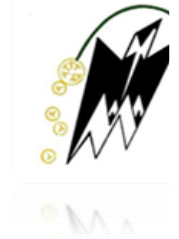


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMARI DE TIZI-OUZOU.



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES

DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

FILIERE : BIOLOGIE

SPECIALITE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

THEME

*Isolement et identification des bactéries halophiles
stimulatrices de la croissance du blé dur.*

Réalisé par :

- AMARI Houria.
- HADJ CHAIB Dihia.
- SADEK Siham.

Devant le jury composé de :

President:	Mr. SEBBANE, H.	MCB	UMMTO.
Encadreur:	Mr. HOUALI, K.	Professeur	UMMTO.
Co-encadreur:	Mme OULD OUALI, K.	Doctorante	
Examineur:	Mr. MSELA, A.	MCB	UMMTO.

Année universitaire 2021-2022

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier tout d'abord DIEU le tout Puissant, qui nous a donné la volonté et la patience pour réaliser ce travail. Aucun travail ne s'accomplit dans la solitude.

Nous exprimons toutes notre profonde reconnaissance à notre encadreur M^r HOUALI. K. Professeur à l'Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, pour sa patience, confiance, ces conseils judicieux, son suivi et ses directives qui nous ont énormément servi pour la concrétisation de notre travail.

Nous exprimons toutes notre profonde reconnaissance à notre Co-encadreur M^{me} OULD OUALI. K. Doctorante, qui nous a témoigné de sa confiance, de son aide scientifique ainsi sa patience, son suivi et ses directives tout au long de notre travail.

Nous remercions également Mr HOUALI K, professeur au département de Biochimie et de Microbiologie de l'UMMTO et directeur du laboratoire LABAB pour son accueil, pour les moyens nécessaires et les conditions favorables mises à notre disposition pour le bon déroulement de notre travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements à M^r SEBBANE. H, maitre de conférences classe B à l'UMMTO, pour l'honneur qui nous fait en présidant le jury de notre mémoire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à M^r MSELJA. A, maitre de conférences classe B à l'UMMTO, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à M^r LIMANE pour son aide et ces conseils.

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et chaleureux remerciements à nos très chers parents ainsi qu'à nos maris pour leurs soutiens et leurs encouragements durant tout notre cycle d'étude.

Ainsi que toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, pour leur confiance et leurs conseils.

UN GRAND MERCI

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail
A MES CHERS PARENTS :*

*Je vous remercie pour tout
Votre soutien tout
Au long de mes études*

*A mes chers frères :
Ahmed, Ghilas, Yasmine
A qui je souhaite toute la réussite
dans la vie
A tous mes enseignants*

DIHIA



Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE, la plus gentille et adorable de toutes les mamans, qui a su m'encourager, avec ses prières, tout au long de mon cursus. Que le dieu te guérisse CHÈRE MAMAN.

A MON CHER PÈRE, papa sache que les sacrifices que tu as faits au long de mon cursus scolaire.

Que Dieu vous garde et qu'Il vous accorde une longue vie pleine de santé, d'amour et de paix,

*A mon tendre époux RABAH pour sa patience
et son soutien*

A mes frères, leurs épouses et leurs adorables enfants

A mes sœurs, particulièrement ZINA et son mari AGHILAS.

A mes nièces et mes neveux

*A mes enfants SYPHAX et AGNES pour la joie
qu'ils apportent dans ma vie A xalti SALIHA, THANINNA,
THILELLI et DIHIA qui m'ont toujours encouragé.*

A ma BELLE MÈRE

A mes BELLES SŒURS et mes BEAUX FRÈRES

A toute ma famille.

A toutes mes copines, particulièrement SIHAM

HOURIA



Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail :

À MA TRÈS CHÈRE MÈRE, la plus gentille et adorable de toutes les mamans, qui a su m'encourager, avec ses prières, tout au long de mon cursus. Que dieu te protège CHÈRE MAMAN.

À MON CHER PÈRE, MERCI pour tous les sacrifices que tu as faits au long de mon cursus scolaire.

Que Dieu vous garde et qu'Il vous accorde une longue vie pleine de santé, d'amour et de paix,

*À mon tendre époux MOHAMMED pour sa patience
et son soutien*

*À mes frères, ATHMANE, ZIZI AMMAR, MEBAREK,
ABDESLEME, leurs épouses et leurs adorables enfants*

À mes chères sœurs, HAYATE et RADIA et leurs maris.

À mes nièces

*À mes enfants THILELLI et ARIS AYLANE pour la joie
qu'ils apportent dans ma vie*

À ma BELLE MÈRE

À mes BELLES SŒURS et leurs enfants, à mes BEAUX FRÈRES

À toute ma famille.

À toutes mes copines, particulièrement HOURIA

SIHAM



Liste des figures.....	(i)
Liste des tableaux.....	(ii)
Liste d'abréviation	(iii)

Sommaire :

Introduction.....1

Chapitre I : La revue bibliographique

I- Rhizobactéries stimulatrices de la croissance des plantes.....	3
1-Rhizosphère.....	3
1-1- Définition de la rhizosphère.....	3
1-2 –Interaction plante-bactéries.....	3
2-Rhizobactéries.....	4
2-1 Définition des bactéries promotrices de la croissance des plantes(PGPR).....	4
2-2-Mécanismes d'action des PGPR sur les plantes.....	4
2-2-1-Mécanismes directes.....	5
2-2-1-1-Fixation d'azote.....	5
2-2-1-2-Solubilisation du phosphore.....	6
2-2-1-3-Production de sidérophores.....	6
2-2-1-4-Production de phytohormones.....	6
2-2-2-Mécanismes indirectes.....	8
2-2-2-1-Compétition pour l'espace et les nutriments.....	8
2-2-2-2-Antibiose.....	8
2-2-2-3-Production de cyanure d'hydrogène (HCN).....	8
2-2-2-4-Enzymes lytiques.....	9

II-Les milieux salés et les bactéries halophiles.....	10
1-Les milieux salés.....	10
1-1-Facteurs augmentant la salinité dans le sol.....	11
1-2-La salinité et l'halophilie.....	11
2-Les bactéries halophiles.....	12
2-1- Définition des bactéries halophiles.....	12
2-2- Classification des bactéries halophiles.....	12
3-Mécanisme de tolérance des PGPR au stress salin.....	13
4-Les impacts de la salinité.....	13

Chapitre II-Matériels et méthodes

I-Matériels.....	15
1-Les isolats.....	15
2-Les graines du blé.....	15
II- Méthodes.....	15
1-Le sol.....	15
2-Recherche de quelques caractéristiques des PGPR étudiées.....	16
2-1-La fixation d'azote (N ₂).....	17
2-2 La production d'ammoniac (NH ₃).....	17
2-3 - La production du cyanure d'hydrogène (HCN).....	17
2-4- la production d'Acide Indole Acétique (AIA).....	17
2-5- La solubilisation du phosphore.....	18
3- Caractérisation des souches sélectionnées.....	18
3-1- Caractérisation physiologiques.....	18

3-1-1 – détermination de l’effet de la salinité.....	18
3-1-2- détermination de l’effet du pH.....	18
3-1-3–détermination de l’effet de la température.....	18
3-2-Caractérisation phénotypique.....	19
3-2-1-Caractères macroscopiques.....	19
3-2-2-Caractères microscopiques.....	19
3-3-Caractérisation biochimique.....	19
4- Effets des souches sélectionnées sur les graines du blé.....	20
4-1-Test de germination des graines du blé sur boîtes Pétri	20
4-1-1-stérilisation des graines du blé.....	20
4-1-2- Bactérisation des graines.....	20
4-2-Effet des isolats sélectionnés sur la croissance du blé.....	21
5- Etude statistique.....	22

Chapitre III-Résultats et discussions

1-Fixation de l’azote(N ₂).....	23
2-Production d’ammoniac (NH ₃).....	24
3-Production de cyanure d’hydrogène (HCN).....	25
4-Production de l’acide indole acétique (AIA).....	26
5-Solubilisation du phosphate (P).....	27
6-Caractérisation des souches sélectionnés.....	28
6-1-Caractérisation physiologique.....	28
6-1-1- Détermination de l’effet de la salinité sur la croissance bactérienne.....	28
6-1-2-Détermination de l’effet du pH sur la croissance bactérienne.....	30

6-1-3-Détermination de l'effet de la température sur la croissance bactérienne.....	32
6-2- Caractérisation phénotypique.....	33
6-2-1-Caractères macroscopiques.....	33
6-2-2-Caractères microscopiques.....	33
6-3-Caractérisation biochimiques.....	34
7-Effet des isolats sélectionnés sur la croissance du blé	36
7-1-Test de germination des graines du blé sur boîtes Pétri.....	36
7-2-Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé dur	38
7-2-1-Effet des inocula bactériens sur la longueur des tiges et des racines des plantules du blé	38
7-2-2-Effet des inocula bactériens sur le poids frais des tiges et des racines des plantules du blé	39
7-2-3-Effet des inocula bactériens sur le poids sec des tiges et des racines des plantules du blé	41
8-Etude statistique.....	42
8-1-Effet des inocula bactériens sur la longueur des tiges des plantules du blé sous les conditions de stress salin.....	42
8-2-Effet des inocula bactériens sur la longueur des racines des plantules du blé sous les conditions du stress salin.....	43
Conclusion.....	46

Références bibliographiques

Annexes

Résumé :

La biotechnologie des micro-organismes qui consiste à utiliser des rhizobactéries comme biostimulants est une préoccupation actuelle qui a un grand intérêt pour l'atténuation de la salinité du sol qui limite la croissance et la productivité des plantes agricoles.

L'objectif de notre travail porte sur l'isolement et l'identification des bactéries halophiles stimulatrices de la croissance des plantes, et de sélectionner les plus performantes pour étudier leurs effets sur la croissance du blé dur (*Triticum durum*, variété siméto) soumise au stress salin.

La sélection des isolats est basée sur leur compétence à produire NH_3 , AIA, HCN, à fixer l'azote atmosphérique et à solubiliser le phosphate.

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats fixent l'azote, produisent l'ammoniac et solubilisent le phosphate, tandis que la capacité de synthétiser l'HCN et l'AIA est 50% et 33,33% respectivement. D'après ces résultats, 3 isolats ont été sélectionnés pour leur performance.

La croissance des plantules du blé a été bien marquée par les bactéries halophiles sélectionnées et leurs combinaisons, comparativement au témoin négatif (non inoculé), plus particulièrement l'isolat S5 et la combinaison S1-S5. Ils peuvent être donc, utilisés comme inoculant pour l'amélioration de la croissance du blé dans un milieu salin.

L'exploitation des propriétés de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) serait une solution biologique, écologique simple et peu coûteuse visant à améliorer la croissance des plantes agricoles tout en respectant l'environnement.

Mots clés : Rhizobactéries, croissance, salinité, blé dur, rhizosphère.



SOMMAIRE

Summary:

Microorganism biotechnology is to use rhizobacteria as biostimulants is a current concern that has great interest in mitigating soil salinity that limits plant growth and productivity.

The objective of our work is to isolate and identify halophilic bacteria with PGP (Plant Growth Promoting) activities, and to select the most efficient ones to study their effects on the growth of durum wheat (*Triticum durum*, simeto variety) subjected to salt stress.

The selection of isolates is based on their ability to produce NH_3 , AIA, HCN, to fix atmospheric nitrogen and to solubilize phosphate.

The results obtained showed that all isolates fix nitrogen, produce ammonia and solubilize phosphate, while the ability to synthesize HCN and AIA is 50% and 33.33% respectively. From these results, 3 isolates were selected for their performance, they are Gram positive cocci.

The growth of wheat seedlings was well marked by the selected halophilic bacteria and their combinations, compared to the negative control (not inoculated), especially the S5 isolate and the S1-S5 combination. Therefore, they can be used as inoculants for the improvement of wheat growth in a saline environment.

Exploiting the properties of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) would be a simple and inexpensive biological and ecological solution to improve agricultural plant growth.

Keywords: PGPR, Rhizobacteria, salinity, durum wheat, rhizosphere



LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Liste des figures :

Figure n° 01 : Schéma du cycle de l'azote (Anonyme, 2018).

Figure n° 02 : Représentation schématique des mécanismes d'action directs et indirects employés par les PGPR.

Figure n° 3 : Localisation du village Elkherba de la commune d'Ouaguenoun.

Figure n° 04 : Echantillon du sol utilisé.

Figure n° 05: Sélection et stérilisation des graines du blé dur.

Figure n°06 : Bactérisation des graines du blé dur.

Figure n° 07 : Le suivi de la croissance du blé.

Figure n° 08: Le rinçage et le seuillage de plantules de blé.

Figure n° 09 : Fixation de l'azote atmosphérique par les six isolats après une semaine d'incubation à 30°C.

Figure n°10 : Production de l'ammoniaque par les six isolats.

Figure n°11: Production du cyanure d'hydrogène(HCN).

Figure n° 12: Production de l'acide indole acétique par les six isolats.

Figure n° 13 : L'abaissement du pH sur le milieu Pikovskaya (pH=7).

Figure n°14 : Effet de la salinité sur l'isolat S1.

Figure n° 15 : Effet de la salinité sur l'isolat S2.

Figure n° 16 : Effet de la salinité sur l'isolat S5.

Figure n° 17: Effet du pH sur l'isolatS1.

Figure n° 18 : Effet du pH sur l'isolat S2.

Figure n° 19 : Effet du pH sur l'isolat S5.

Figure n° 20 : Effet de la température sur l'isolat S1.

Liste des figures

Figure n° 21 : Effet de la température sur l'isolat S2.

Figure n° 22: Effet de la température sur l'isolat S5.

Figure n° 23 : Caractérisation de la souche S5.

Figure n°24 : Caractérisation de la souche S1.

Figure n° 25 : Taille des tiges et racines des graines de blé germé sous l'effet des isolats sélectionnés et leurs combinaisons.

Figure n° 26 : Effet des isolats et leurs combinaisons sur la germination du blé.

Figure n°27 : Effet des inocula bactériens sur la longueur des tiges et des racines des plantules du blé.

Figure n°28 : Effet des inocula bactériens sur le poids frais des tiges et des racines des plantules du blé.

Figure n° 29 : Effet des inocula bactériens sur le poids sec des tiges et des racines des plantules du blé.

Figure n° 30 : Effet des inocula sur la longueur des tiges des plantules du blé sous stress salin.

Figure n° 31 : Effet des inocula sur la longueur des racines des plantules du blé sous stress salin.



LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau n° 01 : Les critères morphologiques des isolats.

Tableau n° 02 : Caractères microscopiques des trois isolats S1, S2 et S5.

Tableau n°03 : Caractérisation biochimique des trois isolats S1, S2 et S5.

Tableau n°04 : Effet des inocula sur la longueur des tiges des plantules du blé sous les conditions de stress salin.

Tableau n°05 : Résultats de la comparaison deux à deux avec le témoin par le test d'ANOVA.

Tableau n°06 : Tableau récapitulatif des résultats de la galerie biochimique.



LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abreviations

Liste des abréviations :

AIA: Acide indole acétique.

CNCS: Centre National de Contrôle de Semences.

DO: Densité optique.

FAO: Food and Agriculture Organisation.

HCN: Cyanure d'hydrogène.

HCO₃: Bicarbonate.

MH: Milieu halophile.

NO³⁻: Nitrate.

NH₃: l'Ammoniac.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PBS: Phosphate-Buffered Saline (Tampon phosphate salin).

PVK: Pikovskaya.

rpm: Rotation par minute.



INTRODUCTION

Introduction

Introduction :

L'Organisation des Nations Unies (ONU), compte actuellement que la population mondiale est de 7,3 milliards d'habitants, mais en 2030 elle devrait atteindre 8,5 milliards, et de 9,7 milliards en 2050.

Par conséquent, la production alimentaire mondiale devrait augmentée de 70% entre 2005 et 2050. Cette augmentation est assurée par l'intensification, principalement, par la culture des terres, les changements climatiques et les diverses pressions anthropiques ce qui va engendrer un déséquilibre d'écosystèmes (SOUGUEH CHEIK, 2021).

Le facteur essentiel limitant le rendement du blé dans la région méditerranéenne est la sécheresse où les pertes inter annuelles sont de 10 à 80% (NICHIT et *al.*, 1998). Ce qui pousse les chercheurs scientifiques de choisir et de sélectionné la variété qui possède la meilleure tolérance aux conditions de sécheresse pour l'assurance d'une stable et acceptable production (MILOUD et *al.*, 2001).

En outre, la salinisation est la principale menace pour la dégradation des sols agricoles dans le monde entier surtout dans les régions arides et semi-arides (SOUGUEH CHEIK, 2021). Si des solutions efficaces ne sont pas appliquées dans l'avenir, il y'aura augmentation de la salinisation des terres agricoles car selon l'ONU, environ 900 millions d'hectares entre 20% des terres irriguées et 6% de la masse terrestre mondiale sont touchés par ce phénomène (KUMAR et *al.*, 2020).

La toxicité ionique, l'absorption des nutriments est réduite et /ou le transport vers la tige entraine un déséquilibre de nutriment (CHERIF-SILINI et *al.* ,2019), l'équilibre hormonal perturbé (LUCCHI et *al.* ,2013), métabolisme protéique altérés (DANTAS et *al.* , 2005) et aussi inhibition d'activité enzymatique qui intervienne dans le métabolisme des acides nucléiques (ARBONA et *al.* , 2005), ce sont tous des effets néfastes de la salinité sur la croissance des plantes et sur leur développement.

Pour faire face à ce sérieux problème, de nombreux scientifiques ont essayé de développer des cultures tolérantes au sel en améliorant les plantes, mais en raison de la complexité génétique et physiologique du caractère de tolérance, ces efforts ont connu un succès limité (DWIVEDI et *al.*, 2010).

La technologie microbienne utilisée dans l'agriculture conduit à identifier de nouvelles souches bactériennes, efficaces pour améliorer la croissance des plantes. C'est par les PGPR

Introduction

(Plant Growth Promoting Rhizobacteria) qui sont des micro-organismes rhizosphériques empaquetant le développement des plantes (KLOEPPER et BEACHAMP, 1992 ; GLICK, 1995). Leurs réponses aux facteurs de stress externe les rend compétitives, et inoculer des plantes stressés par des souches PGPR diminue le stress salin (ASHRAF et *al.*, 2008 ; SAHARAN et NEHRA, 2011). L'association des microorganismes halotolérants aux racines des plantes nous donne une meilleure fertilité des sols salin (HALMAN et *al.*, 1997).

D'après ASHRAF et *al* (2008), en raison de nombreuses études réalisées, le nombre d'espèces bactériens qui sont identifiées comme PGPR a augmenté car à l'heure actuelle elles incluent des divers taxons bactériens. Mais, il faut prendre en considération l'adaptation de l'inoculant à une plante et à un écosystème particulier avant de sélectionner et d'utiliser les PGPR car il représente un défi scientifique majeur (RICHARDSON, 2001).

La sélection de la souche PGPR efficaces est basée sur la caractérisation de ses propriétés qui favorisent la croissance des végétaux (CATTELAND et *al.*, 1999). Plus souvent ses propriétés sont : la production d'auxine (phytohormone), la fixation d'azote, le cyanogène (HCN), la solubilisation du phosphate, la production des sidérophores et l'activité enzymatique (CATTELAN et *al.*, 1999).

L'objectif de notre étude vise à isoler des bactéries de la rhizosphère de milieux salins afin d'améliorer la production céréalière, plus exactement, du blé dur en Algérie. Parmi les variétés du blé dur cultivées en Algérie. Afin de réaliser notre travail, ce présent mémoire est subdivisé en trois parties :

La première partie: Revue bibliographique ;

La deuxième partie: Matérielles et Méthodes ;

La troisième partie: Résultats et Discussion.

CHAPITRE I : Revue bibliographique

I- Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes :

1- La rhizosphère :

1-1-définition de la rhizosphère :

La rhizosphère est un système assez complexe, non seulement à définir, mais parce que c'est un système dynamique plutôt qu'un système statique, saisonnier et qui est fortement influencé par des facteurs biotiques et abiotiques (PHILIPOT *et al.* 2013). Il est donc, très important de visualiser et de définir la rhizosphère en termes dynamique d'espace et de temps (KUZYAKOV et RAZAVI, 2019). Selon MARQUEEZ.A (2021), la rhizosphère est un système qui apporte de nombreux avantages aux plantes, c'est leurs racines qui interagissent avec le sol et ses microorganismes pour améliorer la fertilité du sol tout en favorisant la dégradation des produits chimiques toxiques, cette association est nommée Rhizocénose. La rhizosphère d'après OROZCO-MOSQUED *et al.* (2022), est un micro-écosystème où se déroule une série d'interactions complexes entre les Rhizobactéries du sol et les exsudats racinaires des plantes.

1-2 -Interaction plante-bactéries :

Entre les plantes et les communautés microbiennes (les bactéries, les archées, les champignons, les protozoaires et les algues) une grande intimité pour survivre (YING *et al.*, 2020). Les plantes et leurs phytomicrobiomes forment un halobiole (LYU *et al.*, 2021). Ces micro-organismes peuvent survivre en tant qu'endophytes dans les systèmes racinaires, en tant qu'épiphytes sur les surfaces des feuilles et des racines ou bien libres dans les sols entourant les racines (AMOO *et al.*, 2017).

Parmi les grands contributeurs à la diversité des écosystèmes terrestres, les micro-organismes du sol contrôlent presque tous les cycles biogéochimiques (AMOO et BABALOLA, 2017). Ils sont aussi capables d'influencer la disponibilité des nutriments pour les plantes par sécrétion d'ensembles de molécules avec capacité de solubilisation, de réduction et d'oxydation, par contre, la survie de ces micro-organismes est assurée par les exsudats sécrétés au niveau des racines en leur conférant une source de nutriments facilement accessibles (PII *et al.*, 2015).

L'effet des micro-organismes sur les plantes dépend largement de l'environnement. Cet effet peut être positif, neutre ou négatif, mais l'impact le plus et mieux étudié de

Chapitre I : Revue bibliographique

l'interaction plante- microorganisme est l'effet positif sur la croissance des plantes. Les microbes bénéfiques peuvent contribuer à la nutrition des plantes soit par la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des nutriments, l'augmentations de la surface des racines des plantes qui est attribuée directement aux molécules bioactives synthétisées par les bactéries tel que les phytohormones (LYU et *al.*, 2021) ou bien l'amélioration de l'absorption des nutriments tel que les Rhizobactéries qui sont capables d'augmenter la mobilité du fer par la libération des composées chélateurs nommés les sidérophores microbiens (MS) qui ont une grande affinité pour Fe^{3+} (PII et *al.*, 2015).

2- Les Rhizobactéries:

2-1-Définition des bactéries promotrice de la croissance des plantes (PGPR):

Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* » (PGPR) désigne l'ensemble des bactéries ayant un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes (RAMJEGATHESH, 2013).

Le terme PGPR a été introduit pour la première fois en 1980, par Kloepper, en utilisant des *Pseudomonas fluorescents* comme stimulateurs de croissance capables de résister aux phytopathogènes. Ce terme s'est métamorphosé pour inclure toutes les Rhizobactéries capables d'améliorer la croissance végétale. Parmi les rôles majeurs attribués à l'action des PGPR la protection contre les pathogènes, l'augmentation de l'absorption de nutriments, l'amélioration des fonctions racinaires, la germination et la production de graines qui sont les plus notables (AMIR et *al.*, 2005 ; KENNETH *etal.*, 2019).

2-2-Mécanismes d'action des PGPR sur les plantes :

Les mécanismes d'action des PGPR ont été regroupés en mécanismes directs et indirects. Bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente, les mécanismes indirects, en règle générale, sont ceux qui se produisent en dehors de la plante, alors que les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement le métabolisme de la plante (JØRGENSEN et *al.*, 2000).

Chapitre I : Revue bibliographique

2-2-1-Mécanismes directes :

2-2-1-1-Fixation d'azote :

L'azote occupe 78% du volume total de l'atmosphère. C'est l'un des nutriments majeurs des plantes et le facteur limitant dans les écosystèmes agricoles (GOLUBYATNIKOV *et al.*, 2013). Il existe plusieurs micro-organismes rhizosphériques qui assurent la fixation de l'azote atmosphérique et le transforment en ammoniac, qui est la forme assimilable par la plante à l'aide d'un système enzymatique complexe nommé les nitrogénases (SATHYA *et al.*, 2017). Les mécanismes symbiotiques et non symbiotiques sont deux mécanismes par lesquels les PGPR fournissent aux plantes l'azote après l'avoir fixé de l'atmosphère (GOUDA *et al.*, 2018).

La fixation non symbiotique de l'azote atmosphérique fournit en général un flux d'azote plus faible aux plantes associées que la fixation symbiotique (SWARNALAKSKMI *et al.*, 2016). La fixation de l'azote atmosphérique non symbiotique s'effectue par différents Actinobacteriaendophytes tels que *Arthrobacter*, *Agromyces*, *Corynebacteriu*, *mycobacterium*, *Micromonaspora* et *streptomyces*(SATHYA *et al.*,2017). Les Rhizobia forment des relations symbiotiques par formation de nodules sur la racine des plantes hôte (NIMAICHAND *et al.*, 2016).

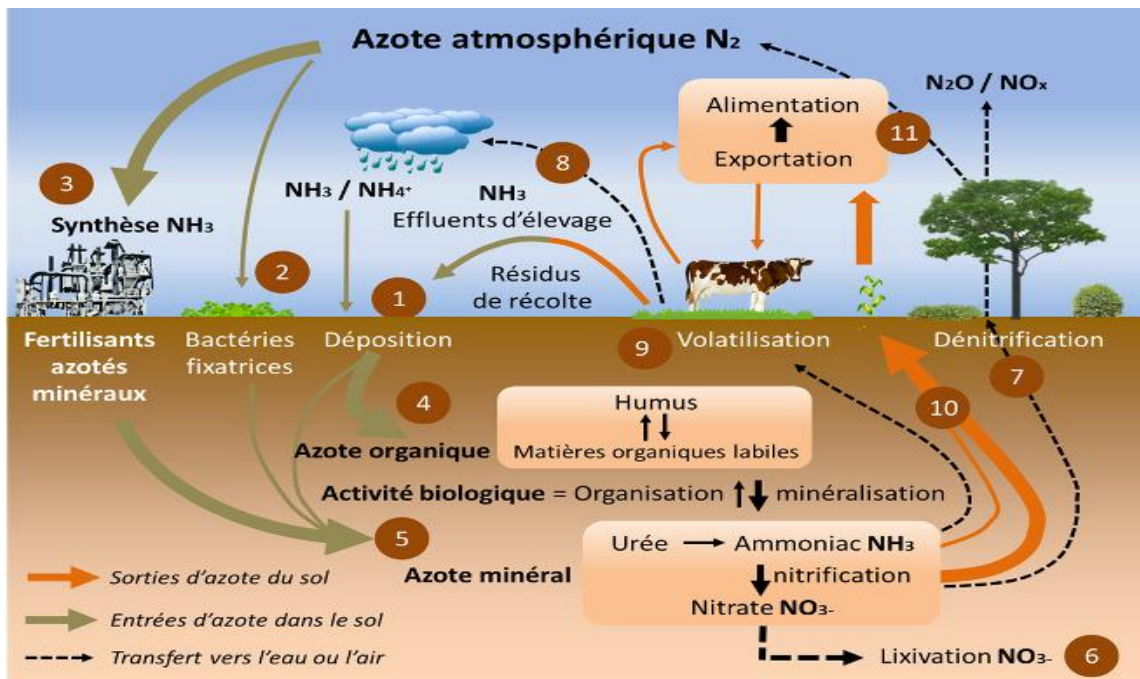


Figure n° 01 : Schéma du cycle de l'azote (Anonyme, 2018).

2-2-1-2-Solubilisation du phosphore:

La plupart du phosphate se trouve sous forme insoluble dans le sol ce qui le rend non assimilable par les plantes (HII et *al.*, 2020). Le phosphate constitue l'élément clé dans l'augmentation de la production agricole après l'azote. Il joue un rôle vital dans les activités métaboliques végétales comme le transfert/stockage d'énergie. Il joue également un rôle efficace dans la photosynthèse, la respiration, la formation de la membrane cellulaire, la glycolyse et pratiquement, toutes les activités enzymatiques (AHMAD et *al.*, 2018 ; BILLAH et *al.*, 2019).

La solubilisation du phosphate est l'un des traits les plus ciblés pour sélectionner un PGPR performant. Les bactéries connues pour être des solubilisatrices de phosphate sont *Achromobacter xylosoxidans*, *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas putida*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter mysorens*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Enterobacter aerogens*, *Gluconobacter diazotrophicus*, *Rhizobium meliloti* et *Pantoea agglomerans* (SASHIDHAR et PODILE, 2010 ; SHARMA, 2011 ; KRISHNARAJ et DAHALE, 2014).

2-2-1-3-Production de sidérophores :

Les sidérophores sont de petites molécules à faible poids moléculaire, produits par des bactéries et des champignons. Ils ont une forte affinité pour chélater le fer ferrique afin de répondre aux carences de fer. Ils sont synthétisés et sécrétés par presque tous les micro-organismes procaryotes eucaryotes à l'exception de ces trois espèces : *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. Ces derniers possèdent une machinerie moléculaire qui permet l'utilisation des sidérophores sécrétés par d'autres micro-organismes (BENZINA TIHAR.F et *al.*, 2020).

2-2-1-4-Production de phytohormones :

Les phytostimulateurs ou les régulateurs de croissance des plantes sont des molécules organiques qui agissent à de faibles concentrations et cela en inhibant ou activant la croissance des végétaux. Les PGPR ont la capacité de produire ces phytohormones comme les cytokines, les gibbérellines, l'éthylène et l'acide indole acétique qui est l'hormone principale et la plus produite par les plantes (Prasad et *al.*, 2019) .

Chapitre I : Revue bibliographique

➤ **Production de l'acide indole acétique (AIA) :**

C'est l'une des principales hormones de la classe des auxines biologiquement actives pour la croissance des plantes (BICHNU et al., 2021). Les PGPR produisent de l'AIA généralement sous forme de métabolite secondaire en utilisant des substrats riches exsudés par les racines des plantes (BOUALI, 2017), sa biosynthèse diffère chez les microorganismes selon la végétation, les souches bactériennes et les paramètres physico-chimiques du sol (BANU et al., 2018).

L'AIA agit positivement sur plusieurs niveaux surtout lors de changement des conditions environnementales. Il agit sur la biosynthèse de la paroi cellulaire et les protéines. Ainsi sur la pression osmotique en la diminuant par augmentation de la perméabilité de la cellule en eau. Il influence aussi la croissance des racines par ramification en accélérant le taux de développement du système racinaire. L'AIA promeut l'activité antioxydante et inhibe l'abscission des feuilles et induit la floraison et la fructification (GOUDJAL et al., 2015 ; BSHUN et al., 2021).

➤ **Production de cytokinines :**

Ce sont des phytohormones qui ont un rôle pratiquement essentiel dans tous les aspects de la croissance et du développement des plantes (VEJAN et al., 2016). Sont aussi impliquées dans le développement du système vasculaire dans l'embryogenèse de la formation de nodules et en réponse aux changements environnementaux (HONIG. M et al., 2018).

Ce type de molécules sont produites par plusieurs PGPR : *Azotobacter* sp, *Pantoea agglomerans*, *Rhizobium* sp, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis* (GUBTA et al., 2015). Ainsi que divers genres d'*Actinobacteria* (VANDER MEIJ et al., 2017).

➤ **Production de gibbérellines :**

Elles sont impliquées principalement dans le processus de développement des plantes comme la division cellulaire, la germination des graines, le développement des fruits, (VEJAN et al., 2016). Elles ont aussi un rôle primordial dans le transport des métabolites, la synthèse des chloroplastes et la morphogénèse des tiges (RIZZA, A et al., 2019).

2-2-2-Mécanismes indirectes :

2-2-2-1-Compétition pour l'espace et les nutriments :

Les Rhizobactéries bénéfiques par association à une colonisation importante des racines ou des sites d'infection, réduisent la maladie des plantes dans la rhizosphère. (BENZID *et al.*, 2012). La capacité d'utiliser rapidement et efficacement les nutriments qui sont présents en faible concentration et persister longtemps dans le sol est un important aspect sur la compétitivité d'une PGPR (LABUSCAGNE *et al.*, 2010). D'une manière générale, la compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme de lutte biologique utilisé par les PGPR pour faire face aux phytopathogènes. Cette compétition peut être entre deux ou plusieurs microorganismes. Quel que soit la compétition pour l'espace, les nutriments ou autres facteurs environnementaux, elle devient militante pour leur croissance (PRASAD, 2017).

2-2-2-2-Antibiose :

L'antibiose est considérée comme l'un des puissants mécanismes utilisés par les PGPR dans le sol contre les phytopathogènes (GUPTA *et al.*, 2015). Elle est aussi l'un des plus efficaces dans la prévention de la prolifération des phytopathogènes par la synthèse des composés antimicrobiens, en particulier des bactériocines, qui procèdent un spectre d'activité bactéricide plus au moins large sur les germes pathogènes (PATIL *et al.*, 2017).

2-2-2-3-Production de cyanure d'hydrogène (HCN) :

Le cyanure d'hydrogène fait partie de Cyanides. C'est un métabolite secondaire qui peut être directement produit de la glycine et de glycosides cyanogènes (BAKKER ET SCHIPPERS, 1987). Chez les microorganismes la production de l'acide aminée glycine est considérée comme le meilleur précurseur de la production de cyanides (ASKILAND et MORRISON, 1983). Le HCN produit par les PGPR est très bénéfique pour les plantes, car il possède un rôle d'antagonisme contre les maladies racinaires (DEFAGO et HAAS, 1990). L'environnement dans lesquels les Rhizobactéries évoluent affecte largement cette production, ainsi les acides aminés rhizosphériques, les exsudats racinaires, la présence des sidérophores, et le fer disponibles (KNOWLS et BUNCH, 1968).

Chapitre I : Revue bibliographie

2-2-2-4-Enzymes lytiques :

L'activité enzymatique est parmi les mécanismes de biocontrôle qui ont été étudiés. Utilisés par les Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes par production de certaines enzymes telles que la B- 1,3-glicanase, la B-1,4- glucanase, la B-1,6-glucanase la cellulase, la chitinase, la protéase, l'amylase et la pectinase. Ces bactéries sont capables donc de synthétiser une grande variété d'enzymes extracellulaires (KUMAR et DUBEY., 2012 ; MARLINEZ-HIDALGO et *al.*, 2014). Cette production enzymatique présente une activité hyper parasitaire attaquant les agents pathogènes par sécrétion d'hydrolase à partir de la paroi cellulaire (SATHYA et *al.*, 2017). Grâce à cette activité, les PGPR jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, en particulier la protection contre le stress biotique et abiotique en supprimant les champignons pathogènes (GUPTA et *al.*, 2015).

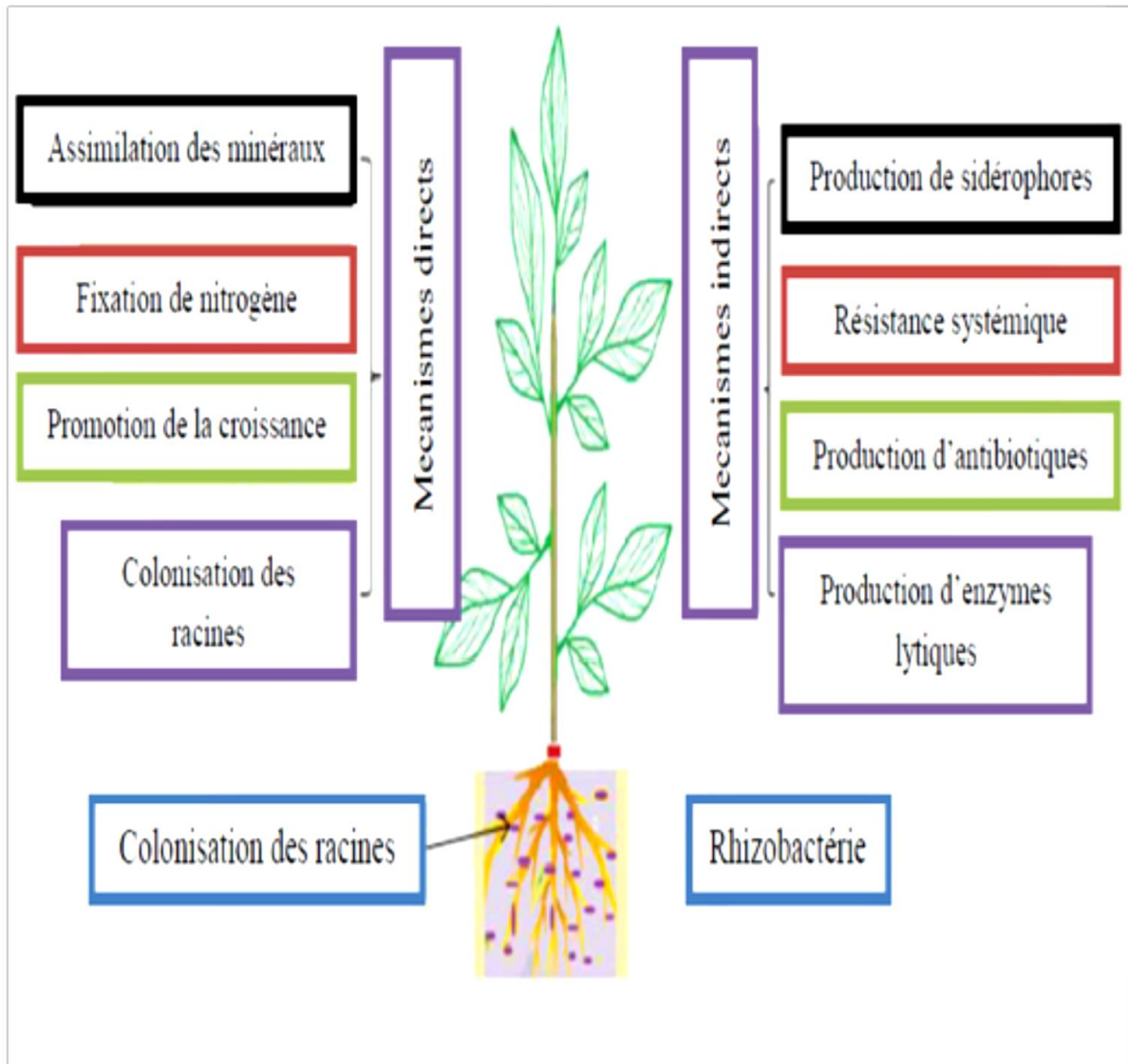


Figure n° 02: Représentation schématique des mécanismes d'action directs et indirects employés par les PGPR (NGOMA et *al.*, 2012).

II-Les milieux salés et les bactéries halophiles :

1-Les milieux salés :

Le grand défi mondial des régions arides et semi-arides est la production agricole qui est affectée par la salinité. Car 20% du total des terres cultivées et 33% des terres agricoles irriguées dans le monde en sont affectées. La salinisation touche plus d'un milliard d'hectares de la surface terrestre avec un taux de 10 million par an. Par conséquent, la perte économique causée par ce phénomène est estimée à 27,3 milliard de dollars (SOUGUEH, 2021).

Chapitre I : Revue bibliographique

Dans les régions arides et semi-arides, l'Algérie compte plusieurs lacs salés qui sont formés par de vastes pressions endoréiques continentales appelées Chotts et Sebkhass. Parmi ces Chotts Elbaida et Tinsilt, dont il a été révélé la présence de bactéries halophiles (MENASRIA 2018 ; MENASRIA, 2020).

L'accumulation des sels dans les sols agricoles est accentuée par plusieurs facteurs tels que l'augmentation de la température, l'élévation du niveau de la mer, l'accroissement de l'évaporation et la surexploitation d'eau souterraine, (SOUGUEH, 2021).

1-1-Facteurs augmentant la salinité dans le sol :

La salinité des sols agricoles est accentuée par deux modes de salinisation, à savoir la salinisation primaire dite naturelle et la salinisation secondaire dite anthropique (MONTOROI, 2018 ; SOUGUEH, 2021).

La salinisation primaire englobe tous les facteurs naturels qui produisent des sels dissous comme l'altération et la dissolution des minéraux contenus dans les sols et les rochers, les fusions magmatiques et les rejets volcaniques. Ces derniers sont transportés par des agents naturels tels que les pluies, les rivières, eaux souterraines, eaux de mer, eaux géothermales et les accumulent dans les sols de nappe salée peu approfondie (MONTOROI, 2018).

Par contre, la salinisation secondaire est causée par les activités de l'Homme tout en apportant des sels supplémentaires qui déséquilibrent la nature du sol. L'anthropique est à l'origine d'environ 20% des sols salés. Parmi ces activités, on cite l'irrigation des sols agricoles qui tient, en général, une place prépondérante, car 25% des sols irrigués sont salinisés à des différents degrés par utilisation des eaux salées telles que les eaux usées, agricoles, industrielles, et domestique. La déforestation et les constructions de barrages sont à l'origine de la remontée des nappes phréatiques salées vers la surface des sols, ainsi que les pratiques intensives (fertilisation, fertigation) qui intensifient la production de la biomasse (MONTOROI, 2018).

1-2-La salinité et l'halophilie :

La salinisation selon RABHI (2011), est le phénomène d'accumulation des sels solubles sous forme d'anions et de cations dans le sol. Parmi ces derniers, on peut citer

Chapitre I : Revue bibliographique

d'après BONGOUA DEVISME (2009), le Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^- , SO_4^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} et NO_3^- .

Selon DAS SARMA et DAS SARMA (2017), quand la concentration des sels est supérieure à celle de l'eau de mer, qui est d'environ 39g/l, le milieu est qualifié hypersalin.

Les halophiles sont les premiers organismes connus sous le nom d'extrêmophiles ; ce sont des organismes qui aiment le sel et supportent des concentrations élevées en sels à celles de l'eau de mer, dans certains cas, ces concentrations peuvent atteindre la saturation comme dans les lacs, déserts ou bassin (FLORES-GALLEGOS et *al.*, 2019). Le groupe bactéria est le domaine le plus diversifié des halophiles (MENSARIA, 2020).

2-Les bactéries halophiles :

2-1- Définition des bactéries halophiles :

Les bactéries halophiles sont définies comme étant des bactéries qui exigent pour leur croissance une présence du sel généralement sous forme de chlorure de sodium NaCl et elles prolifèrent aux basses valeurs d'activité d'eau. Donc, elles tolèrent des concentrations très élevées en sels (LOZACH, 2001 ; DECROUY, 2022). Elles peuvent survivre dans différents écosystèmes tels que les lacs ou marais salés, les mers, les sols, les habitats salins et froids et aliments très salés (DECROUY, 2022).

Les bactéries halophiles sont utilisées par le billet de leur production enzymatique dans différents et plusieurs domaines tels que :

- L'industrie agroalimentaire pour produire des arômes et des colorants ;
- L'industrie pétrolière pour faciliter l'extraction du pétrole brut ;
 - La bioremédiation et la biorestauration des écosystèmes endommagés, car elles ont une capacité d'éliminer des résidus toxiques des métaux lourds comme le mercure, le cuivre et le cadmium. Et elle peuvent stabiliser et dégrader les déchets miniers d'une manière biologique efficace et sûre (BENIDIR et *al.*, 2021 ; DECROUY, 2021).

2-2- Classification des bactéries halophiles :

D'après DECROUY (2022), les bactéries halophiles peuvent être classées selon leur tolérance à la quantité du sel dans le milieu en trois catégories à savoir : les halophiles faibles, les halophiles modérées et les halophiles extrêmes.

Chapitre I : Revue bibliographique

- **Les halophiles faibles** : comme tous les microorganismes marins, 3% de tolérance en salinité.
- **Les halophiles modérées** : avec une salinité de 3 à 15%.
- **Les halophiles extrêmes** : elles peuvent tolérer jusqu'à 25%.

3-Mécanisme de tolérance des PGPR au stress salin :

C'est l'osmorégulation ou appelée encore halophilisme qui est la capacité de s'adapter aux variations extérieures de pression osmotique par le développement des mécanismes permettant de maintenir l'équilibre osmotique de la cellule et ajuster la pression par rapport au milieu extracellulaire (GALINSKI, 1995).

La compensation de la perte d'eau induite par la pression osmotique doit se faire par le transport actif des molécules d'eau vers l'intérieur de la cellule, mais ce processus est énergétiquement irréalisable. Cependant, l'osmoadaptation des halophiles s'appuient sur l'accumulation de petites molécules dans leur cytoplasme (ROBERTS, 2005). Ces molécules sont appelées aussi osmolytes ou solutés compatibles, peuvent être de nature organique comme : le tréhalose, ectoine, bêtaïne et proline, ou inorganique comme : le k^+ , Mg^{2+} et Na^+ . Elles sont excrétées dans le cytoplasme ou prises dans le milieu par la cellule bactérienne (MUKHTAR et *al.*, 2020).

La capacité de pouvoir s'adapter aux conditions hostiles et extrêmes qualifie les halophiles comme un groupe intéressant de microorganismes en représentant plusieurs caractéristiques biotechnologiques et industrielles spécifiques (SINGH et *al.*, 2018), telles que la compétence de produire des biopolymères, des pigments, des antimicrobiens, des solutés compatibles et des enzymes hydrolytiques (MARGESIN et SCHINNER, 2001 ; DASSARMA et DASSARMA, 2015).

4-Les impacts de la salinité :

D'après EL SABAGH et *al.* (2015), l'élévation de la salinité dans le sol limite la productivité et affecte négativement la croissance de la plante hôte, le développement de bactéries, des nodules racinaires et la capacité de fixation de l'azote. L'augmentation de la salinité provoque la suppression de la photosynthèse, réduit le rendement en masse sèche des tiges, des racines et de nodules avec la diminution de la survie des bactéries de ces derniers dans le sol et la rhizosphère. Elle réduit aussi la biomasse et d'autres paramètres physico-chimiques tels que la teneur en eau et la perméabilité de la membrane. Par contre,

Chapitre I : Revue bibliographie

les bactéries halotolérantes produisent des biomolécules de surfaces actives qui démontrent l'activité symbiotique de haute qualité en cas de stress salin (ZHRAN et *al.*, 2017).

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

Chapitre II: Matériels et méthodes

I-Matériels :

Ce travail a été réalisé durant une période de 3 mois (Avril - Juin) au niveau du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB), de l'université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou. Il est divisé en deux parties: La première partie consiste à sélectionner des bactéries du sol prélevées de zones rhizosphériques et la deuxième partie c'est l'étude de leur effet sur la germination et la croissance du blé.

1-Les isolats bactériens :

Les six isolats utilisés dans cette étude nous ont été fournis par notre co-promotrice Madame OULD OUALI.

2-Les graines du blé :

Dans notre expérience, on a utilisé les graines du blé dur (*Triticum durum*) variété Simeto fournies par Centre National de Contrôle de Semences (CNCS).

II- Méthodes :

1-Le sol :

Le sol utilisé pour l'étude in vivo de l'effet des isolats bactériens sur la croissance du blé est un sol agricole de la commune d'Ouaguenoun (village Elkharba), située à 16 Km au nord-est de Tizi-Ouzou.



Figure n° 03 : Localisation du village Elkherbadela commune d'Ouaguenoun.

Chapitre II: Matériels et méthodes

Ce sol a été tamisé, homogénéisé et recueilli dans des sacs en plastique. Puis, nous avons stérilisé à l'autoclave. D'autres analyses ont été effectuées pour déterminer certains caractères physicochimiques à savoir la conductivité et pH de ce sol.



Figure n° 04: Echantillon du sol utilisé.

2-Recherches de quelques caractéristiques des PGPR étudiées:

Dans le but de sélectionner les plus performants, les six isolats ont été testés pour cinq traits PGPR à savoir la fixation d'azote (N_2), la production d'ammoniac (NH_3), la production du cyanure d'hydrogène (HCN), la production d'Acide Indole Acétique (AIA) et la solubilisation du phosphate.

2-1-La fixation d'azote (N_2) :

La fixation d'azote a été éprouvée par ensemencement d'une culture jeune de chaque isolat sur milieu solide exempt de N_2 (Burk's N-Free) (WILSON et KINGHT, 1952)(annexe n°01), puis incubé à $30^\circ C$ pendant 48 heures.

L'évolution de la croissance des bactéries indique la compétence de la fixation de l'azote atmosphérique par ces isolats.

2-2 La production d'ammoniac (NH_3) :

Pour vérifier la production de l'ammoniac, ensemencer 5ml d'eau peptonée (annexe n°02). Après incubation à $30^\circ C$ pendant 48h, rajouter 0,25 ml de réactif de Nessler (annexe n°09). Selon CAPPUCCINO et SHERMAN (1992) l'apparition d'une couleur jaune ou brune est l'indicateur de la production d'ammoniac.

Chapitre II: Matériels et méthodes

2-3- La production du cyanure d'hydrogène (HCN) :

Selon la méthode de LORCK (1948) inoculer le milieu HCN solide (annexe n°03) avec une culture de 18 à 24 heures. Déposer du papier Whatman stérile sur le fond interne du couvercle de toutes les boîtes de Pétri. Imbibé bien ce papier avec une solution de picrate de sodium. Serrer parfaitement ces boîtes avec du Parafilm et incubé les à 30°C pendant 5 jours. La capacité de la production de l'acide cyanhydrique est révélée par le virage de couleur en orange à rouge.

2-4- La production d'Acide Indole Acétique (AIA) :

La capacité de la production de l'acide indole acétique est mise en évidence sur le bouillon Luria Bertani (LB) (annexe n°04). Ce dernier est supplémenté de 0,5% du glucose et 1 mg / ml du tryptophane comme précurseur (DUCA et *al.*2014), sans autoclavage. Après incubation sous agitation à 30°C pendant 3 à 4 jours, centrifuger à 5000 rpm / 15 min puis pipeter 1 ml du surnageant et ajouter 2 ml du réactif de Salkowsky (annexe n° 8). Le virage de couleur en rose après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min indique la production de l'AIA.

L'absorbance de la coloration rose apparue est mesurée par spectrophotomètre à 530 nm. La détermination de la concentration de l'AIA produite par chaque isolat est établie par extrapolation sur une courbe d'étalonnage standard réalisé avec de l'AIA pure (BRIC *et al.*, 1991).

2-5- La solubilisation du phosphore :

La solubilisation de phosphate est testée par inoculation de 5ml du milieu liquide Pikovskaya (PVK) (annexe n°05) par 300 µl de la suspension bactérienne. Le milieu PVK contient le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme source de phosphate (Pikovskaya, 1948). Après incubation sous agitation à 30°C pendant une semaine, on a centrifugé les cultures bactériennes à 5000 rpm/min et récupéré le surnageant pour mesurer son pH. La capacité de la solubilisation du phosphate est traduite par l'abaissement du pH.

Les résultats de ce screening d'activités PGPRs nous ont permis de sélectionner trois souches : S1, S2 et S5 pour étudier leur effet sur la germination et la croissance du blé.

3- Caractérisation des souches sélectionnées :

3-1- Caractérisation physiologique :

Chapitre II: Matériels et méthodes

3-1-1-Détermination de l'effet de la salinité :

Pour déterminer l'effet de la salinité, des eppendorfs stériles contenant le milieu MH mais à différentes concentrations de NaCl allant de 0% à 17,5% sont inoculés avec 100 µl de chaque suspension bactérienne. Mesurer la densité optique (DO) à 600 nm après incubation à 30°C / 24 h.

3-1-2 -Détermination de l'effet du pH :

Réaliser une gamme du milieu MH à différents pH allant de 4 à 10. Inoculer 900µl de chacun avec 100 µl de chaque suspension bactérienne. Mesurer la densité optique (DO) après incubation à 30°C / 24 h.

3-1-3 -Détermination de l'effet de la température:

Après avoirensemencé le milieu MH, les eppendorfs sont incubés à différentes températures à savoir (4, 20, 25, 28, 30, 32, 35, 40) °C. Mesurer la densité optique (DO) après incubation à 30°C / 24 h.

3-2-Caractérisation phénotypique :

3-2-1-Caractères macroscopiques :

L'observation des colonies à l'œil nu et à l'aide d'une loupe a permis de déterminer la forme, la taille, l'élévation, la couleur la surface et l'opacité de celles-ci.

3-2-2-Caractères microscopiques :

➤ **La mobilité :**

Le test de mobilité ou encore appelé test à l'état frais est réalisé en déposant une goutte de la suspension bactérienne sur une lame. Observer au microscope optique au grossissement X 40 après l'ajout d'une goutte de bleu de méthylène à immersion. Si on observe un déplacement des cellules dans le même sens, les cellules sont donc immobiles ; si le déplacement est dans tous les sens, donc les cellules sont mobiles.

➤ **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est importante pour l'identification d'une bactérie isolée et vérification de sa pureté. Elle permet de déterminer le Gram, la forme et l'agencement des cellules.

Chapitre II: Matériels et méthodes

3-3-Caractérisation biochimique :

➤ Catalase :

La révélation de la catalase a été effectuée par le dépôt d'une goutte de la suspension bactérienne sur une lame propre à laquelle on rajoute une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2). Le phénomène d'effervescence est l'indicateur de la présence d'une catalase. Selon LEVY et *al* (1992), une réaction catalase positive se traduit par l'apparition des bulles au dégagement gazeux d'oxygène.

➤ Oxydase :

On prépare des suspensions bactériennes dans des tubes puis on rajoute des disques d'oxydase prêts à l'emploi contenant de l'oxalate N- diméthyl-paraphénylène diamine. Les bactéries sont dites oxydase positives lorsqu'elles dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violette foncée après quelques secondes (MARCHALL *et al.*, 1982).

➤ Galerie biochimique :

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation de 24 heures à $30^{\circ}C$ se traduisent par des virages de couleur spontanés ou par l'addition des réactifs.

4- Effets des souches sélectionnées sur les graines du blé :

4-1-Test de germination des graines du blé sur boîtes Pétri:

4-1-1-Stérilisation des graines du blé :

Les graines de blé préalablement sélectionnées ont été stérilisées comme suit :

- Tremper les graines dans une solution d'éthanol (70 %) pendant une minute sous agitation manuelle légère.
- Les graines ont été ensuite resuspendues dans une solution d'hypochlorite de sodium (4%) pendant 30 minutes.
- Enfin, dans la zone stérile, le lavage des graines avec l'eau distillée stérile a été effectué à six reprises dont les trois dernières 15 minutes chacune.



Figure n° 05: Sélection et stérilisation des graines du blé dur.

4-1-2- Bactérisation des graines :

Une suspension bactérienne à partir d'une culture jeune de chaque isolat sélectionné a été préparée. Après standardisation, on a reparti aseptiquement ces suspensions par lot d'une manière à avoir toutes les combinaisons possibles (S1, S2, S5, S1-S2, S1-S5, S2-S5 et S1-S2-S5). Les graines du blé stériles sont immergées dans ces suspensions pendant une heure. Des graines immergées dans du PBS (annexe n°06) sont utilisées pour le témoin négatif. Déposer ces graines dans des boîtes de Pétri contenant le milieu eau-agar (annexe n° 07) et incubé à 22°C pendant 3 à 5 jours. Mesurer la longueur des tiges et les racines.



Figure n°06 : Bactérisation des graines du blé dur.

4-2-Effet des isolats sélectionnés sur la croissance du blé (dans les pots) :

Les graines obtenues après bactérisation ont été semées dans des pots à raison de 3 graines par pot et 9 pots par lot, et chaque lot correspond à un inoculum. Ces pots ont été

Chapitre II: Matériels et méthodes

remplis avec un sol stérile et arrosé avec une solution saline de 125mM. L'irrigation a été réalisée régulièrement avec le même volume d'eau de robinet stérile pour le sol stérile.

À la fin de la deuxième semaine, les plantules de blé obtenues ont été soigneusement arrachées et débarrassées de l'excès du sol sur leurs racines.

La taille de la tige, de la racine, le poids frais et le poids sec de chaque plantule ont été déterminés. Le poids sec des plantules est mesuré après séchages des tiges et des racines récoltées.

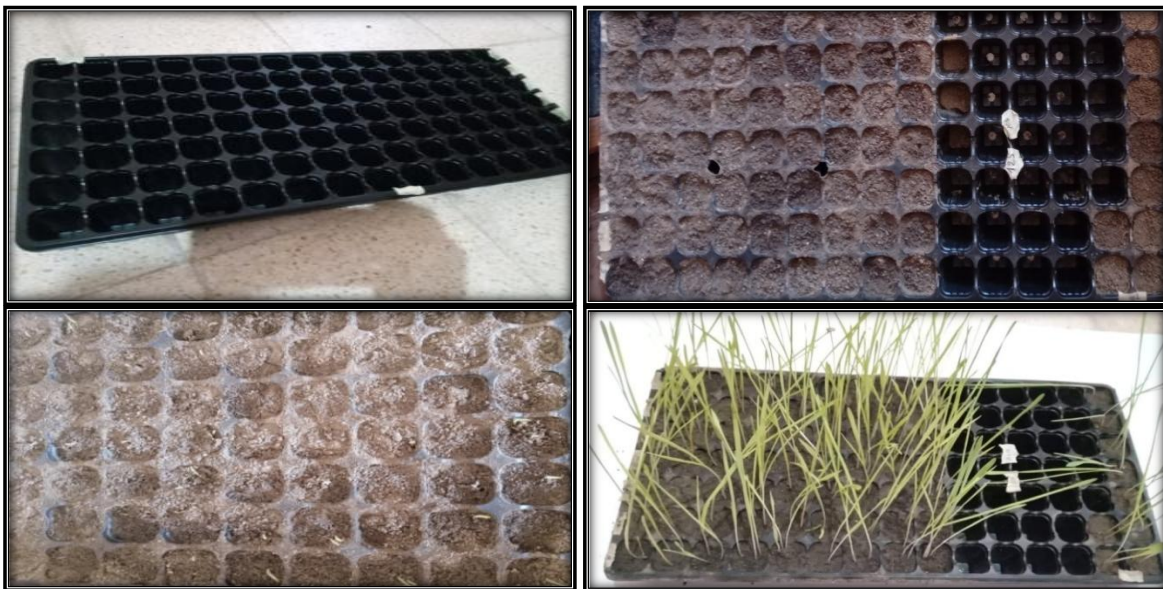


Figure n° 07: Le suivi de la croissance du blé.



Figure n° 08 : Le rinçage et le séchage de plantules de blé.

5-Etude statistique :

Les calculs des moyennes et leurs présentations graphiques ont été réalisés sur un tableur Excel 2007. L'analyse statistique est limitée uniquement sur un seul paramètre de croissance des plantules du blé qui est la longueur. Cette dernière est subdivisée en deux variables : longueur des tiges et longueur des racines. Pour cela on a utilisé le Test ANOVA Global et le Test ANOVA comparaison deux à deux. En utilisant le logiciel Excelstat.

CHAPITRE III : Résultats et discussions



CONCLUSION

Conclusion

Conclusion :

Bien que le blé présente une grande importance dans le régime alimentaire algérien, sa productivité est considérablement reculée ces dernières années. Car, les aires agricoles qu'occupent la filière céréalière et plus particulièrement le blé se situent dans les zones arides et semi-arides qui sont actuellement menacées par la salinisation. Cette dernière est causée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Pour faire face à ce phénomène, plusieurs stratégies ont été développées pour améliorer la croissance et le rendement des végétaux.

Parmi ces stratégies celles qui consistent à utiliser des méthodes biologiques pour promouvoir la croissance et la productivité des végétaux et assurer ainsi leur protection contre les phytopathogènes. C'est une biotechnologie qui fait appel aux rhizobactéries à traits PGPR.

Notre travail consiste à isoler et identifier des bactéries halophiles stimulatrices de la croissance du blé dur, variété Simeto. Les isolats soumis à l'étude sont prélevés dans un milieu hostile et hypersalin.

L'inoculation des graines de blé dur par ces bactéries halophiles et leurs combinaisons sous stress salin a donné un effet bénéfique sur leur germination et leur croissance car on enregistré une amélioration de la taille des tiges et la longueur des racines des plantules du blé, ainsi que leurs poids frais et leur poids sec, qui est considérable surtout pour l'isolat S5 qui à mieux adapter aux nouvelles conditions de salinité,et la combinaison (S1- S5).

L'utilisation de ces bactéries halophiles comme de biostimulants favorisant la croissance et la productivité de plantes reste une approche prometteuse pour améliorer la croissance du blé dur dans les régions arides et semi-arides.

Pour améliorer et valoriser notre travail, nous citons quelques perspectives comme suite :

- Identifier nos bactéries.
- Application in-vivo (dans le champ) pour pouvoir étudier l'interaction microorganismes-plates.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographique

LES REFERENCES :

AHEMAD, M. & KIBRET, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26(01): 1-20.

AHMAD, M., AHMAD, M., EL-NAGGAR, A. H., USMAN, A. R., ABDULJABBAR, A., VITHANAGE, M., ELFAKI, J., ABDULELAH, A. F., AI-WABELI, M. I. (2018). Aging effects of organic and inorganic fertilizers on phosphorus fractionation in a calcareous sandy loam soil. *Pedosphere*, 28(6), 873–883.

AMIR, H. G., SHAMSUDDIN, Z., HALIMI, M., MARZIAH, M., RAMLAN, M. F. (2005). Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 36(15-16), 2059–2066.

AMOO, A. E., & BABALOLA, O. O. (2017). Ammonia-oxidizing microorganisms: key players in the promotion of plant growth. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 935-947.

ANDREA MARQUEEZ, (2021) .Environnementaliste, spécialisée de l'environnement marin et côtier .Rhizosphère, Définition, composition et importance

ARBONA, V., MARCO, A. J., IGLESIAS, D. J., LOPEZ-CLIMENT, M. F., TALON, M., & GOMEZ-CADENAS, A. (2005). Carbohydrate depletion in roots and leaves of salt-stressed potted *Citrus clementina* L. *Plant Growth Regulation*, 46(2), 153-160.

ASHRAF, M., H.R. ATHAR, P.J.C. HARRIS et T.R. KWON (2008). Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron.* 97: 45-110

ASKELANDRA, MORRISON SM. (1983). Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology* .45: 1802-1807.

BAKKER AW, SCHIPPERS B. (1987). Microbial cyanides production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp. Mediated plant growth stimulation. *Soil biology and Soil biochemistry* .19: 451-457.

BANU S, HARISHCHANDRA S, MONNANDA. S. (2018). Indole acetic acid production by the actinomycetes of coffee plantation soils of western ghats. *International Journal of*

Références Bibliographique

CurrentResearchvol 10, Issue, 10, pp.74482-74487,DOI:<https://doi.org/10.24941/ijcr.32796.10.2018>.

BENDOUKHANE, H. & DJAAFER, K. (2016). MALDI -TOF spectrométrie de masse : Un outil efficace pour l'identification rapide et fiable des souches bactériennes, Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes, UMF Constantine 1, 45p.

BENEDUZI, A., A. AMBROSINI ET L. M.P. PASSAGLIA (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. Gen. Mol. Biol., 35 (4): 1044-1051.

BILLAH, M., KHAN, M., BANO, A., HASSAN, T. U., MUNIR, A., GURMANI, A. R.(2019). Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. Geomicrobiology Journal, 36(10), 904-916.

BISHNU M, DHURVA P, SANJAY N, SHARMILA C, JANARDAN L. (2021). Amelioration of growth attributes of *Bambusa nutans* subsp. *cupulata* Stapleton by indole-3-acetic acid extracted from newly isolated *Bacillus mesonae* MN511751 from rhizosphere of *Bambusa tulda* Roxburgh, Department of Biotechnology, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal b Department of Environmental Science and Engineering, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101920>.

BONGOUA DEVISMEA.J. (2009). Implications des communautés bactériennes ferriréductrices et des paramètres environnementaux dans le fonctionnement et la qualité des sols de rizières (Thaïlande et Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat, Université de Cocody, Abidjan.

BOUALI, W., (2017). Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bakr Belkaid, TLEMEN.

BRIC J.M., BOSTOCT R.M., SILVERSTONE S.E. (1991). Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacterial immobilization on a nitrocellulose membrane. *Appl Environ. Microbiol.* 57: 535-538.

CAPPUCCINO, J.C. and SHERMAN, N. (1992). In: Microbiology: A Laboratory Manual, third ed. Benjamin/cummings Pub. Co. New York, pp. 125–179.

Références Bibliographique

CATTELAN, A.J., P.G. HARTEL et J.J. FUHRMANN (1999). Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63: 1670-1680

CHERIF HAFSA, (2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. Et *Pantoea* agglomérans isolées de sols arides. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif.

CHERIF-SILINI, H., THISSERA, B., BOUKET, A. C., SAADAOU, N., SILINI, A., ESHELLI, M., ... & BELBAHRI, L. (2019). Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea* agglomérans with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3989

CITE WEB UTILISER :

DANTAS, B. F., RIBEIRO, L. D. S., & ARAGÃO, C. A. (2005). Physiological response of cowpea seeds to salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes*, 27(1), 144-148.

DAS SARMA, S., DAS SARMA P. 2015. Halophiles and their enzymes: negativity put to good use. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 120-126.

DAS SARMA, S., DAS SARMA, P. 2017. Halophiles. In: eLS, Wiley Ltd: Chichester, p:1-13.

DECROUY. A. (2022), Article .Bactéries halophiles. Définition, caractéristiques et exemple .Projet ecolo.

DEFAGO G., BERLING C.H., BURGER U., HAAS, D., KAHR G., KEEL C., VOISARD C., WIRTHNER P., AND WUTHRICH B., (1990). Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In : *Biological Control of Soil Borne Plant Pathogens* (Ed. D. Hornby) CAB International, Wallingford, Oxon, UK, Pp. 93-108.

DJEAILI RIHAB, PELLEGRINI MARIKA, ROSSI MASSIMILIANO, FORNI CINZIA, SMATI MARIA, DEL GALLO MADDALENA, KITOUNI MAHMOUD., (2021). *Journal Systèmes de sol*, tome 5, Numéro 2. 10. 3390.

DUCA, D., LORV, J., PATTEN, C. L., ROSE, D., & GLICK, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125.

Références Bibliographique

DWIVEDI, S., UPADHYAYA, H., SUUDHI, P., GEHRING, C., BAJIC, V., ORTIZ R. (2010).Enhancing abiotic stress tolerance in cereals through breeding and transgenic interventions. In: Janick (ed) *Plant Breeding Rev*, 33, Wiley, Hoboken.

EL SABAGH, A., A. OMAR, H. SANEOKA ET C. BARUTÇULAR (2015). Comparative physiological study of soybean (*Glycine max L.*) Cultivars under salt stress. *YYU J. Agr. Sci.*, 25(3): 269-284.

Farida BENZINA TIHAR, hakima OULEBBSIR, MOHAND KACI, sonia HAMID, abdennaceur REGHMIT, fatma SAHIR-HALOUNE.(2020) . Détermination et caractérisation des sidérophores synthétisés par quelques souches de *Pseudomonas spp* fluorescentes phyto-bénifiques. *Revue Nature et Technolonogie*.

FLORES-GALLEGOS, A. C., DELGADO-GARCIA, M., ASCACIO-VALDES, J. A., VILLAREAL-MORALES, S., MICHEL-MICHEL, M. R., AGUILAR-GONZALEZ, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2019). Hydrolases of halophilic Origin with importance for the food industry. In *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 197-219). Academic Press.

FRANCO-CORREA, M. ET V. CHAVARRO-ANZOLA. (2016). Actinobacteria as plant growth-promoting Rhizobacteria. pp: 249-270. In: *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. Dhanasekaran, D. et Y. Jiang (Eds.). Intech.

GALINSKI, E. A.(1995). Osmoadaptation in bacteria. In *Advances in microbial physiology* (Vol. 37, pp. 273-328). Academic Press.

GLICK, B.R., C.L. PATTEN., G. HOLGUIN, ET D.M. PENROSE (1995). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press, London

GOLUBYATNIKOV, L., MOKHOV, I., et ELISEEV, A. (2013). Nitrogen cycle in the Earth climatic system and its modeling. *Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics*, 49(3), 229-243. Reddy, P. P. (2014). Potential role of PGPR in agriculture *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection* (pp. 17-34): Springer.

GOUDA, S., R. G. KERRY, G. DAS, S. PARAMITHIOTIS, H. S. SHIN ET J. K. PATRA. (2018). Revitalization of plant growth promoting Rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res.*, 206:131–140.

Références Bibliographique

GOUDJAL Ya, OMRANE T, NASSERDINE S, BARAKATE M, FLORENCE M, ZITOUNI A.(2015). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Springer Verlag, 2013, vol. 29 (n° 10), pp. 1821-1829, hal-01177561, DOI: 10.1007/s11274-013-1344-y.

GUEI NASSE KAEDA RAISSA. (2020). Thèse : caractérisation moléculaire et phénotypique des bactéries symbiotiques et associatives isolées des nodules du pois bambara (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.1. numéro d'ordre 030-2020.

GUPTA G., S. S. PARIHAR, N. K. AHIRWAR, S. K. SNEHI et V. SINGH (2015). Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J. Microb. Biochem. Technol.*, 7(2): 96-102

HALLMAN, J., A. QUADT-HALLMAN, W.F. MAHAFFEE et J.W. KLOPPER (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, 43: 895-914.

HARTONO, H., NURFITRIANI, Fais, A., HARNIYATI, C., NUR, I.H. & MUHAMMAD, J. (2016). Ability of ammonium excretion, indoleacetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogen fixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(19): 11735-11741.

HIL, Y. S., YEN SAN, C., LAU, S. W., DANQUAH, M. K. (2020). Isolation and characterisation of phosphate solubilizing microorganisms from peat. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101643. doi:10.1016/j.bcab.2020.101643.

HONIG, M.; PLIHALOVA, L.; HUSIŤCKOVA, A.; NISLER, J.; DOLEZAL, K. (2018) Rôle des cytokinines dans la sénescence, la défense antioxydante et la photosynthèse. *International J. Mol. Sci.* 2018, 19, 4045.

<https://www.encyclopedie-environnement.org>. 2018. figure : Cycle d'azote.

JØRGENSEN, K., PUUSTINEN, J., SUORTTI, A.-M. (2000). Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. *Environmental Pollution* 107, 245-254.

KALAYU, G. 2019. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 1-7, <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>.

Références Bibliographique

KENNETH, O. C., NWADIBE, E. C., KALU, A. U., UNAH, U. V. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Novel Agent for Sustainable Food Production. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 14(1), 35–54.

KERBAB SOUHILA, (2022) .Effets bénéfiques des bactéries halotolérantes isolées de la rhizosphère des halophytes sur la croissance du blé dur dans les sols salins. Thèse de doctorat spécialité Microbiologie

KLOEPPER, JW. Et C. J. BEAUCHAMP (1992). A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38, 1219–1232

KNOWLES, C. J., BUNCH, A. W., (1986). Microbial cyanide metabolism. *Advances in Microbial Physiology* 27, 73-111.

KRISHNARAJ, P., et DAHALE, S.(2014). *Mineral phosphate solubilization: concepts and prospects in sustainable agriculture*. Paper presented at the Proc Indian Natn Sci Acad.

KUMMAR AMITE KESHARWANI¹, RAVINDER PAL SINGH ¹, ABHIJEET SHANKAR KASHYAP ^{1, 2}, DINESH SINGH,(2020). Caractérisation des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes isolées de Rhizosphère du piment de la région du plateau et des collines du sud. Article de recherche original. Maunath Bhanjan-275103, Inde.

KUMMAR c., & DUBEY, R. C. (2012). Development of plant growth promoting microbial consortium based on interaction studies to reduce wilt incidence in *Cajanus cajan* L. Var. Manak. *World Journal of Agricultural Sciences*, 8(1), 118-128.

KUZYAKOV, Y., RAZAVI, B.S., (2019). Rhizosphere size and shape: temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biol. Biochem.* 135, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>.

L. BENIDIRE A, A. MADLINE A, S.I.A. PEREIRA B , P.M.L. CASTRO B , A. BOULARBAH A, C, * , (2021) . Synergistic effect of organo-mineral amendments and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the establishment of vegetation cover and amelioration of mine tailings. *Journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere*.

LABUSCHAGNE, N., T. PRETORIUS ET A.H. IDRIS (2010). Plant growth promoting Rhizobacteria as biocontrol agents against soil-borne plant diseases. pp: 211-

Références Bibliographique

3-230. In: Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Maheshwari, D. K. (Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg

LEVY, E., EYAL, Z., CHET, I. & HOCHMAN, A. (1992). Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 40(3):163-71.

Li, H., Y. Qiu, T. Yao, Y. Ma, H. Zhang et X. Yang (2020). Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings. *Soil and Tillage Res.*, 199: 104577.

LORCK, H. (1948). Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol. Plant* : 142-146.

LOZACH E. (2001). Le sel et les microorganismes. Thèse de Doctorat, Université de Créteil, France.

LUCHI, N., GHELARDINI, L., ÉBAHIR, L., QUARTIER, M., & SANTINI, A. (2013). Rapid detection of *Ceratocystis platani* inoculum by quantitative real-time PCR assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5394-5404.

LYU, D., ZAJONC, J., PAGE, A., TANNEY, C. A., SHAH, A., MONJEZI, N., ... & SMITH, D. L. (2021). Plant holobiont theory: The phytomicrobiome plays a central role in evolution and success. *Microorganisms*, 9(4), 675.

MA. DEL CARMEN OROZACO-MOSQUEDA, AYOMIDE EMMANUEL FADIJI, OLUBUKOLA OLURANTI BANALOLA R, GLIK, GUSTAVO SANTOYO. (2022). Rhizobiome engineering ; unelign complex rhizosphere interactions to enhance plant growth and health. *Microbiological Research* .[https : doi .org /10.1016'j. micres .2022. 12737](https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.12737).

MARCHALL, N., BOURDON, J.L. & RICHARD, C. (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris

MARGESIN, R., SCHINNER, F. (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles*, 5(2), 73-83.

MARTINEZ-HIDALGO, P., P. GALINDO-VILLARDON, J. M. IGUAL ET E. MARTINEZ-MOLINA (2014). Micro-monospore from nitrogen fixing nodules of alfalfa (*Medicago sativa* L.): A new promising plant probiotic bacteria. *Sci. Rep.*, 4:1-9.

MENASRIA, T. (2020). *Biodiversité microbienne dans les milieux extrêmes salés du Nord-est Algérien* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Références Bibliographique

MENASRIA, T., AGUILERA, M., HACENE, H., BENAMMAR, L., AYACHI, A., SIBACHIR, A ET AL. (2018). Diversity and bioprospecting of extremelyhalophilicarchaeaisolatedfrom Algerian arid and semi-aridwetlandecosystems for halophilic-active hydrolytic enzymes. *MicrobiologicalResearch*, 207, 289-298

MOTOROI. J-P. (2018). .A rticle : sel pedologique, une menace pour les sols agricoles. *Géosciences* N° 22.

MUKHTAR, S., MALIK, K. A., & MEHNAZ, S. (2020). Osmoadaptation in halophilicbacteria and *archaea*.

NACHIT, M.M., PICARD, E., MONNEVEUX, P., LABHILILI, M., BAUM, M. ET RIVOAL, R. (1998). Présentation d'un programme international d'amélioration du blé dur pour le bassin méditerranéen. *Cahiers Agric.*, 7 :510-515

NGOMA, L., BABALOLA, O.O., AHMAD, F. (2012). Ecophysiology of plant growth promotingbacteria. *Scientific Research and Essays* 7, 4003-4013.

NIMAICHAND, S., A. M. DEVI, ET W. J. Li (2016). Direct Plant Growth-PromotingAbility of Actinobacteria in Grain Legumes. Pp: 1-16. *Plant GrowthPromotingActinobacteria*. Subramaniam et al. (Eds.). Springer. Singapore.

PATIL, A., A. KALE, G. AJANE, R. SHEIKH ET S. PATI (2017).pp: 105-134. In: *Rhizobium Biology and Biotechnology, SoilBiology*. Hansen et al. (Eds.). Springer International Publishing.Philippot, L., Raaijmakers, J.M., Lemanceau, P., Van Der Putten, W.H., (2013). Goingback to the roots: the microbialecolgy of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 789–799.<https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>.

PII, Y., PENN, A., TERZANO, R., CRECCHIO, C., MIMMO, T., & CESCO, S. (2015). Plant-microorganism-soilinteractions influence the Fe availability in the rhizosphere of cucumber plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 87, 45-52.

PIKOVSKAYA, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soilinconnectionwith the vital activity of somemicrobialspecies. *Mikrobiologiya*.17: 362-370.

PRASAD, J. K., GUPTA, S. K., & RAGHUWANSHI, R. (2017). Screening multifunctional plant growthpromotingrhizobacteriastrains for enhancingseed germination in wheat (*Triticumaestivum* L.). *International Journal of Agricultural Research*, 12(2), 64-72.

Références Bibliographique

PRASAD, M., SRINIVASAN, R., CHAUDHARY, M., CHOUDHARY, M., JAT, L. K. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture. In: Amit, K.S., Ajay, K. Pawan, K.S., (Eds.), PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture, pp. 129–157.

RABHI N.E. (2011). Isolement de *Pseudomonas spp.* Fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. Diplôme de Magister, Université FERHAT ABBAS Sétif, Algérie.

RAJPUT. L, IMRAN. A, MUBEEN. F et HAFEEZ. F.Y. (2013). SALT-TOLERANT PGPR STRAIN *PLANOCOCCUS RIFIETOENSIS* PROMOTES THE GROWTH AND YIELD OF WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM L.*) CULTIVATED IN SALINE SOIL. *National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE), P.O. Box 577-Jhang Road, 38000 Faisalabad, Pakistan Department of Biosciences, COMSATS Institute of Information Technology, Chak Shahzad Campus, Park Road, Islamabad, Pakistan Corresponding author e-mail: fauzia_y@yahoo.com*

RAMJEGATHESH, R., SAMIYAPPAN, R., RAGUCHANDER, T., PRABAKAR, K., SARAVANAKUMAR, D. (2013). Plant-PGPR interaction for pest and disease resistance in sustainable agriculture. In *bacteria in Agrobiolgy : Disease Management*, Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 293-320.

RAZA TAQI, VILLALOBOS SERGIO DE LOS SANTOS, SHEHZAD MUHAMMAD, IMRAN SHAKEEL et DA SILVA DERLY JOSE HENRIQUES. (2020). Cross Mark : journal Pakistanais de la recherche agricole : article de recherche, caractérisation PGPdesrhizobactéries associées à la courge pommère (*Praecitrullus fistulosus L.*) UFA Sub-Campus, Burewala 61010.

RICHARDSON, AE. (2001): Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.*, 28: 897-906.

RIZZA, A.; JONES, AM.(2019). Les ingrédients d'un gradient: distribution spatio-temporelle des gibbérellines dans le développement des plantes. *Courant. Avis Végétal Biol.* 47, 9–15.

ROBERTS, M.F. (2005). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *Saline Systems*, 1(1), 5.

Références Bibliographique

SAHARAN, BS. ET V. NEHRA (2011). Plant Growthpromotingrhizobacteria: A criticalreview. *Life Sci. Med. Res.*, 21.

SAIDI, S(2021). Thèse : Amélioration de la symbiose *Sinorhizobiummeliloti-Medicagosativa* après co-inoculation par des Actinobacteria. Effets bénéfiques sur les paramètres de croissances sous stress salin.

SASHIDHAR, B., ET PODILE, A. R. (2010).Mineral phosphate solubilization by rhizospherebacteria and scope for manipulation of the direct oxidationpathwayinvolving glucose dehydrogenase. *Journal of appliedmicrobiology*, 109(1), 1-12.

SATHYA, A., R. VIJAYABHARATHI ET S. GOPALAKRISHNAN (2017). Plant growth-promotingActinobacteria: A new strategy for enhancingsustainable production and protection of grain legumes. *Biotech.*, 7(102): 1-10.

SHARMA, S., KUMAR, V., ET TRIPATHI, R. B. (2011). Isolation of phosphate solubilizingmicroorganism (PSMs) fromsoil. *Journal of Microbiology and BiotechnologyResearch*, 1(2), 90-95.

SIDDIKEE, M. A., GLICK, B. R., CHAUHAN, P. S., JONG YIM, W., & SA, T. (2011). Enhancement of growth and salttolerance of redpepperseedlings (*Capsicumannuum* L.) by regulating stress ethylenesynthesiswithhalotolerantbacteriacontaining 1-aminocyclopropane-1-carboxylic aciddeaminaseactivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(4), 427-434.

SINGH, S. P., BHATT, H. B., RAVAL, V. H.(2018). Adaptation Strategies in HalophilicBacteria. In *Extremophiles* (pp. 137-164). CRC Press.

SOUGUCH, CHEIK. (2021) .La salinisation des sols un défi majeur pour la sécurité alimentairemondiale. (In the conversatiion).

SWARNALAKSHMI, K., M. SENTHILKUMAR, ET B. RAMAKRISHNAN (2016).EndophyticActinobacteria: nitrogen fixation, phytohormone production, and antibiosis. Pp: 123-148. *Plant GrowthPromotingActinobacteria*. Subramaniam et al. (Eds.). Springer. Singapore

Tsukanova, K. A., Meyer, J. J. M., &Bibikova, T. N. (2017).Effect of plant growth-promotingRhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African journal of botany*, 113, 91-102.

Références Bibliographique

VAN DER MEIJ, A., S. F. WORSLEY, M. I. HUTCHINGS ET G. P. VAN WEZEL (2017).Chemical ecology of antibiotic production by Actinomycetes. *FEMS Microbiol. Rev.*, 41: 392–416. Van de Poel, B. V. Et D. Van Der Straeten (2014). 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene. *Front. Plant Sci.*, 5 (640): 1-11.

VEJAN, P., R. ABDULLAH, T. KHADIRAN, S. ISMAIL ET A. N. BOYCE (2016).Role of plant growth promoting Rhizobacteria in agricultural sustainability. A review. *Molecules*, 21 (573): 1-17.

WEISSKOPF L. (2013). The potential of bacterial volatiles for crop protection against phytopathogenic fungi. In A. Méndez-Vilas (eds.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, p1352-1363.

WILSON, P.W. & KNIGHT, S.C. (1952).Experiments in bacterial physiology Minneapolis, Minn: Burgess Publishing Co, USA, pp. 49.

Yang, J., J. W. Kloepper et C. M. Ryu. (2009).Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.*, 14:1- 4.

YING MA, MARIA CELESTE DIAS, HELENA FREITAS (2020).Drought and Salinity Stress Responses and Microbe-Induced Tolerance in Plants. *Front Plant Sci.* Nov 13 ; 11 :59191.

ZAHRAN, H. H. (2017).Plasmids impact on Rhizobia-legume symbiosis in diverse environments. *Symbiosis*, 73: 75–91.

ZELLER, S.L., H. BRANDT ET B. SCHMID (2007). Host-Plant Selectivity of Rhizobacteria in a Crop/Weed Model System. *PLoS ONE*, 2(9): 1-7.



ANNEXES

Composition des milieux de culture et des réactifs :**Annexe n° 01: Composition d'un litre de du milieu Burk'sN. Free (Wilson et kinght, 1952) :**

NaCl.....	30g.
KH ₂ PO ₄	0,4g.
K ₂ HPO ₄	0,5g.
NaSO ₄	0,05g.
CaCl ₂	0,2g.
MgSO ₄ 7H ₂ O.....	0,1g.
FeSO ₄ 7H ₂ O.....	0,005g.
Na ₂ MoO ₄	0,003g.
Glucose	10g.
Saccharose	10g.
Agar	10g.
Eau distil.....	1000ml.
Ph=7±0,1.	

Annexe n°02 : Composition d'un litre d'eau peptonée :

Peptone	10g.
NaCl.....	30g.
Eau distillée.....	1000ml.
Ph=7.	

Annexe n°03: Composition d'un litre de milieu d'HCN solide:

Gélose nutritive.....	23g.
Glycine	4,4g.
NaCl.....	30g.
Eau distillée	1000ml.
Ph=7.	

Annexe n°04 : Composition d'un litre de bouillon de Luria Bertani (LB) :

Tryptone.....	10g.
Extrait de levure.....	5g.
NaCl.....	30g.
Eau distillée.....	1000ml.

Ph = 7,00 ± 0,2.

Annexe n°05: Composition d'un litre du milieu Pikovskaya (1948) :

Ca ₃ (PO ₄) ₂	5g.
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5g.
NaCl.....	0,2g.
MgSO ₄ 7H ₂ O.....	0,1g.
KCl.....	0,2g.
MnSO ₄ 2H ₂ O.....	0,002g.
FeSO ₄ 7H ₂ O.....	0,002g.
Extrait de levure.....	0,5g.
Glucose.....	10g.
Eau distillée.....	1000ml.

Ph=7,2.

Annexe n°06: Composition d'un litre de PBS :

NaCl.....	8g.
KCl.....	0,2g.
KH ₂ PO ₄	0,24g.
Na ₂ HPO ₄	1,44g.
Eau distillée.....	1000ml.

Ph = 7,00 ± 0,2.