la salinité et n'a aucun effet significatif sur la teneur en potassium dans la partie aérienne de la fève non inoculé (SP).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Il a été noté que la teneur en K^+ dans les plantes inoculées avec P1 a enregistré une diminution de 14,36% provoquée par le traitement salin à 100 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ comparativement avec le traitement à 0 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$, mais par contre le traitement à 150 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ n'a induit aucune variation dans la teneur en potassium.

Comparativement avec les résultats des plantes non inoculées (SP), l'inoculation avec P1 a causé une diminution de 28,32 et 4,18% de la teneur en K^+ pour les traitements salin 0 et 100 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ respectivement, par contre le traitement à 150 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ a enregistré une augmentation de 1,75%.

L'analyse statistique de Student ($P > 0.05$) révèle que la salinité et l'inoculation bactérienne P1 n'ont pas un effet significatif sur la teneur en potassium dans la partie aérienne et la partie racinaire de la fève.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Par rapport aux échantillons traités à la dose saline de 0 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$, la dose saline de 100 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ a causé une augmentation à 19,29% en teneur de potassium, contrairement à la dose saline de 150 $\text{mM}.\text{l}^{-1}$ où on enregistre une diminution de 36,92%.

Comparativement aux échantillons non inoculés, on note une diminution de la teneur en K^+ de

50,36 ; 7,55 et 55,55% dans les plantes inoculées avec P7 et stressés à des doses salines de 0, 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

D'après le test Student P<0.05 l'inoculation par la souche P7 a un effet significatif sur la teneur en K⁺ dans les plantes traitées par dose à 0 mM.l⁻¹, mais la salinité n'a pas un effet significatif sur la teneur en potassium dans les plantes inoculées avec P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

D'après les résultats, l'effet de stress salin sur la teneur en potassium dans les échantillons inoculé par la souche bactérienne P15 est inversement proportionnel avec la concentration de la salinité et on a constaté une régression en teneur de K⁺ à 17,07 et 35,87% dans les plantes traitées par les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

Vu aux reselats de témoin, la souche P15 induit une diminution en teneur de K⁺ à 16,16 et 23,68% pour les traitements à 0 et 150 mM.l⁻¹ respectivement, et une augmentation de 8,52% pour le traitement à 100 mM.l⁻¹.

D'après les résultats, l'effet de stress salin sur la teneur en potassium dans les plantes inoculées par la souche bactérienne P15 est inversement proportionnel avec la concentration saline, on a constaté également une régression en teneur de K⁺ à 17,07 et 35,87% dans les plantes traitées par les doses 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

En comparaison avec les échantillons non inoculés, la souche P15 induit une diminution en teneur de K⁺ à 16,16 et 23,68% pour les doses salines de 0 et 150 mM.l⁻¹ respectivement, et une augmentation de 8,52% pour la dose saline de 00 mM.l⁻¹.

Le test de Student (P<0.05) révèle que ni la salinité ni l'inoculation bactérienne P15 ont un effet significatif sur la teneur en potassium dans la partie aérienne et la partie racinaire de la fève.

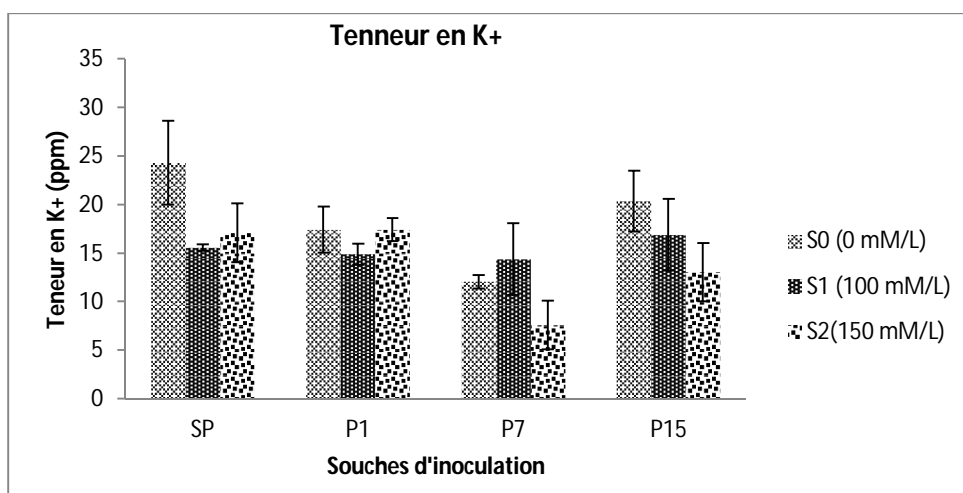


Figure 19: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur Potassium K⁺ dans la fève.

Tableau 15: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en Potassium K⁺ dans la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Potassium (ppm.100mg MS)	Souche	Dose NaCl	Potassium (ppm.100mg MS)
0 mM.l ⁻¹	SP	24,275 ± 8,626	SP	0 mM.l ⁻¹	24,275 ± 8,626 NS
	P1	17,400 ± 4,713 NS		100 mM.l ⁻¹	15,550 ± 0,676 NS
	P7	12,050 ± 1,348 *		150 mM.l ⁻¹	17,100 ± 6,042 NS
	P15	20,350 ± 6,283 NS	0 mM.l ⁻¹	17,400 ± 4,713 NS	
100 mM.l ⁻¹	SP	15,550 ± 0,676	P1	100 mM.l ⁻¹	14,900 ± 2,168 NS
	P1	14,900 ± 2,168 NS		150 mM.l ⁻¹	17,400 ± 2,385 NS
	P7	14,375 ± 7,350 NS		0 mM.l ⁻¹	12,050 ± 1,348 NS
	P15	16,875 ± 7,419 NS	P7	100 mM.l ⁻¹	14,375 ± 7,350 NS
SP	17,100 ± 6,042 NS	150 mM.l ⁻¹		7,600 ± 5,041 NS	
150 mM.l ⁻¹	P1	17,400 ± 2,385 NS	P15	0 mM.l ⁻¹	20,350 ± 6,283 NS
	P7	7,600 ± 5,041 NS		100 mM.l ⁻¹	16,875 ± 7,419 NS
	P15	13,050 ± 6,008 NS		150 mM.l ⁻¹	13,050 ± 6,008 NS

1.2.1.4.2 Teneur en sodium (Na⁺)

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Comparativement aux plantes non stressées (0 mM.l⁻¹), les plantes stressées à des doses salines de 100 et 150 mM.l⁻¹ enregistrent une augmentation de la teneur en sodium (Na⁺) dans la partie aérienne de la fève non inoculée (SP) de 76,75 et 56,91% respectivement.

Le test de Student (P<0.05) révèle que le traitement salin à 100 mM.l⁻¹ a un effet significatif sur la teneur en sodium (Na⁺) dans les plantes non inocuées (SP).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Les résultats obtenus des plantes inocuées par la souche P1 montrent que l'effet du stress salin sur la teneur en Na⁺ est proportionnel à la concentration du traitement salin, où il a été noté comparativement à la dose 0 mM.l⁻¹ des accumulations de 47,25 et 72,52% de sodium pour les doses 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

La comparaison des teneurs en sodium obtenues dans plantes inocuées par la souche P1 avec celles des plantes non inocuées nous guide à constaté une augmentation de 1,35 et 13,40% pour les traitements à 0 et 150 mM.l⁻¹ respectivement et une régression de 8,46% pour le traitement à 100 mM.l⁻¹.

Le test de Student (P<0.05) révèle que la dose saline de 150 mM.l⁻¹ a un effet significatif sur la teneur en sodium (Na⁺) dans les plantes inocuées avec P1, et que l'inoculation P1 n'a aucun effet significatif sur la teneur en sodium (Na⁺) pour les différentes doses salines.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

L'effet de la salinité sur la teneur en sodium dans les plantes inocuées par la souche P7 se traduit par une accumulation très importante de 230,23% et 158,72% pour les doses salines de 100 mM.l⁻¹ et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

En comparaison avec les teneurs en sodium des plantes non inocuées (SP), les plantes

inoculées par P7 et stressées à des doses salines de 0, 100 et 150 mM.l⁻¹ enregistrent des diminutions de 53,38 ; 8,23 et 23,14% respectivement.

Le test de Student (P<0.05) révèle que le traitement salin à 100 mM.l⁻¹ a un effet significatif sur la teneur en sodium (Na⁺) dans les plantes inoculées avec P7, et que l'inoculation P7 a un effet sur la teneur en sodium dans les plantes traitées par le traitement à 0 mM.l⁻¹ .

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Les valeurs obtenues des teneurs en sodium dans les plantes **inoculées par** la souche bactérienne P15 révèlent que l'effet induit par les doses salines sur la teneur en sodium est proportionnel à la concentration du traitement salin, Comparativement à la dose 0 mM.l⁻¹, il a été constaté une augmentation de 21,81 et 110,73% pour les doses 100 et 150 mM.l⁻¹ respectivement.

Par rapport aux résultats des plantes non inoculées (SP), les valeurs de la teneur en sodium des plantes inoculées par P15 ont diminué de 19,24 et 41,35% pour les doses salines de 0 et 100 mM.l⁻¹ respectivement, par contre la teneur relative à la dose de 150 mM.l⁻¹ a augmenté de 8,46%.

D'après le test Student (P=0.05) l'inoculation par la souche P15 a un effet significatif sur la teneur en sodium dans les échantillons traités par le traitement à 100 mM.l⁻¹, mais les traitements salin n'ont aucun effet significatif sur la teneur en sodium dans les plantes inoculées par la souche P15.

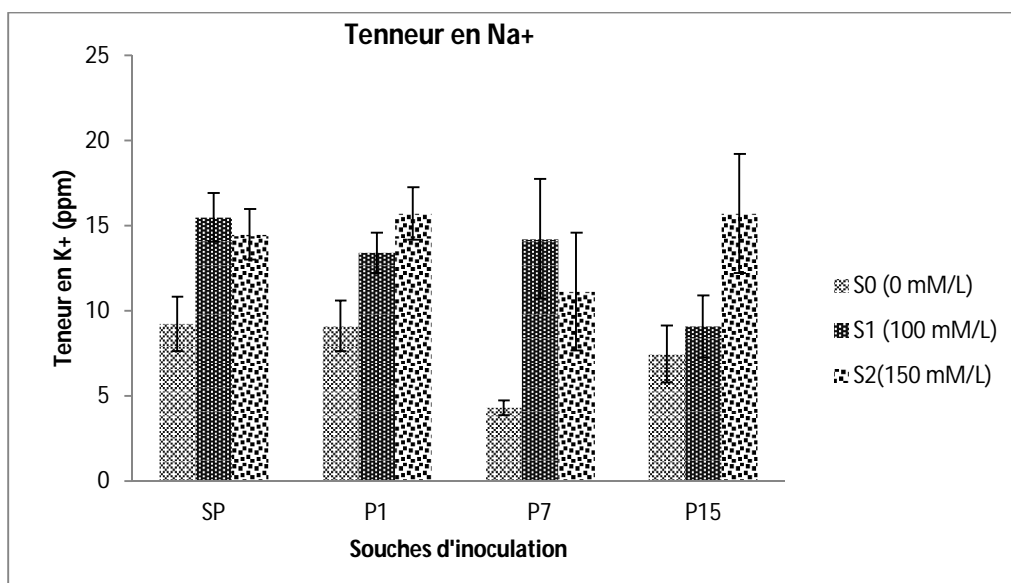


Figure 20: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur Sodium Na⁺ dans la fève.

Tableau 16: Test statistique de signification de Student ($P= 5\%$) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en Sodium Na^+ dans la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	Sodium (ppm.100mg MS)	Souche	Dose NaCl	Sodium (ppm.100mg MS)
0 mM.l ⁻¹	SP	9,23 ± 3,19	SP	0 mM.l ⁻¹	9,23 ± 3,19
	P1	9,10 ± 2,98 NS		100 mM.l ⁻¹	15,48 ± 2,86 *
	P7	4,30 ± 0,88 *		150 mM.l ⁻¹	14,48 ± 2,99 NS
	P15	7,45 ± 3,32 NS	0 mM.l ⁻¹	9,10 ± 2,98	
100 mM.l ⁻¹	SP	15,48 ± 2,86 NS	P1	100 mM.l ⁻¹	13,40 ± 2,38 NS
	P1	13,40 ± 2,38 NS		150 mM.l ⁻¹	15,70 ± 3,10 *
	P7	14,20 ± 7,03 NS	P7	0 mM.l ⁻¹	4,30 ± 0,88
	P15	9,08 ± 3,62 *		100 mM.l ⁻¹	14,20 ± 7,03 *
150 mM.l ⁻¹	SP	14,48 ± 2,99	P15	150 mM.l ⁻¹	11,13 ± 6,92 NS
	P1	15,70 ± 3,10 NS		0 mM.l ⁻¹	7,45 ± 3,32
	P7	11,13 ± 6,92 NS	100 mM.l ⁻¹	9,08 ± 3,62 NS	
	P15	15,70 ± 6,99 NS	150 mM.l ⁻¹	15,70 ± 6,99 NS	

1.2.1.4.3 Rapport K^+/Na^+ :

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Comparativement aux plantes non stressées (0 mM.l⁻¹), le rapport K^+/Na^+ du groupe non inoculé et stressé à des doses salines de 100 et 150 mM.l⁻¹ a fortement diminué avec des taux de 62,91 et 57,00% respectivement (Figure 19).

Le test Student ($p < 0.05$) révèle un effet significatif du traitement salin 150 mM.l⁻¹ sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes non inoculées (Tableau 16).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Les résultats révèlent que le rapport K^+/Na^+ est inversement proportionnelle avec les concentrations salines, où les traitements à 100 et 150 mM.l⁻¹ ont provoqué une réduction de 46,35 et 46,73% respectivement par rapport à le traitement à 0 mM.l⁻¹.

En parallèle, l'inoculation par la souche P1 est accompagnée d'une diminution de 24,28 et 6,20% de K^+/Na^+ pour les doses salines de 0 et 150 mM.l⁻¹, par contre on note une augmentation de 9,52% pour la dose 100 mM.l⁻¹, comparativement aux plantes non inoculées.

Le test Student ($p < 0.05$) révèle un effet hautement significatif de l'inoculation P1 sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes traitées par la dose saline à 150 mM.l⁻¹. Alors que les traitements salin n'ont pas un effet significatif sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes inoculées par P1 (Tableau 16).

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Les résultats obtenus (Figure 19) montrent que le rapport K^+/Na^+ dans les plantes inoculées par P7 est inversement proportionnelle avec les doses salines appliqués, avec une réduction considérable de 63,46 et 76,33% pour les doses 100 et 150 $mM.l^{-1}$ respectivement.

Comparativement aux résultats des plantes non inoculées, l'effet de l'inoculation P7 sur le rapport K^+/Na^+ a été manifesté positivement pour les traitements à 0 et 100 $mM.l^{-1}$ avec une accumulation de 35,67 et 20,40% respectivement, alors que le rapport a été réduit de 43% pour le traitement à 150 $mM.l^{-1}$.

Le test de Student montre que l'inoculation P7 a un effet significatif ($p < 0.05$) sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes traitées par la dose saline de 150 $mM.l^{-1}$. La salinité n'a pas un effet significatif ($p < 0.05$) sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes inoculées par P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

En comparaison avec les résultats des plantes non inoculées, l'inoculation P15 a augmenté le rapport K^+/Na^+ de 5,87 et 96,69% pour les traitements à 0 et 100 $mM.l^{-1}$ respectivement, alors que le rapport K^+/Na^+ a été diminuée de 27,24% pour le traitement à 150 $mM.l^{-1}$.

D'après le test Student, l'inoculation P15 a un effet hautement significatif sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes traitées par les traitements à 100 et 150 $mM.l^{-1}$, aussi que les traitements salin 100 et 150 $mM.l^{-1}$ ont un effet hautement significatif sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes inoculées par la souche P15.

L'effet de stress salin sur le rapport K^+/Na^+ est inversement proportionnel à la concentration du traitement salin, où il a été noté une régression de 31,10 et 70,45% du rapport K^+/Na^+ provoqué par les doses 100 et 150 $mM.l^{-1}$ respectivement par rapport à la dose 0 $mM.l^{-1}$.

En comparaison avec les résultats des plantes non inoculées, le rapport K^+/Na^+ des plantes inoculées par P15 a augmenté de 5,87 et 96,69% pour les traitements salins de 0 et 100 $mM.l^{-1}$ respectivement, alors que le rapport K^+/Na^+ a été diminué de 27,24% pour le traitement

150 $mM.l^{-1}$.

D'après le test Student, l'inoculation P15 a un effet hautement significatif sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes traitées par les doses de 100 et 150 $mM.l^{-1}$. Les doses salines de 100 et 150 $mM.l^{-1}$ présentent un effet hautement significatif sur le rapport K^+/Na^+ dans les plantes inoculées par la souche P15.

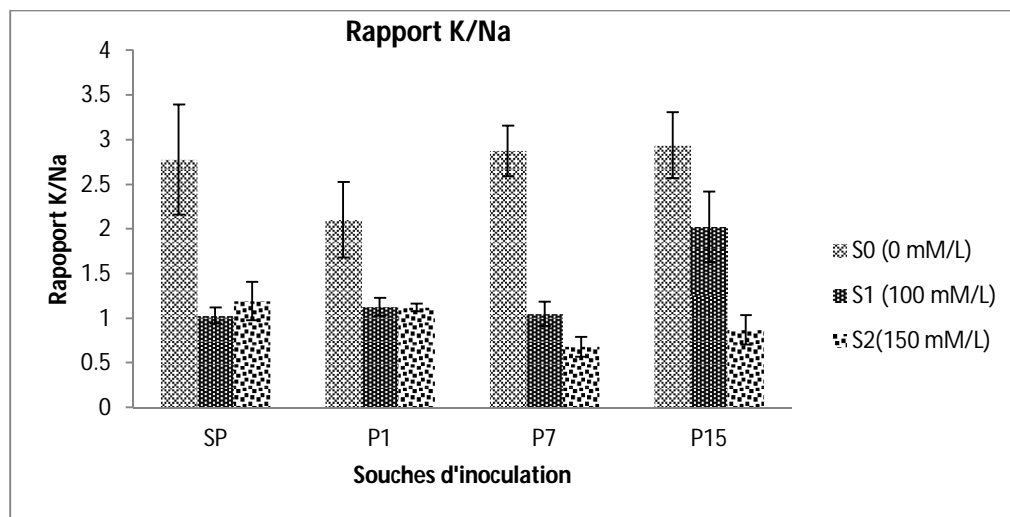


Figure 21: Effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le rapport K^+/Na^+ dans la fève.

Tableau 17: Test statistique de signification de Student ($P=5\%$) de l'effet de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur le rapport K^+/Na^+ dans la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Dose NaCl	Souche	K/Na	Souche	Dose NaCl	K/Na
0 mM.l ⁻¹	SP	2,775 ± 1,234	SP	0 mM.l ⁻¹	2,775 ± 1,234
	P1	2,101 ± 0,844 NS		100 mM.l ⁻¹	1,029 ± 0,177 *
	P7	2,874 ± 0,571 NS		150 mM.l ⁻¹	1,193 ± 0,433 NS
	P15	2,938 ± 0,735		0 mM.l ⁻¹	2,101 ± 0,844
100 mM.l ⁻¹	SP	1,029 ± 0,177	P1	100 mM.l ⁻¹	1,127 ± 0,196 NS
	P1	1,127 ± 0,196 NS		150 mM.l ⁻¹	1,119 ± 0,081 NS
	P7	1,050 ± 0,271 NS		0 mM.l ⁻¹	2,874 ± 0,571
	P15	2,024 ± 0,788 *		100 mM.l ⁻¹	1,050 ± 0,271 **
150 mM.l ⁻¹	SP	1,193 ± 0,433	P7	150 mM.l ⁻¹	0,681 ± 0,219 **
	P1	1,119 ± 0,081 NS		0 mM.l ⁻¹	2,938 ± 0,735
	P7	0,681 ± 0,219 NS		100 mM.l ⁻¹	2,024 ± 0,788 NS
	P15	0,868 ± 0,326 NS		150 mM.l ⁻¹	0,868 ± 0,326 **

Discussion:

La salinité cause une augmentation en concentration de Na^+ et une diminution en K^+ , ce qui réduit le ratio K^+/Na^+ avec l'augmentation de stress salin, la réduction en concentration de K^+ dans les plantes sous stress salin peu augmenter les effets délétères de la salinité sur la croissance et le rendement (Fu *et al.*, 2010). les concentrations élevées du NaCl dans la solution de sol peuvent diminuer les rapports des rapports de K^+/Na^+ et de Ca^{2+}/Na^+ aux plantes, qui seraient alors plus susceptibles des altération osmotiques et des ions spécifiques aussi bien que des perturbation nutritionnelle qui ont comme conséquence la réduction de rendement et de qualité (Sivritepe *et al.*, 2003), Kohler et autres (2009) a également constaté que la salinité a augmenté les concentrations foliaires en Na^+ et en Ca et

a diminué les concentrations foliaires en K aux plantes de laitue. L'exclusion de Na⁺ et l'influx de K⁺ sont les stratégies des plantes les plus importantes pour alléger le stress induit par la salinité (Fortmeier et Schubert, 1995 ; Shabala et Cuin, 2008). Ces résultats précités se conforment à celles obtenus dans la présente expérimentation, où nous avons observé que les traitements salins induisent une augmentation significative en concentration de Na⁺ et une diminution en K⁺ dans les plantes inoculées et non inoculées, il a été noté également, une réduction significative du rapport K⁺/Na⁺ sous les traitements salins en présence et en absence d'inoculation.

Comparativement avec les plantes non inoculées, l'inoculation avec les souches P1, P7 et P15 ont provoqué une diminution en concentration de Na⁺ dans les plantes stressées par le traitement salin à 100 mM.l⁻¹ et également dans les plantes non stressées et par conséquent une réduction du rapport K/Na, ce qui indique l'effet amélioratif de l'inoculation avec les souches bactériennes sélectionnées, sur l'allègement de l'effet de stress salin par la régulation osmotique en réduisant des niveau toxique de disponibilité des ions de Na⁺ dans les plantes, Ashraf *et al.* (2004) a prouvé que l'inoculation avec les bactéries produisant exopolysaccharide peu réduire l'influx de Na⁺ dans les racines des plantes. Zhang *et al.*, (2008a) a rapporté également que l'inoculation avec *Bacillus subtilis* GB03 pourrait améliorer le niveau de la tolérance de salinité chez *Arabidopsis Thaliana* par la régulation du transporteur de potassium HKT1. L'inoculation avec souche PGPR aide à soulager le stress salin par d'induction de certains gènes, polypeptides ou la régulation du transporteur de potassium HKT1 (Timmusk et Wagner, 1999), Les PGPRs affecte HKT1 qui a un effet sur l'ajustement des niveaux de Na⁺ et K⁺, il a été également suggéré que PGPR augmente le prélèvement des ions minérales par les plantes, via la stimulation de pompe de proton ATPase (Yang *et al.*, 2009b). Ashraf *et al.*, 2004) ; Yue et autres, 2007 et Upadhyay *et al.* (2011a) ont constaté que l'accumulation de Na⁺ dans le blé diminue, en présence de l'inculcation avec les PGPRs, la production améliorée des EPS par PGPRs peut aider les plantes à tolérer le stress salin en réduisant la disponibilité des ions de Na⁺ au niveau des racines. Une diminution de disponibilité de Na⁺ peut alléger le stress salin pour les plantes de blé.

Toutefois, il a été observé sous le traitement salin à 150 mM.l⁻¹ une augmentation en Na⁺ et une réduction de rapport K⁺/Na⁺ dans les plantes inoculées avec P1, P7 et P15 c.-à-d. , que l'effet souches bactérienne P1,P7 et P15 sur l'ajustement de concentration en Na⁺ et en K⁺, a été supprimé. Cependant que la corrélation entre la teneur en Na⁺ et le rapport K⁺/Na⁺ d'un part et le poids frais des racines d'autre part, montre une tolérance de stress induite par l'inoculation P7 et P15, et synchronise avec une diminution en teneur de proline, ce qui nous a portés pour noter que ces souches utilisent d'autres mécanismes de soutenir les plantes à alléger le stress salin, qui ne sont pas rappelées par la présente étude. L'inoculation avec les PGPRs ont nombreuse stratégies de protéger les plantes contre le stress salin/osmotique comme l'augmentation en SST, proline, glutamine, autres acides aminés, l'induction de certains gène ou polypeptides, la régulation de transporteur de K⁺ HKT1 (Timmusk et Wagner 1999; Zhang *et al.*, 2008a ; Camara *et al.* 2000 ; Iidiko et Galiba 2000). PGPR apporté une contribution à la promotion de croissance de plantes sous le stress

salin en augmentant plusieurs stratégies métaboliques de la défense (Upadhyay *et al.*, 2011b). L'inoculation avec des souches PGPR aide les plantes à soulager le stress salin mais les raisons sont en cours complexes à clairement expliquer (Upadhyay et Singh, 2014).

1.2.2 Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne par des souches de *Pseudomonas* sur la fève.

1.2.3 Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne par des souches de *Pseudomonas* sur la fève.

1.2.3.1 Sur la germination de la fève : (Indice de germination et le taux de germination)

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Par rapport au traitement du cuivre à 0 mM.l⁻¹, on a constaté que les traitements à 2,5 et 20 mM.l⁻¹ ont augmenté l'indice de germination de 7,14 et 14,29 % respectivement, alors que le traitement à 10 mM.l⁻¹ a diminué l'indice de germination de 2,38%. Cependant le taux de germination n'a pas varié pour les traitements à 2,5 et 10 mM.l⁻¹ par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹. Par contre le traitement à 20 mM.l⁻¹ a provoqué une augmentation de 20% de taux de germination.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1 :

L'effet des traitements au cuivre sur l'indice de germination dans le groupe inoculé par P1 est proportionnel. où on a enregistré une augmentation de 76,19 ; 80,95 et 147,62% de l'indice de germination et de 66,7 ; 66,7 et 133,33% du taux de germination pour les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

Comparativement au groupe non inoculé (SP), l'inoculation P1 a réduit l'indice de germination de 50 ; 17,78 et 7,32 % pour les traitements à 0 ; 2,5 ; 10 mM.l⁻¹, et provoqué une augmentation de 8,33% pour le traitement à 20 mM.l⁻¹, alors que le taux de germination a diminué de 40% pour le traitement à 0 mM.l⁻¹, néanmoins on a noté une augmentation de 16,67% pour le traitement à 20 mM.l⁻¹, et on n'a enregistré aucune variation pour le traitement 2,5 et 10 mM.l⁻¹.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7 :

Le stress métallique appliquée à des doses de 2,5 ,10 et 20 mM.l⁻¹ a produit une régression de 60,94 ; 75 et 50% de l'indice de germination et de 62,50 ; 75 et de 50% de taux de germination respectivement.

Comparativement aux résultats des graines non inoculées, l'inoculation P7 a augmenté l'indice de germination et le taux de germination pour le stress au cuivre à la dose de 0 mM.l⁻¹ de 52,38 et 60% respectivement, alors que des diminutions de 44,44 ; 60,98 et 33,33% de l'indice de germination et de 40 ; 60 et 33,33% du taux de germination ont été constaté pour les traitements à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15 :

Les traitements au cuivre à 2,5 et 20 mM.l⁻¹ ont induit une régression de 23,08 et 7,69% respectivement de l'indice de germination des graines inoculées par P15, toutefois le

traitement métallique à la dose de 10 mM.l⁻¹ n'a provoqué aucune variation de l'indice de germination par rapport au traitement au cuivre à la dose de 0 mM.l⁻¹, cependant le taux de germination a diminué de 20% pour le traitement à 2,5 et n'a pas varié pour les traitements au cuivre à des doses de 10 et 20 mM.l⁻¹.

Comparativement avec les résultats du groupe non inoculé, l'indice de germination des graines inoculées par P15 ont diminué à 7,14 ; 33,33 ; 4,88 et 25% pour les traitements métalliques à des doses de 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement, par contre le taux de germination n'a pas varié pour les traitements au cuivre à des doses de 0 et 10 mM.l⁻¹, néanmoins il a augmenté de 33,33% pour le traitement à 2,5 mM.l⁻¹, on enregistre une diminution de 16,67% pour le traitement au cuivre à la dose de 20 mM.l⁻¹.

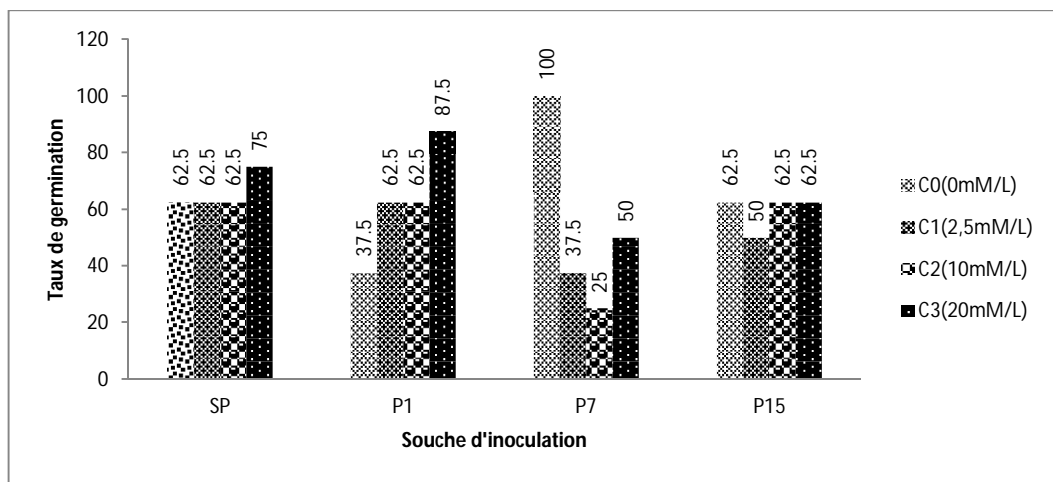


Figure 22 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le taux de germination de la fève.

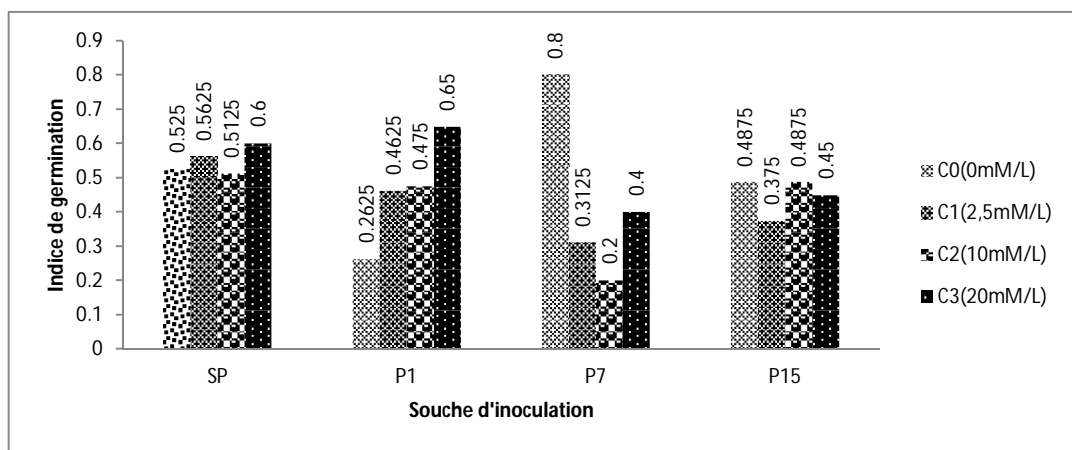


Figure 23: Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur l'indice de germination de la fève.

Discussion :

Les résultats obtenus du test de germination sous stress au cuivre montrent que le traitement au cuivre n'a pas significativement affecté le taux et l'indice de germination des graines inoculées et non inoculées, cependant l'inoculation avec P1 a enregistré un effet positif sur la germination sous le stress au cuivre à la dose de 20 mM.l⁻¹. L'inoculation avec P7 a considérablement stimulé la germination en absence du traitement au cuivre, les souches bactériennes ont augmenté le pourcentage et la rapidité de la germination par la production des phytohormones et des siderophores, ces résultats ont été rapportés dans plusieurs études : l'inoculation des graines de *Phragmites australis* avec *Pseudomonas asplenii* AC et *Pseudomonas asplenii* AC⁻¹ a amélioré la germination des graines et la croissance de plante et particulièrement protégé les plantes de l'inhibition de croissance par le cuivre et créosote (Reed *et al.*, 2005). Les isolats d'*Azotobacter* ont significativement augmenté l'index de germination des graines de 0.3 (graines témoins) à 0.53 (graines testées) (Sachin et Misra, 2009). Et plusieurs d'autres auteurs ont signalé le rôle des PGPRs sur l'amélioration de potentiel des graines pour la germination et la croissance des plantes (Dey *et al.*, 2004 ; Shaukat *et al.*, 2006 ; J. Rozema, 1975 ; Rueda-Puente, *et al.*, 2010 ; M.Aly *et al.*, 2012 ; Demissie *et al.*, 2013).

1.2.3.2 Sur les paramètres biométriques: la biomasse (Poids frais de la partie aérienne et la partie racinaire) :

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats obtenus de l'effet du cuivre en absence de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève montrent que les traitements au cuivre à 2.5 et 10 mM.l⁻¹ ont provoqué un ajout de 22,73 et 8,24 % de poids respectivement comparativement au traitement à 0 mM.l⁻¹, par contre le traitement à 20 mM.l⁻¹ a provoqué légèrement une diminution de 0.91%. Comme on a noté également pour la partie racinaire que des ajouts de 25,55 ; 42,38 et 22,19% de poids ont été enregistrés pour les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹.

D'après l'analyse de test de Student ($P < 0.05$), les traitements au cuivre n'ont pas un effet significatif sur le poids frais de la partie aérienne ni de la partie racinaire des plantes non inoculées par les souches bactériennes.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

pour les plantes inoculées par la souche bactérienne P1, les traitements au cuivre à 2.5 , 10 et 20 mM.l⁻¹ ont réduit le poids de la biomasse de la partie aérienne de 10,99 ; 10,18 et 21,22% respectivement par rapport au traitement au cuivre à 0 mM.l⁻¹, ainsi que pour la partie racinaire, on a noté un effet inversement proportionnel avec la concentration du cuivre avec une réduction de 7,47 ; 13,52 et 28,23% de poids.

En comparaison avec les résultats des plantes non inoculées, la souche P1 a induit une augmentation de 36,43 ; 13,20 et 8,46% de poids frais de la partie aérienne pour les traitements au cuivre à 0, 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement et une diminution de 1,05% pour le traitement à 2,5 mM.l⁻¹. Cependant le poids frais de la partie racinaire a augmenté de 68,38 ; 24,08 et 2,26% pour les traitements à 0 ; 2,5 et 10 mM.l⁻¹, on enregistre également une diminution de 1,10% pour le traitement à 20 mM.l⁻¹.

Le test de Student (P<0.05) révèle que les traitements au cuivre et l'inoculation bactérienne P1 n'ont pas un effet significatif sur le poids ni de la partie aérienne ni de la partie racinaire de la fève.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Les plantes inoculées par P7 et stressés au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ ont causé une diminution du poids frais de la partie aérienne de 6,85 ; 18,15 et 9,09% respectivement par rapport au traitement au cuivre à 0 mM.l⁻¹. Contrairement pour la partie racinaire des plantes stressées à des doses de 2,5 et 10 mM.l⁻¹ ou le poids frais a augmenté de 19,22 et 8,55% respectivement avec une diminution de 3% par le traitement métallique à 20 mM.l⁻¹.

L'inoculation par la souche P7 a contribué à augmenter le poids de la partie aérienne des plantes stressés au cuivre à des doses de 0 et 20 mM.l⁻¹ de 28,78 et 18,15 %, en revanche on note une diminution du poids à 2,25 et 2,62 % pour les plantes traités à 2,5 et 10 mM.l⁻¹ respectivement. L'inoculation par la souche P7 a contribué à une augmentation du poids frais de la partie racinaire traitée au cuivre à des doses de 0 ; 2,5 et 10 mM.l⁻¹ de 30,31 ; 23,74 et 3,44% respectivement, par contre on enregistre une diminution du poids de 0,61% pour le traitement au cuivre à 20 mM.l⁻¹.

Le test de Student (P<0.05) révèle que les traitements au cuivre et l'inoculation bactérienne P7 n'ont pas un effet significatif sur le poids ni de la partie aérienne ni de la partie racinaire de la fève.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Pour le groupe des plantes inoculées par P15 et stressés au cuivre, on enregistre une diminution de poids frais de la partie aérienne de 27,49 ; 19,53 et 22,02%, pour les traitements métalliques à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement. On a noté également par rapport au traitement métallique à 0 mM.l⁻¹, une diminution du poids frais de la partie racinaire de 29,62 ; 37,63 et 33,20% pour les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

Comparativement aux résultats des plantes non inoculées, l'inoculation par la souche P15 a augmenté la biomasse de la partie aérienne de 66,45 ; 23,72 et 30,99% pour les traitements au cuivre à 0, 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement, par contre on a noté une diminution de 1,66% pour le traitement à 2,5 mM.l⁻¹. Pour la partie racinaire, l'inoculation par la souche P15 a également

provoqué une augmentation de 128,36 ; 28 ; 0,03 et 24 ,83 % de la biomasse pour les traitements au cuivre à 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

D'après le test du Student (P<0.05) nous avons noté que l'inoculation par la souche P15 a un effet significatif sur le poids frais de la partie racinaire des plantes non traitée par le cuivre (traitement à 0 mM.l⁻¹) et que les traitements au cuivre n'ont pas un effet significatif sur le poids frais ni de la partie aérienne ni de la partie racinaire des plantes inoculées par la souche P15.

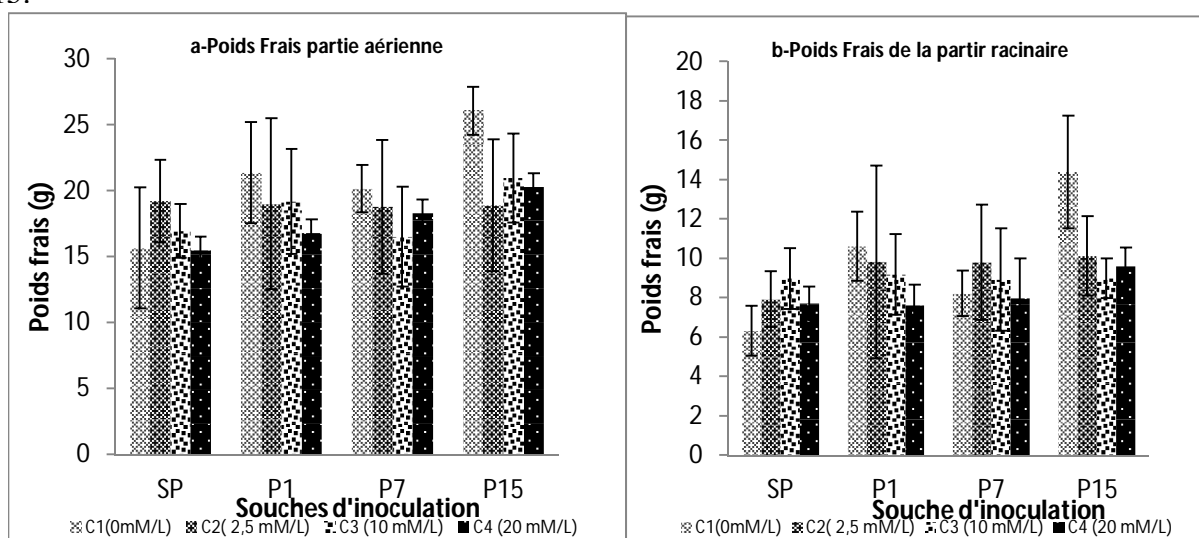


Figure 24: Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur La biomasse, (a) : Partie aérienne ; (b) Partie racinaire.

Tableau 18: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève , * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Poids frais de la partie aérienne	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Souches	Poids frais de la partie aérienne
SP	0	15,64 ± 9,17	0	SP	15,64 ± 9,17
	2,5	19,19 ± 6,22 NS		P1	21,34 ± 7,65 NS
	10	16,93 ± 4,08 NS		P7	20,14 ± 3,57 NS
	20	15,50 ± 2,15 NS		P15	26,03 ± 3,61 NS
P1	0	21,34 ± 7,65	2,5	SP	19,19 ± 6,22
	2,5	18,99 ± 12,94 NS		P1	18,99 ± 12,94 NS
	10	19,16 ± 7,94 NS		P7	18,76 ± 10,15 NS
	20	16,81 ± 1,75 NS		P15	18,87 ± 9,96 NS
P7	0	20,14 ± 3,57	10	SP	16,93 ± 4,08
	2,5	18,76 ± 10,15 NS		P1	19,16 ± 7,94 NS
	10	16,48 ± 7,57 NS		P7	16,48 ± 7,57 NS
	20	18,31 ± 14,05 NS		P15	20,95 ± 6,76 NS
P15	0	26,03 ± 3,61	20	SP	15,50 ± 2,15
	2,5	18,87 ± 9,96 NS		P1	16,81 ± 1,75 NS
	10	20,95 ± 6,76 NS		P7	18,31 ± 14,05 NS
	20	20,30 ± 6,84 NS		P15	20,30 ± 6,84 NS

Tableau 19: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur le poids frais de la partie aérienne de la fève , * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Dose du cuivre (mM.l ⁻¹)	Poids frais de la partie racinaire	Dose du cuivre (mM.l ⁻¹)	Souches	Poids frais de la partie racinaire
SP	0	6,30 ± 2,54	0	SP	6,30 ± 2,54
	2,5	7,91 ± 2,83 NS		P1	10,61 ± 3,51 NS
	10	8,97 ± 3,11 NS		P7	8,21 ± 2,32 NS
	20	7,70 ± 1,69 NS		P15	14,39 ± 5,73 *
P1	0	10,61 ± 3,51	2,5	SP	7,91 ± 2,83
	2,5	9,82 ± 9,82 NS		P1	9,82 ± 9,82 NS
	10	9,17 ± 4,11 NS		P7	9,79 ± 5,85 NS
	20	7,61 ± 2,06 NS		P15	10,13 ± 4,02 NS
P7	0	8,21 ± 2,32	10	SP	8,97 ± 3,11
	2,5	9,79 ± 5,85 NS		P1	9,17 ± 4,11 NS
	10	8,91 ± 5,21 NS		P7	8,91 ± 5,21 NS
	20	7,96 ± 4,04 NS		P15	8,97 ± 2,00 NS
P15	0	14,39 ± 5,73	20	SP	7,70 ± 1,69
	2,5	10,13 ± 4,02 NS		P1	7,61 ± 2,06 NS
	10	8,97 ± 2,00 NS		P7	7,96 ± 4,04 NS
	20	9,61 ± 1,88 NS		P15	9,61 ± 1,88 NS

Discussion :

Dans les plantes non inoculées et les plantes inoculées avec P7, les résultats montrent que les traitements au cuivre ont affecté l'augmentation en poids frais des deux parties de la fève et que la biomasse (poids frais total) optimale a été observé en coïncidence avec le traitement à 2,5 mM.l⁻¹, ce qui explique le rôle bénéfique des apports du cuivre dans les fonctions physiologiques et métaboliques telles que la photosynthèse, une augmentation en production de biomasse a été rapportée pour *Elsholtzia splendens*, une plante hyperaccumultrice utilisée en phytoremédiation, développée dans une sol contaminé par 60 mg.kg⁻¹ de cuivre (Jiang *et al.*, 2004). Siva K. Chetri *et al.*, a constaté que la réponse optimum de germination des graines de *Cassia angustifolia* (79.16 %) a coïncidé avec le traitement du 10 mg/l CuSO₄, tandis que As₂O₃ à des concentrations supérieur de 1 mg/l a montré la réponse le plus inhibitrice. Les effets toxiques du Cr sur la croissance et le développement de plantes incluent des altérations des processus de germination aussi bien que de la croissance des racines, des tiges et des feuilles, par conséquent, exposition au haut niveau du Cr a affecté la production de matière sèche totale et du rendement et le rendement des plants (Shanker et autres, 2005).

La diminution de la biomasse dans les plantes inoculées avec P1 et P15 est due probablement à une très forte concentration du cuivre accumulé dans les tissus des plantes sous traitements au cuivre par rapport aux témoins (0 mM.l⁻¹), cette accumulation est provoquée par l'inoculation avec les souches bactériennes par la production de sidérophores considérés comme métalo-chélateur. Dans une étude similaire, l'inoculation de plante de *Elsholtzia splendens* (hyperaccumulatrice) avec des bactéries MS3 a favorisé la solubilisation de cuivre, et amélioré également l'accumulation du cuivre avec plus du mg de 100 du Cu .kg⁻¹ de la biomasse de partie aérienne (Chen *et al.*, 2005). L'excès du cuivre dans le sol joue un rôle toxique, induit le et cause de dommage au plante. Ceci conduit à une

retardation de croissance et chlorose de feuille (Lewis *et al.*, 2001). Le poids total de biomasse des plantes était inférieur en présence du cuivre, être autant inférieur lorsque le consortium microbien a été ajouté, c.-à-d., lorsque le métal était plus biodisponible (Oliveira *et al.*, 2014). les bactérie résistants aux métaux lourds isolés d'un rhizosphère peu être utilisé pour soutenir la croissance de plante augmenter par suite l'accumulation de métaux lourds (Andreazza *et al.*, 2010 ;Chen *et al.*, 2008; Dell'Amico *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2008; Sheng *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2009). Les exsudats microbiens peuvent agir en tant qu'agents de chélation qui peuvent favoriser le prélèvement de métaux lourds par les plantes en augmentant la biodisponibilité logique de ces métaux, Ces composés organiques peuvent se lier aux métaux lourds, liés au précédent aux particules du sol, produisant des métaux lourds disponibles aux plantes. EDTA, bien connu, un agent chélateur présente un effet similaire et augmente le prélèvement des métaux dans le sol (Khan *et al.*, 2000). Les microorganismes peuvent également réduire Cu(II) en Cu(I), en augmentant la biodisponibilité du cuivre et augmentent par conséquent le prélèvement des métaux dans par les plantes. (Andreazza *et al.*, 2010). Les bactéries produisant des sidérophores ont montré un influence sur le prélèvement des plantes de différents métaux, y compris le fer, le zinc et le cuivre (Egamberdiyeva, 2007 ;Carrillo-Castaneda *et al.*, 2005;; Dimkpa *et al.*, 2009b).

D'autre part, comparativement aux plantes non inoculées, l'inoculation de la fève avec P1, P7et P15 a provoqué significativement l'augmentation en biomasse totale avec et sans traitement au cuivre, cet effet d'inoculation sur la promotion de la croissance de plante a été fréquemment rapporté par plusieurs auteurs, Gupta *et al.*(2003) et Rajkumar *et al.*,(2006) ont observé que les bactéries rhizosphériques favorisent la croissance des plantes par l'utilisation de ACC, la synthèse des phytohormones et la solubilisation du minéraux. La souche *Staphylococcus arlettae* (NBRIEAG-6) a enregistré une activité de ACC-déaminase plus élevée, et favorisé également l'élongation des racines de *Brassica juncea* dans les sols contaminé par l'arsenic (Srivastava *et al.*, 2012). Nombreuses études ont rapporté le rôle d'ACC-déaminase dans la promotion de la croissance des plantes (Gravel *et al.*, 2007;Jiang *et al.*, 2008; Contesto *et al.*, 2008 ;Kumar *et al.*, 2009; Madhaiyan *et al.*, 2006). Le rôle de ACC-déaminase dans la diminution de niveaux de d'éthylène par l'hydrolyse enzymatique de l'ACC à α -KB et ammoniacque a été présenté comme un des mécanismes majeurs de PGPBs dans la croissance de racines et des plantes (Madhaiyan *et al.*, 2006). Les bactéries caractérisées par la production de l'IAA, les sidérophores et l'ACC-déaminase peuvent stimuler la croissance des plantes et les protéger contre la toxicité des métaux lourds dans les sols contaminés (Ma *et al.*, 2011 ; .Madhaiyan et Poonguzhali, 2007). les PGPB favorise la croissance des plantes par la production de l'IAA , en stimulant directement l'élongation et/ou la division cellulaire. Glick *et al.*(1998), la production de l'IAA et la solubilisation du phosphate par les PGPBs favorise la croissance des plantes (Zaidi *et al.*, 2006).

1.2.3.3 Sur les paramètres physiologiques et biochimiques

1.2.3.3.1 Teneur en pigments chlorophylliens dans les feuilles

A. Chlorophylle (a) et Chlorophylle (b)

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats obtenus des plantes non inoculées révèlent que l'effet du stress au cuivre sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) proportionnel avec la concentration du cuivre. Les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ ont causé une augmentation de 10,62 ; 35,23 et 39,63% de teneur en chlorophylle (a) et de 14,66 ; 46,66 et 58,93% en chlorophylle (b) respectivement par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

Le test du Student révèle :

- un effet hautement significatif ($p < 0.001$) du traitement au cuivre à 10 mM.l⁻¹ sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les plantes non inoculées (SP) ;
- un effet significatif du traitement à 20 mM.l⁻¹ sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les plantes non inoculées (SP).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Dans le groupe des plantes inoculées par P1, les traitements au cuivre à 2,5 et 20 mM.l⁻¹ ont contribué à diminuer la teneur en chlorophylle (a) de 3,66 et 37,61% respectivement par rapport au traitement 0 mM.l⁻¹. Toutefois, une augmentation de 24,08% de la teneur en chlorophylle (a) a été produite par le traitement à 10 mM.l⁻¹. Pour la teneur en chlorophylle (b), les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 mM.l⁻¹ ont produit une augmentation de 10,48 et 10,97% respectivement, cependant une diminution de 27,56% a été induite par le traitement à 20 mM.l⁻¹ par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

Comparativement aux plantes non inoculées (SP), l'inoculation avec P1 a montré une accumulation de 12,95 et 3,63% de la teneur en chlorophylle (a) pour les traitements au cuivre à 0 et 10 mM.l⁻¹, et une réduction de 1,63 et 49,53% pour les traitements à 2,5 et 20 mM.l⁻¹ respectivement. On a constaté également une augmentation de 9,33 et 5,34% de la teneur en chlorophylle (b) pour les traitements à 0 et 2,5 mM.l⁻¹ et une regression de 17,27 et 50,16% pour les traitements à 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

L'analyse statistique du Student ($P=0.05$) révèle que :

- l'inoculation par la souche P1 a un effet hautement significatif sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 20 mM.l⁻¹, et sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 10 mM.l⁻¹ ;
- Le traitement au cuivre à 20 mM.l⁻¹ a un effet significatif sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes inoculées par P1.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Pour le groupe des plantes inoculées par P7, Le stress appliqué par les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ a causé une réduction de 7,36 ; 31,05 et 25,52% de la teneur en chlorophylle (a) respectivement comparativement au traitement à 0 mM.l⁻¹. On a enregistré une accumulation de 17,89% de teneur en chlorophylle (b) pour le traitement à 2,5 mM.l⁻¹, contrairement une diminution de 30 et 2,89% pour les traitements à 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

La comparaison avec les résultats des plantes non inoculées (SP) montre que l'inoculation par la souche P7 a provoqué une régression de 1,55 ; 17,56 ; 49,80 et 47,49% de teneur en chlorophylle (a) pour les traitements au cuivre à 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement. On a constaté également une régression de 51,63 et 38,08% de teneur en chlorophylle (b) pour les traitements à 10 et 20 mM.l⁻¹, par contre les traitements à 0 et 2,5 mM.l⁻¹ ont causé une accumulation de 1,33 et 4,18% respectivement .

Le test de Student révèle :

- un effet hautement significatif ($P < 0.001$) de l'inoculation par la souche P7 sur la teneur en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 10 mM.l⁻¹, et un effet significatif ($P < 0.05$) de l'inoculation par la souche P7 sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 20 mM.l⁻¹ ;
- le traitement au cuivre à 10 mM.l⁻¹ a un effet significatif ($P < 0.05$) sur la teneur en chlorophylle (a) et un effet hautement significatif ($P < 0.001$) sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées par l'inoculation P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Dans les plantes inoculées par P15, les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ ont induit une diminution de 23,03 ; 2,52 et 9,83% de la teneur en chlorophylle (a) respectivement et de 28,57 ; 20,40 et 17,60% de la teneur en chlorophylle (b) par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

Comparativement aux résultats obtenus pour les plantes non inoculées, l'inoculation par P15 a produit une régression de 7,77 ; 35,83 ; 33,52 et 40,44% de teneur en chlorophylle (a) pour les traitements à 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement. L'inoculation par P15 a provoqué également une régression de 34,88 ; 43,27 et 45,80% de teneur en chlorophylle (b) pour les traitements à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement, néanmoins, on a noté une augmentation de 4,53% pour le traitement à 0 mM.l⁻¹.

Le test de Student révèle :

- L'inoculation par la souche P15 a un effet hautement significatif ($P < 0.001$) sur la teneur en chlorophylle (a) dans les plantes traitées au cuivre à dose de 2,5 mM.l⁻¹, et un effet significatif ($P < 0.05$) sur la teneur en chlorophylle (a) dans les plantes traitées au cuivre à dose de 10 et 20 mM.l⁻¹ ;
- L'inoculation par la souche P15 a un effet hautement significatif ($P < 0.001$) sur la teneur en chlorophylle (b) dans les plantes traitées au cuivre à dose de 10 mM.l⁻¹, et un effet significatif ($P < 0.05$) sur la teneur en chlorophylle (a) dans les plantes traitées au cuivre à dose de 2,5 et 20 mM.l⁻¹
- le traitement au cuivre à 2,5 mM.l⁻¹ a un effet significatif ($P < 0.05$) sur la teneur en

chlorophylle (a) et un effet hautement significatif ($P < 0.001$) sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles des plantes traitées par l'inoculation P15.

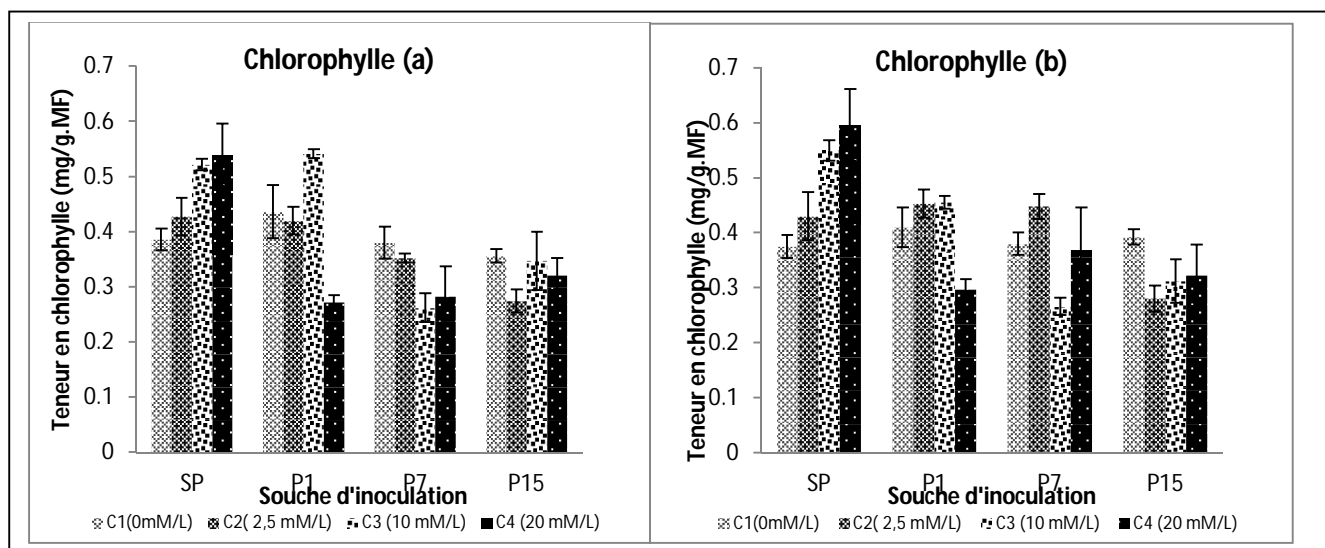


Figure 25: Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) et (b) dans les feuilles de la fève.

Tableau 20: Test statistique de signification de Student ($P = 5\%$) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Cuivre (mM.l^{-1})	Chlorophylle (a)	Cuivre (mM.l^{-1})	Souches	Chlorophylle (a)
SP	0	0,386 \pm 0,040	0	SP	0,386 \pm 0,040
	2,5	0,427 \pm 0,068 NS		P1	0,436 \pm 0,096 NS
	10	0,522 \pm 0,021 **		P7	0,380 \pm 0,058 NS
	20	0,539 \pm 0,113 *		P15	0,356 \pm 0,025 NS
P1	0	0,436 \pm 0,096	2,5	SP	0,427 \pm 0,068
	2,5	0,420 \pm 0,049 NS		P1	0,420 \pm 0,049 NS
	10	0,541 \pm 0,016 NS		P7	0,352 \pm 0,017 NS
	20	0,272 \pm 0,025 *		P15	0,274 \pm 0,042 **
P7	0	0,380 \pm 0,058	10	SP	0,522 \pm 0,021
	2,5	0,352 \pm 0,017 NS		P1	0,541 \pm 0,016 NS
	10	0,262 \pm 0,052 *		P7	0,262 \pm 0,052 **
	20	0,283 \pm 0,107 NS		P15	0,347 \pm 0,106 *
P15	0	0,356 \pm 0,025	20	SP	0,539 \pm 0,113
	2,5	0,274 \pm 0,042 *		P1	0,272 \pm 0,025 **
	10	0,347 \pm 0,106 NS		P7	0,283 \pm 0,107 *
	20	0,321 \pm 0,063 NS		P15	0,321 \pm 0,063 *

Tableau 21: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (b) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Chlorophylle (b)	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Souches	Chlorophylle (b)
SP	0	0,375 ± 0,041	0	SP	0,375 ± 0,041
	2,5	0,430 ± 0,088 NS		P1	0,410 ± 0,073 NS
	10	0,550 ± 0,037 **		P7	0,380 ± 0,041 NS
	20	0,596 ± 0,130 *		P15	0,392 ± 0,028 NS
P1	0	0,410 ± 0,073	2,5	SP	0,430 ± 0,088
	2,5	0,453 ± 0,051 NS		P1	0,453 ± 0,051 NS
	10	0,455 ± 0,023 NS		P7	0,448 ± 0,046 NS
	20	0,297 ± 0,036 *		P15	0,280 ± 0,047 *
P7	0	0,380 ± 0,041	10	SP	0,550 ± 0,037
	2,5	0,448 ± 0,046 NS		P1	0,455 ± 0,023 **
	10	0,266 ± 0,032 **		P7	0,266 ± 0,032 **
	20	0,369 ± 0,154 NS		P15	0,312 ± 0,080 **
P15	0	0,392 ± 0,028	20	SP	0,596 ± 0,130
	2,5	0,280 ± 0,047 **		P1	0,297 ± 0,036 **
	10	0,312 ± 0,080 NS		P7	0,369 ± 0,154 NS
	20	0,323 ± 0,112 NS		P15	0,323 ± 0,112 *

B. Teneur en chlorophylle totale

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Les résultats obtenus des plantes non inoculées montrent que l'effet de stress au cuivre sur la teneur en chlorophylle totale est proportionnel avec les concentrations du traitement au cuivre. On a constaté une augmentation de 12,61 ; 40,87 et 49,15% de teneur en chlorophylle totale causé par les traitements à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement, par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

D'après le test du Student un effet hautement significatif (p<0.01) du traitement à 10 mM.l⁻¹ sur la teneur en chlorophylle (a) et b et un effet significatif (p<0.05) du traitement à 20 mM.l⁻¹ sur la teneur en chlorophylle (a) et b dans les plantes non inoculées (SP).

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Dans le groupe des plantes inoculées par P1, les traitements au cuivre à 2,5 et 10 mM.l⁻¹ ont induit une augmentation de 3,07 et 17,47% de teneur en chlorophylle totale respectivement par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹. Toutefois, une diminution de 32,82% a été produite par le traitement à 20 mM.l⁻¹.

Comparativement avec les résultats des plantes non inoculées (SP), on a enregistré une accumulation de 11,30 et 1,87 % de teneur en chlorophylle totale pour les traitements au cuivre à 0 et 10 mM.l⁻¹, et une réduction de 7,18 et 49,87 % pour les traitements à 2,5 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

L'analyse statistique du Student a révélé que :

- l'inoculation par la souche P1 a un effet hautement significatif (P<0.01) sur la teneur en

chlorophylle totale dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 20 mM.l⁻¹ ;

- Le traitement au cuivre à 20 mM.l⁻¹ a un effet significatif (P<0.05) sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes inoculées par P1.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

Pour le groupe des plantes inoculées par P7, Le stress appliqué par les traitements au cuivre à 2,5 mM.l⁻¹ a provoqué une accumulation optimale de teneur en chlorophylle totale avec une valeur de 5,13% ; par contre les traitements à 10 et 20 mM.l⁻¹ ont causé une diminution de 30,66 et 14,21% respectivement, par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

En comparaison avec les valeurs obtenues des plantes non inoculées (SP), on a observé que l'inoculation par la souche P7 a provoqué une régression de 0,13 ; 6,77 ; 50,84 et 42,56% de teneur en chlorophylle totale pour les traitements à 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

Le test de Student révèle :

- un effet hautement significatif (P<0.001) de l'inoculation par la souche P7 sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 10 mM.l⁻¹, et un effet significatif (P<0.05) de l'inoculation par la souche P7 sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes traitées au cuivre à dose de 20 mM.l⁻¹ ;

- le traitement au cuivre à 10 mM.l⁻¹ a un effet significatif (P<0.05) sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes traitées par l'inoculation P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Pour les plantes inoculées par P15, La teneur en chlorophylle totale a été diminué de 25,94 ; 11,90 et 13,90% répondant aux traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

Comparativement des résultats des plantes non inoculées, l'inoculation par la souche P15 a provoqué une régression de 1,71 ; 35,36 ; 38,53 et 43,26 % de teneur en chlorophylle totale pour les traitements à 0 ; 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement.

Le test de Student révèle :

- L'inoculation par la souche P15 a un effet hautement significatif (P<0.001) sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes traitées au cuivre à dose de 10 mM.l⁻¹, et un effet significatif (P<0.05) sur la teneur en chlorophylle totale dans les plantes traitées au cuivre à dose de 2,5 et 20 mM.l⁻¹ ;

- le traitement au cuivre à 2,5 mM.l⁻¹ un effet hautement significatif (P<0.001) sur la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles des plantes traitées par l'inoculation P15.

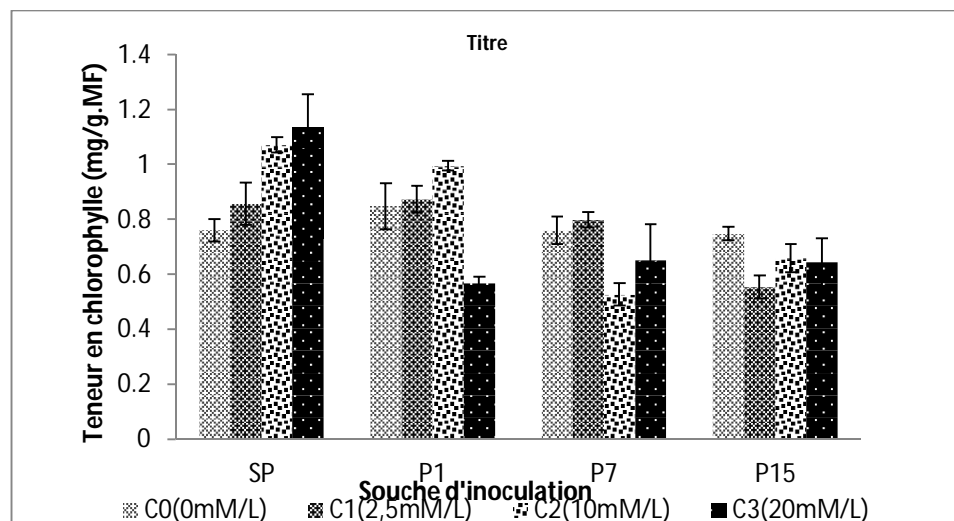


Figure 26 : Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a+b) dans les feuilles de la fève.

Tableau 22: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en chlorophylle (a+b) dans les feuilles de la fève, * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Chlorophylle totale	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Souches	Chlorophylle totale
SP	0	0,761 ± 0,081	0	SP	0,761 ± 0,081
	2,5	0,857 ± 0,154 NS		P1	0,847 ± 0,168 NS
	10	1,072 ± 0,056 **		P7	0,760 ± 0,098 NS
	20	1,135 ± 0,241 *		P15	0,748 ± 0,050 NS
P1	0	0,847 ± 0,168	2,5	SP	0,857 ± 0,154
	2,5	0,873 ± 0,099 NS		P1	0,873 ± 0,099 NS
	10	0,995 ± 0,034 NS		P7	0,799 ± 0,055 NS
	20	0,569 ± 0,043 *		P15	0,554 ± 0,086 *
P7	0	0,760 ± 0,098	10	SP	1,072 ± 0,056
	2,5	0,799 ± 0,055 NS		P1	0,995 ± 0,034 NS
	10	0,527 ± 0,082 *		P7	0,527 ± 0,082 **
	20	0,652 ± 0,260 NS		P15	0,659 ± 0,103 **
P15	0	0,748 ± 0,050	20	SP	1,135 ± 0,241
	2,5	0,554 ± 0,086 **		P1	0,569 ± 0,043 **
	10	0,659 ± 0,103 NS		P7	0,652 ± 0,260 *
	20	0,644 ± 0,175 NS		P15	0,644 ± 0,175 *

Discussion :

Les résultats obtenus, en absence de l'inoculation bactérienne, montrent que la chlorophylle totale dans les feuilles des plantes est proportionnelle avec la concentration du cuivre, indiquant le rôle du cuivre dans la synthèse des pigments photosynthétiques, ces résultats ont été confirmés par des études précédentes. Le cuivre (Cu) est un composant essentiel de différents protéines comme plastocyanine du système photosynthétique et cytochrome oxydase de transporteur d'électron de la chaîne respiratoire (Demir- evska-kepova *et al.*, 2004). Chugh et Sawhney (1999) ont suggéré que les basses concentrations du cuivre ont augmenté la teneur en

chlorophylle (a) dans la plante de *Elsholtzia splendens*, tandis que la teneur a été réduite par les hausses concentrations. Mais la teneur en chlorophylle (b) est moins influencée par les hausses ou basses concentrations de Cu (Li *et al.*, 2003). Le cuivre peut augmenter ou diminuer le taux de chlorophylle foliaire et modifier la fluorescence chlorophyllienne et l'activité du photosystème II (Cook *et al.*, 1997; Pätsikkä *et al.*, 2002). Toutefois, les teneurs en chlorophylle totale en présence d'inoculation, répondant aux traitements au cuivre, sont inclinées vers la diminution, pour les souches P1 et P7, et ont diminué carrément pour la souche P15, cette diminution est probablement due à l'hyperaccumulation du cuivre aboutissant à des hautes concentrations affectant la chlorophylle, l'hyperaccumulation du cuivre est provoquée par l'inoculation bactérienne, en augmentant la biodisponibilité du cuivre dans le sol via la production des sidérophores considérés comme des agents chélateurs des métaux dans le rhizosphère, plusieurs études précédentes ont suggéré cet effet des bactéries sur la biodisponibilité la bioaugmentation des métaux (Kumar *et al.*, 2008; Sheng *et al.*, 2008; Carrillo-Castaneda *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2000; Egamberdiyeva 2007; Dimkpa *et al.*, 2009b). Autres auteurs ont rapporté l'effet de l'excès du cuivre sur la synthèse et l'accumulation des pigments chlorophylliens dans les plantes. Il est fréquemment suggéré que les métaux lourds affectent la diminution de chlorophylle au préalable et par conséquent l'inhibition de la photosynthèse, et le cuivre affecte autant plus la biosynthèse des chlorophylles que le cadmium (Prasad, 1998; 1999; 2001), et induit plus d'effets similaires que le plomb (Oncel *et al.*, 2000). Plusieurs études ont constaté l'effet de concentrations élevées de cuivre sur la réduction de la teneur en chlorophylle (Zengin et Kirbag, 2007; Ralph et Burchett, 1998; Xiong *et al.*, 2006; Devi et Prasad, 1998; Tanyolac *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2007; Chettri *et al.*, 1998). Le cuivre peut influencer la réduction de la chlorophylle par différents processus, rapportés dans différentes études, le cuivre-induction peut dégrader la chlorophylle (Prasad *et al.*, 2001), et peut également substituer le magnésium dans la chlorophylle présente dans les deux composés d'antenne et dans les centres de réaction (Kupper *et al.*, 1996), ou inhiber la synthèse de la chlorophylle par l'inhibition de l'ALA-déhydratase (Fernandes et Henriques, 1991). Le cuivre peut également induire la chlorose de feuille qui est due au fractionnement oxydant des pigments et des lipides de membrane et dans la réduction de teneur en pigment (Maksymiec, 1997; Shainberg *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2004).

1.2.3.3.2 Sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève.

a. Traitement sans inoculation bactérienne (SP):

Pour les plantes non inoculées, le traitement au cuivre à 2,5 mM.l⁻¹ a affecté la teneur en proline avec une diminution de 9,31%, par contre les traitements au cuivre à 10 et 20 mM.l⁻¹ ont affecté l'augmentation de la proline avec un pourcentage de 52,79 et 24,22 % respectivement par rapport au traitement au cuivre à 0 mM.l⁻¹.

D'après le test de Student le traitement au cuivre à 10 mM.l⁻¹ (P<0.001) a un effet hautement significatif et le traitement à 20 mM.l⁻¹ (P<0.05) a un effet significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne de la fève non inoculée par les souches bactériennes.

b. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P1:

Pour les plantes inoculées par P1, on a constaté que l'effet de stress au cuivre sur la teneur en proline est inversement proportionnel avec la concentration du traitement au cuivre. On a constaté également une régression de 21,97 ; 24,54 et 24,90% de teneur en proline pour les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ respectivement par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

Comparativement avec les résultats des plantes non inoculées, la teneur en proline dans les plantes inoculées par P1 a montré une augmentation de 69,56 ; 45,89 et 2,50% pour les traitements au cuivre à 0 ; 2,5 et 20 mM.l⁻¹ respectivement et une diminution de 16,26% pour le traitement à 10 mM.l⁻¹.

D'après l'analyse du Student, l'inoculation par la souche P1 (P<0.05) a un effet significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes traitées au cuivre à dose de 0 mM.l⁻¹. Alors que les traitements au cuivre n'ont pas eu un effet significatif sur la proline dans les plantes inoculées par P1.

c. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P7:

En présence de l'inoculation bactérienne avec P7, le stress aux traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ a provoqué une accumulation de 13,5 ; 19 et 19% de la teneur en proline respectivement par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

La comparaison avec les résultats des plantes non inoculées montre que l'inoculation avec P7 a induit une augmentation de 24,22 ; 55,47 et 19% de teneur en proline pour les traitements au cuivre à 0 ; 2,5 et 20 mM.l⁻¹ respectivement, par contre une diminution de 3,25% a été observé pour le traitement à 10 mM.l⁻¹.

Le test du Student montre que l'inoculation par la souche P7 (P<0.05) a un effet significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes traitées au cuivre à dose de 2,5 mM.l⁻¹. Tandis que les traitements au cuivre n'ont pas eu un effet significatif sur la proline dans les plantes inoculées par P7.

d. Traitement par l'inoculation avec la souche bactérienne P15:

Pour les plantes traitées avec l'inoculation P15, les traitements au cuivre à 2,5 ; 10 et 20 mM.l⁻¹ ont causé une augmentation de 78,81 ; 96,55 et 75,86% de la proline par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹.

Comparativement avec les plantes non inoculées (SP), on a constaté que l'inoculation avec P15 a provoqué une suraccumulation de 26,08 ; 148,63 ; 62,19 et 78,50% de teneur en proline pour les traitements à 0 ; 2,5 ; 10 et 20% respectivement.

L'analyse statistique selon le test du Student révèle :

- Le traitement au cuivre à un effet hautement significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes inoculées par P15 ;
- L'inoculation par la souche P15 a un effet significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes traitées au cuivre à dose de 0 mM.l⁻¹ ;
- L'inoculation par la souche P15 a un effet hautement significatif sur la teneur en proline dans la partie aérienne des plantes traitées au cuivre à dose de 20 mM.l⁻¹.

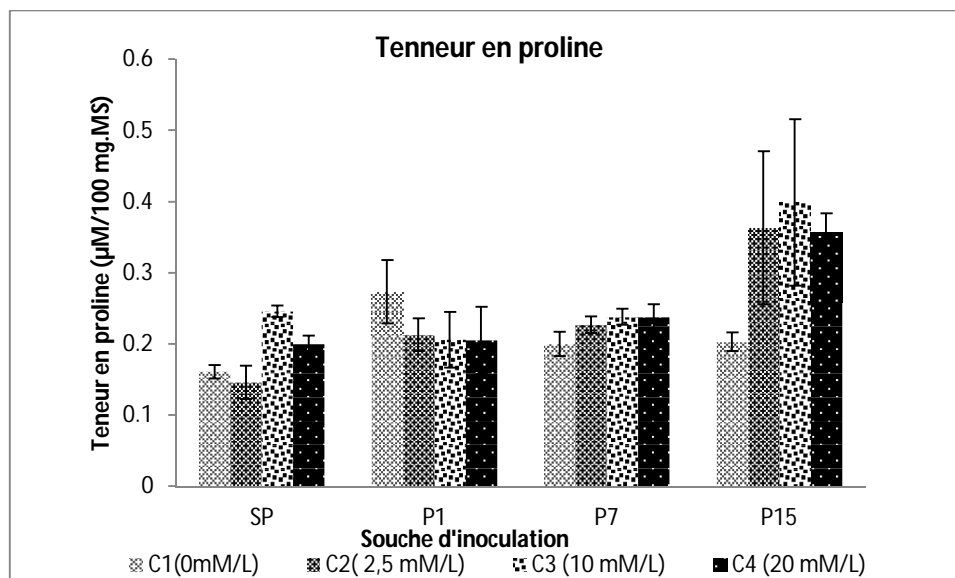


Figure 27: Effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans la fève.

Tableau 23: Test statistique de signification de Student (P= 5%) de l'effet du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la teneur en proline dans de la fève , * :Effet significatif, ** :E. hautement significatif, NS :E. Non significatif.

Souches	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Proline µMol /100 mg.MS	Cuivre (mM.l ⁻¹)	Souches	Proline µMol/100 mg.MS
SP	0	0,162 ± 0,019	0	SP	0,162 ± 0,019
	2,5	0,146 ± 0,046 NS		P1	0,273 ± 0,089 *
	10	0,246 ± 0,016 **		P7	0,200 ± 0,034 NS
	20	0,200 ± 0,024 *		P15	0,203 ± 0,026 *
P1	0	0,273 ± 0,089	2,5	SP	0,146 ± 0,046
	2,5	0,213 ± 0,046 NS		P1	0,213 ± 0,046 NS
	10	0,206 ± 0,078 NS		P7	0,227 ± 0,023 *
	20	0,205 ± 0,095 NS		P15	0,363 ± 0,215 NS
P7	0	0,200 ± 0,034	10	SP	0,246 ± 0,016
	2,5	0,227 ± 0,023 NS		P1	0,206 ± 0,078 NS
	10	0,238 ± 0,023 NS		P7	0,238 ± 0,023 NS
	20	0,238 ± 0,035 NS		P15	0,399 ± 0,234 NS
P15	0	0,203 ± 0,026	20	SP	0,200 ± 0,024
	2,5	0,363 ± 0,215 NS		P1	0,205 ± 0,095 NS
	10	0,399 ± 0,234 NS		P7	0,238 ± 0,035 NS
	20	0,357 ± 0,053 **		P15	0,357 ± 0,053 **

Discussion :

Les résultats de teneurs en proline dans les plantes non inoculées montrent une augmentation significative de la proline induite par les traitements au cuivre (10 et 20 mM.l⁻¹), indiquant l'effet du stress appliqué par le cuivre , les résultats obtenus sont conformes aux plusieurs études précédentes, l'excès de cuivre peut opérer un des facteurs de stress et peut induire l'accumulation de stress dans les tissus des plantes, cette observation a été rapporté

par plusieurs études de différentes espèces de plantes (Oves *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2008b ; Joseph *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2001 ; Miller *et al.*, 2005 ; Kavi *et al.*, 2005 ; Wani *et al.*, 2007b ; 2008 ; 2012 ; Alia et Matysik 2001 ; Ibrahim *et al.*, 2011). L'excès de CuSO₄ induit l'accumulation de proline dans la plante de *C. reinhardtii* (Zhang *et al.*, 2008b), et de tournesol (Zengin et Kirbag, 2008).

Avec l'association de P1, la teneur en proline a diminué dans les plantes traitées au cuivre, avec une croissance et une tolérance au cuivre, la réduction en proline coïncide avec une augmentation de la biomasse, Oves *et al.* (2013) a rapporté, dans une étude similaire, une diminution significative de proline dans les plantes de poids chiche inoculé par *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 et développée dans un sol contaminé par le chrome, et a lié cette diminution à l'effet de souche OSG41 de détoxification/bioréduction sur l'hexavalent chromium accumulé dans les tissus de plante, et ajouté qu'il n'y a aucun rapport sur comment et pourquoi cette diminution inverse de proline avec une tolérance remarquable de stress. Cette effet n'est pas bien connu et n'est plus rapporté par les auteurs.

Toutefois, en présence de l'inoculation avec P7 et P15, les traitements au cuivre ont causé une élévation significative en proline, due probablement à la teneur en cuivre hyperaccumulé dans les tissus des plantes, provoquant des hauts niveaux de stress, cette hyperaccumulation est de fait des souches bactériennes via le rôle des sidérophores dans la chélation et la biodisponibilité des métaux, comme il a été montré dans de nombreuses recherches similaires (Andreazza *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2008 ; Sheng *et al.*, 2008 ; Carrillo-Castaneda *et al.*, 2005 ; Khan *et al.*, 2000 ; Egamberdiyeva 2007 ; Dimkpa *et al.*, 2009c). D'autre part, l'augmentation de la proline est aussi probablement du fait des souches d'inoculation en stimulant plus la libération de la proline dans les organes de plante, cet effet est significativement manifesté dans les plantes inoculées avec P1 et P15 et non traitées au cuivre. Zarea *et al.*, (2011) a confirmé que les niveaux de la proline dans les feuilles ont augmenté en réponse à l'inoculation avec des micro-organismes. l'accumulation de proline était considérablement inférieure pour les plantes non inoculées et l'accumulation de proline la plus élevée est enregistré dans les feuilles des plantes inoculées avec *Piriformospora indica*. Différentes études ont constaté l'effet de l'inoculation bactérienne sur l'augmentation de la proline dans les plantes sous différents stress (Creus *et al.*, 1997 ; Bashan et Holguin, 1997 ; Casanovas *et al.*, 2003).

1.3 CONCLUSION GENERALE:

Afin d'étudier le rôle de l'inoculation rhizobactérienne de *Pseudomonas* pour déminuer l'effet de stress salin et du cuivre sur la germination des graines, la croissance et la physiologie de la fève, on a mis en place un plan de travail intégral. L'exécution de ce plan a été commencée par le prélèvement des échantillons d'un sol salé de la région de Metmar de wilaya de Relizan, et d'un autre sol viticole traité au cuivre de la région d'Ouriaah de wilaya de Mosataganem. A partir de ces sols on a procéder à l'isolement des souches de *Pseudomonas* sur le milieu King B. Après des tests de résistance à la salinité et au cuivre on a sélectionné trois isolats, deux (P1 et P7) sont originaires du sol salé et l'autre (P15) du sol traité par le cuivre. L'identification de ces trois isolats a été faite par la méthode biochimique via la galerie API 20 NE, ce qui nous a permis de rapprocher les isolats P1, P7 à *Pseudomonas flurescens* et l'isolat P15 à *Pseudomonas putida*. L'étude du pouvoir antagoniste nous a aboutis à la selection de P15 la plus antagoniste vis-à-vis cinq souches de microorganismes du sol, alors que P1 a montré le potentiel le plus important de la production de la pyoverdine.

Après la préparation du sol, des graines et des inoculums, nous avons procéder à l'expérimentation de germination des graines puis à deux expérimentations sous serre sur l'effet de la salinité et du cuivre sur la fève.

Les résultats obtenus sur l'effet combiné de la salinité et de l'inoculation bactérienne sur la fève montrent que :

- Le stress salin a affecté inversement proportionnelle l'indice et le taux de germination, cependant le traitement à 150 mM.l⁻¹ a provoqué une inhibition totale des graines non inoculées et inoculées par les souches P1 et P15, ce qui signifie l'effet inhibiteur sur la germination induite par la salinité. Ainsi que l'inoculation avec les souches P1 et P15 a montré un effet inhibiteur tandis que la souche P7 a affecté significativement l'augmentation du pourcentage de la germination.

- Les traitements salins ont induit une régression en poids frais des deux parties : aérienne et racinaire chez la fève inoculé et non inoculé. Un rôle positif de l'inoculation avec P1, P7 et P15 sur la promotion de la croissance a été constaté pour les traitements à 0 et 100 mM.l⁻¹ de NaCl. Alors que l'inoculation avec la souche P15 a montré un effet significatif sur la croissance des racines. Toutefois le traitement à 150 mM.l⁻¹ de NaCl a provoqué une réduction de la biomasse aérienne des plantes inoculées par rapport à celles non inoculées.

- En absence de l'inoculation bactérienne, la teneur optimum en chlorophylle totale est relativement lié au traitement à 100 mM.l⁻¹ de NaCl, alors que le traitement à 150 mM.l⁻¹ a réduit la teneur en chlorophylle totale. En présences de l'inoculation bactérienne, la teneur en

chlorophylle totale dans les plantes stressées est supérieure à celle des non stressées par la salinité. Ainsi que, l'inoculation avec P1 a affecté l'augmentation de la teneur en chlorophylle totale dans les conditions salines et non salines. L'inoculation avec P7 et P15 a augmenté la teneur en chlorophylle totale chez les plantes traitées par 150 mM.l⁻¹ de NaCl.

- la proline s'accumule dans les plantes de la fève proportionnellement avec les concentrations salines en présence et en absence de l'inoculation bactérienne. Dans les plantes inoculées de cette expérimentation, la proline est plus élevée que dans celles non inoculées pour tous les traitements salins sauf le traitement à 150 mM.l⁻¹ où nous avons noté l'effet inverse.

- Les traitements salins ont induit une augmentation significative de Na⁺ et une diminution en K⁺ dans les plantes inoculées et non inoculées. Nous avons noté également, une réduction significative du rapport K/Na sous les traitements salins en présence et en absence de l'inoculation bactérienne. Cependant, l'inoculation avec les souches P1, P7 et P15 a provoqué une diminution en Na⁺ dans les plantes traitées par 0 et 100 mM.l⁻¹ de NaCl, ceci augmente le rapport K/Na, ce qui indique que l'inoculation par les souches bactériennes sélectionnées améliore la tolérance des plantes à la salinité. Toutefois, on a observé sous le traitement à 150 mM.l⁻¹ une augmentation en Na⁺ et une réduction de rapport K/Na dans les plantes inoculées ce qui annule l'effet des bactéries utilisées sur l'ajustement osmotique dans les plantes.

Les résultats de l'effet combiné du cuivre et de l'inoculation bactérienne sur la fève, nous ont permis de conclure ce qui suit :

- les traitements au cuivre n'ont pas affecté significativement le taux et l'indice de germination des graines inoculées et non inoculées. Cependant l'inoculation avec la souche P1 a montré un effet positif sur la germination des graines traitées par 20 mM.l⁻¹ du CuSO₄, ainsi que l'inoculation avec P7 a considérablement stimulé la germination des graines non traitées par le cuivre ;

- Dans les plantes non inoculées et inoculées avec P7, les résultats montrent que les traitements au cuivre ont affecté l'augmentation en poids frais de la partie aérienne et racinaire de la fève. Pour les plantes inoculées avec P1 et P15, nous avons remarqué une diminution en biomasse, ceci revient probablement à la haute concentration du cuivre accumulé dans les tissus des plantes stressées au cuivre par rapport au traitement à 0 mM.l⁻¹ du CuSO₄. D'autre part, l'inoculation de la fève avec P1, P7 et P15 a provoqué significativement l'augmentation en biomasse totale en présence et absence du cuivre ;

- la chlorophylle totale dans les feuilles des plantes non inoculées est proportionnelle avec la concentration de traitement au cuivre, indiquant le rôle du cuivre dans la synthèse des pigments

photosynthétiques. Toutefois, les teneurs en chlorophylle totale en présence d'inoculation, ont significativement diminué, sauf dans les plantes traitées par 0 et 2,5 mM.l⁻¹ du CuSO₄ en présence de P1. cette diminution est probablement due à l'hyperaccumulation du cuivre par la chélation des sidérophores bactériens ;

- Les teneurs en proline dans les plantes non inoculée ont connu une augmentation significative induite par les hauts traitements au cuivre (10 et 20 mM.l⁻¹), indiquant l'effet du stress appliqué par cet élément. Avec l'association de P1, la teneur en proline a été diminuée dans les plantes traitées au cuivre, alors que les plantes ont montré une croissance et une tolérance à ce métal, cette réduction en proline avec augmentation en biomasse, signale l'effet de l'inoculation P1 sur la plante pour résister au stress au cuivre. Toutefois, en présence de l'inoculation avec P7 et P15, les traitements au cuivre ont causé une élévation significative en proline, qui est due probablement à la teneur en cuivre hyperaccumulé dans les tissus des plantes, provoquant des hauts niveaux de stress.

En perspectives, nous envisageons de compléter notre travail en couvrant plus le côté microbiologique, il s'agit de la caractérisation du métabolisme et des enzymes utilisées par les *Pseudomonas*, et de l'étude des phytohormones et des sidérophores utilisés par les *Pseudomonas* dans la diminution de l'effet du stress à la salinité et au cuivre sur la physiologie des plantes et l'étude des mécanismes biochimiques des réponses au stress au niveau cellulaire. Nous voulons aussi élargir de la gamme des paramètres mesurés, tel que doser les métaux accumulés dans les plantes et vérifier les indices de stress oxydatif afin d'établir des corrélations paramétriques et d'interpréter les résultats d'une façon plus proche de la réalité.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Abdallah MMF. (1979). The origin and evolution of *Vicia faba* L. In Proc.1 and aberrations by X rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. Genetics. 49:17-38.
- Abdel Latef, A.A., (2010). Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. Cereal Res. Comm. 38, 43–55.
- AbdElBaki, G.K., Siefert, F., Man, H.M., Welner, H., Kaldenhoff, R., Kaiser, W.M., 2000. Nitrate reductase in *Zea mays* L. undersalinity. Plant Cell Environ. 23, 15–521.
- Abir KOUZAYHA, (2011): Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des hap et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises. L'université Bordeaux 1, École Doctorale Des Sciences Chimiques ; N° d'ordre : 4414.
- ACTA, (2005). Index Phytosanitaire ACTA (2005).41ème. Association de Cordination Technique Agricole. France. pp. 820.
- Adriano DC (2001) Copper In: Trace elements in terrestrial environment, biogeochemistry, bioavailability, and risks of metal, 2nd Edition, pp. 499–546
- Alberta's agriculture and industry. 1999. Copper deficiency: diagnosis and correction. Agdex 532.3. 7pp.
- ALEM C., AMRI A., (2005): Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. Reviews in Biology and Biotechnology, Vol. 4, No. 1 : 20- 31.
- Alia K.V., Prasad S.K., Saradhi P.P. (1995) Effect of zinc on free radicals and proline in Brassica and Cajanus. Phytochemistry, 39, 45–47.
- Alia, M.P. and Matysik, J. (2001) Effect of proline on the production of singlet oxygen. Amino Acids 21: 191–203.
- Al-Karaki, G.N., (2001). Germination, sodium, and potassium concentrations of barleyseeds as influenced by salinity. J. Plant Nutr. 24, 511–522.
- Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M., Murata, N., 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of Photosystems I and II in *Synechococcus* sp. Plant Physiol. 123, 1047–1056.
- Allan D. L. and Jarrell W. M., (1989). -Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls.- Plant Physiology, 89 : 823-832.
- Alloway B. J., 1995. -Heavy metals in soils.- Second Edition, Blackie Academic &
- Alva AK, Graham JH, Tucker DPH. (1993). Role of Calcium in Amelioration of Copper Phytotoxicity for Citrus. Soil Science 155(3):211-218.
- André E., Joseph A. et Luc M. (2000). -Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments, 238 p, Editons PICCIN.
- Andreazza, R., Pieniz, S., Okeke, B.C., Camargo, F.A.O., (2010). Evaluation of copper resistant bacteria from vineyard soils and mining waste for copper biosorption.

Braz. J. Microbiol. (BJM-1469).

- Anne-Sophie FOLTETE , (2010) : Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Université Paul Verlaine – Metz ; Laboratoire des Interactions Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystèmes LIEBE UMR CNRS 7146.
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1563–1589.
- Arafat Abdel Hamed Abdel Latef , He Chaoxing (2011) : Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae* 127 228–233.
- Archambault DJ, & K Winterhalder. (1995). Metal Tolerance in *Agrostis-Scabra* from the Sudbury, Ontario, Area. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 73, 766-775.
- Arkhipova TN, Prinsen E, Veselov SU, Martinenko EV, Melentiev AI, Kudoyarova GR (2007) Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant and Soil* 292: 305-315
- Ashan N, DG Lee, SH Lee, KY Kang, JJ Lee, PJ Kim, HS Yoon, JS Kim & BH Lee. (2007). Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere* 67, 1182-1193.
- Ashraf, M., Berge, S.H., Mahmood, O.T., (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol. Fertil. Soils* 40, 157–162.
- Aughey M., Anderson M., Whitney R. et al. (2000). Forms and fate of Cu in a source drinking water reservoir following CuSO₄ treatment. *Water Research* 34(13):3440-3452.
- Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco JM (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57:233-266
- Baize D, Saby N, Walter C. (2006). Le cuivre extrait à l'EDTA dans les sols de France - Probabilités de carences et de toxicités selon la BDAT. *Etude et Gestion des Sols* 13(4):259-268.
- Baker DE and Senft JP (1995) Copper. In: *Heavy metals in soils* (Alloway Ed), 2nd Edition, Blackie academic & professional, 368 pp.
- Barančíková G, Makovníková J. (2003) . The influence of humic acid quality on the sorption and mobility of heavy metals. *Plant Soil Environ.* 49(12):565-571.
- Barassi CA, Ayrault G, Creus CM, Sueldo RJ, Sobrero MT (2006) Seed inoculation with *Azospirillum mitigates* NaCl effects on lettuce. *Sci Hortic* 109:8 – 14.
- Barazani, O. and Friedman, J., (1999) . Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? *J. Chem. Ecol.* 25:2397-2406.

- Barraclough, D., Kearney, T., and Croxford, A., (2005) . Bound residues: environmental solution or future problem? *Environ Pollut.* 133(1); 85-90.
- Bartlett, D.H., et M. Roberts. (2004). Osmotic stress, p. 754-766. In M. Schaechter (ed.), *The desk encyclopedia of microbiology*, Elsevier. Academic Press. Canada.
- Barzanti R, Ozino F, Bazzicalupo M, Gabbrielli R, Galardi F, Gonnelli C, Mengoni A (2007) Isolation and characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*. *Microbial Ecology* 53: 306-316
- Bashan, Y., Holguin, G., (1997). Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology* 43,103e121.
- Belimov, A.A., Safronova, V.I., Sergeyeva, T.A., Egorova, T.N., Matveyeva, V.A., Tsyganov, V.E., Borisov, A.Y., Tikhonovich, I.A., Kluge, C., Preisfeld, A., Dietz, K. J. and Stepanok, V.V., (2001). Characterisation of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.* 47: 642–652.
- Belkhodja M, Bidai Y (2004). Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. *Revue Sécheresse*, N°4, 15:331-335.
- Belkhodja M. & M.Benkablia., (2000).- Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egypt. J. of Agric. Res.*, 78,(1), p.185-195.
- Belkhodja Moulay, (1996)- Action de la salinité sur le comportement physiologique métabolique chez la fève (*Vicia faba* L). Thèse doctorat. Université d'Oran. 255p.
- Bell-Perkins, L. J., et J.M. Lynch. (2002). Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. In G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*, A Wiley-Interscience Publication, Canada.
- Ben Naceur M., Rahmoune C., Sdiri H., Maddah M., Selmi M. (2001) -Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Sécheresse* 12 (3) : 167-174.
- Bennett MD. (1976). DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environ. Exp. Bot.* 16(2-3):93-98, IN1-IN2, 99-108.
- BENREBIHA F Z., (1987): Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger: 5- 20.
- Béraud E. (2007). Etude des effets génotoxiques et de l'induction des phytochélatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application du test *Vicia*-micronoyaux à des matrices complexes. Thèse doctorant, Metz: Université de Metz. 107 p.

- Berg G, Krechel A, Ditz M, Faupel A, Ulrich A, Hallmann J (2005) Comparison of endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities and their antagonistic activity against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 51:215 – 229
- Berg G. (2009) Plant microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 11 – 18.
- Bergman I., Loxley R., (1970).- New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolysates. *Analytical Chemistry*, 42 (7): 702-706.
- Berthomieu p., Conejero g., Nublat a., Brachenbury 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 At HKT1 in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO Journal*, Vol. 22: 2004- 2014.
- Bessoule JJ & M Mench. (2002). Sols et déchets – Biomarqueurs métaboliques d'effet et d'exposition des végétaux aux métaux traces : candidats lipidiques. Ademe, Angers
- Bloemberg GV, Wijfjes AHM, Lamers GEM, Stuurman N, Lugtenberg BJJ (2000) Simultaneous imaging of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 populations expressing three different autofluorescent proteins in the rhizosphere: New perspectives for studying microbial communities. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 1170-1176
- Bohnert, H.J., Jensen, R.G., 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol.* 14, 89–97.
- Boon GT, LA Bouwman, J Bloem, & P Romkens. (1998). Effects of a copper-tolerant grass (*Agrostis capillaris*) on the ecosystem of a copper-contaminated arable soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17, 1964-1971.
- Boopathy R (2000) Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology* 74: 63-67
- Borel M. (1987). -Dégradation des composés Benzoiques par *Pseudomonas* du sol. Thèse de doctorat troisième cycle. Université scientifique technologique et médicale de Grenoble.
- Botia P., Carvajal M., Cerda A., and Martinez V., (1998) “Response of eight *Cucumis melo* cultivars to salinity during germination and early vegetative growth ,” *Agronomie*, vol.18,no.8-9,pp.503–513.
- Bouhmouch I, Souad-Mouhsine B, Brhada F, Aurag J (2005) Influence of host cultivars and *Rhizobium* species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. *J Plant Physiol* 162:1103 – 1113.

- BOUZID Salha (2010) : Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique 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.
- Braud A, Geoffroy V, Hoegy F, Mislin GLA, Schalk IJ (2010) Presence of the siderophores pyoverdine and pyochelin in the extracellular medium reduces toxic metal accumulation in *Pseudomonas aeruginosa* and increases bacterial metal tolerance. *Environmental Microbiology Reports* 2: 419-425
- Briand, O., Bertrand, F., Seux, R., Millet, M. 2002. Comparison of different sampling techniques for the evaluation of pesticide spray drift in apple orchards. *The Science of The Total Environment*, 288, 3, 99-213.
- Brimecombe, M. J., F.A. De Leij, et J.M. Lynch. (2007). Rhizodeposition and microbial population, p. 74-98. In R. Pinto, Z. Varanini, P. Nannipieri (ed.), *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press. New York.
- Bruins MR, Kapil S, Oehme FW (2000) Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 45: 198-207
- Brun L, Maillet J, Hinsinger P and Pépin M (2001) Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environ. Pollut.* 111, 293-302.
- Brun LA, Maillet J, Richarte J, Herrmann P, Remy JC. (1998). Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environ. Pollut.* 102(2-3):151-161.
- Brun, L.A.; Le Corff, J.; Maillet, J(2003). Effects of elevated soil copper on phenology, growth and reproduction of five ruderal plant species. *Environ Pollut.* 122: 361-368.
- Brunner I, J Luster, MS Günthardt-Goerg, & B Frey. (2008). Heavy metal accumulation and phytostabilisation potential of tree fine roots in contaminated soil. *Environment International* 152, 559-568.
- Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R., (1998). A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3663-3668.
- Camara T. R., Willadino L., Torné A. M, and Santos M. A., (2000) "Efeito do estresse salino e da prolina exógena em calos de milho," *Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal*, vol.12,no.2,pp.146–155,.
- Carlu J., (1952)-Fèves et féveroles. *La rousse agricole*, 204 p.
- Carole Bedos, Pierre Cellier et al(2002) « Mass transfert of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview *agronomie* 22 : 21-33 INRA, EDP sciences.

- Carrillo-Castaneda G, Munoz JJ, Peralta-Videa JR, Gomez E, Gardea-Torresdey JL (2003) Plant growth-promoting bacteria promote copper and iron translocation from root to shoot in alfalfa seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 26: 1801-1814
- Carrillo-Castaneda G., Munoz J.J., Peralta-Videa J.R., Gomez E. & Gardea-Torresdey J.L. (2005) Modulation of uptake and translocation of iron and copper from root to shoot in common bean by siderophore-producing microorganisms. *Journal of Plant Nutrition* 28, 1853–1865.
- Casanovas, E.M., Barassi, C.A., Andrade, F.H., Sueldo, R.J., (2003). Azospirillum-inoculated maize plant responses to irrigation restraints imposed during flowering. *Cereal Research Communications* 31, 395-402.
- Caspi, V., Droppa, M., Horvath, G., Malkin, S., Marder, J.B., Raskin, V.I., (1999). The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. *Photosynthesis Research* 62, 165 e 174.
- Cathala N. and Salsac L., (1975). -Absorption du cuivre par les racines de maïs (*zea mays* L.) et de tournesol (*Helianthus annuus* L.).- *Plant and Soil*, 42 : 65-83.
- CE. (2008). RÈGLEMENT (CE) No 889/2008 DE LA COMMISSION du 5 septembre 2008 portant modalités d'application du règlement (CE) no 834/2007 du Conseil relatif à la production biologique et à l'étiquetage des produits biologiques en ce qui concerne la production biologique, l'étiquetage et les contrôles. In: européenne C, editor: J.O. 18.9.2008. p 250. [<http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/LexUriServ-1.pdf>], p37)
- CEC (2002). Making the environment Healthier for Our Kids-An overview of environmental challenges to the health of North America's children.
- Cenk , , K.C., Yasemin, S.K., Anac , , Dilek, (2008). Performance of purslane (*Portulaca oler-acea* L.) as a salt-removing crop. *Agric. Water Manage.* 95 (7), 854–858.
- Cetois A, Quesnoit M and Hinsinger P (2003) Soil copper mobility and bioavailability – A review, 110 p.
- Chaibi Cossentini W., (1995): Etude physiologique ultra structurale et cyto enzymologique de l'effet du chlorure de sodium chez *Medicago sativa* L. (cultivar de Gabes). Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de Tunis, 224 P.
- Chaignon Valérie,(2001): Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. - Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides- Thèse doctorant à Université De Droit, D'economie Et Des Sciences D'aix-Marseille (Aix-Marseille Iii)
- Chaignon, V., Sanchez-Neira, I., Herrmann, P., Jaillard, B., and Hinsinger, P., (2003). Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. *Environ Pollut.* 123(2); 229-238.
- Chakraborty U, Chakraborty B, Basnet M (2006) Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *Journal of Basic Microbiology* 46:186-195

- Chaney RL (1980) Health risks associated with toxic metals in municipal sludge. In: Bitton G, Damro DL, Davidson GT, Davidsson JM (Eds), *Sludge: Health risks of land application*. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Michigan, pp. 59–83
- Chartzoulakis K., Klapaki G. (2000) - Response of two green house pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.* 86, 247–260.
- Chatterjee J & C Chatterjee. (2000). Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution* 109, 69-74.
- Cheeseman, J.M., (1988). Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant. Physiol.* 87, 547–550.
- Chen, C.T., Chen, L.M., Lin, C.C. and Kao, C.H. (2001) Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Sci.* 160: 283–290.
- Chen, W.N., Wu, C.H., James, E.K., Chang, J.S., (2008). Metal biosorption capability of *Cupriavidus taiwanensis* and its effects on heavy metal removal by nodulated *Mimosa pudica*. *J. Hazard. Mater.* 151, 364–371.
- Chen, Y.X., Wang, Y.P., Lin, Q., Luo, Y.M., (2005). Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by *Elsholtzia splendens*. *Environ. Int.* 31, 861–866.
- Chettri, M.K., C.M. Cook, E. Vardaka, T. Sawides and T (1998). Lanaras: The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens: *Cladonia convolute* and *Cladonia rangiformis*. *Environ. Exp. Bot.*, 39, 1-10.
- Chugh LK, Sawhney SK (1999) Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. *Plant Physiol Biochem* 37:297–303
- Chung H, Park M, Madhaiyan M, Seshadri S, Song J, Cho H, Sa T (2005) Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1970-1974
- Clemens S., (2001). -Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis.- *Planta*, 212 : 475-486.
- Contesto C., Desbrosses G., Lefoulon C., Béna G., Borel F., Galland M., Gamet L., Varoquaux F., Touraine B. (2008), Effects of rhizobacterial ACC deaminase activity on *Arabidopsis* indicate that ethylene mediates local root responses to plant growth-promoting rhizobacteria, *Plant Sci.* 175: 178–189.
- Cook CM, Kostidou A, Vardaka E, Lanaras T. (1997). Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of *Phaseolus* plants. *Photosynthetica* 34(2):179-193.
- Cooksey DA (1994) Molecular Mechanisms of Copper Resistance and Accumulation in Bacteria. *Fems Microbiology Reviews* 14: 381-386
- Cotelle S, Féraud JF. 1999. Comet assay in genetic ecotoxicology: A review. *Environ. Mol. Mutag.* 34(4):246-255.
- Couteux A., Lejeune V., (2006). *Index Phytosanitaire ACTA 2006*. 41eme

edition, ACTA, Paris.

- Cox RM, & TC Hutchinson. (1980). Multiple metal tolerances in the grass *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. from the Sudbury smelting area. *New Phytologist* 84, 631-647.
- Creus, C.M., Sueldo, R.J., Barassi, C.A., (1997). Shoot growth and water status in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 35, 939-944.
- Cross, J.V., Walklate, P.J., Murray, R.A., Richardson, G.M. (2001), *Crop Protection*, 20, 13.
- Csonka. L.N. (1989). Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 53:121-147
- Cuartero J., Fernandez-Munoz R., Tomato and salinity, *Scientia Hort.* 78 (1999) 83–125
- Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H. (2000). Biphasic effect of copper on the ascorbate-glutathione pathway in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* seedlings during the early stages of metal assimilation. *Physiol. Plant.* 110(4):512-517.
- Cuypers A. (2000). Phytotoxic concentrations of copper and zinc induce antioxidative defence in *Phaseolus vulgaris*, cv. Limburgse vroege : a comparative study. Limburgs universitair centrum, Diepenbeek, Belgium.
- Daniel Rojas-Tapias, Andrés Moreno-Galván, Sergio Pardo-Díaz, Melissa Obando, Diego Rivera, Ruth Bonilla (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.
- Dantas B. F., De S´aribeiro L., and Arag˜ao C. A, (2005) “Physiological response of cowpea seeds to salinity stress,” *Revista Brasileira. Professional*, London, 368pp.
- De Marco A, De Simone C, Raglione M, Lorenzoni P. (1995) . Influence of soil characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag.* 344(1-2):5-12.
- Debez a., Chaibi w., Bouzid S., (2001): Effet du NaCl et de r´egulateurs de croissance sur la germination d’*Atriplex halimus* L. *Cahiers d’Etudes et de Recherches Francophones/Agricultures*, Vol. 10, No. 2: 135- 138.
- Degrassi F, Rizzoni M. (1982). Micronucleus test in *Vicia faba* root tips to detect mutagen damage in fresh-water pollution. *Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj.* 97(1):19-33.
- Delphine, S., Alvino, A., Zacchini, M., Loreto, F., 1998. Consequences of salt stress on conductance to CO₂ diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 25,395–402.
- Demirevska-Kepova K, L Simova-Stoilova, Z Stoyanova, R Holzer, & U Feller.(2004). Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environmental and Experimental Botany* 52, 253-266.

- Devi, S.R. and M.N.V. Prasad (1998): Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Responses of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant Sci.*, 138, 157-165 .
- Dey R, Pal KK, Bhatt DM, Chauhan SM (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 159: 371-394.
- Dhamangaonkar Sachin. N and Pragati Misra (2009). Effect of *Azotobacter chroococcum* (PGPR) on the Growth of Bamboo (*Bambusa bamboo*) and Maize (*Zea mays*) Plants. *Biofrontiers* Vol.1, Issue 1, Pg: 24-31.
- Dilfuza Egamberdieva ; Gabriela Berg ; Kristina Lindström ; Leena A. Räsänen (2013) : Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of *Rhizobium* with root-colonizing *Pseudomonas*. *Plant Soil* 369:453 – 465.
- Dimkpa C.O., Merten D., Svatoš A., Büchel G. & Kothe E. (2009c) Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *Journal of Applied Microbiology*. doi:10.1111/j.1365-2672.04355.x
- Dimkpa CO, Merten D, Svatos A, Buchel G, Kothe E (2009b) Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. *Soil Biology & Biochemistry* 41: 154-162
- Dimkpa, C., Weinand, T., Asch, F., (2009a). Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* 32, 1682–1694.
- DJOUDI Abdelhak, (2012): *Pseudomonas* des sols salés de l’ouest Algérien, taxonomie et production des métabolites rares. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie.
- Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y (2003) Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 107-149
- Dos Santos WD, MDL Ferrarese, A Finger, ACN Teixeira, & O Ferrarese. (2004). Lignification and related enzymes in *Glycine max* root growth-inhibition by ferulic acid. *Journal of Chemical Ecology* 30, 1203-1212.
- Drążkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. (2004). Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. *BioMetals* 17(4):379-387.
- Duan C-Q, Hu B, Jiang X-H, Wen C-H, Wang Z, Wang Y-X. (1999). Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag.* 426(2):121-125.
- Duc G. (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Res.* 53:99-109.
- Duhoux E, Franche C (2003) Actinorhizal nodules of *Casuarina*. *Biofutur*: 45
- Duke ER, Johnson CR, Koch KE. (1986). Accumulation of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split-root citrus seedlings colonized with vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi on zero, one or two halves. *New Phytol*;104:583–90.

- Dumestre, A.; Sauve, S.; McBride, M.; Baveye, P.; Berthelin, J (1999). Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. *Arch. Environ. Con. Tox.*, 36, 124-131.
- Ebbs S. D., Lasat M. M., Brady D. J., Cornish J., Gordon R. and Kochian L. V., (1997). Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil.- *Journal of Environmental Quality.*, 26 : 1424-1430.
- Egamberdieva D, Kucharova Z, Davranov K, Berg G, Makarova N, Azarova T, Chebotar V, Tikhonovich I, Kamilova F, Validov S, Lugtenberg B (2010): Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biol Fert Soils* 47:197 – 205
- Egamberdieva D, Kucharova Z (2009) : Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol Fert Soils* 45:563 – 571.
- Egamberdiyeva D. (2007): The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology* 36, 184–189.
- Espinosa-Urgel, M., Kolter, R., Ramos, J.-L. (2002) Root colonization by *Pseudomonas putida*: love at first sight. *Microbiology* 148: 341-343.
- Evans HJ, Scott D. (1963). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics* 49:17-38.
- Evans LT. (1959). Environmental Control of Flowering in *Vicia faba* L. *Ann. Bot.* 23(4):521-546.
- F. E. Prado, C. Boero, M. Gallardo, and J. A. González, (2000) “Effect of NaCl on germination, growth, and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. seeds,” *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, vol. 41, no. 1, pp. 27–34,.
- FAO (2002) Crops and drops: making the best use of water for agriculture. FAO, Rome. Available from <http://www.fao.org/docrep/w5146e/w5146e0a.htm>
- FAO (2005) Salt-affected soils from sea water intrusion: strategies for rehabilitation and management. Report of the regional workshop, Bangkok, Thailand, p 62.
- Feng J., Barker A.V. (1992). Ethylene evolution and ammonium accumulation by tomato plants under water and salinity stresses, Part II, *J. Plant Nutr* 15 :2471–2490.
- Fernandes, J.C. and F.S. Henriques(1991): Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *Bot. Rev.* 57, 246-273.
- Ferrara G, Loffredo E, Senesi N. (2004). Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagen maleic hydrazide tested in leguminous plants. *Eur. J. Soil Sci.* 55(3):449-458.
- Ferret Claire, (2012) : Rôle des *Pseudomonas fluorescents* dans la biodisponibilité des métaux contaminant les minéraux du sol : application à la phytoremédiation. Thèse doctorant à l’Université De Strasbourg, Ecole Doctorale Des Sciences De La Vie Et De La Sante, Biotechnologies et Signalisation Cellulaire - UMR 7242.

- Foltete Anne-Sophie, (2010): Effets génotoxiques et systèmes de détoxication chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Université Paul Verlaine – Metz ,Laboratoire des Interactions Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystèmes,LIEBE UMR CNRS 7146.
- Fortmeier, R., Schubert, S., (1995). Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): the role of sodium exclusion. *Plant Cell Environ.* 18, 1041–1047.
- Franchin C, T Fossati, E Pasquini, G Lingua, S Castiglione, P Torrigiani & S Biondi. (2007). High concentrations of zinc and copper induce differential polyamine responses in micropropagated white poplar (*Populus alba*). *Physiologia Plantarum* 130, 77-90.
- 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 Qinglin Fu. *Agricultural Water Management*, 97 : 1994–2000.
- Fuentes D, KB Disante, A Valdecantos, J Cortina & VR Vallejo. (2007). Sensitivity of Mediterranean woody seedlings to copper, nickel and zinc. *Chemosphere* 66, 412-420.
- Galinski, E.A. (1995). Osmoadaptation in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 37: 273-328
- Gallais A, Bannerot H. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées:objectifs et critères de sélection. Paris: INRA.
- Gamble, T.N., Betlach, M. R. and Tiedje, J.M., (1977). Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 926-939.
- Garcia, M.G., O'Connor, J.E., Garcia, L.L., Martinez, S.I.,Herrero, E. and del Castillo, A.L., (2001). Isolation of a *Candida albicans* gene, tightly linked to URA3, coding for a putative transcription factor that suppresses a *Saccharomyces cerevisiae* aft1 mutation. *Yeast* 18: 301–311.
- GENOUX C., PUTZOLA F., MAURIN G., (1991): Thème général: la lagune méditerranéenne, TPE: Les plantes halophytes.
- Ghiglione, J.F., Gourbiere, F., Potier, P., Philippot, L. and Lensi, R., (2000). Role of respiratory nitrate reductase in ability of *Pseudomonas fluorescens* YT101 to colonize the rhizosphere of maize. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4012–4016.
- Gil Y. and Sinfort C., (2005). *Atmos. Environ.* 39, 5183.
- Gildon, A., Tinker, P.B., (1983). Interactions of vesiculararbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* 95, 247–261.
- Gill P. K., Sharma A. D., Singh P., and Bhullar S. S., (2003) “Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses,” *Plant Growth Regulation*, vol. 40, no. 2, pp. 157–162,.

- Giri B, Mukerji KG(2004). Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*;14:307–12.
- Glick B.R., D.M. Karaturovic and P.C. Newell. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 533-536.
- Glick B.R., Patten C.L., Holguin G., Penrose D.M. (1999), *Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria*, Imperial College Press, London,.
- Glick BR (2003) Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances* 21: 383-393
- Glick BR, Todorovic B, Czarny J, Cheng ZY, Duan J, McConkey B (2007) Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences* 26: 227-242
- Glick BR (1995) : The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-117
- Glick BR, Liu C, Ghosh S, Dumbrof EB (1997) Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biol Biochem* 29:1233 – 1239.
- Glick, B.R., Jacobson, C.B., Schwarze, M.M.K. and Pasternak, J.J., (1994). 1-Aminocyclopropane-l-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Can. J. Microbiol.* 40: 911-915.
- Glick, B.R., Penrose, D.M. and Li, J., (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190: 63-68.
- Glotfelty, D. E., Taylor, A. W., Turner, B.C., Zoller, W.H. (1984). *J. Agric. Food Chem*, 32, 638-643.
- Grant WF, Owens ET. (2001). Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutat. Res. - Rev. Mut. Res.* 488(2):93-118.
- Grattan S.R., Grieve C.M. (1999) Salinity–mineralnutrient relations in horticultural crops. *ScientiaHrticulturae*, 78, 127–157.
- Gravel V., Antoun H., Tweddell R.J. (2007), Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA), *Soil Biol.Biochem.* 39: 1968–1977.
- Gray EJ, Smith DL (2005) Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 395-412

- Gray TRG, Williams ST (1971) Microbial productivity in soil. In *Microbes and Biological productivity*, Eds D E Hughes and A H Rose, Cambridge, University Press, London, p 225
- Greenway, H., Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31, 149–190.
- Grichko, V.P. and Glick, B.R., (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 11-17.
- Guiraud J.P. (1998). -*Microbiologie alimentaire*. Danond, Paris, PP 85.
- Guo XM, D.K.Niu, YQ Liu, TZ Du, SZ Xiao & XH Ye. (2004). Vegetation restoration of different types of barren ecosystems in Jiangxi province. Pages 293-301 in S. P. M. Y.M. Luo, J. Japenga, F.J. Zhao, T. Edelman, B. Marschner, L. Newman and T. Vanek, editor. 2nd International Conference On Soil Pollution and Remediation, Nanjing, China.
- Gupta D.K., Rai U.N., Tripathi R.D., Inouhe M. (2003), Impact of flyash on soil and plant responses, *J. Plant Res.* 115: 401–409.
- Gupta M, Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H. (1999). Copper affects the enzymes of the ascorbate-glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.* 106(3):262-267.
- Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo FR, Talon M (2001) The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum* 111:206-211
- Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ, Poole PS (2002): Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil* 245: 83-93
- Haas, D., et C. Keel. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* 41: 117-153.
- Haber F, Weiss J. (1934). The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* 147(861):332-351.
- Haferburg G, Kothe E (2007) *Microbes and metals: interactions in the environment*. *Journal of Basic Microbiology* 47: 453-467
- Hallmann J, QuadtHallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW (1997) Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 895-914
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P (2004) Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* 2: 95-108
- Han H.S., Lee K.D. (2005a) Plant growth promoting Rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil

salinity. *Research Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 1, 210 – 215.

- Han H.S., Lee K.D. (2005b) Physiological responses of soybean inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions. *Research Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 1, 216 – 221.
- Hannauer M, Schafer M, Hoegy F, Gizzi P, Wehrung P, Mislin GLA, Budzikiewicz H, Schalk IJ (2012) Biosynthesis of the pyoverdine siderophore of *Pseudomonas aeruginosa* involves precursors with a myristic or a myristoleic acid chain. *FEBS Letters* 586: 96-101
- Hansel CM, Fendorf S, Sutton S, Newville M (2001) Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impacted aquatic plants. *Environmental Science & Technology* 35: 3863-3868
- Haouala F., Ferjani H., Ben El Hadj S. (2007): Effet de la salinité sur la répartition espèces ornementales. *Tropicultura*. Vol. 23 N°4, pp220-226.
- Hardoim PR, van Overbeek LS, van Elsas JD (2008) Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* 16: 463-471
- Hasnain S, Sabri AN (1996) Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under CR-stress by non-rhizospheric *Pseudomonas* strains. In: *Proceeding book of 7th International symposium on nitrogen fixation with non-legumes*. Faisalabad, Pakistan, p 36.
- Hayashi, H., Murata, N., 1998. Genetically engineered enhancement of salt tolerance in higher plants. In: Sato, K, Murata, N. (Ed.), *Stress Response of Photosynthetic Organisms: Molecular Mechanisms and Molecular Regulation*. Elsevier, Amsterdam, pp. 133–148.
- Heidari, M., Golpayegani, A., (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 11, 57–61.
- Hepper, C.M., (1979). Germination and growth of *Glomus caledonius* spores: the effects of inhibitors and nutrients. *Soil Biol. Biochem.* 11, 269–277.
- Hernandez, J., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F., 2000. Tolerance of pea plants (*Pisum sativum*) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ.* 23, 853–862.
- Hernandez, J.A., Campillo, A., Jimenez, A., Alacon, J.J., Sevilla, F., 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New Phytol.* 141, 241–251.
- Herzog H., (1984)- Relation of source and sink during grain filling period in wheat a some aspects of its regulation. *Physiol. Plant.*, 56, p. 155-160.
- Hopkins W G., (2003): *Physiologie végétale*. 2^{ème} édition. De Boeck, Bruscelles: 61-476.

- Hoque M.A., Hoque M.M., Ahmed M. (2007) Declining groundwater level and aquifer dewatering in Dhaka metropolitan area, Bangladesh: causes and quantification. *Hydrogeology Journal*, 15, 1523–1534.
- Hutchinson TC, & MS Symington. (1997). Persistence of metal stress in a forested ecosystem near Sudbury, 66 years after closure of the O'Donnell roast bed. *Journal of Geochemical Exploration* 58, 323-330.
- Ibrahim A.S.S., El-Tayeb M.A., Elbadawi Y.B., Al-Salamah A.A. (2011), Bioreduction of Cr (vi) by potent novel chromate resistant alkaliphilic *Bacillus* sp. Strain KSUCr5 isolated from hypersaline Soda lakes, *Afric. J. Biotechnol.* 10 :7207-7218.
- ICA (1995). The biological importance of copper, a literature review. Document Internet, http://environment.copper.org/e_review.htm, Lewis A.G. Ed., International Copper Association.
- ID EL MOUDEN OMAR, (2010): Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide /gaz. Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir, Université de Reims Champagne-Ardenne ;N° d'ordre : DR 09/2010 .
- Iidiko K., Galiba G. (2000) Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*, 40, 482–487.
- Inaba S & C Takenaka. (2005). Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of copper for lettuce sprouts. *Environment International* 31, 603-608.
- Iyengar, E.R.R., Reddy, M.P., 1996. Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. In: Pesserkali, M. (Ed.), *Handbook of photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, pp. 897–909.
- Jacobson C.B., Pasternak J.J., Glick B.R. (1994), Partial purification and characterization of ACC deaminase from the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2, *Can. J. Microbiol.* 40 :1019–1025.
- Jarausch-Wehrheim B., Mocquot B., Mench M., (1996). -Uptake and partitioning of sludge-borne copper infield-grown maize (*Zea mays* L.)- *European Journal of Agronomy*, 5 : 259-271.
- Jiang C.Y., Sheng X.F., Qian M., Wang Q.Y. (2008), Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil, *Chemosphere* 72: 157–164.
- Jiang, L.Y., Yang, X.E., He, Z.L., (2004). Growth response and phytoextraction of copper at different levels in soils by *Elsholtzia splendens*. *Chemosphere* 55, 1179–1187.
- Joseph B., Patra R.R., Lawrence R. (2007), Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Int. J. Plant Prod.* 2:141-152.

- Jouili H, El Ferjani E. (2003). Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess. *C. R. Biol.* 326(7):639-644.
- Jusaitis, M. (1986). Rooting of intact mung bean hypocotyls stimulated by auxin, ACC and low temperature. *Horticultural Science* 21: 1024-1025.
- Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M., Mocquot B., Feix I. and Wiart J., (1995). -Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines.-Ademe, Angers, 209pp.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H., (1992). Trace elements in soils and plants. 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, Florida, 365pp.
- Kavi, K.P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.R.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.* 88: 424–438.
- Kempf, B., et E. Bremer. (1998). Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.* 170: 319-330
- Kennedy, A. C., et L.Z. de Luna. (2004). Rhizosphere, p. 399-409. In D. Hillel, C. Rosenzweig, D. Powlson, K. Scow, M. Singer, D. Sparks (ed.), *Encyclopedia of soil in the environment*. Vol03. Columbia University, USA.
- Kennedy, B.F., De Fillippis, L.F., 1999. Physiological and oxidative response to NaCl of the salt tolerant *Grevillea ilicifolia* and the salt sensitive *Grevillea arenaria*. *J. Plant Physiol.* 155, 746–754.
- Khan, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S., Hayes, W.J., (2000). Role of plants, mycorrhizal and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41, 197–207.
- Khurana N, MV Singh & C Chatterjee. (2006). Copper stress alters physiology and deteriorates seed quality of rapeseed. *Journal of Plant Nutrition* 29, 93-101.
- King E.O., Ward M., Raney D.E., (1954)- Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein, *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307.
- Kochian LV, Hoekenga OA and Pineros MA (2004) How do crop plants tolerate acid soils? - Mechanisms of aluminium tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Reviews in Plant Biology* 55, 459–493
- Kohler J., Caravaca F., Carrasco L., Roldan A. (2006) Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilization and promotion of biological properties in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil Use and Management*, 22, 298–304.
- 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.

- Kolev N., (1976)- Cultures maraichères en Algérie. (I) FAO, p. 178-186.
- Koppen G, Verschaeve L. (1996). The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj.* 360(3):193-200.
- Kumar K.V., Srivastava S., Singh N., Behl H.M. (2009), Role of metal resistant plant growth promoting bacteria in ameliorating fly ash to the growth of *Brassica juncea*, *J. Hazard. Mater.* 170: 51–57.
- Kumar, K.V., Singh, N., Behl, H.M., Srivastava, S., (2008). Influence of plant growth promoting bacteria and its mutant on heavy metal toxicity in *Brassica juncea* grown in fly ash amended soil. *Chemosphere* 72, 678–683.
- Kumpiene, J.; Ore, S.; Renella, G.; Mench, M.; Maurice, C. (2005), Remediation of chromium, copper, and arsenic contaminated soil with zerovalent iron. 8th International conference on the biogeochemistry of trace elements, Adelaide, Australia.
- Kupper, H., F. Kupper and M. Spiller (1996): Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *J. Exp. Bot.*, 47, 275-280 .
- Kurban, H., Saneoka, H., Nehira, K., Adilla, R., Premachandra, G.S., Fujita, K., 1999. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). *Soil Sci. Plant Nutr.* 45, 851–862.
- Lachiheb K., Neffati M., ZID E., (2004): Aptitudes germinatives de certaines graminées halophytes spontanées de la Tunisie méridionale. *Options Méditerranéennes.* 62: 89-93.
- Landberg T, Greger M. (2002). Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of *Salix viminalis*. *J. Plant Physiol.* 159(1):69-75.
- Le Rudulier, D., K. Mandon., L. Dupont., et J.C. Trinchant. (2002). Salinity effects on physiology of soil microorganisms, p. 2774-2789. In G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*. AWiley-Interscience Publication. Canada.
- Le Minor L. et Véron M. (1989). -Bactériologie médicale, deuxième édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1107 p.
- Lee, G., Carrow, R.N., Duncan, R.R., Eiteman, M.A., Rieger, M.W., (2008). Synthesis of organic osmolytes and salt tolerance mechanisms in *Paspalum vaginatum*. *Environ. Exp. Bot.* 63, 19–27.
- Lemanceau P, Alabouvette C (1991) Biological-control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and nonpathogenic *Fusarium*. *Crop Protection* 10: 279-286
- Levigner A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomieu P., Fourcroy P., Casse-Delbart F., (1995): Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures.* 4 (4): 263-273.

- Lewis, S., Donkin, M.E., Depledge, M.H., (2001). Hsp70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. *Aquatic Toxicology* 51, 277 – 291.
- Lexmond Th., M. and van der Vorm P., D., J., (1981). -The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize.- *Neth. J. Agric. Sci.*, 29 : 217-238.
- Li YM, Chaney R, Brewer E, Rosenberg R, Angle SJ, Baker AJM, Reeves RD, Nelkin J (2003) Development of technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant Soil* 249:107–115
- Lin, C.C., Chen, L.M., Liu, Z.H., (2005). Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science* 168, 855-861.
- Liu, J., Z. Xiong, T. Li and H. Huang (2004): Bioaccumulation and ecophysiological responses to copper stress in two populations of *Rumex dentatus* L. from Cu contaminated and non-contaminated sites. *Environ. Exp. Bot.*, 52, 43-51.
- Longstreth, D.J., Nobel, P.S., 1979. Salinity effects on leaf anatomy. *Plant Physiol.* 63, 700–703.
- Loué, A. (1993). *Oligo-éléments en agriculture*. Ed. Nathan (ed), 45-177.
- Lu, C.M., Qiu, N.W., Lu, Q.T., Wang, B.S., Kuang, T.Y., 2002. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors?. *Plant Sci.* 163, 1063–1068.
- Lucht, J.M., et E. Bremer. (1994). Adaptation of *Escherichia coli* to high osmolarity environments : osmoregulation of the high-affinity glycine betaine transport system ProU. *FEMS Microbiol. Rev.* 14: 3-20
- Lucy M, Reed E, Glick BR (2004) Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 86: 1-25
- Lugtenberg BJJ, Dekkers L, Bloemberg GV (2001) Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology* 39: 461
- Lugtenberg B., Kamilova F. (2009) Plant growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556.
- Luttge U., Kluge M., BAUER G., (2002): *Botanique*. 3^{ème} édition, Tec et Doc-Lavoisier, Paris: 439- 450.
- Lyman, W. J., Reehl, W.F., Rosenblatt, D.H. (1990). *Handbook of Chemical Society*, Washington, DC.
- Ma Y., Prasad M.N.V., Rajkumar M., Freitas H., (2011) : Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils, *Biotechnol. Adv.* 29 : 248–258.
- Ma, Y., Rajkumar, M., Freitas, H., (2009). Inoculation of plant growth promoting

bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax10 for the improvement of copper phytoextraction by *Brassica juncea*. *J. Environ. Manage.* 90, 831–837.

- Madhaiyan M. , Poonguzhali S. , Ryu J. , Sa T. (2006), Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-containing *Methylobacterium fujisawaense*, *J. Planta* 224: 268–278.
- Madhaiyan M., Poonguzhali S., Sa T. (2007), Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.), *Chemosphere* 69 : 220–228.
- Magda M. Aly, Hameda El-Sayed Ahmed El Sayed, and Samyah Jastaniah (2012). Synergistic Effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. Isolated From Saline Soil on Seed Germination and Growth of Wheat Plant. *J Am Sci*;8(5):667-676]. (ISSN: 1545-1003).
- Mahmood S, A Hussain, Z Saeed & M Athar. (2005). Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* l.) under varying levels of copper and zinc. *International Journal of Environmental Science and Technologies* 2, 269-274.
- Mäkelä, P., Kärkkäinen, J., Somersalo, S., (2000). Effect of glycinebetaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity. *Biol. Plant* 43, 471–475.
- Maksymiec, W. (1997): Effect of copper in higher plants. *Photosynthetica*, 34, 321-342 .
- Malan ML & JM Farrant. (1998). Effects of the metal pollutants Cadmium and Nickel on Soybean seed development. *Seed science research* 8, 445-453.
- Marcato-Romain C-E, Guisresse M, Cecchi M, Cotelle S, Pinelli E. (2009). New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test. *Chemosphere* 77(3):345-350.
- Marlière F., (2001). Pesticides dans l’air ambiant. Rapport INERIS DRC 01 – 27138 – AIRE n°801- FMr.
- Marschner H.(1995). Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, Academic Press, 889pp.
- Marschner H (1991) Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil* 134, 1–20
- Matthieu Nicolas BRAVIN , (2008): Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le ble dur cultivé en sols à antécédent viticole. Thèse doctorant, Centre International D’études Supérieures En Sciences Agronomiques (Montpellier SupAgro)
- Mayak S, Tirosh T, Glick BR (2004a) Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci* 166:525 – 530.
- Mayak S., Tirosh T., Glick B.R. (2004b) Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 565 – 572.

- Maysaloun , (2008) : Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. l'Institut National Polytechnique de Toulouse.
- McGrath SP, Zhao FJ, Lombi E (2002) Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *Advances in Agronomy*, 75: 1-56
- McLaughlin MJ, Smolders E, Merckx R. (1998). Soil-root interface: physicochemical processes. In *Soil Chemistry and Ecosystem Health*. Special Publication no 52. pp. 233-277. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
- Mench M, J Vangonsveld, N Lepp, A Ruttens, P Bleeker & W Geebelen. (2003). Use of soil amendments to attenuate trace element exposure: sustainability, side effects and failures. in R. H. M. McLaughlin, editor. *Natural attenuation of trace element availability in soils*. SETAC Publications.
- Meyer JM, Abdallah MA (1978). The florescent pigment of *Pseudomonas fluorescens* Biosynthesis, purification and physical-chemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107: 319-328.
- Mezaache Samia, (2012): Localisation des determinants de la suppression de quelques souches de pseudomonas isolees de la rhizosphere de la pomme de terre. Thèse doctorant à l'Université Ferhat ABBAS Sétif , Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Michaud A M, Chappellaz C and Hinsinger P (2008) : Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant and Soil* 310, 151-165.
- Michaud AM, MN Bravin, M Galleguillos & P Hinsinger. (2007). Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant and Soil* 298, 99-111.
- Mihoub A, A Chaoui & EE Ferjani. (2005). Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). *Comptes Rendus Biologies* 328, 33-41.
- Miller, G., Stein, H., Honing, A, Kapulnik, Y. and Zilberstein, A. (2005) Responsive modes of *Medicago sativa* proline dehydrogenase genes during salt and recovery dictate free proline accumulation. *Planta* 222: 70–79.
- Mitchell G., A., Bingham F. T., Page A. L., (1978). -Yield and metal composition of lettuce and wheat grown on soils amended with sewage sludge enriched with cadmium, copper, nickel and zinc.- *Journal of Environmental Quality*, 7 : 165-171.
- Mitsuya, S., Takeoka, Y., Miyake, H., 2000. Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) plantlets grown under light and dark conditions in vitro. *J. Plant Physiol.* 157, 661–667.

- MoE (Ministry of Environment in Lebanon), (2001). State of the Environment Report, MoE-UNDP-ECODIT, chapitre 2.
- Moore, E.R.B., B.J. Tindall, V.A.P. Martins Dos Santos, D.H. Pieper, J.L. Ramos, et N.J. Palleroni. (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA.
- Morris CE, Monier JM (2003) The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 41: 429-453
- Munns R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.*;25(2):230-250.
- Munns, R., Termatt, A., 1986. Whole plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 13, 143–160.
- Munns, R., Tester, M., (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*59, 651–681.
- Murkute AA, Sharma S, Singh SK (2006). Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Hortic Sci*;33:70–6.
- Murkute AA, Sharma S, Singh SK, Patel VB. (2009) Response of mycorrhizal citrus rootstock plantlets to salt stress. *Indian J Hortic*;66:456–60.
- Nadeem, S.M., Z.A. Zahir, M. Naveed, M. Arshad and S.M. Shahzad. (2006). Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. *Soil and Environment* 25: 78-84.
- Nadiya Amkraz, (2013). Utilisation des *Pseudomonas* spp. fluorescents et des plantes aromatiques et médicinales contre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agent du chancre bactérien de la tomate. Université d’Ibn Zaher, Faculté des sciences.
- NOURI Tayeb, (2012): La réponse de la fève *Vicia faba* L. au stress salin, cas d’un sol sableux amendé en bentonite. Thèse magister , Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie.
- Nowack B, Schulin R, Luster J. (2010). Metal fractionation in a contaminated soil after reforestation: Temporal changes versus spatial variability. *Environ. Pollut.* 158(10):3272-3278.
- O’Donell P.J., Calvert C., Atzorn R., Wasternack C., Leyser H.M.O., Bowles D.J. (1996), Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants, *Science* 274: 1914–1917.
- OIV-ONIVINS, 1995. Pays producteurs du vin. *Vini*.
- Oncel, I., Keles, Y., Ustun, A.S., (2000). Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. *Environ. Pollut.* 107, 315-320.
- Orcutt D.M. and Nilsen E.T. (2000), *Physiology of Plants Under Stress*, John Wiley & Sons, New York, NY, USA,.

- Oren, A. (1999). Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiol. Mol. Boil. Rev.* 63: 334-348
- Ouariti O, Boussama N, Zarrouk M, Cherif A, Habib Ghorbal M. (1997). Cadmium- and copper-induced changes in tomato membrane lipids. *Phytochemistry* 45(7):1343-1350.
- Oves, M., Khan, M. S., & Zaidi., A. (2013). Chromium reducing and plant growth promoting novel strain *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 enhance chickpea growth in chromium amended soils. *European Journal of Soil Biology* 56 : 72-83.
- Padilla E. G., Lopez Sanchez R. C., Eichler-Loebermann B., Fernandez-Pascual M., Barrero K. T., and L. A. Martinez, (2009) :“Salt stress affects on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) varieties at different growing stages, ”in Conference of International Research on Food Security, National Resource Management and Rural Development, University of Hamburg,.
- Pal SS (1998) Interactions of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant and Soil* 198: 169-177
- Palleroni, N.J., (2005). Genus I. *Pseudomonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. (Eds.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. Part B: The Proteobacteria*. Springer, New York, pp. 323–379.
- Palleroni, N.J., (2008) . The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.
- Palleroni, N.J., (1984). Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.
- Parida A., Das A.B., Das P. (2002): NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera arviiflora*, in hydroponic cultures. *J. Plant Biol.* 45, 28–36.
- Parida A.K., Das A.B. (2005): Salt tolerance and salinity effect on plants: review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol.60, pp. 324-349.
- Pätsikkä E, Kairavuo M, Sersen F, Aro E-M, Tyystjärvi E. (2002). Excess Copper Predisposes Photosystem II to Photoinhibition in Vivo by Outcompeting Iron and Causing Decrease in Leaf Chlorophyll. *Plant Physiol.* 129(3):1359-1367.
- Patten C.L., Glick B.R. (2002b), Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 : 3795-3801.
- Patten, C.L. and Glick, B.R., (2002a). Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48: 635-642.

- Pawlowski K, Bisseling T (1996): Rhizobial and actinorhizal symbioses: What are the shared features? *Plant Cell* 8: 1899-1913
- Peix, A., Ramírez-Bahena, M.H. and Velázquez, E., (2009). Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. *Infect. Genet. Evolution*, 9: 1132–1147.
- Peng, Y.-L., Gao, Z.-W., Gao, Y., Liu, G.-F., Sheng, L.-X., Wang, D.-L., (2008). Ecophysiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt-alkaline stresses. *Journal of Integrative Plant Biology* 50 (1), 29-39.
- Penrose, D.M. and B.R. Glick. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Physiology* 118:
- Perry J.J., Janes T.S. et Stephen L. (2004). -Microbiologie, cours et questions de révision, Ed, Dunod, PP, 431-432.
- Philippot, L., Clays-Josserand, A. and Lensi, R., (1995). Use of Tn5 mutants to assess the role of the dissimilatory nitrite reductase in the competitive abilities of two *Pseudomonas* strains in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1426–1430.
- Pilet Ch., Bourdon J.L., Toma B. et Marchal N. (1986). -Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne, PP, 190-191.
- Pillay VK, Nowak J (1997) Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 354-361
- Ping LY, Boland W (2004) Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Sciences* 9: 263-266
- PIRI K., ANCEAU C., EL JAAFARI S., LEPOIVRE P., SEMAL J., (1994): Sélection in vitro de plantes androgénétiques de blé tendre résistantes à la salinité. L'amélioration des Plantes. Ed. AUPELF-UREF, Paris: 311- 320.
- Pocard J.A., L.T. Smith, G.M. Smith, et D. Le Rudulier. (1994). A prominent role for glucosylglycerol in the adaptation of *Pseudomonas mendocina* SKB70 to osmotic stress. *J. Bacteriol.* 176: 6877–6884
- Prasad MNV, Freitas H, Fraenzle S, Wuenschmann S, Markert B (2010) Knowledge explosion in phytotechnologies for environmental solutions. *Environmental Pollution* 158:18-23
- Prasad, M.N.V., (1999). Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems. Springer- Verlag, Berlin-Heidelberg, 462 pp.
- Prasad, M.N.V., Drej, K., Skawinska, A., Skawinska, K., (1998). Toxicity of cadmium and copper in *Chlamydomonas reinhardtii* wild-type (WT2137) and cell wall deficient mutant strain (CW15). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 306-311.

- Prasad, M.N.V., Malec, P., Waloszek, A., Bojko, M., Strzalka, K., (2001). Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (Duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Sci.* 161, 881-889.
- Puente M., Holguin G., Glick B., Bashan Y. (1999), Root-surface colonization of black mangrove seedlings by *Azospirillum halopraeferens* and *Azospirillum brasilense* in seawater. *FEEMS Microbiol. Ecol.* 29 : 283-292.
- Puig S, Andres-Colas N, Garcia-Molina A and Penarrubia L (2007): Copper and iron homeostasis in *Arabidopsis*: responses to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. *Plant, Cell and Environment* 30, 271-290.
- Qinglin Fu , Chen Liu, Nengfei Ding, Yicheng Lin, Bin Guo(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. *Agricultural Water Management* 97 : 1994–2000.
- RABHI Nour El Houda, (2011) : Isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF , Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Microbiologie
- Rabie G.H., Almadini A.M. (2005) : Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 4, 210 – 222.
- Rabie GH, Aboul-Nasr MB, Al-Humiany A (2005): Increase salinity tolerance of cowpea plants by dual inoculation of AM fungus *Glomus clarum* and nitrogen-fixer *Azospirillum brasilense*. *Mycobiol* 33(1):51 – 61.
- Radetski CM, Ferrari B, Cotelle S, Masfaraud JF, Ferard JF. (2004). Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. *Sci. Total Environ.* 333(1-3):209-216.
- Rajkumar M, Ae N, Prasad MNV, Freitas H (2010) : Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology* 28: 142-149
- Rajkumar M., Nagendran R., Lee K.J., Lee W.H., Kim S.Z. (2006), Influence of plant growth promoting bacteria and Cr 6+ on the growth of Indian mustard, *Chemosphere* 62 : 741–748.
- Rajkumar, M et Freitas, H. (2008) : Sequential extraction of copper , lead, cadmium and zinc in sediments from Ebro river (Spain) : Relationship with levels detected in earthworms. *Bulletin of environmental contamination and toxicologie*, 62, 301-308.
- Ralph, P.J. and M.D. Burchett(1998): Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environ. Pollut.*, 113, 91-101 .
- Ranjard L, Lignier L and Chaussod R (2006) : Cumulative effects of short-term polymetal contamination on soil bacterial community structure. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 1684–1687

- Ratnikov AN, DG Sviridenko, TL Zhigareva & GI Popova. (2005). Effects of heavy metals and organic fertilisers on a biological activity of soddy-podzolic soil and yield of barley. In H.-K. Galazka, editor. Current developments in remediation of contaminated lands, Pulawy, Poland.
- Reed, M., Warner, B. G., & Glick, B. R. (2005). Plant Growth–Promoting Bacteria Facilitate the Growth of the Common Reed *Phragmites australis* in the Presence of Copper or Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *CURRENT MICROBIOLOGY* Vol. 51 (2005), pp. 425–429.
- REJILI M., VADEL M A., NEFFATP M., (2006): Comportements germinatifs de deux populations de *Lotus creticus* (L.) en présence du NaCl. *Revue des Régions Arides*, Vol. 17, N°.1 : 65- 78.
- Rengel Z (1996) Tansley review no 89 - Uptake of aluminium by plant cells. *New Phytologist* 134, 389–406
- Reuter DJ, Robinson JB. (1997). *Plant analysis : an interpretation manual*. CSIRO publishing, Australia, 572pp.
- Rodolphe GILBIN, (2001): Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires : spéciation, biodisponibilité et toxicité. Exemple du cuivre dans les eaux de ruissellement de parcelles viticoles (Roujan, Hérault, France). Université de Genève, Faculté des sciences ,Thèse N° 3315.
- Romeroaranda, R., Soria, T., Cuartero, J., 2001. Tomato plant—water uptake and plant–water relationships under saline growth conditions. *Plant Sci.* 160, 265–272.
- Rosenblueth M, Martinez-Romero E (2006): Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 827-837
- Rossignol Gaëlle, (2007): Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens* : Activité hémolytique et variation phénotypique. thèse doctorant, Université de Rouen, Ecole doctorale Normande de Chimie – Biologie,
- Rozema J. (1975) , The influence of salinity, inundation and temperature on the germination of some halophytes and non-halophytes. *Oecol. Plant* 10: 341-345.
- Rüdell H., (1997). *Chemosphere*, 35,143-152.
- Rueda-Puente, E. O. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria and mycorrhizal on *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* ([Dierbach] D'Arcy and Eshbaugh) germination under stressing abiotic conditions . *ScienceDirect*.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN (2008) Bacterial endophytes: recent developments and applications. *Fems Microbiology Letters* 278: 1-9
- Salemaa M & T Uotila. (2001). Seed bank composition and seedling survival in forest soil polluted with heavy metals. *Basic and Applied Ecology* 2, 251-263.

- Salisbury, F.B., (1994). The Role of Plant Hormones. In: Plant-Environment Interactions. Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA., pp. 39-81.
- Sandhya, V., S.K.Z. Ali, M. Grover, G. Reddy, et B. Venkateswarlu. (2009). Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biol. Fertil. Soils.* 46: 17-26.
- Sang N, Li G. (2004). Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag.* 560(2):159-165.
- Santibanez C, Verdugo C and Ginocchio R (2008): Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: Implications for metal uptake and productivity of *Lolium perenne*. *Science of the Total Environment* 395, 1-10.
- Sauvé S, McBride MB, Norvell WA, Henderson WH. (1997). Copper Solubility and Speciation of In Situ Contaminated Soils: Effects of Copper Level, pH and Organic Matter. *Water, Air, Soil Pollut.* 100 (1):133-149.
- Schulz B, Boyle C (2006) What are endophytes? *Soil Biology* 9: 1-13
- Scott JA, Palmer SJ (1990) Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption. *Applied Microbiology and Biotechnology* 33: 221-225
- Sentenac H. and Grignon C., (1981). -A model predicting ionic equilibrium concentrations in cell walls.- *Plant Physiology*, 68 : 415-419.
- Shabala, S., Cuin, T.A., (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol.Plant.* 133, 651–669.
- Shah, S., Li, J., Moffatt, B.A. and Glick, B.R., (1998). Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 44: 833-843.
- Shaharoon, B., M. Arshad and Z.A. Zahir. (2006). Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Letters in Applied Microbiology* 42: 155-159.
- Shainberg, O., B. Rubín, H.D. Rabinowitch and E. Tel-Or (2001): Loading beans with sublethal levels of copper enhances conditioning to oxidative stress. *J. Plant Physiol.*, 158, 1415-1421 .
- Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S., (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31, 739 – 753.
- Shannon, M.C., (1997). Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy* 60, 75-120.
- Shaukat et al. (2006) Growth response of *triticum aestivum* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizers. *Research Journal of Microbiology* (4); 330-338.
- Sheldon AR & NW Menzies. (2005). The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. *Plant and Soil* 278, 341-349.

- Sheng M, Tang M, Chen H, Yang B, Zhang F, Huang Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*;18:287–296.
- Shiferaw Demissie; Diriba Muleta ; Gezahegn Bercha (2013) : effect of phosphate solubilizing Bacteria on seed germination and seedlings growth of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *International Journal of Agricultural Research* 8(3): 123-136,2013.
- Simmons, J. A.; Currie, W. S.; Eshleman, K. N.; Kuers, K.; Monteleone, S.; Negley, T. L.; Pohlad, B. R.; Thomas, C. L. (2008): Forest to reclaimed mine land use change leads to altered ecosystem structure and function. *Ecol. Appl.*, 18, 104-118.
- Sims, J. T. (1986) . Soil pH effects on the distribution and plant availability of manganese, copper and zinc. *Soil Science Society of American Journal*, 50, 367-373.
- Singh S.C., Sinha R.P., Hader D.P. (2002) -Role of lipids and fatty acids in stress increasing salt stress. *New Phytologist* 158 : p. 455–463.
- Singh, Dharam, K. Nath and Y.K. Sharma(2007): Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress. *J. Environ. Biol.*, 28, 409-414.
- Singleton PW, Bohlool BB (1984) Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiol* 74:72 – 76.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., Eris, A., (2003). The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. *Sci. Hortic.* 97, 229–237.
- Sleator, R.D., et C. Hill. (2001). Bacterial osmoadaptation : the role of osmolytes bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 26: 49-71
- Smalle J., Van der Straeten D. (1997), Ethylene and vegetative development, *Physiol. Plant.* 100: 593–605.
- Souguir D, Ferjani E, Ledoigt G, Goupil P. (2008). Exposure of *Vicia faba* and *Pisum sativum* to copper-induced genotoxicity. *Protoplasma* 233(3):203-207.
- Srivastava TP, Gupta SC, Lal P, Muralia PN, Kumar A. (1988). Effect of salt stress on physiological and biochemical parameters of wheat. *Ann Arid Zone*;27:197–204.
- Srivastava, S., Verma, P. C., Chaudhry, V., Singh, N., Abhilash, P., Kumar, K. V., et al. (2012). Influence of inoculation of arsenic-resistant *Staphylococcus arlettae* on growth and arsenic uptake in *Brassica juncea* (L.) Czern. Var. R-46. *Journal of Hazardous Materials* 262 : 1039–1047.
- Stefan, M., & al. (2012). Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Scientia Horticulturae* 151 : 22–29.
- Steinkellner H, Mun-Sik K, Helma C, Ecker S, Ma T-H, Horak O, Kundi M, Knasmüller S. (1998). Genotoxic effects of heavy metals: Comparative investigation with plant bioassays. *Environ. Mol. Mutag.* 31(2):183-191.
- Steward C. R. (1981), “Proline accumulation: biochemical aspects,” in *The*

Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants, L. G. Paleg and D. Aspinall, Eds., Academic Press, Adelaide, Australia,.

- Stewart, M., (1988). Computer image processing of electron micrographs of biological structures with helical symmetry. *J. Electron. Microsc. Tech.* 9(4):325-358.
- Stork, A., Witte, R., Führ, F. 1994, *Environmental Science & Pollution Research*, 1, 234.
- Taghavi S, Garafola C, Monchy S, Newman L, Hoffman A, Weyens N, Barac T, Vangronsveld J, van der Lelie D (2009) Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 748-757
- Tamietti G, Pramotton R. (1990). La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: rapports entre résistance et microflore autochtone avec référence particulière aux *Fusarium* non pathogènes. *Agronomie* 10: 69–76.
- Tanyolac, D., Y. Ekmekci, S. Unalan(2007) : Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. *Chemosphere*, 67, 89-98 .
- Tavakkoli E., Fatehi F., Coventry S., Rengasamy P., and McDonald G. K. (2011), “Additive effect so Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress,” *Journal of Experimental Botany*, vol. 62, no. 6, pp. 2189–2203,.
- Temminghoff EJM, Van der Zee SEATM, de Haan FAM. (1997). Copper Mobility in a Copper-Contaminated Sandy Soil as Affected by pH and Solid and Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 31(4):1109-1115.
- Teng Y, YM Luo, CH Huang, J Long, ZG Li & P Christie. (2008). Tolerance of grasses to heavy metals and microbial functional diversity in soils contaminated with copper mine tailings. *Pedosphere* 18, 363-370.
- Thiam, M., Champion, A., Diouf, D., & SY., M. O. (2013). NaCl Effects on In Vitro Germination and Growth of Some Senegalese Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Cultivars. *ISRN Biotechnology*, Volume 2013, Article ID 382417, 11 pages.
- Thomé OW. (1885). *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* Gera, Germany.
- Timmusk S., Wagner E.G.H. (1999) The plant growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression. *Plant-Microbe Interactions*, 12, 951 – 959.
- Trevors JT, Stratton GW, Gadd GM (1986) Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae, and fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 32: 447-464
- Tripathi, A.K., Mishra, B.M., Tripathi, P.,(1998). Salinity stress response in the plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* spp. *Journal of Bioscience* 23 (4), 463-471.

- Upadhyay RK, Panda SK. (2009). Copper-induced growth inhibition, oxidative stress and ultrastructural alterations in freshly grown water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *C. R. Biol.* 332(7):623-632.
- Upadhyay S.K., Singh J.S., Singh D.P. (2011b) Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria salinity condition. *Pedosphere*, 21, 214–222.
- Upadhyay, S. K., & Singh, D. P. (2014). Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. *Plant Biology* ISSN 1435-8603.
- Upadhyay, S. K., Singh, J. S., Saxena, A. K., & Singh, D. P. (2011a). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biology* ISSN 1435-8603.
- Uren, N. C. (2007). Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants, p. 1-15. In R. Pinton, Z. Varanini, et P. Nannipieri (ed.), *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press, New York.
- Van Der Werf H.M.G., (1996), *Agriculture Ecosystems and Environment*, 60, 81.
- Van Veen J.A., Van Overbeek L.S. et Van Elsas J.D. (1997). -Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 121–135
- Vanrhijn P, Vanderleyden J (1995). The rhizobium-plant symbiosis. *Microbiological Reviews* 59: 124-142
- Venekamp J. H., (1989). “Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought,” *Physiologia Plantarum*, vol.76,no.1,pp.112–117,.
- Véron M., (1989). *Pseudomonaceae. Bactériologie médicale, deuxième édition*, Flammarion Médecine-Sciences : 1107.
- Vessey JK (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586
- Vidali M (2001) Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry* 73: 1163-1172
- Vidhyasekaran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N. and Vasumathi, K. (1997). Development of powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. *Plant Pathology*, 46: 291-297.
- Vidic, T.; Jogan, N.; Drobne, D.; Vihlar, B. (2006). Natural revegetation in the vicinity of the former lead smelter in Zerjav, Slovenia. *Environ Sci Technol.* 40: 4119-4125;.
- Vinit-Dunand F, D Epron, B Alaoui-Sosse, & PM Badot. (2002). Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science* 163, 53-58.
- Vulkan R, Zhao FJ, Barbosa-Jefferson V, Preston S, Paton GI and McGrath SP (2000) Copper speciation and impacts on bacterial biosensors in the pore water of

copper-contaminated soils. *Environmental Science and Technology* 34, 5115–5121

- Walker TS, Bais HP, Deziel E, Schweizer HP, Rahme LG, Fall R, Vivanco JM (2004) *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation. *Plant Physiology* 134: 320-331
- Walker TS., H.P. Bais, E. Grotewold, et J.M. Vivanco. (2003). Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiol.* 132: 44-5.
- Walker-Simmons MK, Sesing J (1990) Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation* 9: 51-56
- Wang S-H, Yang Z-M, Yang H, Lu B, Li S-Q, Lu Y-P. (2004). Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45:203-212.
- Wang YP, QB Li, JY Shi, Q Lin, XC Chen, W Wu, & YX Chen. (2008). Assessment of microbial activity and bacterial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and non-accumulator. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 1167-1177.
- 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.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A., (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1–14.
- Wani P.A. , Khan M.S. , Zaidi A. (2008) , Effect of heavy metal toxicity on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake in pea grown in metal amended soil, *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 81 : 152-158.
- Wani P.A., Khan M.S., Zaidi A. (2007b). Chromium reduction, plant growth promoting potentials and metal solubilization by *Bacillus* sp. isolated from alluvial soil, *Curr. Microbiol.* 54: 237-243.
- Wani P.A., Khan M.S., Zaidi A.(2012), Toxic effects of heavy metals on germination and physiological processes of plants, in: M.S. Khan, A. Zaidi, P.A. Wani (Eds.), *Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation*, Springer Wien, New York, pp. 45-66.
- Wani, P.A. ; Khan, M S et Zaidi, A. (2007a). Effect of metal tolerant plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. (*vigna*) on growth symbiosis , seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere*, 70, 36-45.
- Wheeler DM and Power IL (1995) . Comparison of plant uptake and plant toxicity of various ions in wheat. *Plant Soil* 172, 167–173.
- Wheeler DM, Power IL and Edmeades DC (1993) . Effect of various metal ions on growth of two wheat lines known to differ in aluminium tolerance. *Plant and Soil* 155/156, 489–492

- Whiteley GM, & S Williams. (1993). Effects of treatment of metalliferous mine spoil with lignite derived humic substances on the growth-responses of metal tolerant and nonmetal tolerant cultivars of *Agrostis capillaris* L. *Soil Technology* 6, 163-171.
- Wilkinson J.Q., Lanahan M.B., Yen H.C., Giovannoni J.J., Klee H.J. (1995), An ethylene inducible component of signal transduction encoded by never-ripe, *Science* 270: 1807–1809.
- Wong, M. H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. 50: 775-780.
- Woolhouse H.W. (1983), Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals, in: O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, vol. 2C: *Physiological Plant Ecology III*, Springer Verlag, , pp. 245–300.
- Woolhouse HW and Walkers S (1981). The physiological basis of copper toxicity and copper tolerance in higher plants. In: *Copper in soils and plants* (Loneragan JF, Robson AD & Graham RD Eds), Academic Press, pp. 235–262
- Wu J.L., Seliskar D.M., Gallagher J.L. (1998). Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition. *Physiol. Plant.* 102, 307–317.
- Wu QS, Zou YN, He XH (2010a). Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. *Acta Physiol Plant*; 32:297–304.
- Wu QS, Zou YN, Liu W, Ye XF, Zai HF, Zhao LJ. (2010b). Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with mycorrhiza: changes in leaf antioxidant defense systems. *Plant Soil Environ*;56:470–5.
- Xiong, Z-T., C. Liu and B. Geng (2006): Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64, 273-280 .
- Yancey, P.H., M.E. Clark, S.C. Hand, R. D. Bomlus, et G.N. Somero. (1982). Living with water stress : evolution of osmolyte system. *Science*. 21: 1214-1222
- Yang J., Kloepper J.W. , Ryu C.M. (2009b) , Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14: 1-4.
- Yang X, Feng Y, He ZL, Stoffella PJ (2005) Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 339-353
- Yang, C.W., Xu, H.H., Wang, L.L., Liu, J., Shi, D.C., Wang, G.D., (2009a). Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica* 47 (1),79-86.

- Yao, L. (2009). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. ScienceDirect.
- Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., Li, C., (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. Eur. J. Soil Biol. 46,49–54.
- Yildirim E, Taylor AG (2005) Effect of biological treatments on growth of bean plants under salt stress. Ann Rep Bean Improv Coop 48:176 – 177.
- Yildiz M, Cigerci IH, Konuk M, Fatih Fidan A, Terzi H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. Chemosphere 75(7):934-938.
- Yruela, I., Pueyo, J.J., Alonso, P.J., Picorel, R., (1996). Photoinhibition of photosystem from higher plants: Effects of copper inhibition. Journal of Biological Chemistry 271, 27408 e 27415.
- Yue H., Mo W., Li C., Zheng Y., Li H. (2007) The salt stress relief and growth promotion effect of Rs-5 on cotton. Plant and Soil, 297, 139–145.
- Zahir A.Z., Arshad M., Frankenberger W.T. Jr (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81, 97 – 168.
- Zahran, H.H. (1997). Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. Biol. Fertil. Soils. 25: 211-223
- Zaidi S, Usmani S, Singh BR, Musarrat J (2006) Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. Chemosphere 64: 991-997
- Zarea M.J., Hajinia S., Karimi N., Mohammadi Goltapeh E., Rejali F., Varma A. (2012): Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biology & Biochemistry 45: 139-146.
- Zengin, F. K., & Kirbag, S. (2007). Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. Journal of Environmental Biology. 28(3) 561-566.
- Zhang, H., Kim, M.-S., Sun, Y., Dowd, S.E., Shi, H., Paré, P.W., (2008a). Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. Mol. Plant Microbe Interact. 21, 737–744.
- Zhang, L. P., Mehta, S. K., Liu, Z. P., & Yang, a. Z. (2008b). Copper-Induced Proline Synthesis is Associated with Nitric Oxide Generation in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Cell Physiol. 49(3): 411–419.
- Zheng Y.Y., Yue H.T., Li C. (2008), Physiochemical characters and ability to promote cotton germination of bacteria strains Rs-5 and Rs-198 under salt stress. Scientia Agric. Sin. 41: 1326-1332.
- Zou YN, Wu QS. (2011). Sodium chloride stress induced changes in leaf osmotic

adjustment of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings inoculated with mycorrhizal fungi. *Not Bot Horti Agrobot*; 39:64–9.

- Zuccarini, P., (2007). Mycorrhizal infection ameliorates chlorophyll content and nutrient uptake of lettuce exposed to saline irrigation. *Plant Soil Environ*. 53: 283–289.

Annexe 1

Tableau I: Les espèces appartenant actuellement au genre *Pseudomonas* (d'après Euzeby, 2008 in Peix et al., 2009). a: espèces incluses dans le *Bergey's Manual* (Palleroni, 2005); b: espèces décrites après la publication du *Bergey's Manual* (2005) ; c: espèces décrites avant la publication du *Bergey's Manual* (2005) qui n'ont pas été incluses dans cette édition mais dont les noms sont validés (d'après Euzeby, 2008 in Peix et al., 2009).

<i>P. abietaniphila</i> ^a	<i>P. cuatrocieneegasensis</i> ^b	<i>P. mandelii</i> ^a	<i>P. pseudoaicaligenes</i> ^a
<i>P. aeruginosa</i> ^a	<i>P. delhiensis</i> ^b	<i>P. marginalis</i> ^a	<i>P. psychrophila</i> ^b
<i>P. agarici</i> ^a	<i>P. duriflava</i> ^b	<i>P. marincola</i> ^b	<i>P. psychrotolerans</i> ^b
<i>P. alcaligenes</i> ^a	<i>P. extremorientalis</i> ^b	<i>P. mediterranea</i> ^c	<i>P. putida</i> ^a
<i>P. alcaliphila</i> ^b	<i>P. ficuserectae</i> ^a	<i>P. meliae</i> ^a	<i>P. reinekei</i> ^b
<i>P. amygdali</i> ^a	<i>P. flavescens</i> ^a	<i>P. mendocina</i> ^a	<i>P. resinovorans</i> ^a
<i>P. anguilliseptica</i> ^a	<i>P. flectens</i> ^a	<i>P. meridiana</i> ^c	<i>P. rhizosphaerae</i> ^b
<i>P. antarctica</i> ^b	<i>P. fluorescens</i> ^a	<i>P. migulae</i> ^a	<i>P. rhodesiae</i> ^a
<i>P. argentinensis</i> ^b	<i>P. fragi</i> ^a	<i>P. mohnii</i> ^b	<i>P. sabulinigri</i> ^b
<i>P. asplenii</i> ^a	<i>P. frederiksbergensis</i> ^b	<i>P. monteilii</i> ^a	<i>P. salomonii</i> ^b
<i>P. avellanae</i> ^a	<i>P. fulva</i> ^a	<i>P. moorei</i> ^b	<i>P. savastanoi</i> ^a
<i>P. azotifigens</i> ^b	<i>P. fuscovaginae</i> ^a	<i>P. moraviensis</i> ^b	<i>P. segetis</i> ^b
<i>P. azotoformans</i> ^a	<i>P. gelidicola</i> ^c	<i>P. mosselii</i> ^b	<i>P. simiae</i> ^b
<i>P. balearica</i> ^a	<i>P. geniculata</i> ^c	<i>P. mucidolens</i> ^a	<i>P. straminea</i> ^a
<i>P. betelii</i> ^c	<i>P. gessardii</i> ^a	<i>P. multiresinivorans</i> ^a	<i>P. stutzeri</i> ^a
<i>P. borborii</i> ^b	<i>P. graminis</i> ^a	<i>P. nitroreducens</i> ^a	<i>P. synxantha</i> ^a
<i>P. boreopolis</i> ^b	<i>P. grimontii</i> ^b	<i>P. oleovorans</i> ^a	<i>P. syringae</i> ^a
<i>P. brassicacearum</i> ^b	<i>P. guineae</i> ^b	<i>P. orientalis</i> ^a	<i>P. taetrolens</i> ^a
<i>P. brenneri</i> ^b	<i>P. halophila</i> ^a	<i>P. oryzihabitans</i> ^a	<i>P. thermotolerans</i> ^b
<i>P. caeni</i> ^b	<i>P. indica</i> ^b	<i>P. otitidis</i> ^b	<i>P. thivervalensis</i> ^b
<i>P. cannabina</i> ^a	<i>P. japonica</i> ^b	<i>P. pachastrellae</i> ^b	<i>P. tolaasii</i> ^a
<i>P. caricapayae</i> ^a	<i>P. jessenii</i> ^a	<i>P. palleroniana</i> ^b	<i>P. tremae</i> ^a
<i>P. cedrella</i> ^a	<i>P. jinjuensis</i> ^b	<i>P. panacis</i> ^b	<i>P. trivialis</i> ^b
<i>P. chloritidismutans</i> ^b	<i>P. kilonensis</i> ^b	<i>P. panipatensis</i> ^b	<i>P. tuomuerensis</i> ^b
<i>P. chlororaphis</i> ^a	<i>P. knackmussii</i> ^b	<i>P. parafulva</i> ^b	<i>P. umsongensis</i> ^b
<i>P. cichorii</i> ^a	<i>P. koreensis</i> ^b	<i>P. peli</i> ^b	<i>P. vancouverensis</i> ^a
<i>P. cissicola</i> ^b	<i>P. libanensis</i> ^a	<i>P. pertucinogena</i> ^a	<i>P. veronii</i> ^a
<i>P. citronnellolis</i> ^a	<i>P. lini</i> ^b	<i>P. pictorum</i> ^c	<i>P. viridiflava</i> ^a
<i>P. congelans</i> ^b	<i>P. lundensis</i> ^a	<i>P. plecoglossicida</i> ^b	<i>P. vranovensis</i> ^b
<i>P. corrugata</i> ^a	<i>P. lurida</i> ^b	<i>P. poae</i> ^b	<i>P. xanthomarina</i> ^b
<i>P. costantini</i> ^b	<i>P. lutea</i> ^b	<i>P. pohangensis</i> ^b	<i>P. xiamenensis</i> ^b
<i>P. cremoricolorata</i> ^b	<i>P. luteola</i> ^a	<i>P. proteolytica</i> ^b	<i>P. xinjiangensis</i> ^b

Annexe 2

Les milieux de culture

Gélose nutritive

Peptone :.....	10g
Extrait de viande:	3g
Extrait de levure :.....	3g
NaCl:	5g
Agar:.....	18g
pH :.....	7,3 0,2

Bouillon nutritif

Peptone :.....	10g
Extrait de viande:	5g
NaCl:	5g
pH :.....	7,2

King B solide

Peptone de caséine	10g
Peptone de viande	10g
Sulfate de magnésium	1,5g
Phosphate bipotassique	1,5g
Glycérol	10ml
Agar	18 g
pH :.....	7,2

King B liquide

Peptone de caséine	20g
Sulfate de magnésium	1,5g
Phosphate bipotassique	1,5g
Glycérol	10ml
pH :.....	7,2

King A

Peptone de viande	20g
Sulfate de potassium.....	1,5g
Glycérol	10ml
Agar	20g
Eau distillée	7,2
pH :.....	

Milieu PDA

Filtrat de pomme de terre*.....	200 mL
Glucose:	20 g
Agar:	20 g
Eau distillée:	500 mL
pH	6,5

*Le filtrat est préparé en mettant à bouillir 200g de pomme de terre épluchée dans 500 ml d'eau distillée.

Annexe 3

La solution nutritive du stock (Haogland)

Produit	Composition	Poids en g/l
Nitrate de potassium	KNO_3	191.90
Nitrate de calcium	$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	129.80
Nitrate d'Ammonium	$\text{NO}_3 \text{NH}_4$	210
Sulfate de magnésium	$\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	61.5
Phosphate monopotassique	$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	54.40
Di-potassium hydrogénophosphate	$\text{PO}_4\text{K}_2\text{H} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	34.23
Chlorure de manganèse	$\text{Cl}_2\text{Mn} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.80
Sulfate de cuivre	$\text{Cu} \text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.176
Sulfate de zinc	$\text{Zn} \text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.219
Acide borique	H_3BO_3	2.861
Molybdate d'ammonium	$\text{MO}_7 \text{O}_{24} (\text{NH}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.285
Complexe ferrique	EDTA ferrique $(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{NaO}_8)$	0.050

Annexe 4

Photos de l'expérimentation



Photo de preparation des solutions bactériennes P1, P7 et P15 pour l'inoculation.



Photo de préparation des graines de la fève pour la plantation (Prégermination).

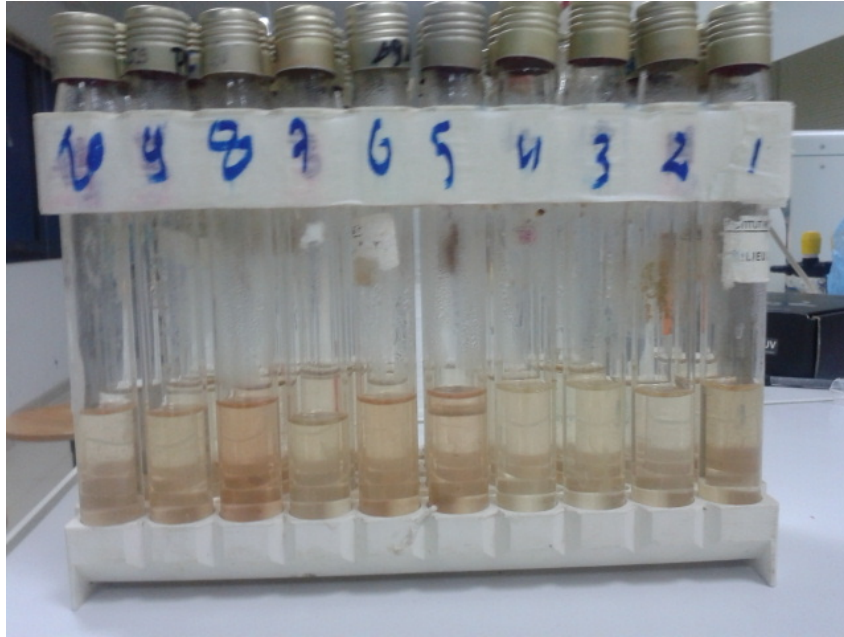


Photo d'extraction et dosage de la proline.



Photo d'extraction et de dosage des éléments nutritionnels, inos Na^+ et K^+ .