

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Saad Dahleb - Blida 01**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département : Biotechnologie**



**Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de master**  
**En Sciences de la nature et de la vie**  
**Spécialité : Biotechnologie Microbienne**

## **Thème**

**Caractérisation et activité phytostimulatrice de *Pseudomonas*  
fluorescents isolées de la *Rhizosphère* de palmier dattier.**

**Réaliser par : Abdou Rayane**  
**Kharroubi Kenza**

**Soutenue le 17/07/2023 devant le jury:**

<b>Mme Ammad. F</b>	<b>MCA</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme Benoussaid. N</b>	<b>MCA</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme Djellout. H</b>	<b>MCA</b>	<b>Examinatrice</b>

**2022 - 2023**

# REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous remercions ALLAH, le tout puissant de nous avoir données le courage, la volonté et la santé pour réaliser ce travail.

Nous avons l'honneur de remercier notre promotrice madame **AIT SAADI Nacéra**, maitre de conférences (MCA), à l'université de BLIDA 1, pour son encadrement exceptionnel, ses orientations, et ses conseils ainsi que pour sa gentillesse, sa disponibilité, son assistance et son soutien durant notre préparation de ce mémoire. Acceptez madame nos hautes considérations.

Nos vifs remerciements vont aussi aux membres du jury, madame **AMMAD Faïza** maitre de conférences (MCA) qui nous a fait l'honneur de présider le jury, et madame **DJELLOUT Hafida** maitre de conférences (MCB) qui a accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions également madame **Selma**, ingénieur de laboratoire de Recherche de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques de l'université Blida 1 de nous avoir aidé à travers ses connaissances, sa patience et son encouragement.

Sans oublier de remercier tous les enseignants de la spécialité de Biotechnologie microbienne.

Enfin, ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## **J'AI LE GRAND PLAISIR DE DÉDIER CE MODESTE TRAVAIL,**

A mes chers parents,

Vos encouragements et vos prières m'ont toujours soutenue. Je ferai de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux.

A mon époux Nour El Islem, pour son soutien sans faille, sa grande indulgence, sa compréhension et sa contribution dans le partage du stress de la recherche. Je suis heureuse de partager ce travail avec lui.

Je dédier ce travail à ma très chère fille : Lina.

A ma sœur Camélia et mon frère Nassim pour leur soutien et leur amour.

A ma belle-famille plus particulièrement mes beaux-parents, pour leur soutien permanent et leurs encouragements continus.

A toute ma famille et mes amis.

**Mme Rania**

# DÉDICACE

En premier lieu, louange à ALLAH qui nous a donnée la santé le courage et la volonté  
d'accomplir ce modeste travail

Je dédie ce travail à mes honorables parents, ma mère Fatma et mon père Mohammed les mots  
ne sont pas assez pour remplir votre droit et ne pas exprimé ma reconnaissance et tout l'amour  
que je vous porte. J'ai pu terminer ce travail grâce à vos prières, vos sacrifices et vos  
encouragements continus tout au long de mes études. Je pris dieu de vous protéger, de  
préserver votre santé et de prolonger votre vie.

A mes chères sœurs, Salsabil et Rofaida qui ne m'ont pas toujours laissée sans leurs prières.

A mes grands-parents, mes tantes et mes oncles qui m'ont toujours soutenu.

A mon cher binôme Rania pour tous les moments passés ensembles pour ta diligence et  
persévérances.

A tous ce qui m'aiment et que j'aime

**MLLE KENZA**

## **Résumé :**

Les rhizobactéries jouent un rôle important dans le maintien du sol, parmi ces bactéries, il y a celles qui ont montré leur capacité à favoriser la croissance des plantes, elles sont connues sous le terme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), elles agissent positivement sur la croissance de la plante, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale, et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux.

Dans notre travail, quatorze souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées de la rhizosphère de palmier dattier ont été utilisées pour étudier leurs potentialités de produire des métabolites secondaires ainsi que leurs effets sur la stimulation de la germination sur les graines d'orge. Nos résultats de caractérisation déterminent que la plupart des souches criblées ont la capacité de produire de l'acide indole acétique (92,85%), les Siderophores(100%), l'ammoniac (100%), l'HCN (78,57%), le catalase (100%) et de solubiliser le phosphore (21,42%). Cependant, ces bactéries ont montré leur capacité à vivre dans des conditions environnementaux extrêmes tels que la salinité (35,21%) jusqu'à 8 % de NaCl, le stress hydrique(37,71%) à 60%de PEG et thermique (100%) à 41°C. Ces mêmes bactéries ont montré leur capacité à former du biofilm (42,85%). Ces résultats ont servis de sélectionner et classer les bactéries les plus performantes pour stimuler la germination des graines d'orge. L'inoculation des semences d'orge par ces bactéries(TB4, KT1, et KF-4(1)<sub>8</sub>) a montré une germination importante des tiges (1,84cm, 1,37 cmet 2,76 cm) et des racines (7,78 cm, 4,76 cm, et 6,32 cm)ainsi qu'un effet significatif sur le taux de germination (95,55 % ,73,33 % et 68,88 %) et l'indice de vigueur (919,19, 449,51, 625,43) par rapport au témoin qui a montré une absence de la formation de tige et une moyenne des racine de 4,88 cm avec un taux de germination de 66,66 % et un indice de vigueur de 325,30. Seule la souche TR7 a montré une moyenne des tiges et des racines (2,45 cm, 6,35 cm) supérieures à celles de témoin (0 cm, 4,88 cm) ainsi que l'indice de vigueur (449,68) mais un taux de germination inférieur au témoin (51,10 %).

## **Mots clés :**

Rhizobactéries, PGPR, *Pseudomonas* spp. fluorescents, stress, stimulation de la germination, Orge.

**Abstract:**

Rhizobacteria play an important role in maintaining the soil, among these bacteria there are those that have shown their ability to promote plant growth, they are known as Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), they act positively on plant growth of the plant, by inducing and producing plant growth regulators, and by activating the mechanisms of induced resistance in plants.

In our work, fourteen strains of *Pseudomonas* spp. Fluorescents isolated from the date palm rhizosphere were used to study their potential to produce secondary metabolites as well as their effect on the stimulation of germination on barley seeds. Our characterization results determine that most strains screened have the ability to produce indole acetic acid (92.85%), siderophores (100%), ammonia (100%), HCN (78.57%), catalase (100%) and to solubilize phosphorus (21.42%) as well as they tolerate themselves in extreme environmental conditions such as salinity (35.21%) at 8% NaCl, water stress (37.71%) at 60% PEG and thermal (100%) at 41°C, by the formation of the biofilm (42.85%). These results were used to select and classify the most efficient bacteria to stimulate the germination of barley seeds. The inoculation of barley seeds by these bacteria (TB4, KT1, et KF-4(1)<sub>8</sub>) showed significant germination of stems (1.84 cm, 1.37 cm et 2.76 cm) and roots (7.78 cm, 4.76 cm, et 6.32 cm), as well as a significant effect on the germination rate (95.55 %, 73.33 % et 68.88 %) and the vigor index (919,19, 449,51, 625,43) (919,19, 449,51, 625,43) compared to the control who showed an absence of stem formation and average root length of 4,88 cm with a germination rate of 66,66 % and vigor index of 325,30.

Only the TR7 stain showed an average of stems and roots (2,45 cm, 6,35 cm) higher than those of the control (0 cm, 4,88 cm) as well as the vigor index (449,68), but a lower germination rate than the control (51,10 %).

**Key words:**

Rhizobacteria, PGPR, *pseudomonas* spp fluorescent, stress, sprouting stimulation, Barley.

## ملخص:

تلعب البكتيريا الجذرية دورًا مهمًا في الحفاظ على التربة ، ومن بين هذه البكتيريا ، هناك تلك التي أظهرت قدرتها على تعزيز النباتات ، وتعرف باسم البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات (PGPR) ، وتعمل بشكل إيجابي على نمو النبات ، عن طريق تحفيز و إنتاج منظمات نمو النبات ، وتفعيل آليات المقاومة المستحثة في النباتات.

في عملنا ، أربعة عشر سلالة من *Pseudomonas spp*. تم استخدام الفلورسنت المعزول من جذور نخيل التمر لدراسة قدرتها على إنتاج مستقلبات ثانوية بالإضافة إلى تأثيرها على تحفيز إنبات بذور الشعير.

تحدد نتائج التوصيف التي توصلنا إليها أن معظم السلالات التي تم فحصها لديها القدرة على إنتاج حمض الأسيتيك (92.85%) ، حامض السيديروفور (100%) ، والأمونيا (100%) ، و (78.57%) HCN ، و الكاتالاز (100%) والفوسفور (21.42%) القابل للذوبان بالإضافة إلى تحمل نفسها في الظروف البيئية القاسية مثل الملوحة (35.21%) عند 8% كلوريد الصوديوم و الإجهاد المائي (37.71%) عند 60% من PEG والإجهاد الحراري (100%) وتكوين الأغشية الحيوية (42.85%). تم استخدام هذه النتائج لاختيار وتصنيف البكتيريا الأكثر كفاءة لتحفيز إنبات بذور الشعير.

أظهر تلقح بذور الشعير بهذه البكتيريا (TB4, KT1, KH-4(1)8) إنبات معنوي للسيفان (1,84 سم 137 -والجذور ، بالإضافة إلى تأثير معنوي على معدل الإنبات ومؤشر النشاط مقارنة بالسيطرة.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Classification des <i>Pseudomonaceae</i> selon Palleroni et Doudoroff (DJ. Brenner et al.,Palleroni N, 2010).....	06
<b>Tableau 02:</b> Caractéristiques des souches des <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	22
<b>Tableau 03:</b> Tests de production de métabolites secondaires.....	29
<b>Tableau04:</b> Production d'acide indole acétique dans les quatorze souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	30
<b>Tableau05:</b> Production d'HCN dans les quatorze souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	31
<b>Tableau06:</b> Calcul de l'indice de solubilité chez les souches qui ont solubilisé le phosphate.....	33
<b>Tableau 07 :</b> Résistance des souches bactériennes à différentes concentrations en sel.	35



## Liste des figures

<b>Figure01:</b> Relations phylogénétiques des protéobactéries, contenant les genres bactériens actuellement ou anciennement associés aux <i>Pseudomonas</i> (Kersters et al., 1996 ; Bossis et al., 2000 ; Kahli, 2021).....	05
<b>Figure02:</b> Classification globale des <i>Pseudomonas</i> montrant plus de 10 genres classés dans les <i>Pseudomonadales</i> et leurs autres espèces classées représentant différents groupes sur la base de plusieurs RFLP enzymatiques (R. Sah et al., 2021).....	07
<b>Figure03:</b> Rôle contributif de <i>Pseudomonas</i> fluorescents à la fois dans la régulation de la croissance des plantes et dans le contrôle phytopathogène par divers mécanismes (R. Sah et al., 2021). ....	09
<b>Figure04:</b> Boucle de rétroaction représentant l'interaction bénéfique plante-rhizobactéries (Vancheron, 2015 modifiée de Lemaceau et al., 2014).....	10
<b>Figure05:</b> Représentation schématique des métabolites secondaires produits par les <i>Pseudomonas</i> fluorescents dans la rhizosphère impliqués dans le biocontrôle des phytopathogènes (Michraat Arora, 2017). ....	14
<b>Figure06:</b> Croissant fertile (Zairi, 2016).....	18
<b>Figure07:</b> Épis d'orges à deux et à six rangs (Esteves, 2014).....	19
<b>Figure 08:</b> Production d'AIA dans trois différentes souches bactériennes.....	30
<b>Figure 09:</b> Production de Sidérophores dans différentes souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	31
<b>Figure 10:</b> Production d'HCN par les souches bactériennes.....	32
<b>Figure 11:</b> Résultats positifs des souches productrices de l'ammoniaque.....	32
<b>Figure 12:</b> Solubilisation du phosphate par les souches TB <sub>1</sub> , TB <sub>3</sub> , de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	33
<b>Figure 13:</b> Production de catalase par les quatorze souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	34
<b>Figure 14:</b> Production du biofilm par les souches de <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	34
<b>Figure 15:</b> Souches résistantes à des concentrations élevées de la salinité.....	35
<b>Figure16 :</b> Histogramme représente le pourcentage de souches résistantes et sensibles aux antibiotiques.....	36
<b>Figure17:</b> Réaction de la souche TF <sub>10</sub> <sup>-8</sup> contre trois types d'antibiotiques.....	36
<b>Figure 18:</b> Croissance des souches bactériennes après un stress thermique.....	37

<b>Figure 19:</b> Souches bactériennes de <i>Pseudomonas</i> fluorescents dans différentes concentrations de PEG.....	38
<b>Figure 20:</b> Histogramme représentant le développement des souches à différentes concentrations de PEG.....	38
<b>Figure 21:</b> Comparaison entre les semences germées par les traitements T5 et T2.....	39
<b>Figure22 :</b> Histogramme représentant le taux de germinationde l’orge selon les traitements.....	40
<b>Figure23 :</b> Histogramme représentant la longueur moyenne des tiges et des racines.....	41
<b>Figure24:</b> Histogramme représentant l’indice de vigueur chez les souches criblées.....	41

### **Liste des abréviations :**

**PGPR:** Plant growth promoting rhizobacteria

**PGR:** Régulateur de la croissance des plantes

**RFLP:** Polymorphisme de longueur des fragments de restriction

**DRB:** Rhizobactéries délétères

**BCA:** Agent de contrôle biologique

**ISR:** Résistance systémique induite

**P:** Phosphore

**Po:** Phosphore organique

**Pi:** Phosphore inorganique

**N:** Azote

**K:** Potassium

**AIA:** Acide indole acétique

**Trp:** Tryptophane

**QS :** Quorum sensing

**PEG :** Polyéthylène glycol

**AS :** acide salicylique

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

## **Table des matières**

**INTRODUCTION GENERALE.....01**

### **CHAPITRE I : Synthèse bibliographique**

**I. Introduction au genre pseudomonas.....04**

I.1. Pseudomonas fluorescens .....05

I.1.1. Classification .....06

I.1.2. Caractéristiques bactériologique .....07

I.1.3. Habitat .....08

I.1.4. Importances des pseudomonas fluorescents.....08

I.1.5. Mécanisme d'action.....09

I.1.5.1. Interaction pseudomonas - plante .....10

I.1.5.2. Interaction pseudomonas - pathogène .....11

I.1.6. Les effets bénéfiques des Pseudomonas Fluorescents.....11

I.1.6.1. Les effets directs .....11

I.1.6.1.1. La stimulation de la croissance des plantes .....11

I.1.6.1.2. Stimulation de la germination .....12

I.1.6.2. Les effets indirects .....12

I.1.6.2.1. La compétition..... 12

I.1.6.2.2. Modification des équilibres microbiens.....12

I.1.6.2.3. La résistance systémique induite .....13

I.1.7. Métabolisme secondaires des pseudomonas fluorescents et le quorum sensing .....13

I.1.7.1. Solubilisation du phosphate .....14

I.1.7.2. La production des sidérophores .....	15
I.1.7.3. La production de l'acide indol-3-acétique.....	15
<b>II. Généralité sur l'orge .....</b>	<b>17</b>
II.1. L'origine de l'orge .....	17
II.2. Taxonomie de l'orge .....	18
II.3. Importance et production de l'orge.....	19
II.4. Utilisation de l'orge.....	20
II.4.1. Alimentation humaine .....	20
II.4.2. Alimentation animale.....	20
 <b>CHAPITRE II: Etude expérimentale</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
<b>I. Matériel .....</b>	<b>22</b>
I. 1. Matériel non biologique.....	22
I. 2. Matériel biologique.....	22
I. 2.1. Souches bactériennes.....	22
I. 2.2. Matériel végétal... ..	23
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>23</b>
II.1. Purification des souches.....	23
II.2. Test de fluorescence.....	23
II.3. Caractérisation in vitro des souches bactériennes.....	23
II.3.1. Production de métabolites impliqués dans la phytostimulation.....	23
II.3.1.1. Production d'acide indole acétique (AIA).....	23
II.3.1.2. Production d'HCN.....	24
II.3.1.3. Production des sidérophores.....	24
II.3.1.4. Production de l'ammoniac.....	24
II.3.1.5. Solubilisation de phosphate.....	24
II.3.1.6. Test catalase.....	25

II.3.2. Résistances des souches aux différents stress abiotiques...	25
II.3.2.1. Production du biofilm.....	25
II.3.2.2. Résistance des souches au chlorure de sodium (NaCl) et aux antibiotiques.....	26
II.3.2.2.1. Résistance à la salinité .....	26
II.3.2.2.2. Résistance aux antibiotiques .....	26
II.3.2.3. Effet du stress thermique et hydrique sur la croissance des souches.....	26
II.3.2.3.1. stress thermique.....	26
II.3.2.3.2. stress hydrique .....	27
II.4. Effet des PGPR sur la stimulation de la germination des graines de l'orge .....	27
II.4.1. Essai de la stimulation de la germination des graines de l'orge .....	27
II.4.1.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	27
II.4.1.2. Désinfection des semences.....	27
II.4.1.3. bactérisation des semences.....	27
<b>III. Résultats.....</b>	<b>29</b>
III.1. La fluorescence.....	29
III.2. Production de métabolites impliqués dans la phytostimulation.....	29
III.2.1. Production d'acide indole acétique.....	29
III.2.2. Production des Sidérophores.....	30
III.2.3. Production de cyanure d'hydrogène (HCN).....	31
III.2.4. Production de l'ammoniaque.....	32
III.2.5. Solubilisation de phosphate .....	32
III.2.6. Synthèse de catalase.....	33
III.3. Résistances des souches aux différents stress abiotiques.....	34
III.3.1. Production du biofilm.....	34
III.3.2. Résistance des souches au chlorure du sodium (NaCl) et aux antibiotiques.....	34
III.3.2.1. Résistance à la salinité.....	34
III.3.2.2. Résistance aux antibiotiques.....	35
III.3.3. Effet du stress thermique et hydrique sur la croissance des souches.....	37

III.3.3.1.Stress thermique.....	37
III.3.3.2.Stress hydrique.....	37
III.4.L'application de la promotion de croissance.....	39
III.4.1. Le taux de germination.....	39
III.4.2. Moyenne des tiges et racines.....	40
III.4.3. L'indice de vigueur.....	41
<b>IV. DISCUSSION.....</b>	<b>42</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERENCES</b>	
<b>ANNEXES</b>	

# **INTRODUCTION**



### Introduction

Les céréales sont les premières plantes cultivées à être domestiquées, constituant l'alimentation de base d'une grande partie de la population du globe. L'orge est l'une des céréales les plus anciennement cultivées, il occupe la quatrième place après le blé, le riz et le maïs. Il joue également un rôle primordial non seulement en alimentation humaine mais également comme aliment de bétail en période hivernale lorsque le déficit fourragère est grand et le prix du fourrage est élevé (Saulnier, 2012 ; Rosemary. K et al., 2008 ; Statista , 2017).

En effet les différents stress abiotiques dont la sécheresse, le déficit hydrique, la rigueur, les gelées et les fortes chaleurs ainsi que biotiques tels que la contamination par les champignons pathogènes font que les rendements sont irréguliers et souvent faibles (Panaud, 2009 ; Bensemane, 2015 ; Adjel, 2017). En plus de l'application de grandes quantités d'intrants chimiques (pesticides et fertilisants), pour atteindre des performances de plus en plus revues à la hausse et les méfaits néfastes vérifiés de ces produits chimiques, actuellement ils sont considérés comme des principaux polluants de l'environnement ayant engendré la détérioration des propriétés biologiques des sols et l'accumulation de résidus chimiques dans les produits agricoles récoltables ( Ahmed et al., 2009).

L'inoculation des plantes à intérêt économique, essentiellement l'orge par des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale également nommés PGPR est une approche biologique efficace et économiquement rentable pour l'augmentation du rendement agricole, ces rhizobactéries ont l'aptitude à coloniser les racines et interagir avec eux directement ou indirectement de façon intense (Mayak et al., 2004 ; Zahir et al., 2009).

Parmi ces rhizobactéries, les *Pseudomonas* spp. fluorescents qui représentent un intérêt scientifique majeur et qui ont été largement étudiées et expérimentées, surtout par rapport à leurs performances dans la phytostimulation de la croissance de nombreuses plantes (Kloepper J.W et al., 1978 ; Latour X. et al., 1996 ; Benchabane M. 2005 ; S. Gupta et al., 2019 ; Mosqueda et al., 2019 ; Patel et al., 2019), à leur capacité de colonisation racinaire, leur participation dans l'amélioration de l'alimentation de la plante, notamment en fer et en phosphore et la production d'enzyme et de métabolites ainsi que la protection des attaques phytopathogènes (Jaizme-Vega et al., 2004 ; SS Vurukonda, et al., 2016 ; V. Singh, et al., 2018 ; Lami, 2020).

## *Introduction*

---

Dans cette optique, notre travail a été orienté dans le but d'étudier l'activité phytostimulatrice de quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées de la rhizosphère de palmier dattier et sa capacité à se développer dans des conditions extrêmes telles que la température élevée, le stress hydrique et la présence dans des milieux à forte salinité, à travers son métabolisme secondaires impliqués dans la phytostimulation. En plus de la capacité de ces bactéries à stimuler la germination des céréales où nous nous sommes appuyées dans cette étude sur une variété d'orge.

# **CHAPITRE I :**

## **Synthèse bibliographique**

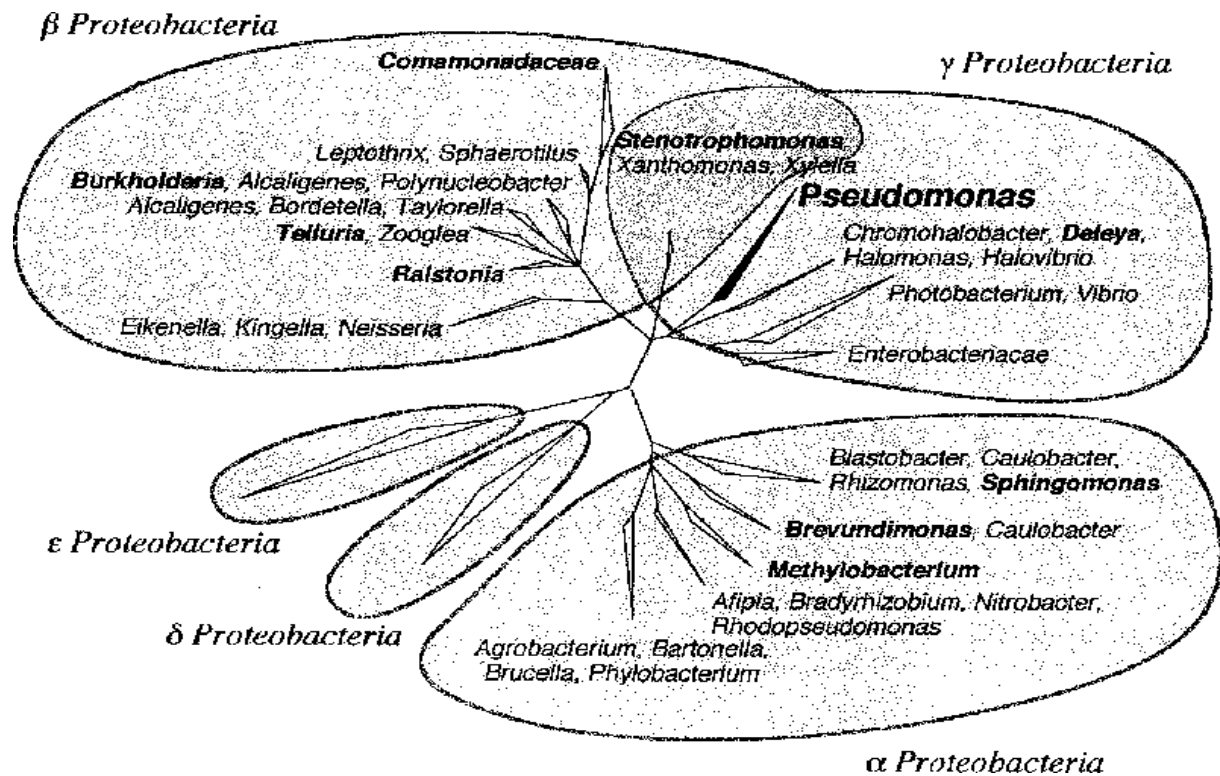
## I. Introduction au genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* représente un large groupe de microorganisme très distinct, ubiquitaire et hétérogène désigné par les Pseudomonads, ils sont écologiquement importants sur la terre. Depuis sa première description par **Migula en 1894**, de nombreuses espèces de ce genre bactérien ont été retrouvées en populations adaptées aux principaux écosystèmes naturels terrestres et aquatiques, cette large distribution suggère un degré d'adaptabilité physiologique et génétique remarquable (**Spires et al.,2000 ; Singh, 2016 ; Zhang et al.,2020 ; Zhuang et al.,2021**)(Figure 1).

Aujourd'hui le genre *Pseudomonas* inclut de nombreuses espèces qui sont largement utilisées dans de nombreux secteurs industriels tels que l'alimentation, la pharmacie et l'écologie (**Scales, 2014 ; Singh et al., 2021**).

**Selon Bossis et al., (2000)**, le genre contient :

- I. Des *Pseudomonas* spp. non fluorescents, tels que *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. Pseudoalcaligenes*.
- II. Des *Pseudomonas* spp. Fluorescentsphytopathogènesnécrogéniques sans cytochrome oxydase tels que *P. syringae* et *P. viridiflava*.
- III. Des *Pseudomonas* fluorescentsphytopathogènes à cytochrome oxydase C552 positive à l'exemple de *P. cichorii*, *P. marginaliset P. tolaasii*(**Young et al., 1992**)et des agents non phytopathogènes et non nécrogéniques, à l'exemple de *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis* et l'espèce type *P. aeruginosa*(**Benchaaben ,2005 ; Kahli, 2021**).



**Figure 01 :** Relations phylogénétiques des protéobactéries, contenant les genres bactériens actuellement ou anciennement (en gras) associés aux *Pseudomonas* (Kersters et al., 1996 ; Bossis et al., 2000 ; Kahli, 2021).

### I.1. *Pseudomonas* spp. fluorescents non phyto pathogènes

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des habitants typiques des sols agricoles, essentiellement non pathogènes en s'impliquant dans de nombreuses interactions avec les plantes d'une part et les microorganismes d'autre part, notamment au niveau des rhizosphères (Schroth et al., 1992 ; Lemanceau, 1992 ; S. Karthika et al., 2020). Ces bactéries sont considérées comme PGPR favorisant la croissance des plantes en suivant différents mécanismes directs et/ou indirects. Ces rhizobactéries peuvent contribuer dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes et dans la biofertilisation des sols dans les pratiques de l'agriculture durable (faessel et al., 2015 ; Ilangumara, 2017 ; Poveda et al., 2022).

### I.1.1. Classification

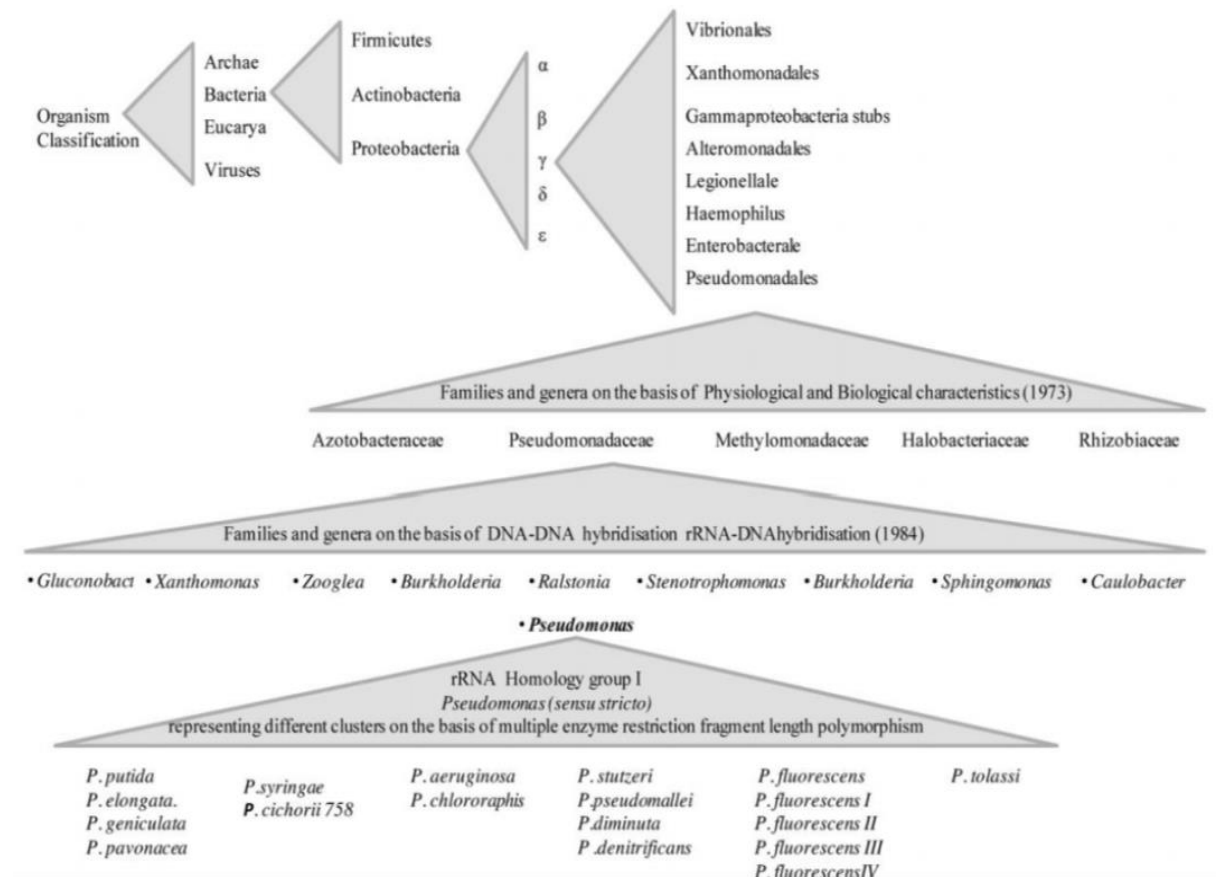
*Pseudomonas stricto sensu* appartient au phylum des *Protéobactéries*, à la classe des *Gamma protéobactéries*, l'ordre des *Pseudomonadales*, la famille des *Pseudomonadaceae*, le genre des *Pseudomonas*, et l'espèce du groupe *fluorecens* (Tournus, 2016 ; R. Singh et al., 2021 ; Kahli, 2021).

En 1984, Palleroni subdivise le genre *Pseudomonas* en 5 groupes (I à V) (tableau 01) sur la base de l'hybridation ADN-ARN et le catalogage de l'ARN ribosomique afin d'aboutir à de profonds remaniement créant de nouvelles espèces et de nouveaux genres. Puis les espèces des groupes II à V sont transférées dans d'autres genres. Le genre *Pseudomonas* est alors restreint aux espèces du groupe ARN de type I, qui fait partie de la sous-classe  $\gamma$  des *Proteobactéries* qui regroupe toutes les espèces ayant la capacité de produire de la pyoverdine fluorescente (Eyquem et al., 2000 ; Anza et al., 2014 ; Palleroni N, 2010; schalk, 2008 ; Chu et al., 2019 ; Sunder et al., 2021). (figure 02).

**Tableau 01** : Classification des *Pseudomonaceae* selon Palleroni et Doudoroff (Brenner et al., Palleroni, 2010).

Groupe d'ARN	Genres
Groupe I	<i>Pseudomonas sensu stricto</i>
Groupe II	<i>Burkholderia, Pandoraea, Ralstonia</i>
Groupe III	<i>Acidovorax, Comamonas, Delftia</i>
Groupe IV	<i>Brevundimonas</i>
Groupe V	<i>Stenotrophomonas</i>

*P. fluorescens* a été subdivisé en sept biotypes qui ont été par la suite regroupés en cinq biovars (I à V), deux biotypes ayant évolué en *P. chlororaphis* et *P. aureofaciens*, pour ensuite être fondus dans une même espèce (*P. chlororaphis*) (Palleroni, 1984; Stanier et al., 1966 ; R. Singh et al., 2021).



**Figure 02 :** les *Pseudomonadales* et leurs autres espèces classées représentant différents groupes sur la base de plusieurs RFLP enzymatiques (Sah et al., 2021).

### I.1.2. Caractéristiques bactériologiques :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à gram négatif, droits ou légèrement incurvés de dimensions de 1,5 - 4,0  $\mu\text{m}$  x 0,5 – 1,0  $\mu\text{m}$  munis d'un ou plusieurs flagelles polaires (Palleroni, 1984 ; R. Sah et al., 2021). Ces bactéries sont chimio-organotrophes, non sporulées, aérobie strict, certaines souches ont une respiration anaérobie avec le nitrate comme accepteur final d'électrons et/ou l'arginine et ne peuvent croître à Phinférieur à 4,5. La plupart des *Pseudomonas* spp. fluorescents se cultivent entre 28°C à 30°C et se caractérisent par une croissance lente à 4°C. Les membres de ce groupe se caractérisent par leur aptitude à synthétiser, en situation de carence en fer, des siderophores présentant un groupe chromatophore jaune – vert fluorescent sous rayonnement ultraviolet (UV- 230 nm) (Eyquem et al., 2000 ; Palleroni, 1984 ; Kahli, 2021 ; N. Didwania et al., 2020 ; J. Poveda et al., 2022).

Selon **Holloway et Morgan (1986)**, la taille du chromosome de *P. fluorescens* est de 4107 kb avec un pourcentage de G/C de 59 à 63 %. **Rainey et Bailey (1996)** ont rapporté une taille de 6630 kb pour le chromosome de *P. fluorescens* (**Benchaaben, 2005**).

### I.1.3. Habitat

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des rhizobactéries omniprésentes dans de nombreux habitats de l'écosystème ont des exigences nutritives très modestes. Elles survivent et se multiplient dans des environnements humides. Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans l'eau, le sol, les végétaux et les tissus biologiques. Elles ont une capacité à s'installer dans des niches différentes (**Fernandez, 2015 ; Kahli, 2021**). Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont principalement retrouvées dans l'environnement mais aussi en milieu hospitalier, en tant que contaminants des eaux et des solutions antiseptiques dont l'origine n'est pas connue (**Freney et al., 2007; Kahli, 2021**).

### I.1.4. Importance des *Pseudomonas* spp. fluorescents non phytopathogènes :

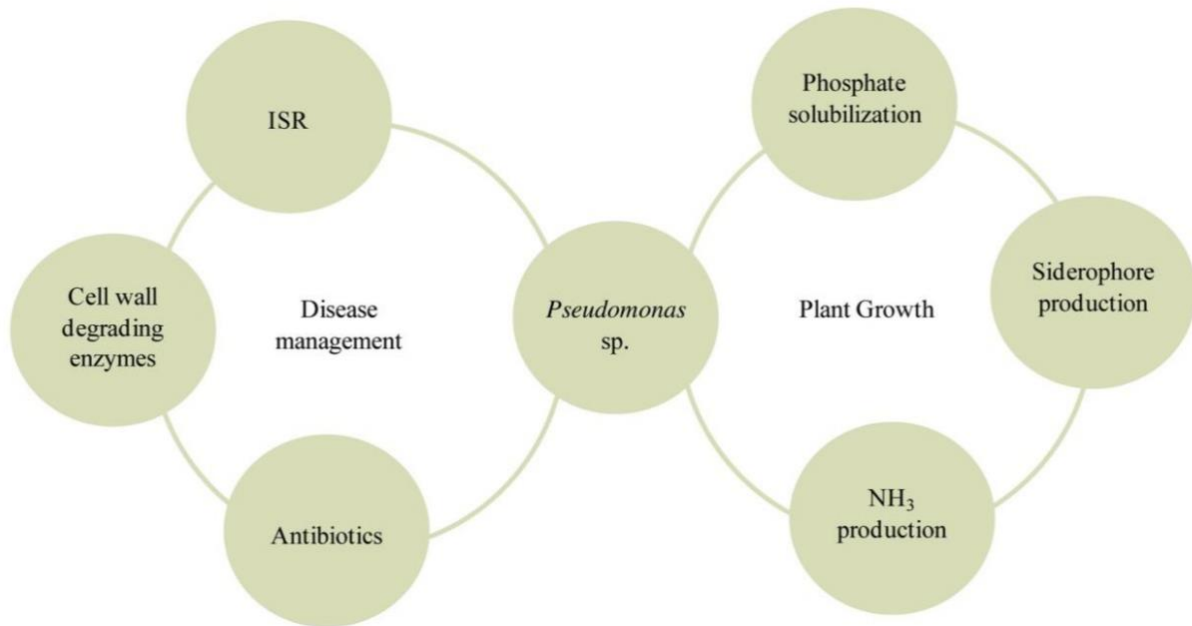
*Pseudomonas* spp. fluorescents nommées PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) ou Rhizobactéries (**Baranski et al., 2007 ; Wu et al., 2020**) peuvent stimuler la croissance des plantes ainsi que sa protection contre des microorganismes pathogènes, ce qui favorise une augmentation significative du rendement de la culture concernée (**Lemanceau, 1992 ; Bolwerk et al., 2003 ; Bakker et al., 2007; Weller, 2007 ; Baranski et al., 2007 ; Wu et al., 2020; N. Didwania et al., 2020 ; Poveda et al., 2022**). Son utilisation comme biofertilisant également appelé biostimulant ou phytostimulant permet la limitation de l'utilisation des intrants chimiques (**Faessel et al., 2015 ; Benoussaid, 2018**).

Ces rhizobactéries améliorent le développement des racines via la production de certaines phytohormones, enzymes et métabolites. De nombreux travaux ont montré que ces rhizobactéries interviennent aussi dans le bio contrôle de la plante par la diminution des effets délétères des phytopathogènes en synthétisant des antibiotiques spécifiques (**Fisher et al., 2009**). Ainsi l'importance qu'elles peuvent jouer dans les tolérances face aux stress environnementaux et leurs capacités à augmenter la biomasse et la croissance racinaire (**Arzanech et al., 2011**).

Les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la plante s'opèrent à travers des actions directes avec des modifications du métabolisme et des fonctions physiologiques des plantes et indirectes avec des modifications des équilibres microbiens de la rhizosphère. Toutes



ces actions peuvent se combiner pour s'assurer que la croissance des cultures est stimulée et que les agents pathogènes sont protégés (Reddy et Rahe, 1989 ; S. Singh et al., 2021).



**Figure03:** Rôle contributif de *Pseudomonas* fluorescents à la fois dans la régulation de la croissance des plantes et dans le contrôle phytopathogènes par divers mécanisme (R. Singh et al., 2021).

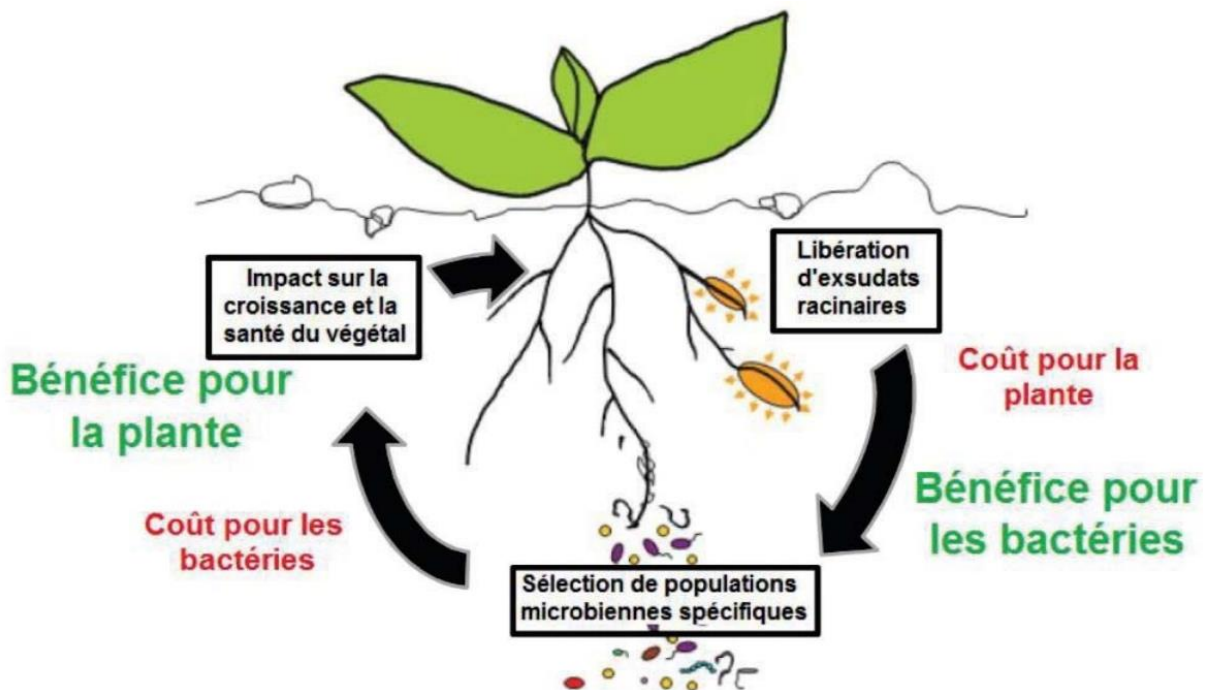
### I.1.5. Mécanismes d'action

Les mécanismes d'action des PGPR sont regroupés en mécanismes directs et indirects. Les mécanismes indirects se produisent en dehors de la plante et comprennent la production d'antibiotiques contre des bactéries pathogènes, la réduction de fer disponible pour les phytopathogènes présents dans la rhizosphère, la synthèse d'enzymes dégradant les parois cellulaires fongiques et la compétition avec les microorganismes délétères pour les niches sur la plante (Scher et Baker, 1982; Thomashow et al., 1990 ; Meyer, 2000 ; Wang et al., 2020).

Cependant, les mécanismes directs interagissent avec la plante et affectent directement son métabolisme. Ces mécanismes consistent en l'amélioration du développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs, la séquestration du fer pour les plantes par les sidérophores, la production de phytohormones, solubilisation de phosphore et l'induction des mécanismes de résistance aux maladies (Siddiqui, 2003 ; Boukerma, 2012 ; Kahli, 2021).

### I.1.5.1. Interaction *Pseudomonas* fluorescent- plante

L'association de *Pseudomonas* avec des plantes cultivées procure plusieurs mécanismes de rétroaction sécrétoires et électroniques afin de réguler la croissance des plantes et les activités de contrôle des phytopathogènes par la sécrétion de plusieurs phytohormones, de métabolites secondaires et des enzymes. La première étape de cette interaction est l'initiation de la formation de biofilm sur la racine de la plante pour une colonisation efficace, régie par plusieurs mécanismes et molécules de surface (Pattnaik et al., 2019 ; R. Singh et al., 2021). (figure 04).



**Figure04:** Boucle de rétroaction représentant l'interaction bénéfique plante-rhizobactéries (Vancheron, 2015 modifié de Lemaceau et al., 2014).

### I.1.5.2. Interaction *Pseudomonas* fluorescent-pathogène

Une alimentation saine et le besoin urgent d'une agriculture durable en raison de la résistance émergente des ravageurs à différents pesticides chimiques ont conduit à rechercher de nouvelles solutions basées sur des micro-organismes bénéfiques à utiliser dans la lutte intégrée contre les ravageurs. Parmi un large éventail de micro-organismes étudiés, trois des mécanismes sous-jacents de biocontrôle comprennent la compétition avec les pathogènes, l'inhibition directe des pathogènes par l'antibiose et l'induction de résistance chez la plante hôte (Swain et Mukherj, 2020 ; Tamara Janakiev, 2021 ; J. Poveda et al., 2022).

### I.1.6. Les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp.fluorescents

Les effets bénéfiques des PGPR impliquent la stimulation des processus clés de plant esqui peuvent favoriser la croissance et le développement des plantes (Ilangumara, 2017 ; Poveda et al., 2022).*Pseudomonas*fluorescents peuvent avoir un impact direct sur la plante hôte en produisant différentes substances pour la stimulation de croissance des plantes et la protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique par la synthèse des composés antagonistes qui sont capables de limiter la prolifération des agents pathogènes ainsi certaines souches de *Pseudomonas* stimulent la germination des graines, et d'autres, influencent positivement les interactions entre les microorganismes symbiotiques (Rhizobium, Bradyrhizobium; champignons mycorhiziens) et la plante hôte (Lemanceau,1992 ; S. Karthika et al., 2020).

#### I.1.6.1. Les effets directs

##### I.1.6.1.1. La stimulation de la croissance des plantes

Les souches de *Pseudomonas* possèdent diverses propriétés pour soutenir le développement des plantes dans des environnements difficiles. Les régulateurs de croissance des plantes (PGR) sont des messagers chimiotactiques, (phytohormones, enzymes et vitamines), qui contrôlent activement les facteurs de stress environnementaux par des associations positives (synergie) ou négatives (antagonistes) ( Frankenberger et Arshad, 1991 ; Rodela et al., 1993 ; Gamez et al., 2019 ; R. Singh et al., 2021). Ces substances se traduisent par des gains au niveau de la germination et du levé, du fonctionnement et de la croissance du système racinaire et du bilan global en nutrition hydrominéral de la plante (Lemanceau, 1992; Digat, 1994 ; R. Sah et al., 2021).

### I.1.6.1.2. Stimulation de la germination

Parmi les effets bénéfiques des PGPR sur les plantes figure la stimulation de la germination des graines et du développement végétal ainsi que l'amélioration de l'obtention des éléments minéraux et l'utilisation de l'eau. Ces effets se traduisent généralement par une phytostimulation. Certaines souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents, semblent améliorer la germination des graines dans l'environnement hostile (**Lemanceau, 1992 ; Jacouetal., 1999 ; Dobbelaereetal., 2002 ; Khalid et al., 2004 ; MF. Mekureyaw et al., 2021 ; R. Singh et al., 2021**). En effet, ces bactéries colonisent efficacement la spermosphère et assurent une bioprotection des semences vis-à-vis des rhizobactéries délétères (DRB) avant et pendant leur germination (**Digat, 1994 ; Kumar et al., 2016 ; S. Karthika et al., 2020**). Des souches distinctes de *Pseudomonas* fluorescents agissent comme inoculants des semences, ce qui améliore le rendement (**Yan et al., 2008 ; Costa-Gutierrez et al., 2020**).

### I.1.6.2. Les effets indirects

#### I.1.6.2.1. La compétition

Les interactions microbiennes sont conditionnées par la nature et l'intensité de la compétition entre microorganismes pour le fer et/ou les nutriments. Ces microorganismes peuvent agir comme des BCA par la production de métabolites secondaires, la production d'enzymes lytiques ou l'induction de défenses végétales (**Alabouvette, 1983 ; Verma et al., 2019**). Les *Pseudomonas* fluorescents antagonistes participent à ces 2 types de compétition. Même si le rôle de la compétition pour l'espace ne peut être complètement exclu, l'essentiel des travaux relatifs à la compétition, instaurée par les *Pseudomonas* fluorescents, porte sur la compétition trophique et, en particulier, sur la compétition pour le fer (**Lemanceau, 1992 ; MSS. Noori et al., 2012 ; F. Assefa et al., 2020**).

#### I.1.6.2.2. Modification des équilibres microbiens

La modification du microbiote des plantes et du sol est essentielle pour stimuler les relations symbiotiques bénéfiques en agriculture. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont considérés comme agents potentiels de biocontrôle des maladies d'origine tellurique et plusieurs études ont montré leur efficacité sous forme d'inoculum bactérien. Le contrôle des champignons telluriques est dû à la compétition des nutriments, et à l'antibiose (**Lemanceau, 1992 ; MSS. Noori et al., 2012 ; Thomashow et Welle., 1988 ; Haas et al., 1991 ; Cook et al., 1995 ;**

**Schippers et al., 1995 ; Moulin et al., 1996 ; J. Poveda et al., 2022 ; N. Gupta et al., 2020).** Ainsi, ces rhizobactéries induisent également des hormones favorisant la croissance dans la culture et améliorant la qualité (Weller et Cook, 1986 ; Lemanceau et Alabouvette, 1991 ; N. Didwania et al., 2020).

### **I.1.6.2.3. La résistance systémique induite**

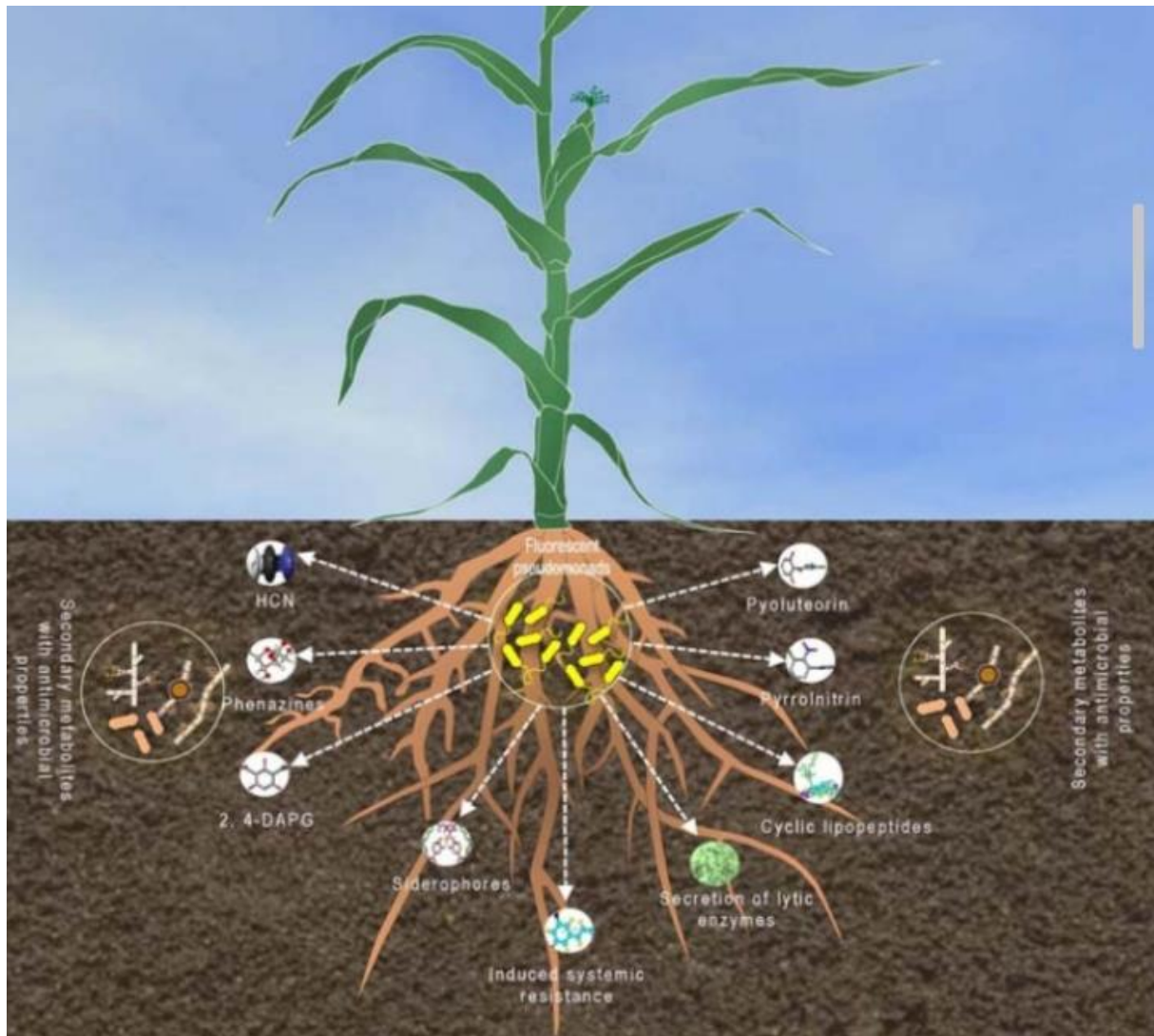
La résistance systémique induite (ISR) est définie comme un règne physiologique de capacité défensive multipliée évoquée en réponse à un stimulus environnemental spécifique. Les PGPR tels que *Pseudomonas* fluorescents induisent une résistance systémique dans de nombreuses plantes contre divers facteurs de stress environnementaux (G. Innerebner, 2001 ; F. Assefa et al., 2020). Lorsque des agents pathogènes les envahissent, le dispositif vasculaire génère des signaux et active des mécanismes de protection, activant ainsi de nombreux enzymes de défense, et certains agents inhibiteurs de la protéase. L'ISR n'est pas spécifique à un pathogène précis mais aide la plante à gérer de nombreuses maladies en impliquant la signalisation de l'hormone éthylène dans la plante et aide à induire les réponses de protection d'une plante hôte contre les agents pathogènes. (F. Assefa et al., 2020 ; R. Sah et al., 2021).

### **I.1.7. Métabolismes secondaires des *Pseudomonas* fluorescents et le quorum sensing**

Les métabolites secondaires sont des substances produites naturellement, provenant des voies latérales du métabolisme primaire qui n'ont pas d'importance en tant que sources d'énergie ou en tant que substance de réserve (Budzikiewicz, 1993; O. Perruchon, 2021). Les *Pseudomonas* fluorescents sont des PGPR possédant la capacité à supprimer une grande variété de phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère ont développé la capacité de biosynthétiser plusieurs métabolites secondaires (antibiotiques, sidérophores, phytohormones) qui leur offrent un avantage sélectif sur les autres microbes rhizosphériques. Le besoin est d'exploiter les *Pseudomonas* fluorescentes afin d'utiliser leur gamme de métabolites secondaires dans le contrôle des phytopathogènes (Weller, 2007; Verma et al., 2019; Mishra et Arora, 2017 ; R. Sah et al., 2021). (figure 05).

Le QS est un mécanisme de communication entre les cellules, il est utilisé par de nombreuses bactéries afin de surveiller leur densité de population et pour réguler l'expression des gènes (Miller et Bassler, 2001 ; Kelle et Surette, 2006; Jenul et Horswill, 2019) ainsi, les *Pseudomonas* fluorescents, par leur activité phyostimulatrice, forment des microcolonies qui constituent un biofilm sur les sites préférés des exsudats racinaires. Ces microcolonies

communiquent les uns avec les autres selon le processus biologique « quorum sensing » (Chodhary et Johri, 2009 ; S. Karthika et al., 2020).



**Figure05:** Représentation schématisée des métabolites secondaires produits par les *Pseudomonas fluorescens* dans la rhizosphère impliqués dans le biocontrôle des phytopathogènes (Michraat Arora, 2017).

### I.1.7.1. Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est un élément largement distribué dans la nature. Il est considéré, avec l'azote (N) et le potassium (K), comme un constituant fondamental de la vie des plantes et des animaux (Qureshi et al., 2012; Goudaa et al., 2018; Bhattacharjya et al., 2019). Le phosphore peut exister dans les sols sous forme organique (Po) et inorganique (Pi). Cependant, une grande partie (environ 95 à 99 %) est présente sous forme de phosphate insoluble qui ne

peut être utilisé par les plantes (Firew et al.,2016 ; Matos et al., 2017 ;Pallavi ,2018).

Les plantes absorbent le phosphate exclusivement sous forme de particules monobasiques ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) et dibasiques ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ). Plusieurs micro-organismes agissent comme agents solubilisant du phosphate et convertissent le phosphore insoluble ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) en forme soluble  $\text{HPO}_4^{2-}$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$  par la production des acides, les réactions d'échange, l'acidification, la chélation et la formation de substances polymères (Pandey et al., 2018 ; Suleman et al.,2018).

### I.1.7.2. La production des sidérophores

Le fer est un élément de croissance essentiel pour tous les organismes vivants, mais il est indisponible dans le sol pour les plantes. Les microorganismes ont donc développé des systèmes d'acquisition de fer spécifiques et performants pour assurer leur survie par la sécrétion de sidérophores (Renshaw et al, 2002 ; Fresenborg et al.,2020). Le mot sidérophore, en grec, signifie sidêros: fer et phore: porteur. Sont des molécules de faible poids moléculaire (<10 kD), produites par les bactéries et les champignons, avec une forte affinité pour chélater, solubiliser et extraire le fer ferrique. Elles sont synthétisées et sécrétées par beaucoup de micro-organismes en réponse aux carences de fer (Renshaw et al., 2002; Trapet et al 2016).

### I.1.7.3. La production de l'acide indol-3-acétique

L'acide indole-3-acétique (AIA) est considéré comme auxine native synthétisée par de nombreuses PGPR. Il existe au moins cinq voies de biosynthèses pour la synthèse de l'AIA, qui utilisent principalement le tryptophane (Trp) comme précurseur (Duca et al., 2014; Tabassum et al., 2017; David et al., 2018).

D'après Ahemad et Kibret, (2014); Kaur et al .,(2016); Tabassum et al.,(2017), l'AIA :

- Affecte la division cellulaire, l'extension et la différenciation.
- Stimule la germination des graines des semences et des tubercules.
- Augmente le taux de xylème et le développement des racines.
- Contrôle les processus de croissance végétative.
- Stimule la formation des racines latérales et adventives, ce qui augmente considérablement la surface d'absorption des racines.

- Intervient dans les tropismes en réponse à la gravité (gravitropisme) ou à la lumière(Phototropisme).



## II. Généralité sur l'orge

Les céréales sont la base historique du régime méditerranéen et dominant encore aujourd'hui l'agriculture et la production de produits algériens ainsi que la consommation alimentaire à domicile (Zairi, 2016).

L'orge (*Hordeum vulgare L.*) a été l'une des premières céréales domestiquées et représente 5,5 à 6 % de la production mondiale de céréales et 11,5 à 12 % de la production de céréales secondaires. Dans les milieux difficiles caractérisés par de fortes contraintes abiotiques, l'augmentation de la production de cette espèce passe bien sûr par des améliorations des voies techniques, mais surtout par des améliorations variétales (Paletal., 2012 ; Kumaretal., 2013 ; Kumaret al., 2014 ; Adjel, 2017 ; Karkour, 2021).

### II.1. L'origine de l'orge

L'orge est originaire du Croissant Fertile, une région qui comprend la vallée du Jourdain et les zones adjacentes de la Palestine, de la Jordanie et de l'Irak, à l'ouest de l'Iran. Elle provient de l'orge sauvage et est considérée comme la plus ancienne orge restante. (Feldman, 1976 ; Zairi, 2016).

Les espèces appartenant au genre *Hordeum* se développent dans divers habitats naturels, avec des espèces pérennes se trouvant dans des milieux humides et des espèces annuelles s'adaptant à des environnements divers et variables. Certaines espèces ont également montré une adaptation aux conditions extrêmes de salinité, de sécheresse, de froid et de hautes températures (Bothmer et al., 2003 ; Adjel, 2017 ; Karkour, 2021) (Figure 06).

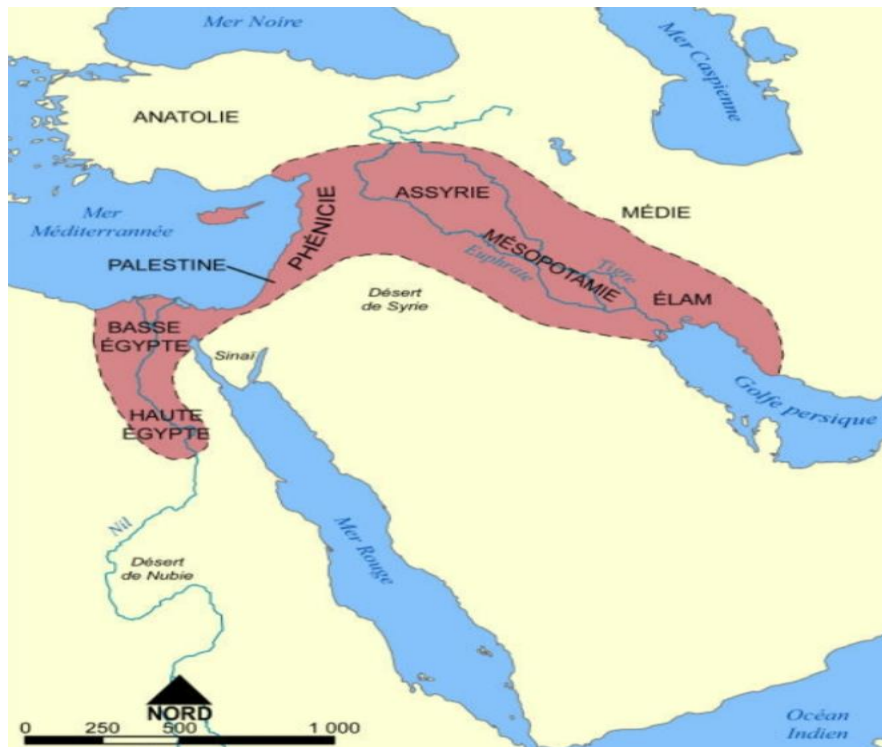


Figure06 : le croissant fertile (Zairi, 2016).

## II.2. Taxonomie de l'orge

L'orge est une monocotylédone, appartenant au règne des *plantea*, à la sous règne des *Tracheobionta*, à la super-division des *spermaphyta*, la classe des *liliopsida*, la sous classe des *commelinidea*, à l'ordre des *cyperales*, à la famille des *poaceae*, au genre des *hordeum*. On distingue deux sous espèces selon que l'épi porte deux ou six rangées de grains.

**L'orge à deux rangs:** *H. vulgare*ssp. *distichum* chaque nœud du rachis compte trois épillets dont un seul est fertile et produit une graine. (Figure07)

**L'orge à six rangs:** *H. vulgare*ssp. *hexastichum*, les trois épillets de chaque nœud contiennent des fleurs fertiles, ce qui donne naissance à trois rangées de graines de chaque côté du rachis (Mazoyer et al., 2002 ; Saisho et Purugganan,2007 ; Benseman, 2015 ; Erroux, 1956 ;Karkour, 2021).



**Figure07:** Épis d'orges à deux et à six rangs (Esteves, 2014).

Quant à **Soltner (2005)**, classe les orges selon leur milieu de culture en trois groupes qui sont:

**Les orges d'hiver :** long cycle de développement et besoin de température vernalisante pour assurer leur montaison.

**Les orges de printemps :** cycle de développement court et n'ont pas besoin de vernalisation pour assurer leur montaison.

**Les orges alternatives :** sont intermédiaires entre les orges d'hiver et celles de printemps

L'orge peut être classée en quatre (04) catégories dénommées A, B, C, D selon le type de grain à partir de deux caractéristiques de grains :

- Denticulation des nervures dorsales et la glumelle inférieure,
- Longueur des poils de la bague (Moule, 1980 ; Karkour, 2021).

### II.3. Importance et production de l'orge

L'orge (*H. vulgare*) est une céréale très répandue à travers le monde, étant la deuxième en importance après le blé dur et quatrième plus produite après le maïs, le blé tendre et le riz et devant les orgho, l'avoine et le seigle. La production mondiale d'orge est d'environ 135 millions de tonnes pour une superficie plantée de près de 57 millions d'hectares. En Algérie, la culture de l'orge est localisée sur les hauts plateaux du sud, en bordure de la zone réservée à la culture du blé dur, relativement plus exigeante. Les superficies réservées à cette espèce sont relativement constantes et dépassent le million d'hectares. Quant aux

quantités récoltées, elles restent très variables, suite aux effets des contraintes agroclimatiques, notamment les effets du stress de fin de cycle (Benmahammed, 2004 ; Benbelkacem, 2013). Cette culture joue un rôle important dans l'équilibre de l'économie algérienne, elle est susceptible de contribuer à l'accroissement de la production fourragère. Pour la production d'orge dans les pays du Maghreb, l'Algérie se classe la deuxième après le Maroc (Adjel, 2017 ; Karkour, 2021).

L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués dans les zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à un meilleur taux de croissance en début de cycle. La culture de l'orge s'intègre bien dans des milieux caractérisés par une grande variabilité climatique où, avec l'élevage ovin, elle constitue l'essentiel de l'activité agricole (Hakimi, 1989 ; Ceccarelli *et al.*, 1998 ; Ait Abdallah *et al.*, 2010 ; Karkour, 2021).

## **II.4. Utilisation de l'orge**

### **II.4.1. Alimentation humaine**

Dans certaines régions la farine de l'orge est généralement mélangée à celle du blé et d'autres céréales pour la fabrication de galettes et de pain. Ainsi l'orge trouve une utilisation dans l'alimentation des bébés, en industrie alimentaire comme adoucissant, adjuvant et surtout comme boissons alcoolisées (Bothmer *et al.*, 2003 ; Karkour, 2021).

### **II.4.2. Alimentation animale**

L'orge est utilisée en alimentation du bétail, pour le maltage (notamment en brasserie). Le grain de l'orge destinée à l'alimentation animale est concassé ou aplati pour en améliorer la digestibilité. Cette espèce est utilisée sous forme de grain, de paille et même les chaumes et résidus laissés sur champs sont pâturés (Abbas *et Abdelguerfi*, 2008 ; Karkour 2021).

# **CHAPITRE II**

## **PARTIE EXPERIMENTATION**

Notre travail qui porte sur caractérisation d'une collection de souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolés de la rhizosphère de palmier dattier et d'étudier leur activité phytostimulatrice sur les graines de l'orge a été mené au niveau du laboratoire de Recherche de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques de l'université Blida 1 sur une période allant de février 2023 jusqu'à juin 2023. Notre travail a été réalisé en passant par plusieurs étapes dont les plus importantes sont :

- Purification des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes.
- Caractérisation des souches par la production de métabolites secondaires impliqués dans l'activité phytostimulatrice.
- Etude de l'activité phytostimulatrice par les essais de la stimulation de la germination.

## Matériel et méthodes

### I. Matériel

#### I. 1- Matériel non biologique

Le matériel non biologique représenté par la verrerie, l'appareillage et les milieux de culture est consigné en annexe 01.

#### I. 2 - Matériel biologique

##### I. 2 - 1- Souches bactériennes

Quatorze souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été utilisées dans notre travail. Ces souches ont été isolées en mars 2022 de la rhizosphère du palmier dattier des régions de Kenadsa et Taghit situées respectivement à 22 km et 93 km, de la wilaya de Béchar (**tableau 02**).

**Tableau 02** : Caractéristiques des souches des *Pseudomonas* fluorescents.

Origine	Cultivar	Code	Age/An
Kenadsa	Hmira	KH	20
	Tinoser	KT	20
	Feggous	KF	19
	Hamriya	KH	35
Taghit	Biskra	TB	20

	Chirka	TC	20
	Ras El Hmar	TR	25
	Feggous	TF	10

## I. 2 - 2 - Matériel végétal

Pour évaluer l'effet phyto stimulateur des souches de *Pseudomonas*, on a utilisé les graines de l'orge de la variété Saïda, Catégorie: R2.

## II. Méthodes

### II. 1. Purification des souches

La pureté des isolats bactériens de *Pseudomonas* spp. fluorescents a été vérifiée sur milieu King B (King et al, 1954). En réalisant plusieurs repiquages successifs jusqu'à l'obtention des souches pures.

### II. 2. Test de fluorescence

La production de pigment fluorescent diffusible a été recherchée sur milieu King B ensemencé avec des cultures jeunes après 24 heures d'incubation à 26 °C. Le pigment fluorescent a été révélé sous lampe UV (350 – 400 nm).

### II.3. Caractérisation in vitro des souches bactériennes

#### II.3.1. Production de métabolites impliqués dans la phytostimulation

Afin de caractériser plusieurs souches de *Pseudomonas* spp fluorescents, diverses expériences ont été menées pour connaître les métabolites secondaires produites par ses souches bactériennes pour contribuer à la phytostimulation. En plus d'étudier sa capacité de résister à divers stress environnementaux abiotiques.

##### II.3.1.1. Production d'acide indole acétique (AIA)

La mise en évidence de la production de l'AIA est effectuée selon la méthode colorimétrique décrite par Brick et al, (1991) en utilisant le réactif Salkowski. Une colonie bactérienne âgée de 24 heures est étalée sur une gélose Luria-Bertani riche en tryptophane et recouverte de

papier Whatman n° 1 et incubé à 28°C pendant 48 heures. Après incubation, le papier est récupéré puis traité avec le réactif de Salkowski (2% de FeCl<sub>3</sub> à 0.5 M dans 35% d'acide perchlorique). Après 10 à 30 min, l'AIA et /ou ses analogues apparaissent comme un halo rose à rouge ou marron respectivement autour des colonies. Pour les souches produisant d'autres types d'indole, la couleur est jaune à brun jaunâtre (Naik et Sakthivel, 2006).

### **II.3.1.2. Production d'HCN**

Toutes les souches bactériennes ont été criblées pour la fabrication de cyanure d'hydrogène en suivant la technique de Bakker et Schippers (1987). Une culture jeune de 24 heures a été ensemencée sur un milieu TSA (Tryptone Soya Agar) supplémenté de 4,4 g/l de glycine. Un papier Whatman n°1 imbibé d'une solution de 2% de carbonate de sodium et 5% d'acide picrique a été placé à l'intérieur du couvercle de la boîte de Pétri et scellé ensuite par le parafilm. Après 4 jours d'incubation à 28°C, la coloration jaune à orange du papier indique la production d'HCN.

### **II.3.1.3. Production des siderophores**

Afin d'examiner les souches bactériennes pour la fabrication de Siderophores, la méthode Suryakala *et al* (2004) a été suivie. Un bouillon King B inoculé par 1 ml de la suspension bactérienne a été placé dans un agitateur incubateur pendant une période de 72 heures. Après incubation, le bouillon a été mis en rotation à 10 000 rpm pendant 10 min dans une centrifugeuse pour séparer le surnageant. Ce dernier a été placé dans un tube à essai, où un volume égal de 2% de solution aqueuse de chlorure ferrique a été ajouté. Si la couleur vire à l'orange ou rouge-brun, cela signifie que les Siderophores sont fabriqués par ces souches.

### **II.3.1.4. Production de l'ammoniac**

La production d'ammoniac NH<sub>3</sub> par les souches a été testée sur bouillon nitraté. Ce test consiste à inoculer 100 µl d'une suspension bactérienne âgée de 24 heures dans 100 ml de bouillon. Après incubation à 26°C. Une goutte de réactif de Nessler est ajoutée dans chaque tube. L'apparition d'une couleur jaune ou rouge indique la production de NH<sub>3</sub>.

### **II.3.1.5. Solubilisation du phosphate**

La capacité des souches à solubiliser le phosphore a été testée sur le milieu de culture Pikovaskaya solide additionné de bleu de bromophénol (Pikovaskaya, 1948), contenant du phosphate tricalcique comme seule source de phosphore. Des colonies bactériennes fraîches



(24heures) ont été prélevées avec une anse et repiquées au milieu de la boîte de pétri contenant le milieu PVK. Après 96heures d'incubation à 28°C, la solubilisation du phosphate a été mise en évidence par la décoloration du milieu autour des colonies.

➤ **Calcul de l'indice de solubilité (SI) :**

L'indice de solubilité est calculé en suivant l'équation suivante :

$$SI = \frac{\text{diamètre de la colonie} + \text{diamètre de la zone claire}}{\text{diamètre de la colonie}}$$

### II.3.1.6. Test catalase

La méthode pour tester les souches productrices de catalase consiste à mettre quelques gouttes d'H<sub>2</sub>O sur une culture jeune de 24 heures posée sur une lame en verre propre. L'apparition des bulles d'air confirme que les bactéries sont à catalase positif (**Lévy et al, 1992**)

### II.3.2. Résistances des souches aux différents stress abiotiques

#### II.3.2.1. Production du biofilm

Selon **Freeman et al, (1989)**, la méthode de culture sur milieu rouge Congo est sensible, rapide, elle permet d'avoir des colonies viables sur le milieu et elle est très convenable pour la détection des souches productrices de slime.

Cette technique consiste à utiliser un milieu solide fabriqué à partir de bouillon cœur cerveau (BHIB) qui a été mélangé avec du Rouge Congo et 5% de saccharose. Sur le milieu RCA, le colorant Rouge Congo réagit directement avec certains polysaccharides bactériens pour créer un slime et produire des colonies noires.

Après 24 heures d'incubation à 37 degrés, le milieu est fermement strié avec une boucle de platine provenant de cultures de 24 heures sur King B. Un résultat positif a été indiqué par des colonies noires avec une consistance cristalline sèche. Les souches non productrices de slime généralement restent rouges. Les souches de phénotype variable donnent des colonies rouges à centre noir ou des colonies noires à centre rouge. Elles ont été considérées comme des souches productrices de Slime (**Touati et al, 2007**).

### II.3.2.2. Résistance des souches au chlorure de sodium (NaCl) et aux antibiotiques

#### II.3.2.2.1. Résistance à la salinité

Le milieu GN (gélose nutritive) additionné à différentes concentrations de NaCl (de 0 à 8%) a été utilisé afin de tester la tolérance des souches au chlorure de sodium (NaCl). Des colonies bactériennes de 24 heures ont été ensemencées sur le milieu et incubées à 27°C. La croissance bactérienne est observée après 3 à 5 jours d'incubation. (Benchabane, 2005).

#### II.3.2.2.2. Résistance aux antibiotiques

L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui détermine la sensibilité d'une bactérie à l'égard des antibiotiques. Cette technique se fait par étalement sur gélose en utilisant plusieurs disques d'antibiotiques en même temps pour voir si la souche est résistante, modérée ou sensible aux antibiotiques (Haneche et al., 2019).

Des suspensions bactériennes bien homogénéisées contenant des souches pures de 24 heures ont été utilisées. Ces dernières sont ensemencées sur milieu MH en stries serrées à l'aide d'un écouvillon stérile qui a été bien déchargé dans de l'eau physiologique stérile puis essoré en le pressant fermement et en le tournant contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Le processus d'ensemencement est répété 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, et en pivotant l'écouvillon sur lui-même. Enfin d'un passage de l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Trois disques d'antibiotiques différents (Acide Nalidixique, Spectinomycine, Rifampicine) ont été placés dans la boîte de Pétri en prenant soin de ne pas déplacer le disque après l'avoir placé, ensuite les boîtes d'antibiogramme sont incubées à 27°C pendant 24 heures et les résultats sont lus en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

### II.3.2.3. Effet du stress thermique et hydrique sur la croissance des souches

#### II.3.2.3.1. Stress thermique

Le test a été réalisé sur milieu King B en fioles de 50 ml sous agitation continue (5 rpm, 48 heures) incubées à une température de 41°C. La croissance bactérienne a été évaluée sur milieu King en boîte de pétri à 26°C entre 24 et 48 heures. (Caulibaly et al, 2010)

### II.3.2.3.2. Stress hydrique

Afin d'étudier l'effet du stress osmotique sur les souches, nous avons utilisé un bouillon nutritif additionné à différentes concentrations de PEG (polyéthylène glycol) à 800 M (0%, 20%, 40%, 60%). Un volume de 100 µl d'une suspension bactérienne est inoculé dans 5 ml de bouillon nutritif préparé en tube à essai avec différentes concentrations de PEG, et le témoin négatif contenant le bouillon nutritif de 0% de PEG est inoculé par 100 µl d'eau distillée stérile. Les tubes sont placés dans un agitateur incubateur à une vitesse moyenne à 28°C pendant 72 heures. Après l'incubation, la croissance des souches est déterminée par la densité mesurée dans chaque tube à l'aide d'un spectrophotomètre à 300 nm ( **Benchabane, 2005**).

## II.4. Effet des PGPR sur la stimulation de la germination des graines d'orge

Pour l'évaluation de l'activité phytostimulatrice, quatre souches de *Pseudomonas* ont été sélectionnées sur la base de leur production d'un ensemble important de métabolites et leur aptitude à résister à certain stress abiotiques

### II.4.1. Essai de la stimulation de la germination des graines de l'orge

#### II.4.1.1. Préparation des suspensions bactériennes

Des isolats de *Pseudomonas* spp fluorescents ont été cultivés dans des flacons coniques de 250 ml contenant 100 ml de bouillon King B et incubés pendant 48 heures sous agitation rotative (150 rpm) à 28 °C, ± 2°C.

#### II.4.1.2. Désinfection des semences

La désinfection des semences d'orge, a été réalisée par la méthode de **Macia-Vicente et al. (2008)**. Les semences ont été désinfectées à l'eau de Javel à 12° additionnée d'une goutte de Tween 20. Après un temps de contact d'une heure en agitation continue, la désinfection est suivie de cinq rinçages successifs à l'eau distillée stérile puis les graines sont séchées sur du papier Whatman stérile.

#### II.4.1.3. Bactérisation des semences (enrobage)

La bactérisation des semences a été réalisée en suivant la méthode décrite par **Anuj et al, (2013)**. Pour chaque souche, les graines préalablement désinfectées ont été trempées pendant deux heures dans 10 ml de la suspension bactérienne dont la densité est 0.1. Un témoin

négatif a été appliqué en remplaçant la suspension bactérienne par la même quantité d'eau distillée stérile.

Quinze graines enrobées avec les souches de *Pseudomonas* ont été déposées dans des boîtes de Pétri en verre stérile et maintenues sur papier whatman pré-trempé par de l'eau distillée stérile. Les graines ont été maintenues en position, en plaçant une autre bande de papier pré-trempé en dessus en appliquant une légère pression. Par la suite les graines ont été laminées et incubées dans une chambre de croissance après 10 jours. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque traitement. Les traitements appliqués sont suivants :

T1 : Semences enrobées de la souche KT1

T2 : Semences enrobées de la souche TR7

T3 : Semences enrobées de la souche KF-4(1) s

T4 : Semences enrobées de la souche TB4

T- : Semences enrobées par l'eau distillée stérile.

#### ➤ Calcul du taux de germination

Le taux de germination des semences consiste à effectuer le comptage du nombre de semences germées par rapport au nombre initial des graines mises dans chacune des boîtes.

$$\text{Taux de germination} = \frac{\sum n}{N} \times 100$$

**n** : nombre de graines germées.

**N** : nombre total de graines mises dans la boîte.

#### ➤ Indice de vigueur

L'indice de vigueur a été calculé pour la variété d'orge en utilisant la formule décrite par **Baki et Anderson (1973)**.

$$\text{Indice de vigueur} = \frac{(\text{longueur moyenne des racines} + \text{longueur moyenne des tiges}) \times \text{pourcentage de germination}}{100}$$

### III. Résultats

#### III.1. La fluorescence

Le test de la fluorescence réalisé sur les 14 isolats a révélé la présence d'un pigment fluorescent traduisant par une couleur jaune verdâtre sous la lampe UV (350-400nm), dont l'intensité de la fluorescence varie d'une souche à l'autre (**figure01**). Nous avons constaté que la fluorescence varie non seulement en fonction des souches mais aussi selon l'âge de la culture. La coloration et l'intensité du pigment émises varient du vert jaune au jaune brun. Ces mêmes observations ont été signalées par **Digat et Gardan (1978)**.

#### III.2. Production de métabolites impliqués dans la phytostimulation

A partir des tests de métabolites secondaires, nous avons constaté que les 14 (100%) souches de *Pseudomonasspp.* fluorescents synthétisent les siderophores, produisent l'ammoniac et l'enzyme catalase. Seules 03 souches sont phosphatases positives et 11 souches sont cyanogénèses positives. La production d'acide indole acétique a été révélée chez 13 souches (**Tableau03**).

**Tableau 03:** Tests de production de métabolites secondaires

Métabolites	AIA	HCN	Sid	Amm	Pho	Cat
Nombre de souches	13	11	14	14	3	14
pourcentage	92,85	78,57	100	100	21,42	100

**AIA** : acide indole acétique ; **HCN** : acide cyanidrique ; **Sid** : Siderophore ; **Amm** : Ammoniac ; **Pho** : phosphatase ; **Cat** : Catalase.

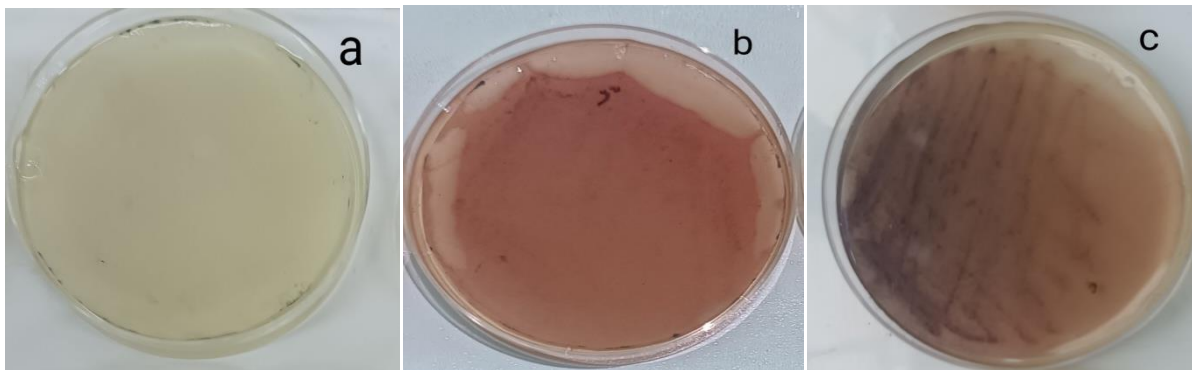
##### III.2.1. Production d'acide indole acétique

La production qualitative de l'acide indole acétique a été observée chez la plupart des souches criblées. Après 10 à 30 min de l'addition du réactif de Salkowski, douze souches (TB<sub>3</sub>, TB<sub>4</sub>, KT<sub>1</sub>, KT-2(2)<sub>1</sub>, KT<sub>4</sub>, KT<sub>5</sub>, KF<sub>5</sub>, KF-4(1)<sub>8</sub>, TF<sub>4</sub>, TF<sub>10-8</sub>, TR<sub>7</sub>, TR<sub>1</sub>) ont développé une

couleur rose à rouge, ainsi la souche TC1 a produit un analogue signifié par l'apparition d'une couleur marron (**Tableau 04, figure 08**).

**Tableau04:** la production d'acide indole acétique dans les quatorze souches de *Pseudomonas* fluorescents.

Souches	Production d'AIA	Analogue
TB <sub>4</sub> , KT <sub>1</sub> , KT <sub>4</sub> , KT <sub>5</sub> , KF <sub>5</sub> , KF-4(1) <sub>8</sub> , TF <sub>4</sub> , TF <sub>10-8</sub> , TR <sub>7</sub> , TR <sub>1</sub>	+++	-
KT-2(2) <sub>1</sub> , TB <sub>3</sub>	+	-
TC <sub>1</sub>	-	-
Tc <sub>1</sub>		+++



**Figure 08:** production d'AIA dans trois différentes souches bactériennes.

a) Résultat négatif    b) résultat positif    c) production d'analogue

### III.2.2. Production de Siderophores

Pour les quatorze souches criblées pour la production de Siderophores, une couleur orange est apparue dans le milieu qui indique la production de siderophores. Les souches KT<sub>4</sub>, KT-2(2), KF-4<sub>8</sub> ont montré une faible synthèse de siderophores, cela s'explique par un très léger changement de couleur du milieu après l'ajout du réactif (**Figure 09**).



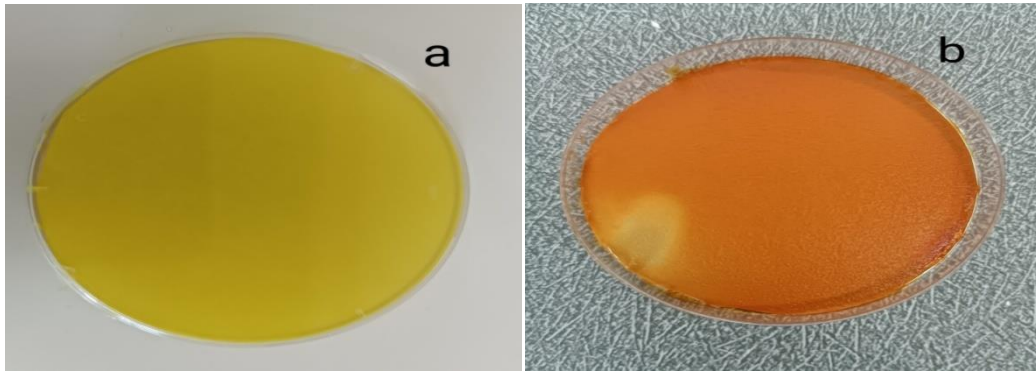
**Figure 09 :** Production de Siderophores dans différentes souches de *Pseudomonas* fluorescents.

### III.2.3. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

Après quatre jours d'incubation, la couleur du papier Whatman imprégné d'acide picrique a viré vers l'orange foncé chez six souches, ce qui indique une forte production d'HCN et un léger virage de couleur a été observé chez cinq souches indiquant une faible synthèse, alors que les trois autres souches aucun virage de couleur n'a été observé, alors ils ne produisent pas d'HCN. Ce dernier réagit en effet sur l'acide picrique pour donner une matière colorante (l'acide isopurpurique) qui exprime le virage de couleur (**Tableau 05, figure 10**).

**Tableau 05:** la production d'HCN dans les quatorze souches de *Pseudomonas* fluorescents.

Souches	Production d'HCN
TB <sub>1</sub> , KT <sub>1</sub> , TF <sub>4</sub> , TR <sub>7</sub> , TC <sub>1</sub> , TB <sub>3</sub>	+++
TR <sub>1</sub> , KF <sub>5</sub> , TB <sub>4</sub>	++
KT <sub>5</sub> , TF <sub>10-8</sub>	+
KF-4(1) <sub>8</sub> , KT <sub>4</sub> , KT-2(2) <sub>1</sub>	-

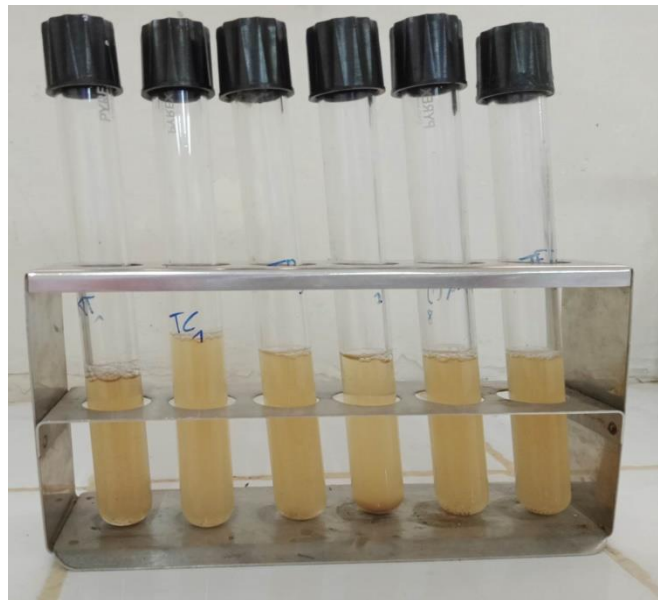


**Figure 10:** Production d'HCN par les souches bactériennes.

a) Résultat négatif      b) résultat positif

### III.2.4. Production de l'ammoniaque

La production de l'ammoniaque a été observée chez les quatorze souches. Le résultat se traduit par un virage de couleur du milieu vers l'orange après l'ajout d'une goutte de réactif du Nessler(**Figure 11**).



**Figure 11:** résultats positifs des souches productrices de l'ammoniaque

### III.2.5. Solubilisation de phosphate

Parmi les quatorze souches bactériennes testées, les souches TB<sub>1</sub>, TB<sub>3</sub>, KT-2(2)<sub>1</sub>, ont été capables de dégrader le phosphate (**Figure 12**)(**tableau 06**).





**Figure 12:** la solubilisation du phosphate par les souches TB<sub>1</sub>, TB<sub>3</sub>, de *Pseudomonas* fluorescent.

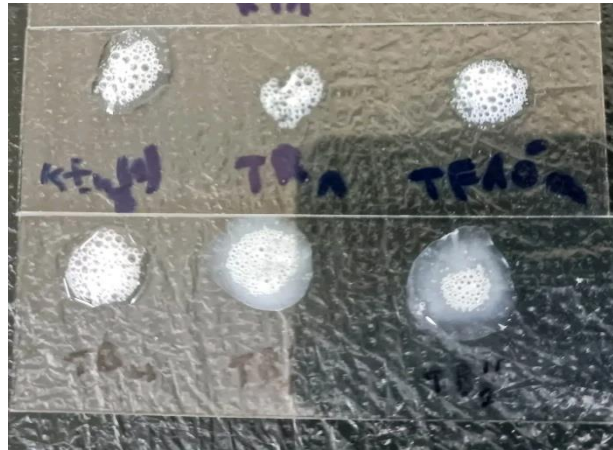
**Tableau06:** Calcul de l'indice de solubilité chez les souches qui ont solubilisé le phosphate en cm.

Souches	Diamètre de la colonie	Diamètre de la zone claire	Indice de solubilité (SI)
TB <sub>1</sub>	1,2	0,4	1,33
TB <sub>3</sub>	1	0,5	1,5
KT-2(2) <sub>1</sub>	0,7	1.2	2.71

Le tableau ci-dessus montre les résultats de l'indice de solubilisation pour les trois souches qui sont capables de solubiliser le phosphate. Un indice de 2.71 cm est obtenu chez la souche KT-2(2)<sub>1</sub> qui est considérée comme la valeur la plus élevée par rapport aux TB<sub>3</sub>, TB<sub>1</sub>, qui ont donnés des indices respectivement de 1.5 et 1.33 cm.

### III.2.6. Synthèse de catalase

La production de la catalase a été observée chez toutes les souches sans exception en raison de l'apparition de bulles d'air immédiatement après l'ajout d'eau oxygénée sur la colonie bactérienne (**Figure 13**).

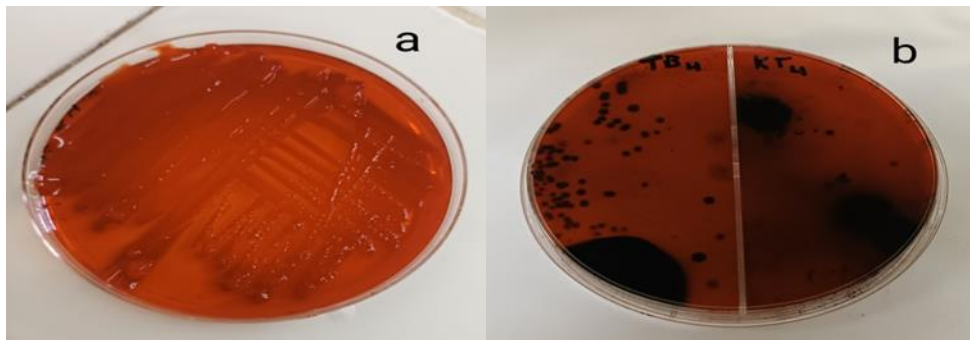


**Figure 13:** Production de catalase par les quatorze souches de *Pseudomonas fluorescents*.

### III.3. Résistances des souches aux différents stress abiotiques

#### III.3.1. Production du biofilm

Après 07 jours d'incubation, 06 souches (42.85%) ont montré leur capacité de produire du biofilm, cela se traduit par la formation des colonies à centres noirâtres (**Figure 14**).



**Figure 14:** Production du biofilm par les souches de *Pseudomonas fluorescents*.

a) souche non productrice      b) souche productrice

#### III.3.2. Résistance des souches au chlorure de sodium (NaCl) et aux antibiotiques

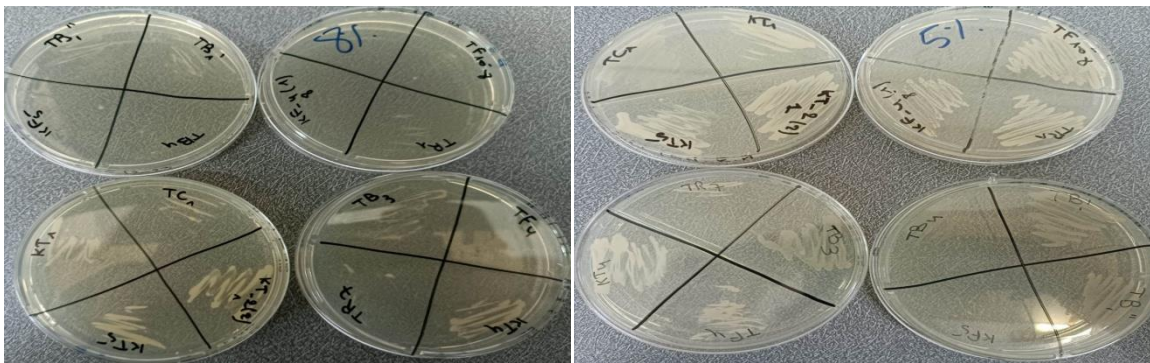
##### III.3.2.1. Résistance à la salinité

Après incubation pendant 02 jours dans différentes concentrations de sel (0- 8%) à température ambiante. Toutes les souches (100%) se sont développées dans de faibles concentrations de sel (0 – 5%), tandis que la résistance des souches a commencé à diminuer avec l'augmentation de la concentration en sel, sauf pour les souches  $KT_1$ ,  $KT_4$ ,  $KT_5$ ,  $KT-2(2)_1$ ,

et TB<sub>3</sub> qui ont montré leur capacité à résister à la salinité à des concentrations élevées (jusqu'à 8%) après 72 à 96 heures d'incubation (**Tableau07, Figure 15**).

**Tableau 07:**Développement des souches à différentes concentrations de NaCl.

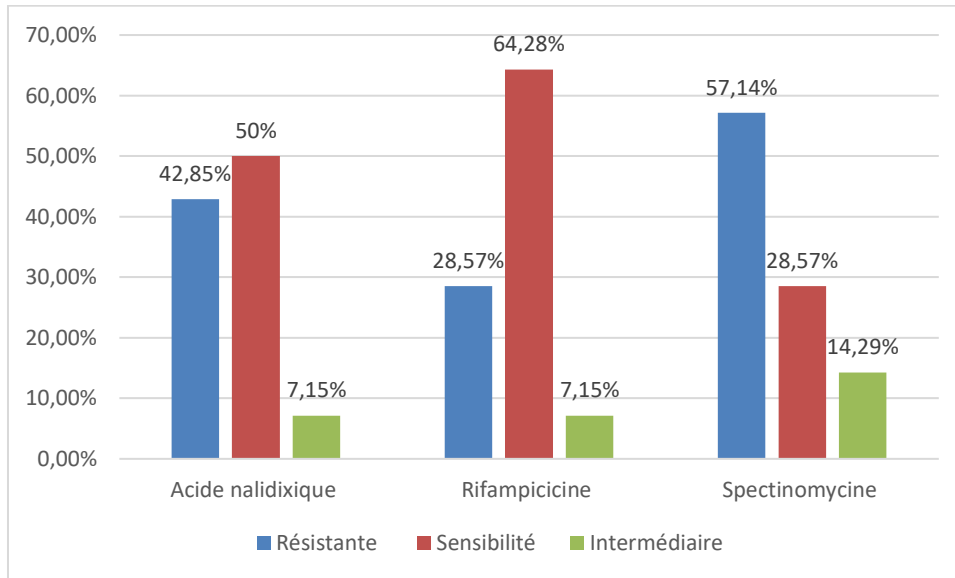
Souches développées jusqu'à 5% de sel	Souches résistantes jusqu'à 8% de sel
KT <sub>1</sub> , KT <sub>4</sub> , KT <sub>5</sub> , KT-2(2) <sub>1</sub> , TB <sub>1</sub> , TB <sub>4</sub> , KF <sub>5</sub> , TF <sub>4</sub> , TF <sub>10-8</sub> , KF-4(1) <sub>8</sub> , TR <sub>7</sub> , TR <sub>1</sub> , TC <sub>1</sub> .	KT <sub>1</sub> , KT <sub>4</sub> , KT <sub>5</sub> ,KT-2(2) <sub>1</sub> , TB <sub>3</sub>



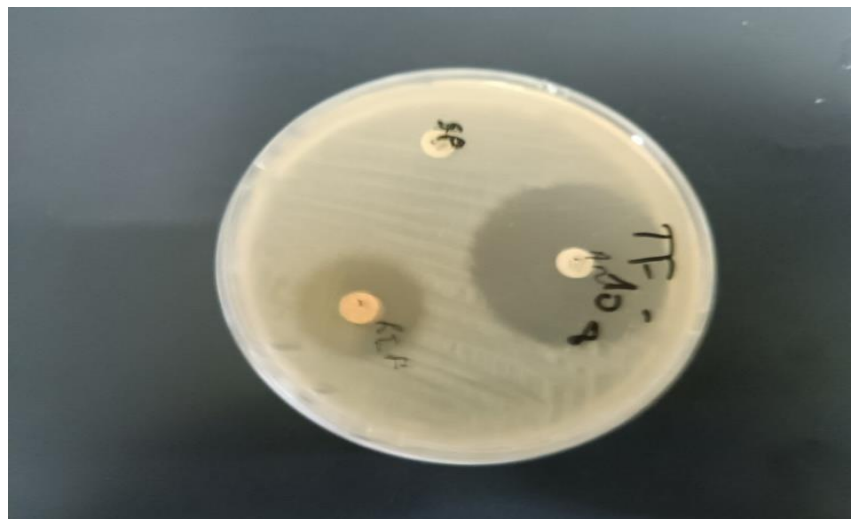
**Figure 15:** les souches résistantes à des concentrations élevées de la salinité.

### III.3.2.2. Résistance aux antibiotiques

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les résultats ont montrés que les souches utilisées se sont plus résistantes à la streptomycine (57.14%) et à l'acide nalidixique (42.85%) par rapport à la rifampicine (28,57 %) (**annexe 05, figure 16 et 17**).



**Figure 16 :** Histogramme représentant le pourcentage de souches résistantes et sensibles aux antibiotiques.



**Figure 17:** la réaction de la souche TF10<sup>-8</sup> contre trois types d'antibiotiques.

### III.3.3. Effet du stress thermique et hydrique sur la croissance des souches

#### III.3.3.1. Stress thermique

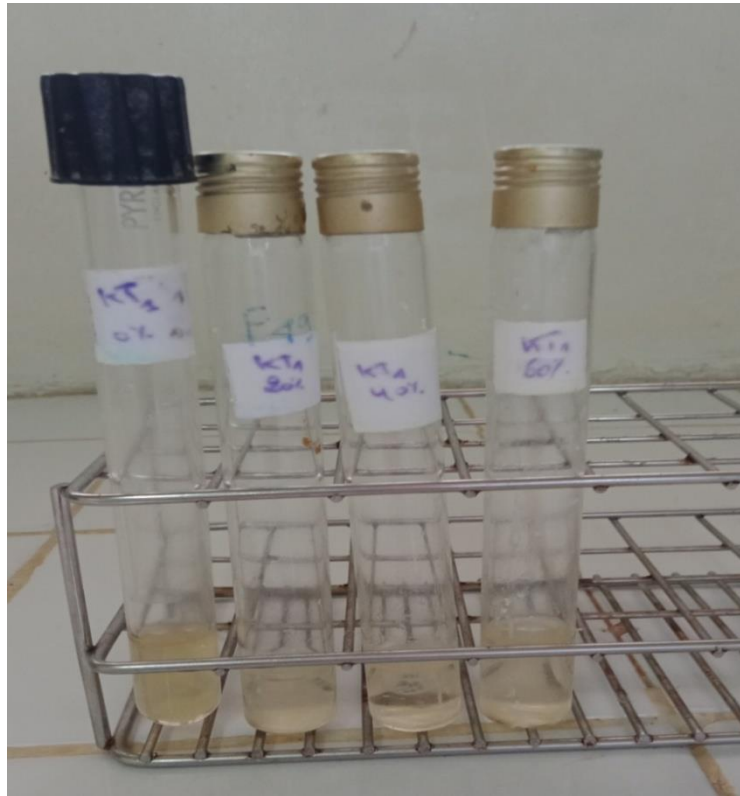
Toutes les souches ont résisté au stress thermique. Après un passage à la température de 41 °C pendant 24 heures sur le milieu Ayers. Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes testées ont pu prendre une croissance normale à la température de 26 °C comparable à celle de leurs témoins respectifs non stressés (**Figure 18**).



**Figure 18:** croissance des souches bactériennes après un stress thermique.

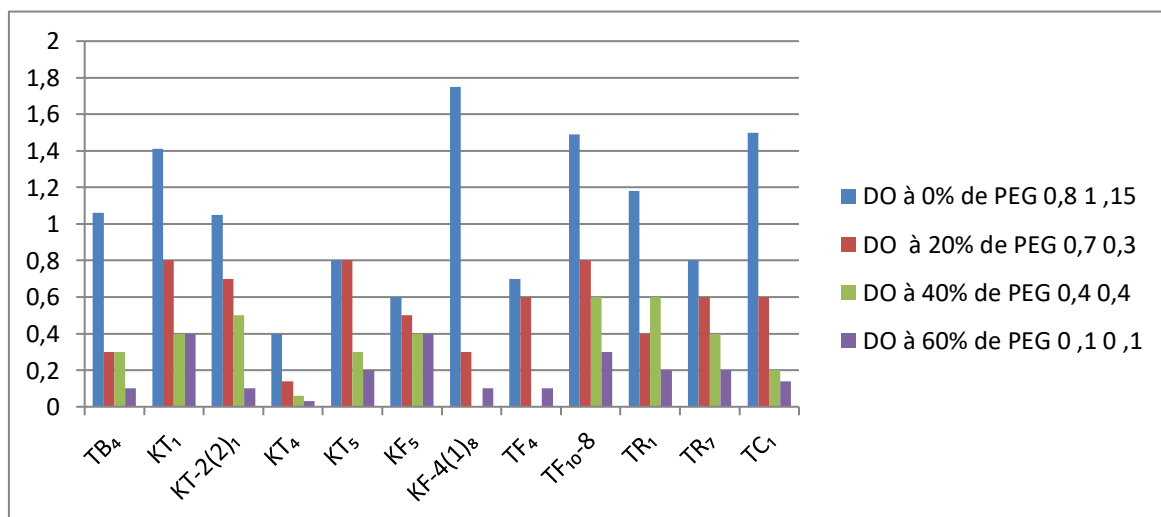
#### III.2.3.2. Stress hydrique

Après 72 heures d'incubation dans différentes concentrations de PEG (**Figure 19**), l'absorption a été mesurée et les résultats ont été comparés par rapport au témoin négatif, où toutes les souches ont montré leur capacité de se développer à 40 % de PEG avec des concentrations variables. Il a également été observé que les souches  $KT_1$ ,  $KT_5$ ,  $KF_5$ ,  $TF_{10}^{-8}$ ,  $TR_7$ ,  $TR_1$  ont pu se développer à 60% de PEG, sauf pour la souche  $KT_4$  dont la croissance s'est arrêtée à 20% de PEG. Cependant, les densités bactériennes resteraient assez élevées.



**Figure 19:** Souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* dans différentes concentrations de PEG

Les résultats de développement de la croissance à différentes concentrations de PEG sont mentionnés dans l’histogramme ci-après (figure 20). La densité optique de témoin négatif est égale à 0,15 nm.



**Figure 20:** Histogramme représentant le développement des souches à différentes concentrations de PEG.

### III.4. L'application de la promotion de croissance

Après 10 jours d'incubation, toutes les semences criblées par la suspension bactérienne des souches TR<sub>7</sub>, KT<sub>1</sub>, TB<sub>4</sub>, KF-4(1)<sub>8</sub> ont montré une germination des graines (tiges et racines) dans des proportions variables par rapport aux traitements de témoins (**Figure 21, annexe 05**).

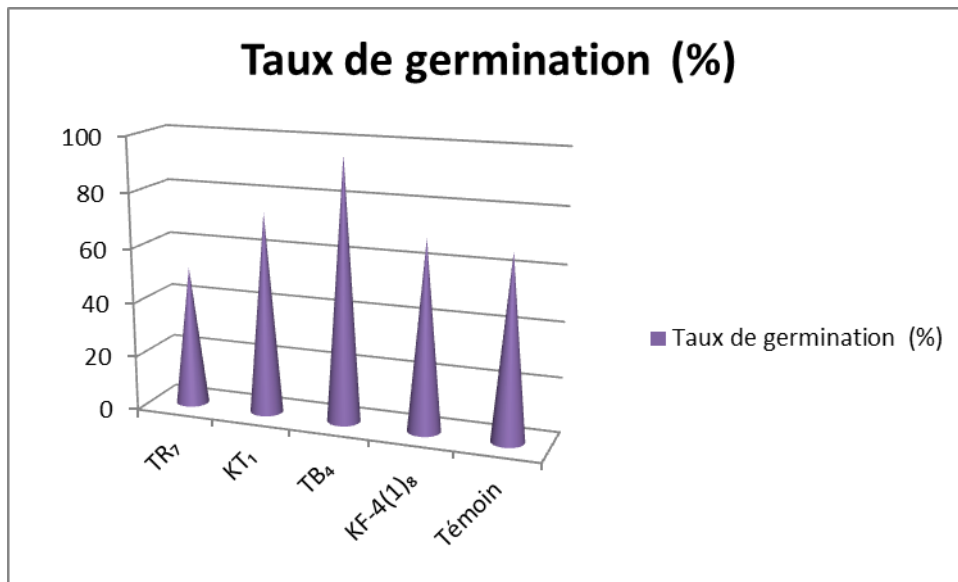


**Figure 21:** Comparaison entre les semences germées par les traitements T5 et T4

(**T4** : semences enrobées de la souche TB<sub>4</sub> ; **T5** : semences enrobées par l'eau distillée stérile).

#### III.4.1. Le taux de germination

Les semences traitées par les souches TB<sub>4</sub>, KT<sub>1</sub>, KF-4(1)<sub>8</sub> ont montré un taux de germination significatif (95,55% - 73,33% - 68,88%) par rapport aux témoins non inoculés qui a atteint un taux de germination de 66.66%. Sauf la souche TR<sub>7</sub> a montré un taux de germination inférieur au témoin (51.10 %). (**figure 22**).



**Figure 22** : Histogramme représentant le taux de germination de l'orge selon les traitements.

#### III.4.2. Moyenne des tiges et racines

Les semences bactérisées avec la souche TB<sub>4a</sub> enregistré une longueur moyenne des racines la plus élevée de 7.78 cm, suivie par les semences bactérisées par les souches TR<sub>7</sub> et KF-4(1)<sub>8</sub> avec une longueur moyenne des racines respectivement de 6,35 cm et 6,32 cm, contrairement à la souche KT<sub>1</sub>, qui a montré une longueur moyenne des racines plus faible de 4,76 cm, sachant que le témoin atteint 4,88 cm comme longueur moyenne.

D'après nos résultats, nous avons remarqué que les témoins (négatifs) non bactérisés ont montré une absence de la formation de tige (0 cm), alors que les résultats étaient positifs pour les semences bactérisées par les souches KF-4(1)<sub>8</sub> et TR<sub>7</sub> qui ont enregistré une meilleure longueur moyenne des tiges respectivement de 2,76 cm et 2,45 cm par rapport aux souches TB<sub>4</sub> et KT<sub>1</sub> qui ont enregistré 1,84 cm et 1,73 cm comme longueur moyenne des tiges (**Figure 23**).



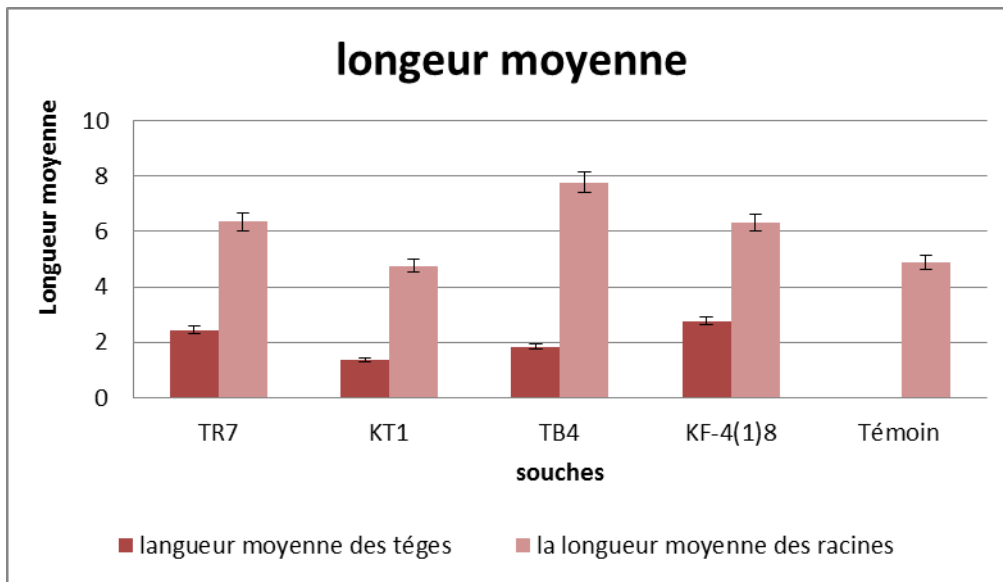


Figure 23 : Histogramme représentant la longueur moyenne des tiges et des racines.

### III.4.3. L'indice de vigueur

Toutes les semences traitées par les souches TR<sub>7</sub>, TB<sub>4</sub>,KT<sub>1</sub>, KF-4(1)<sub>8</sub> ont montré un indice de vigueur supérieur (449,68 - 919,19 - 449,51 - 625,43) par rapport aux témoins non inoculés qui ont atteint un indice de vigueur 325,30. (Figure 24).

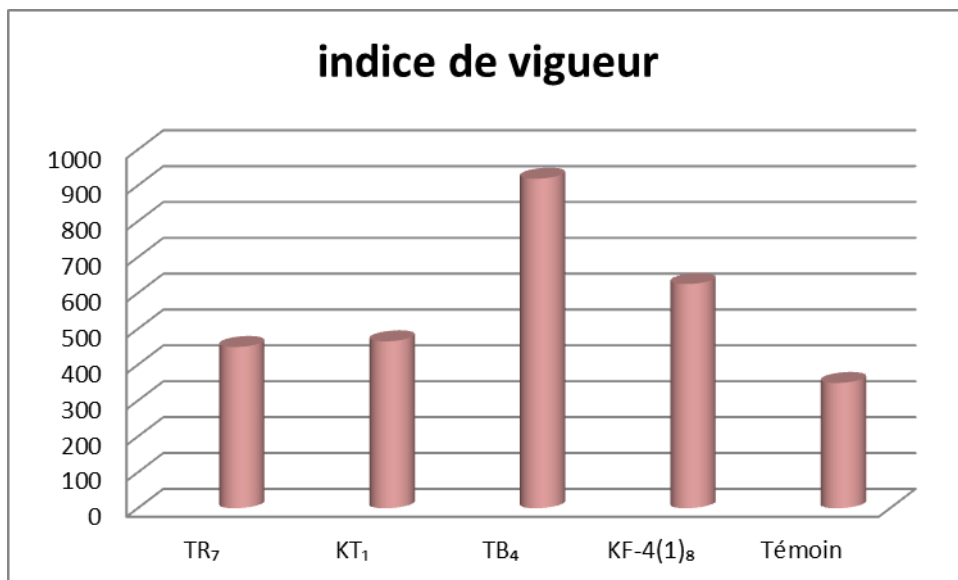


Figure 24 : Histogramme représentant l'indice de vigueur chez les souches étudiées.

## VI. Discussion

Les *Pseudomonas* fluorescentes étudiés ont montré leurs capacités à produire une gamme importante de métabolites secondaires et leurs résistances aux conditions hostiles ainsi que leurs effets bénéfiques sur la stimulation de la germination des graines.

Nos résultats ont montré que 92,85 % des souches criblées produisent l'acide indole acétique. La synthèse d'AIA est largement répandue chez les rhizobactéries. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents libèrent des auxines (AIA) dans la rhizosphère comme des métabolites secondaires qui se produisent généralement par au moins cinq voies de biosynthèses dépendantes du tryptophane (Persello-Cartieaux et al. 2003, Khan et al. 2009, vejan et al. 2016, David et al. 2018).

La synthèse d'AIA par les *Pseudomonas* est bénéfique pour la croissance et le développement des plantes, il joue un rôle important dans la division cellulaire, l'élongation des racines et la prolifération des poils racinaires (Marulanda et al. 2010).

Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux de Brick et al (1991), qui ont montré la présence d'AIA chez les *Pseudomonas*.

D'après les souches criblées, nous avons noté que 78,57% ont montré une cyanogénèse positive. L'HCN est un métabolite secondaire microbien volatil produit par certains PGPR. Sa production a été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Il assure un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines, il s'implique dans la suppression d'agents pathogènes par inhibition, il contribue également à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer et Has., 2000 ; Ahmed et Kibret, 2014).

La glycine est un acide aminé considéré comme le meilleur précurseur de la production des cyanides (Askeland et Morrison., 1983, Siddiqui, 2006, Nandi et al., 2017). Selon une étude réalisée par Heydari et ses collaborateurs (2008), les souches de *Pseudomonas* fluorescents ont été identifiées autant que grands producteurs d'HCN. Les travaux de Voisard et al (1989) ont montré l'efficacité des cyanides produits par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la suppression des agents telluriques phytopathogènes.

Nousestimons que 100% des souches de *Pseudomonas* étudiées ont montré leurs capacités de produire des siderophores. Ces derniers sont de petites molécules organiques produites par des micro-organismes dans des conditions limitantes en fer afin d'améliorer son absorption. Un Siderophore puissant, tel que le complexe ferrique-Siderophore, joue un rôle important dans

l'absorption de fer par les plantes en présence d'autres métaux tels que le nickel (Beneduzi et al., 2012, Gouda et al., 2018).

Nos résultats sont similaires à ceux de **Benchabane (2005) et de Benoussaid (2018)**, qui ont montré que la plupart des souches de *Pseudomonas* sélectionnées synthétisent des siderophores.

Les résultats de notre étude, sur la production de l'ammoniac ont montré que 100% des souches sont positives.

L'ammoniac est un agent inhibiteur de certains phytopathogènes, il est produit comme un intermédiaire du catabolisme des acides aminés des exsudats racinaires assimilés par les bactéries du sol. L'enzyme nitrogénase joue un rôle important dans la réduction de N<sub>2</sub> fixé en NH<sub>3</sub> chez les bactéries fixatrices d'azote (**Cherif, 2014 ; Hartono et al 2016**). **Sebihi (2015)**, a montré que toutes les souches étudiées de *Pseudomonas* produisent de l'ammoniac.

D'après nos résultats seuls 21.42% des souches solubilisent le phosphate qui est le deuxième élément nutritif le plus important pour la plante après l'azote. Il peut exister dans le sol sous forme organique (Po) et inorganique (Pi). Environ 95% à 99% est présent sous forme de phosphate insoluble lié avec des cations qui ne peuvent être utilisés par les plantes (**Firew et al., 2016, Matos et al., 2018, Pallavi et al., 2018**). Le phosphate joue un rôle important dans les principaux processus métabolites y compris le transfert de l'énergie, la transduction du signal, la respiration, biosynthèse et la photosynthèse (**Anand., 2016, Sharon., 2016, Goudaa et al., 2018**).

La solubilisation microbienne du phosphore joue également un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble par la production des acides, les réactions d'échanges, l'acidification, la chélation et la formation des substances polymères (**suleman et al. 2018, Pandey et al. 2018**). Plusieurs microorganismes solubilisent le phosphate, dont les *Pseudomonas* spp. fluorescents qui présentent une capacité de solubilisation très élevée (**Saharan et Nehra., 2011, Dahdah., 2015, Idris et al., 2016, Zhang et al., 2019**).

Bien qu'aucun halo de solubilisation n'a été observé chez les autres souches étudiées, ces dernières peuvent solubiliser le phosphate sur milieu liquide. **Tao et al. (2008)** ont déjà rapporté cette coexistence des deux capacités en une seule bactérie.

Cela est confirmé par les résultats d'**Arif et al. (2015)** qui ont montré que *P. fluorescens* RB13 solubilise une quantité importante de P (187,9 µg / ml), malgré l'absence d'un halo de solubilisation sur milieu solide. Ainsi les résultats de **Sebihi (2015)** ont montré qu'aucun halo n'a été observé chez les souches *Ps25*, *Ps14* et *Ps22* sur milieu solide, mais ces derniers solubilisent le phosphate sur milieu liquide à des quantités respectivement de 179.104, 104.96

et 40 µg/ml. 100% de nos souches sont à catalase positive. Le catalase aide la bactérie à atténuer le stress abiotique et la rendre dynamique pour le renouvellement des nutriments, profitant ainsi indirectement à la plante hôte. La présence de catalase chez les microorganismes est utile dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives à l'oxygène. (S. Karthika et al, 2020). Des résultats similaires ont été trouvés par **Sebihi, (2015)** qui montrent que la production de catalase a été affichée par toutes les souches de *Pseudomonas* fluorescents étudiées.

La rhizosphère représente une zone d'interaction où de multiples échanges s'opèrent entre le sol, les racines et les rhizobactéries. Les *Pseudomonas* spp. fluorescens prédominent souvent parmi ces rhizobactéries et affectent la croissance des plantes et les protègent des effets délétères de certains stress environnementaux notamment la température, la salinité et le stress hydrique.

Le biofilm est un état de communauté bactérienne complexe dans lequel les cellules se collent à une surface. Certains types de bactéries sont capables de former une couche de mucus (substances polymériques extracellulaires, SPE) qui leur permet de se fixer sur les surfaces. 42,85% des souches de *Pseudomonas* criblées ont la capacité de former le biofilm. La capacité de formation de biofilm confère une colonisation efficace des micro-organismes qui est une caractéristique essentielle des PGPR afin de s'adapter et tolérer à un environnement. Il a pu montrer que la majorité des *Pseudomonas* associés aux racines favorisaient la croissance de la plante hôte formant majoritairement des biofilms autour des racines (**Espinosa-Urgel et al, 2002 ; Ramey et al, 2004**).

Les biofilms ont le pouvoir de fournir une protection significative contre les agressions extérieures et le stress, car ils agissent comme une barrière protectrice qui empêche la pénétration des agents pathogènes des plantes, libèrent une large gamme d'enzymes et réduisent la compétition microbienne. (**Kacim et al., 2016**).

La salinité du sol constitue l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance des plantes cultivées. Cette salinité peut être naturelle ou induite par les activités agricoles comme l'irrigation ou l'utilisation de certains types d'engrais (**Mehdi, 2008**). Nos résultats montrent que seuls cinq souches ont résisté jusqu'à 8% de NaCl. L'étude de **Mi-Seon et al (2017)** démontre que l'application des PGPR peut améliorer les effets négatifs des sols salins sur la croissance des plantes.

Nos résultats ont montré que les souches de *Pseudomonas* sont plus résistantes à la streptomycine (57,14%) et à l'acide nalidixique (42,85%) par rapport à la rifampicine. Selon **Benchabane (2005)**, les *Pseudomonas* se sont avérés plus résistants à la streptomycine (60%) par rapport au chloramphénicol (20%) et l'acide nalidixique (15%).

D'après les travaux de **Digat (1987)** réalisés sur 252 souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *P. Putida*, ont révélé des fréquences de résistance de 92,4% au chloramphénicol et de 54,59% vis-à-vis de l'acide nalidixique.

Nos souches ont été insensibles aux stress thermiques et hydriques. Le test de thermorésistance a montré que toutes les souches sélectionnées (100%) sont résistantes et peuvent croître à une température de 41°C. La température est un facteur qui détermine la nature et les conséquences des interactions rhizobactéries-plante. Les températures élevées peuvent donc affecter *in situ* les populations microbiennes et leurs activités physiologiques (Digat, 1994). Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents se cultivent facilement sur des milieux de cultures usuels et se développent entre -1°C (**Yumoto, 2001**) et +55°C (**Manaia et Moore, 2002**).

Concernant le stress hydrique, 92,85% des souches ont pu tolérer des concentrations jusqu'à 40% de PEG. Seuls 35,71% qui ont pu résister et se développer à 60% de PEG. Le déficit hydrique est le principal facteur environnemental qui entrave la croissance des plantes et la productivité des cultures à l'échelle mondiale (**Begcy et walia., 2015 ; Raheem et al., 2018**).

Bien qu'il a été démontré que les PGPR inoculés dans le sol, améliorent la tolérance de la plante au stress hydrique, accélèrent l'absorption des nutriments et augmentent la teneur en humidité du sol (**Etesami, H., 2017**), les résultats de **Emad et al (2019)**, montrent que l'utilisation intégrative de PGPR avec AS s'est avérée être une stratégie efficace pour l'amélioration du développement et de la productivité des cultures dans des conditions de déficit hydrique. Car il a été prouvé que l'AS diminue la sensibilité de la plante au déficit hydrique et que les plantes ayant des niveaux internes adéquats d'AS ont des tissus mieux hydratés que celles présentant une carence en AS (**Pirasteh-Anosheh et al., 2012**).

Une grande part de recherches réalisée sur les rhizobactéries souligne l'importance et le potentiel du groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescents, des études ont signalées des augmentations significatives dans la croissance et le rendement des cultures en réponse à l'inoculation avec les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (**Taguet et al, 2015 ; Cipriano et al, 2018 ; Turatto et al, 2018**).

La bactérisation des graines d'orge a montré des effets remarquables des souches bactériennes étudiées sur la stimulation de la germination. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqués que trois souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont montré un effet significatif sur le taux de germination des graines par rapport au témoin. Toutes les souches sélectionnées ont des valeurs de l'indice de vigueur nettement supérieures par rapport aux graines non inoculées.

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en évidence la production d'AIA par les souches bactériennes ainsi que leur capacité à solubiliser le phosphore, le Siderophore, l'HCN... L'acide indole acétique présente un potentiel pour l'amélioration des rendements agricoles par la stimulation de la croissance et la stimulation de la germination des semences, augmentant le développement des racines et contrôle les processus de croissance végétative. Ainsi d'autres recherches scientifiques avancent que les PGPR augmentent le pourcentage et la vitesse de germination et l'indice de vigueur des graines (**Hossain et al, 2016 ; Nehra et al, 2016 ; Prasard et al, 2017**).

L'utilisation de bactéries solubilise le phosphore comme inoculant augmentant simultanément l'absorption de P par la plante et le rendement des cultures (**Dahdah, 2015**). Plusieurs recherches scientifiques avancent que les PGPR augmentent le pourcentage et la vitesse de germination et l'indice de vigueur des graines (**Nehra et al, 2016**).

D'après l'expérimentation d'**Ouserir et al. (2018)** et de **Karthika (2020)** et d'autres expérimentations, les *Pseudomonas* ont un effet bénéfique sur la stimulation de la germination. **Vessey (2003) et Salantur et al. (2006)** suggèrent que la sécrétion bactérienne des substances favorisant la croissance des plantes pourrait être responsable des effets bénéfiques des PGPR.

Dans notre étude, une caractérisation des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées de la rhizosphère de palmier dattier a été effectuée dont l'objectif est d'étudier l'activité phytostimulatrice de ces bactéries à partir d'expériences sur la production des différents métabolites secondaires et l'application de la promotion de croissance de l'orge.

Quatorze souches ont été isolées pour réaliser ce travail. Plusieurs espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents agissent comme PGPR possédant des propriétés à la fois de régulation de la croissance des plantes et de résistance aux stress environnementaux, cela est réalisé directement ou indirectement par la production de plusieurs substances chimiotactiques.

Dans la présente étude, les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents se distinguent par leur capacité à favoriser la croissance des plantes. Les résultats des métabolites ont montré une production significative de l'HCN avec 78,57% et de production des siderophores et catalase avec 100%. Ainsi ces souches ont montré une production très importante de l'acide indole acétique et de l'ammoniac avec des pourcentages respectivement de 92,85% et 100%. Contrairement à la solubilisation de phosphate qui est considérée comme faible où elle atteint 21,42%. Les PGPR aident également à la croissance en diminuant les phytopathogènes qui diminuent le rendement et la croissance par la production des siderophores et d'HCN. En plus de la sécrétion de différents métabolites secondaires qui s'impliquent dans la phytostimulation de la croissance des plantes.

L'interaction *Pseudomonas* - plante peut entraîner une stimulation de croissance supérieure. Les semences d'orge traitées par quatre souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont montré une germination nette des grains et importante pour le taux de germination et l'indice de vigueur par rapport aux semences non inoculées, sauf que le traitement criblé par la souche TR7 a montré une germination des grains mais avec un taux inférieur à ce du témoin. La formation de biofilm par les rhizobactéries bénéfiques et la formulation du bio-inoculant aide à stimuler la germination et à augmenter le rendement.

Selon les résultats obtenus et vu la potentialité des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents exprimés dans la stimulation de la germination, il est intéressant de poursuivre des expérimentations dans des conditions plus contrôlées afin de garantir la stabilité et la productivité des effets bénéfiques de ces rhizobactéries à l'échelle de pratiques agronomiques. Ces rhizobactéries peuvent devenir un complément ou même une réelle alternative pour les techniques de lutte biologique et de fertilisation chimique.

# **CONCLUSION**



### Conclusion

Dans notre étude, une caractérisation des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées de la rhizosphère de palmier dattier a été effectuée dont l'objectif est d'étudier l'activité phytostimulatrice de ces bactéries à partir d'expériences sur la production des différents métabolites secondaires et l'application de la promotion de croissance de l'orge.

Quatorze souches ont été isolées pour réaliser ce travail. Plusieurs espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents agissent comme PGPR possédant des propriétés à la fois de régulation de la croissance des plantes et de résistance aux stress environnementaux, cela est réalisé directement ou indirectement par la production de plusieurs substances chimiotactiques.

Dans la présente étude, les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents se distinguent par leur capacité à favoriser la croissance des plantes. Les résultats des métabolites ont montré une production significative de l'HCN avec 78,57% et de production des siderophores et l'acatalase avec 100%. Ainsi ces souches ont montré une production très importante de l'acide indole acétique et de l'ammoniac avec des pourcentages respectivement de 92,85% et 100%. Contrairement à la solubilisation de phosphate qui est considérée comme faible où elle atteint 21,42%. Les PGPR aident également à la croissance en diminuant les phytopathogènes qui diminuent le rendement et la croissance par la production des siderophores et d'HCN. En plus de la sécrétion de différents métabolites secondaires qui s'impliquent dans la phytostimulation de la croissance des plantes.

L'interaction *Pseudomonas* - plante peut entraîner une stimulation de croissance supérieure. Les semences d'orge traitées par quatre souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont montré une germination forte des grains et importante pour le taux de germination et l'indice de vigueur par rapport aux semences non inoculées, sauf que le traitement criblé par la souche TR7 a montré une germination des grains mais avec un taux inférieur à ce du témoin. La formation de biofilm par les rhizobactéries bénéfiques et la formulation du bio-inoculant aide à stimuler la germination et à augmenter le rendement.

Selon les résultats obtenus et vu la potentialité des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents exprimés dans la stimulation de la germination, il est intéressant de poursuivre des expérimentations dans des conditions plus contrôlées afin de garantir la stabilité et la productivité des effets bénéfiques de ces rhizobactéries à l'échelle de pratiques agronomiques.

## *Conclusion*

---

Ces rhizobactéries peuvent devenir un complément ou même une réelle alternative pour les techniques de lutte biologique et de fertilisation chimique.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- **Ahemad, M., & Kibret, M. (2014).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University science*, 26(1), 1-20.
- **Ahmad E., Khan M.S. & Zaidi A. (2013).** ACC deaminase producing *Pseudomonas putida* strain PSE3 and *Rhizobium leguminosarum* strain RP2 in synergism improves growth, nodulation and yield of pea grown in alluvial soils. *Symbiosis*, 61: 93–104.
- **Alabouvette C (1983)** La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse dr es sci nat, univ Nancy, 158 p.
- **Anand, K., Kumari, B., Mallick, M.A. (2016).** Phosphate solubilizing microbes: an effective alternative approach as bio-fertilizers. *Int. J. Pharm. Sci.* 8: 37–40.
- **Aponte, A., Castillo, O., Cabrera, G., Pernia, M., Hernandez, Y., 2017.** Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum* sp. association enhances growth of *Lactuca sativa* L. under tropical conditions. *J. Cent. Eur. Agric.* 18, 424–440.
- **Arif, F., Silini, Aa., Cherif-Silini, H., Ghou, M., 2015.** Plant growth promoting and antagonistic traits of indigenous fluorescent *Pseudomonas* spp. Isolated from wheat rhizosphere and a. *Halimus endosphere European Scientific Journal.* vol.11, No.24 :130-148.
- **Askeland, R. A., & Morrison, S. M. (1983).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(6), 1802-1807.
- **Bakker A. W. et Schippers B., 1987.** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth-stimulation. *Soil. Biol. Biochem.*, 19 (4) : 451-457.
- **Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., and Van Loon L.C., 2007.** Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 (2), 239-243.
- **Baranski, R., Klocke, E., Nothnagel, T., 2007.** Enhancing resistance of transgenic carrot to fungal pathogens by the expression of *Pseudomonas* fluorescence microbial factor 3 (MF3) gene. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 71, 88–95.
- **Begcy, K. ; Walia, H. 2015.** Le stress de la sécheresse retarde le développement de l'endosperme et régule mal les gènes associés à l'organisation du cytosquelette et aux protéines de qualité du grain dans le développement des graines de blé. *Usine Sci.* 240, 109–119.
- **Benchabane M. (2005).** Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger, Algérie, 235 p
- **Benchabane M., 2005.** Caractérisation des effets d'antagonisme microbien et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Thèse Doctorat d'état, FSB-USTHB, Alger, 235 p.
- **Beneduzi A., Ambrosini A. et Passaglia L. M. P., 2012.** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.*, 35(4): 1044-1051.

- **Benoussaid N., 2018** – Etude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolite secondaire lié au biocontrôle et la phytostimulation chez les *Pseudomonas* fluorescents. Doc. Sci. Bio. Dép. Bio. Univ. Saad Dahleb Blida, Algérie, 180.
- **Blumer, C. & Haas, D. (2000)**. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch Microbiol* 173: 170-177.
- **Bolwerk, A., Lagopodi, A.L., Wijfjes, A.H.M., Lamers, G.E.M., Chin-A-Woeng, T.F.C., Lugtenberg, B.J.J., Bloemberg, G.V., 2003**. Interactions in the Tomato Rhizosphere of Two *Pseudomonas* Biocontrol Strains with the Phytopathogenic Fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant-Microbe Interactions*® 16, 983–993
- **Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. et Gardan, L. 2000**. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*. 20, 51-63.
- **Boukerma L. (2012)**. Effets des PGPR (*Pseudomonas* spp. fluorescent) sur le biocontrol et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire. Thèse Magister en Biotechnologies végétales. Option: Biotechnologie Végétales. ENSA, Alger, Algérie, 140 p.
- **Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. & Garrity, G.M. 2005**, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume two The Proteobacteria, 2ème édition, Springer-Verlag.
- **Brick J. M., Bostock R. M et Silverstone E. S., 1991**. Rachid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. And Env. Microbiol.*, 57(2): 535-538.
- **Budzikiewicz, H. 1993**. Secondary metabolites from fluorescent *Pseudomonads*. *FEMS. Microbial Rev.* 104, 209-228.
- **Cappuccino J. C. et Sherman N., 1992**. *Microbiology : A laboratory manuel*, third ed. Benjamin/cummings. Pub. Co., New York, pp. 125-179.
- **Cherif, H. (2014)**. Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. 162.
- **Choudhary D.K. and Johri B.N., 2009**. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164, (5), pp 493-513.
- **Chu, TN, Tran, BTH, Hoang, MTT, 2019**. La rhizobactérie *Pseudomonas* PS01 favorisant la croissance des plantes induit une tolérance au sel chez *Arabidopsis thaliana*. *BMC Rés. Remarques* 12, 1–7.
- **Cipriano M. A. P. and Freitas S.S., 2018**. Effect of *Pseudomonas putida* on chrysanthemum growth under greenhouse and field conditions. *African Journal of Agricultural*. pp. 302-310, 8.
- **Costa-Gutierrez, SB, Lami, MJ, Caram-Di Santo, MC, Zenoff, AM, Vincent, PA, Molina Henares, MA, Espinosa Urgel, M., de Cristobal, RE, 2020**. Promotion de la croissance des plantes par P

*Pseudomonas putida* KT2440 sous stress salin : rôle d'eptA. Appl. Microbiol. Biotechnol. 104, 4577-4592.

- Criblage, promotion de la croissance des plantes et schéma de colonisation racinaire de deux rhizobactéries (*Pseudomonas fluorescens* Ps006 et *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006) sur bananier cv. Williams (Musa acuminata Colla). Microbiol. Rés. 220, 12–20.
- **Dahdah, K., Rai, A., Bensidhoum, L., Schmid, M., Hartmann, A et Nabt, E., 2015.** Rev. Microbial. Ind. San et Environn. Vol 9, N°1: 1-19.
- **David B. V., Chandrasehar G. and Selvam P. N., 2018.** *Pseudomonas fluorescens*: a plant-growth-promoting rhizobacterium (pgpr) with potential role in biocontrol of pests of crops international institute of biotechnology and toxicology (iibat), Padappai, India.
- **Digat, B. and Gardan, L., 1987.** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Bull OEPP. 17: 559-568.
- **Digat, B. 1994.** Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : Le cas des *Pseudomonas*. The plant growth promoting rhizobacteria. An example with *Pseudomonas*. C.R. Acad. Agric. Fr. 80(2), 125-140.
- **Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y (2003)** Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences 22:107-149.
- **Espinosa-Urgel M, Kolter R, Ramos JL (2002)** Root colonization by *Pseudomonas putida*: love at first sight. Microbiology-Sgm 148: 1-3.
- **Etesami, H. ; Beattie, GA. 2017.** Interactions plantes-microbes dans l'adaptation des cultures agricoles au stress abiotique Conditions. Probiotiques Plant Health , 163–200.
- **Eyquem A., Alouf J., Montagnier L., 2000.** Traité de microbiologie clinique: Deuxièmes mises à jour et compléments. Piccin Nuova Libreria, Italie, 238 p.
- **Fernandez M, Porcel M, de la Torre J, Molina-Henares M.A., Daddaoua A, Llamas M.A., Roca A, Carriel V, Garzon I, Ramos J.L., Alaminos M, Duque E. (2015)** Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains. Front Microbiol, 6: 871.
- **Firew Elias, Delelegn Woyessa, and diriba Muleta. (2016).** Phosphate Solubilization potential of rhizosphere fungi isolated from plants in jimma Zone, Southwest Ethiopia. International Journal of Microbiologie ;3 :1.
- **Frankenberger, W.T., and Arshad, M. 1991.** Microbial production of plant growth regulating substances in soil. In Plant Growth-Promoting rhizobacteria. Progress and Prospects. C. Keel, B. Koller, and G. Défago, (eds.), IOB/ WPRS Bulletin XIV / 8, 162-171
- **Freney J, Renaud F, Leclercq R et Riegel P, 2007.** Bactériologie clinique. 2<sup>ème</sup> édition, Editions ESKA.
- **Garbeva, P., van Veen, J.A., van Elsas, J.D., 2004.** Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. FEMS Microbiol. Ecol. 47, 51–64.

- **Goudaa, S., Kerryb, R.G., Dasc, G., Paramithiotisd, S., Shine H.S., Patra K. J. (2018).** Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res.* 206: 131–140.
- **Gupta, S. Pandey, 2019,** ACC désaminase produisant des bactéries avec de multiples traits favorisant la croissance des plantes atténué le stress de salinité dans les plantes de haricot vert (*Phaseolus vulgaris*), *Front. Microbiol.* 10 , 1506.
- **Gupta S , Didwania N , Singh D ., 2020 -** Biological control of mustard Blight caused by *Alternaria Brassicae* uzid plant growth promoting bacterza, *Current Plant Biology*, 23 100166
- **Hafez I., Omara A., Alshayma A., 2019.** The Coupling Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Salicylic Acid on Physiological Modifications, Yield Traits, and Productivity of Wheat under Water Deficient Conditions 524. 16. 12.
- **Hartono, H., Nurfitriani, Fais, A., Harniyati, C., Nur, I.H. & Muhammad, J. (2016).** Ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogenfixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(19): 11735-11741.
- **Heydari, S., Moghadam P.R. & Arab, S.M. (2008).** Hydrogen cyanide production ability by *Pseudomonas fluorescence* bacteria and their inhibition potential on weed. *Proceedings of the Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development*, pp.7-9.
- **Höfte, M., Bakker, P.A.H.M., 2007.** Competition for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. In *Microbial Siderophores* ; Varma, A., Chincholkar, S.B., Eds.; Soil Biology; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 121–133. ISBN 978-3-540-71160-5.
- **Hossain, M. M., Das, K. C., Yesmin, S., & Shahriar, S., (2016).** Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in seed germination and root-shoot development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under different salinity condition. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 3(1), 105-113.
- **Hussein K.A. & Joo J.H. (2015).** Isolation and characterization of rhizomicrobial isolates for phosphate solubilization and indole acetic acid production. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58: 847-855.
- **Idris H.A., Bopape F. L., Sanger, L. K. (2016).** Microbial inoculants as agents of growth promotion and abiotic stress tolerance in plants. In: Singh D.P. et al. (ed.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer India 23.
- **Ilangumaran, G., Smith, DL, 2017,** Croissance des plantes favorisant les rhizobactéries dans l'amélioration du stress de salinité : une perspective de biologie systémique, *Front. Usine Sci.* 8 1768.
- **Innerebner G, Knief C, Vorholt JA, 2001.** "Protection d'*Arabidopsis thaliana* contre les pathogènes foliaires *Pseudomonas syringae* par des souches de *Sphingomonas*

as dans un système modèle contrôlé", *Appl et Environment Microbiol*; 77 (10): 3 202–3210

- **Jaizme-Vega M.D., Carmen R.R., Ana S., and Guerra M., Sol P., 2004.** Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated bananas. CIRAD, EDP Sciences, 59, pp 83-90
- **Jenul, C., Horswill, A.R., 2019.** Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence, in: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I. (Eds.), *Gram-Positive Pathogens*. ASM Press, Washington, DC, USA, pp. 669–686.
- **Kahli H., 2021** - caractérisation de l'accumulation des éléments traces métalliques chez trois espèces du genre *Atiriplex* et chez répercuss sur certains paramètres biochimique de ces espèces, thèse Doctorat, Lasers matière et nanoscience, Univ Baskı Mokhtar, Annaba, 313p.
- **Karthika S, Jose Midhum S, Jisha M.S., 2020** - a potential antifungal and growth - Promoting bacterium *Bacillus* sp. KTMA 4 from tomato rhizosphere, *Microbial pathogenesis*, YMPAT 104039, S0882 - 4010 (19) 31876 - 5.
- **Kasim WA, Gaafar RM, Abou-Ali RM, Omar, MN, Hewait HM. 2016.** Effet du biofilm formant la croissance des plantes favorisant la croissance des rhizobactéries sur la tolérance à la salinité de l'orge. *Ann. Agric. Sci.* 61(2), 217–227.
- **Keller L. and Surette M. G. 2006.** Communication in bacteria: An ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 4, pp 249-258.
- **Khalid A., Arshad M. & Zahir Z.A. (2004).** Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J Applied Microbiol*, 29: 473-480.
- **Khan, A. A., G. Jilani, M.S. Akhtar, S. M. S. Naqvi, et M. Rasheed., 2009.** Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production. *J. agric. biol. sci.* 11: 48-58.
- **King E. O., Ward M. K. et Raney D.E., 1954.** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.*, 44, 301-307.
- **Kloepper J.W. & Schroth M.N. (1978).** Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. INRA, Gilbert-Clarey, Tours, France, 2: 879-882.
- **Kloepper J.W. and Schroth M.N., 1978.** Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. ed. Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie, 2, pp 879-882.
- **Kloepper J.W., Leong J., Teintze M. and Schroth M.N., 1980.** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, pp 885-886.
- **Kresters, K., Ludwig, W., Vancanneyt, M., Devos, P., Gillis, M. et Schleifer, K.H., 1996.** Recent changes in the classification of pseudomonads: an overview. *Syst Appl Microbiol.* 19, 465-477
- **Lami, MJ, Adler, C., Caram-Di Santo, MC, Zenoff, AM, de Cristobal, RE, Espinosa Urgel, M., Vincent,**



- PA, 2020.** *Pseudomonas stutzeri* MJL19, une bactérie colonisant la rhizosphère qui favorise la croissance des plantes sous stress salin. *J. Appl. Microbiol.* 129, 1321–1336.
- **Latour X. et Lemanceau, P., 1997.** Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie.* 17, 427-443.
  - **Latour X., Corberand T., Laguerre G. & Allard F. (1996).** The composition of fluorescent *Pseudomonas* populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Applied and environmental Microbiology*, 62: 2449-2456.
  - **Leinhos V., 1994.** Effects of pH and glucose on auxin production of phosphate-solubilizing rhizobacteria in vitro. *Microbiological Research*, 149, pp 135-138
  - **Lemanceau P, Alabouvette C. 1991.** Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protec* 1, 279-286
  - **Lemanceau, P. 1992.** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : Exemples des *Pseudomonas* spp. Fluorescents. *Agronomie* 12, 413-437.
  - **Lévy, 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
  - **Maciá-Vicente J. G., Jansson H. B. et Lopez-Llorca L. V., 2008.** Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54: 600-609.
  - **Manaiá, C.M. and Moore, E.R.B. 2002.** *Pseudomonas thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant species of the genus *Pseudomonas* «sensu stricto». *J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52: 2203-2209.
  - **Marulanda, A., Azcon, R., Chaumont, F., Ruiz-Lozano, J.M., Aroca, R. (2010).** Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions. *Planta* 232: 533–543.
  - **Matos-Moreira, M., et al., (2017).** High-resolution mapping of soil phosphorus concentration in agricultural landscapes with readily available or detailed survey data. *Eur. J. Soil Sci.* 68, 281–294.
  - **MDC Orozco-Mosqueda, et al., 2019,** La production d'ACC désaminase et de tréhalose par la bactérie favorisant la croissance des plantes *Pseudomonas* sp. UW4 protège de manière synergique les plants de tomates contre le stress salin, *Front. Microbiol.* 10 1392.
  - **Mekureyaw MF, Beierholm AE, Nybroe O, Roitsh TG., 2021-** physiological et molecular plant pathology, 117, 101757, pp. 0885- 5765.
  - **Meyer, J.-M., 2000.** Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species. *Arch. Microbiol.* 174, 135–142.
  - **Mhlongo, Msizi I., Piater, Lizelle A., Madala, Ntakadzeni E., Labuschagne, Nico, Dubery, Ian A., 2018.** La chimie des interactions plantes microbes dans la rhizosphère et le potentiel de la métabolomique pour révéler la

signalisation liée à l'amorçage de la défense et résistance systémique induite. *Devant. Plant Sci* 2.

- **Miller M.B. and Bassler B.L. 2001.** Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*55,165-199.
- **Mi-Seon H., Jin-Soo., Ye-Ji H., Duk-Kee., Sa-Youl G. 2017** – Alleviation of salt stress in pepper plants (*Capsicum annum L.*) by plant growth promoting rhizobacteria. *27.10. 6.*
- **Mishra J. and Arora N K., 2017.** Secondary metabolites of fluorescent pseudomonads in biocontrol of phytopathogens for sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology.*
- **Misko A. L. et Germida J. J., 2002.** Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42: 399-407.
- **Moulin, F., Lemanceau, P., Alabouvette, C. 1996.** Suppression of pythium root rot of cucumber by a fluorescent pseudomonad is related to reduce root colonization by *pythium aphanidratum*, *J. phytopathol.*144,125-129
- **Naik P. R. et Sakthivel N., 2006.** Functional characterization of a novel hydrocarbon clastic *Pseudomonas* sp. Strain PUP6 with plant-growth-promoting traits and antifungal potential. *Res. Microbiol.*, 157 : 538-546.
- **Nehra, V., Saharan, B. S., & Choudhary, M., (2016).** Evaluation of *Brevibacillus brevis* as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (*Gossypium hirsutum*) crop. *Springerplus*, 5(1), 948.
- **Noori, M.S.S., Saud, H.M, 2012,** Activité potentielle de promotion de la croissance des plantes de *Pseudomonas* sp. isolé du sol de paddy en Malaisie comme agent de lutte biologique, *J. Plant Pathol. Microbe* 3 (2) 1–4.
- **Oriol C., 2022** - Le régulateur SarA chez *Staphylococcus aureus*: Analyse combinée RNA-Seq, ChIP-Seq et bio-informatique Focus sur des cibles sARN.
- **Ouserir S, Chennaoui N et Benchabane M. (2018).** effets de la bactérisation par *Pseudomonas fluorescens* et *rhizobium fabae* sur la stimulation de la nodulation et de la croissance de la fève (*vicia faba l. var. hystal*), 8(1): 775-785.
- **Pallavi Kumari Punam.(2018).** Role of different carbon Source on Phosphate Solubilisation by Psychrotolerant Isolate. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, India ;7(10) :2597.
- **Palleroni N. (2010)** The *Pseudomonas* story. *Environ Microbiol*, 12(6): 1377-1383.
- **Palleroni, N.J., 1984.** Gram-negative aerobic rods and cocci : family I *Pseudomonadaceae*, 141-168. Krieg, Holt, William and Wilkings .Eds., In *Bergey's manual of bacteriology*, 1, William & Wilkins, Baltimore.
- **Pandey Deepak and Chayanika putatunda.(2018).** Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of potato plant . *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* ;7(1) :968.
- **Patel, J., Teli, B., Bajpai, R., Meher, J., Rashid, M., Mukherjee, A., Yadav, SK, 2019.** Biocontrôle médié par les trichodermes et promotion de la croissance chez les plantes : une approche endophytique Dans : Rôle des microorganismes favorisant la cr

oissance des plantes dans l'agriculture durable et la nanotechnologie. Woodhead Publishing, pp. 219–239.

- **Pattnaik, S., Mohapatra, B., Kumar, U., Pattnaik, M., Samantaray, D., 2019.** Promotion de la croissance des plantes médiée par les microbes : un aperçu mécaniste des membres cultivables favorisant la croissance des plantes. *Biofertile. Soutien Agric. Environ.* 435–463.
- **Perruchon O., 2022** - identification cartographie des métabolites secondaires de nouvelles souches de levures tropicales, thèse Doctorat, chimie organique, Univ Rouen Normandie, 266p.
- **Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., and Robaglia, C., 2003.** Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ.* 26 : 189–199.
- **Picot, L.; Mezghani-Abdelmoula, S.; Chevalier, S.; Merieau, A.; Lesouhaitier, O.; Guerillon, J.; Cazin, L.; Orange, N.; Feuilloley, M.G.J. 2004,** Regulation of the Cytotoxic Effects of *Pseudomonas fluorescens* by Growth Temperature. *Res. Microbiol.* 155,39–46
- **Pikovaskaya R. I., 1948.** Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologia*, 17 : 362-370.
- **Pirasteh-Anosheh, H. ; Emam, Y. ; Ashraf, M.; Foolad, MR. 2012.** L'application foliaire d'acide salicylique et de chlorure de chlorméquat atténue les effets négatifs du stress hydrique chez le blé. *Adv. Étalon. Biol.* 4, 501–520.
- **Poveda J , Eugui D., 2022** - combined use of *Trichoderma* and the beneficial et beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): Development of microbial synergistic bio - inoculant sustainable agriculture. *Biological control*, 176,105100, 1049-9644.
- **Raheem, A.; Shaposhnikov, A.; Belimov, AA; Dodd, IC; Ali, B. 2018.** La production d'auxine par les rhizobactéries était associée à un meilleur rendement du blé (*Triticum aestivum* L.) sous stress hydrique. *Cambre. Agro. Sol Sci.* 64, 574–587.
- **Rainey, P.B. et Bailey, M.J., 1996.** Physical and genetic map of the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 chromosome. *Mol Microbiol.* 19 , 521-533.
- **Ramey BE, Koutsoudis M, von Bodman SB, Fuqua C (2004)** Biofilm formation in plant-microbe associations. *Current Opinion in Microbiology* 7: 602-609
- **Reddy MS., Rahe JE., 1989.** *Bacillus subtilis* B-2 and selected onion rhizobacteria in onion seedling rhizospheres: Effect on seedling growth and indigenous rhizosphere microflora. *Soil Biol Biochem* 21,379-389.
- **Rodelas, B., V. Salmeron, M. V. Martinz – Toledo et G. J. Loper. 1993.** Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically defined media. *Plant Soil* 153, 97 – 101.
- **Ryu C.M, Murphy J.F., Reddy M.S., and Kloepper J.W., 2007.** A two-strain mixture of rhizobacteria elicits induction of systemic resistance against *Pseudomonas syringae* and cucumber mosaic virus coupled to promotion of plant growth on *Arabidopsis thaliana*. *J. Microbiol. Biotechnol*, 17, (2), pp 280-286

- **S. Kumar, D. RC et M. DK, 2016**, "Biosurfactant mediated biocontrol of *Macrophomina phaseolina* causant la pourriture charbonneuse de *Vigna mungo* par une plante favorisant la croissance *Enterococcus* sp. BS13 », *J. Plant Pathol. Microbiol.*, vol. 7, non. 11, p. 1-8.
- **Sah S., Krishnani., Singh R., 2021** - *Pseudomonas* mediate nutritive and growth promoting activities for sustainable food security.
- **Sah, S., Singh, R., 2016**. Cohérence phylogénétique de *Pseudomonas* dans les sols inexploités de la région himalayenne. *3 Biotech* 6 (2), 1–10.
- **Saharan B. S. et Nehra V., 2011**. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. A Critical Review. *Life Sci. and Med. Res.*, 2011: LSMR-21, 1-30.
- **Salantur A., Ozturk A. & Akten S. (2006)**. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. *Plant Soil Environ*, 52 : 111-118.
- **Scales BS, Dickson RP, Lipuma JJ, Huffnagle GB. (2014)** Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clin Microbiol Rev.* 27 (4): 927-48.
- **Schaad, N, W, 1992**. Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria, 2nd Edn, International Book Distributing Co, Lucknow, 44-58.
- **Schalk, I.J., 2008**. Metal trafficking via siderophores in Gram-negative bacteria: Specificities and characteristics of the pyoverdine pathway. *J. Inorg. Biochem.*, 13th International Conference on Biological Inorganic Chemistry 102, 1159–1169.
- **Scher FM, Baker R (1982)** Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of suppressiveness to *Fusarium*-wilt pathogens. *Phytopathology* 72, 1567-1573.
- **Sebihi F., 2016** – Effet PGPR des *Pseudomonas* fluorescents isolées de la rhizosphère du blé cultivé dans la région de Constantine. *Doc, Bio, Vég, Uni, Frères Mentouri Constantine*, 91.
- **Sharon.J.A,Hathwaik.L.T,Glenn.G.M,Imam.H.S and Lee.C.C.(2016)**.Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth. *Journal of Soil Science and plant Nutrition, USA* ;16(2) :526.
- **Siddiqui Z.A., 2003**. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In Siddiqui Z.A., *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 2006, Springer, Netherlands, 313p
- **Siddiqui, Z. (2006)**. PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, Siddiqui, Zaki Anwar (Ed.) pp. 111-142
- **Singh, VK et al.,2019**, Interaction des bactéries favorisant la croissance des plantes avec la tomate sous stress abiotique : une revue, *Agric. Écosystème. Environ.* 267 129140.
- **Spiers, A.J., Buckling, A., and Rainey, B. 2000**. The causes of *Pseudomonas* diversity. *Microbiology*, 146, 2345-2350

- **Stanier, R.Y., Palleroni, N.J. et Doudoroff, M., 1966.** The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. *J GenMicrobiol.* 43, 159-271.
- **Suleman Sumera Yasmin , Maria Rasul, Mahreen Yahya, Babar Manzoor Atta, Muhammad Sajjad Mirza.(2018).** Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat, *Plos One* ;13(9) :10-11.
- **Sundar, H., Mohan, SS, Sornam, A., Sivanandam, G., Govindan, C., 2021.** Effets de trois souches de *Pseudomonas fluorescens* sur les pathogènes fongiques du sol et le ver à soie, *Bombyx mori*. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 1–8.
- **Surkaya. D, Maheswaridevi UP et Lakshmi KV,2004,** « Chemical characterization and antibiose in vitro des siderophores des *Pseudomonas* fluorescentes de la rhizosphère », *Indian J. Microbiol.*, vol 44, non. 2, P. 105-108.
- **Swain, H., Mukherjee, AK, 2020.** Interaction hôte-pathogène trichodermie. Dans : *Trichodermie*. Springer, Singapour, p.149–165.
- **Taguet F., Boisset C., Heyraud A., Buon L. et Kaci Y., 2015.** Characterization and structure of the polysaccharide produced by *Pseudomonas fluorescens* strain TF7 isolated from an arid region of Algeria. *C. R. Biologies*, 338: 335-342.
- **Thomashow L. S. et Weller D. M., 1990.** Role of antibiotics et siderophores in biocontrol of take-all disease of wheat. *Plant et Soil.*, 129, 93-99.
- **Tue K. Nielsen, Mengistu F. Mekureyaw, Lars H. Hansen, Mette H. Nicolaisen, Thomas G. Roitsch, Rosanna C. Hennessy,2021** Séquence complète du génome de la souche de biocontrôle produisant des cytokinines *Pseudomonas fluorescens* G2018, *Microbiol . Resour. Annoncer.* 10 (30).
- **Turatto M.F., Dourado F.S., Zilli, J.E. and Botelho, G.R. (2018).** Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus* spp. Using fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. *Brazilian journal of microbiology.* 49: 54–58.
- **Umesha, S., Singh, PK, Singh, RP, 2018.** Biotechnologie microbienne et durabilité agriculture. Dans : *Biotechnologie pour une agriculture durable*. Édition Woodhead. p.185–205.
- **Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. & Nasrulhaq Boyce, A. 2016.** Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability. *Molecules*, 21, 573.
- **Verma, M., Mishra, J., Arora, NK, 2019.** Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes : diversité et applications. Dans : Sobti R., Arora N., Kothari R. (Eds.), *Biotechnologie environnementale : Pour un avenir durable*. Springer, Singapour. p. 129-173.
- **Vessey, J.K., 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255 :571–586.
- **Voisinard, C., Keel, C., Haas, D., & Dèfago., G. (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO journal.* 8(2), 351-358.
- **Vurukonda, SS et al.,** Amélioration de la tolérance au stress hydrique dans les cultures par

- les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, *Microbiol. Rés.* 184 (2016) 13–24.
- **Wang, NR, Haney, CH, 2020.** Exploiter le potentiel génétique du microbiome végétal. *Biochimie.* 42, 20–25.
  - **Weller D.M., 2007.** The Nature and Application of Biocontrol Microbes III: *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. *Phytopathology*, 97, (2), pp, 250-256.
  - **Weller DM, Cook RJ . 1986.** Increased growth of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads, and implications of *Pythium* control. *Can J Plant Pathol* 8, 328-334
  - **Wu, B.; He, T.; Wang, Z.; Qiao, S.; Wang, Y.; Xu, F.; Xu, H.(2020)** Insight into the mechanisms of plant growth promoting strain SNB6 on Enhancing the Phytoextraction in Cadmium Contaminated Soil. *J. Hazard. Mater*,385, 121587.
  - **Wu, H., Wu, Q., Wu, G., Gu, Q., Wei, L.,2016.** Cd-Resistant Strains of *B. cereus* S5 with Endurance Capacity and Their Capacities for Cadmium Removal from Cadmium-Polluted Water. *PLOS ONE* 11, e0151479.
  - **Yadav,AN, Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Guleria, G., Rana, KL, Rastegari, AA, 2020.** Biotechnologie microbienne pour une agriculture durable : recherches actuelles et défis futurs. Dans : Rastegari, AA, Yadav, AN, Yadav, N., (Eds.). Développement nouveaux et futurs en biotechnologie microbienne et en bioingénierie. Elsevier. p. 331–344.
  - **Yan, Y., Yang, J., Dou, Y., Chen, M., Ping, S., Peng, J., Lu, W., Zhang, W., Yao, Z., Li, H., Liu, W., 2008.** Traits de compétence de l'îlot de fixation de l'azote et de la rhizosphère dans le génome de *Pseudomonas stutzeri* A1501 associé aux racines. *Proc. Natl Acad. Sci.* 105, 7564–7569.
  - **Yumoto, I., Yamazaki, K., Hishinuma, M., Nodasaka, Y., Suemori, A., Nakajima, K., Inoue, N. and Kawasaki, K. 2001.** *Pseudomonas alcaliphila* sp. nov., a novel facultatively psychrophilic alkaliphile isolated from seawater. *J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51 : 349-355.
  - **Zahir Z.A., Arshad M. and Frankenberger W.T., Jr. (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria: perspectives and application in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, pp 96-168
  - **Zhang J, Jiang F, Shen Y, Zhan Q, Bai B, Chen W, Chi Y. (2019).** Transcriptome analysis reveals candidate genes related to phosphorus starvation tolerance in sorghum. *BMC Plant Biol.* 2019;19:306.
  - **Zhang, L., Chen, W., Jiang, Q., Fei, Z., Xiao, M., 2020.** Analyse du génome de la croissance des plantes favorisant la rhizobactérie *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* JD37 et aperçus de la comparaison de la génomique avec trois souches de *Pseudomonas*. *Microbiol. Rés.* 237, 126483 <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126483>.
  - **Zhuang, L., Li, Y., Wang, Z., Yu, Y., Zhang, N., Yang, C., Zeng, Q., Wang, Q., 2021.** La communauté synthétique avec six souches de *Pseudomonas* sélectionnées

## *Références Bibliographiques*

---

à partir du microbiome de la rhizosphère de l'ail favorise la croissance des plantes. *Micro Biotechnologie*. 14, 488-502.

# **ANNEXES**



## ANNEXES :

### Annexe01 : les milieux de cultures

#### 1. Milieu King B

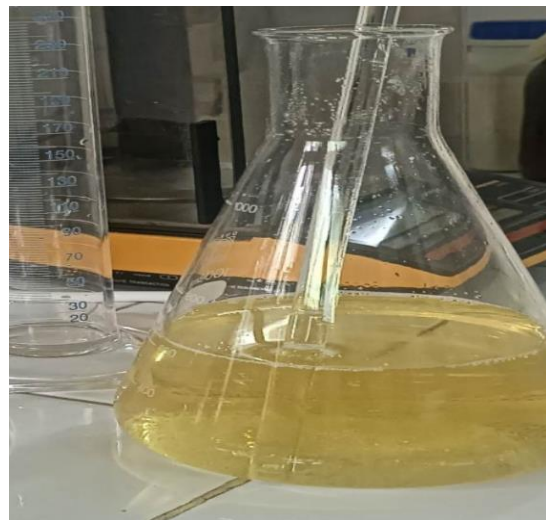
Peptone.....	20
MgSO4 7H2O.....	1,5g
K2HPO4.....	1,5g
Glycerol.....	15ml
Agar .....	20g
Eau distillé.....	1000ml



#### 2. Milieu LB

Peptone.....	10 g
Extrait de levure .....	5g
Chloride sodium (NaCl).....	5g
Agar.....	15g
Eau distillée .....	1000ml

(Pour la production d'AIA : milieu LB + 5g de tryptophane).



#### Milieu Gélose nutritif (GN)

Peptone.....	5g
Extrait de levure .....	2g
Extrait de viande .....	1g
Glucose .....	2g
Chloride de sodium (NaCl).....	5g



Agar.....15g  
Eau distillée .....1000ml

### 3. Milieu pycovaskaya

Glucose.....8g  
Tri calcium phosphate.....4g  
Ammonium de sulfate.....0,4g  
Potacium chloride.....0,16g  
Magnésium de sulfate.....0,08g  
Extrait de levure.....0,4g  
Agar.....16g  
Eau distillée.....1000ml



### 4. Milieu Muller-Hinton

Peptone.....17,5g  
Extrait de viande .....2g  
Amidon .....1,5g  
Eau distillée.....1000ml



### 5. Milieu Rouge-Congo

Saccharose.....50g  
BHIB.....37g  
Rouge congo .....0,8g  
Agar .....12g  
Eau distillée .....1000ml



**6. Milieu TSA :**

TSA.....40g

Eau distillée.....1000ml

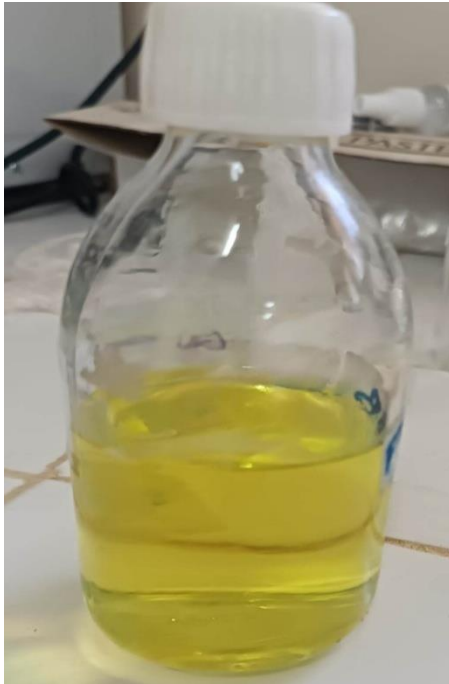
(Pour la production d'HCN : TSA ou TSB à 4,4 g de glycine).

**7. Eau peptonée:**

Peptone.....20g

Eau distillée.....1000ml

**Annexe02 : les réactifs utilisés dans les tests des métabolites impliqués dans la phytostimulation**



**Salkowsky**



**Solution de carbonat de sodium  
et d'acide pycrique**

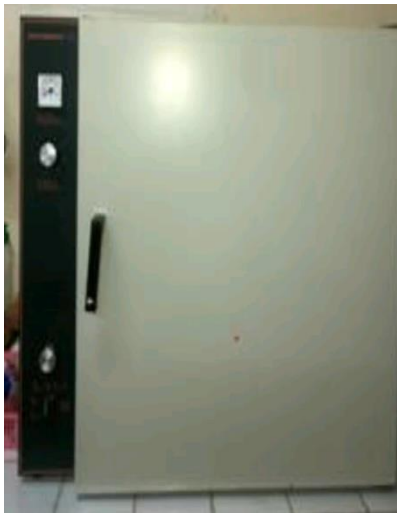


**Eau oxygénée**

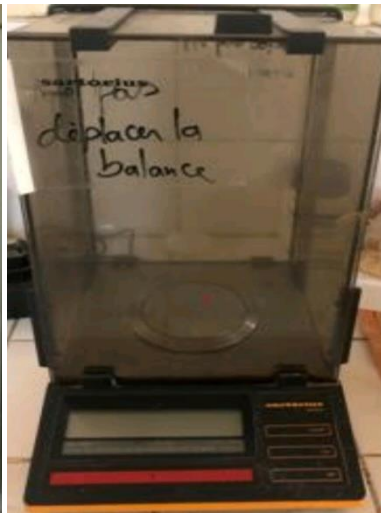


**Nesler**

**Annexe03 : l'appareillage**



**Four**



**Balance**



**Etuve**



**Autoclave**



**Vortex**



**Lampe UV**



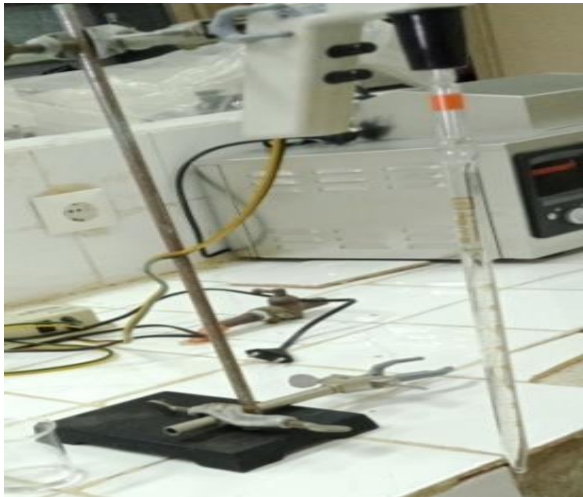
**PH mètre**



**Spectrophotométrie**



**Bec benzen**



**Doseur**



**Centrifugeuse**

**Annexe04: les verreries**



## Annexe 05 : Les tableaux

**Tableau 01 : L'intervalle des antibiotiques :**

	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>
<b>Acide nalidixique</b>	≤13	14-18	≥19
<b>Rifampicine</b>	≤16	17-19	≥20
<b>Spectinomycine</b>	≤14	15-17	≥18

**Tableau 02:** la réaction des différentes souches aux antibiotiques.

Les souches	Acide nalidixique	Rifampicine	Spectinomycine
TB <sub>1</sub>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
TB <sub>3</sub>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
TB <sub>4</sub>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
KT <sub>4</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>I</b>
KT-2(2) <sub>1</sub>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
KF-4(1) <sub>8</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
TF <sub>4</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>I</b>
TF <sub>10-8</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
TR <sub>7</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
TC <sub>1</sub>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
TR <sub>1</sub>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
KT <sub>5</sub>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
KT <sub>1</sub>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
KF <sub>5</sub>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>