

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad Dahleb Blida -1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**



**Département de Biologie**

## **Mémoire de fin d'étude**

**En vue d'obtention du diplôme Master dans le domaine SNV**

**Filière : science biologique**

**Option : Microbiologie**

**Thème**

**Optimisation de la production de l'acide indole -3-  
acétiques par les souches de *Pseudomonas* spp.  
fluorescents.**

**Soutenu le : 08/07/2025**

**Réalisé et présenté par :**

**M<sup>lle</sup> LAKHEDER FATTOUMA MAROUA**

**M<sup>lle</sup> KHEDIM AHLEM AYA**

**Devant le jury :**

<b>M<sup>me</sup> LOUNACI. L</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida -1-</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> FARES. R</b>	<b>MAA</b>	<b>Université Blida -1-</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> AIT SAADI. N</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Blida -1-</b>	<b>Promotrice</b>

**Promotion : 2024-2025**

## ***Remerciements***

*Dans un premier temps, nous remercions le bon Dieu, le Tout-Puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de Master et pour avoir pu réaliser ce mémoire.*

*Nous remercions sincèrement notre promotrice, **M<sup>me</sup> AIT SAADI.N** pour sa disponibilité, ses orientations pertinentes, ainsi que pour la confiance, l'optimisme, la sympathie et le soutien constant qu'elle nous a accordés tout au long de ce travail*

*Nous remercions également les membres du jury, **M<sup>me</sup> LOUNACI.L** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, ainsi que **M<sup>me</sup> FARES.R** pour avoir accepté d'examiner notre travail*

*Nos remerciements vont aussi à l'encontre de **M<sup>me</sup> BENKHLIFA.H**, **M<sup>me</sup> BOUKARA.K**, **M<sup>me</sup> BENOMIER.N** pour leur précieux soutien, leurs encouragements et l'aide qu'ils nous ont apportée tout au long de notre parcours*

*Nous remercions chaleureusement **M<sup>me</sup> TAFFIFAT.L**, **M<sup>me</sup> HAMMANI. A**, **M<sup>me</sup> GHAZAL.S**, **M<sup>me</sup> HAMMANI.C**, **Mr LAIDI .K**, **Mr ZOUMBIA. F**, **Mr DAHLOUK .Z**, **Mr KECHAFI .O**, **Mr KERACH .O**, **SELLEM .M**, **Mr HAMMOUDI** pour leur aide précieuse, leur disponibilité ainsi que pour les conseils qu'ils nous ont généreusement apportés*

*Enfin, nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

C'est avec un immense plaisir et une profonde gratitude que je dédie

ce modeste travail :

### **À mes chers parents**

sources inépuisables de tendresse, de noblesse et d'amour, qui ont tant sacrifié pour ma réussite.

### **À mes chères sœurs**

**Kaouther, Anfel et Rihabe** pour leur amour et leur présence constante.

### **À Monsieur Djawad Mokhtar**

qui m'a inspirée à me lancer dans des études en microbiologie.

### **À mes chers enseignants**

pour leur dévouement et leur accompagnement tout au long de mon parcours.

À toutes les personnes qui m'ont toujours aidée, encouragée et soutenue durant mon parcours universitaire et en particulier à mes chers amis : **Radjaa, Nouhad, Insaf, Lina, Noufel et Aya.**

Merci du fond du cœur.

**MAROUA**

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon très cher papa **Khedim Habib**, Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes Côtés ce jour.

A ma mère **Fatiha**, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect, et ma reconnaissance pour les Sacrifices que tu as consentis pour mon éducation. J'implore dieu le tout puissant de T'accorder bonne santé et longue vie.

Mon frère et mon ami: **Ali Grid** qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout long de mes études

A mes sœurs et mon frère : **Souhila** et **Nadia, Yasmine, Nesrine** et **Mohammed**

A mon binôme : **Maroua** pour sa soutient sa patience tout au long de ce projet

A mes chers Enseignants...

A tous mes chers amis : **Maroua, Rania, Imane, Samah, Nour**

**AYA**

## Résumé

Dans un contexte de transition vers une agriculture plus respectueuse de l'environnement, les bactéries bénéfiques offrent une alternative intéressante aux intrants chimiques. Parmi elles, *Pseudomonas* spp. fluorescents se distinguent par leur capacité à produire divers métabolites secondaires qui stimulent la croissance et renforcent la santé des plantes. Le présent travail a pour objectif de mettre en évidence la production de l'acide indole acétique (AIA), une phytohormone reconnue pour son rôle essentiel dans la croissance racinaire chez dix souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées à partir de la rhizosphère et l'endophytosphère du palmier dattier et à optimiser les paramètres influençant cette biosynthèse. La caractérisation phénotypique (examen macro et microscopique) et biochimique (galeries API 20 E) de ces souches a confirmé leur appartenance à l'espèce de *Pseudomonas fluorescens*. La production d'AIA a été observée chez l'ensemble des souches, avec des taux variable. Les plus fortes concentrations ont été enregistrées chez les souches F27 (10,581 µg/ml), TR7 (10,308 µg/ml) et CF1 (8,907 µg/ml), tandis que la souche TC1 a présenté la plus faible production (0,747 µg/ml). L'optimisation des paramètres de biosynthèse chez les souches les plus performantes (CF1, TR7, F27) a révélé que plusieurs paramètres influencent cette biosynthèse, notamment la température, le temps d'incubation, le pH du milieu, la concentration de tryptophane, ainsi que la nature de source d'azote et de carbone. L'identification de l'AIA par chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence d'un composé avec un  $R_f = 0,88$  dans les extraits des souches F48, TR7 et CF1 identique à celui du standard, confirmant la présence de l'AIA ainsi que d'autres métabolites. Par ailleurs, l'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis de corroborer la présence d'AIA dans l'extrait filtré de la souche F27, sur la base d'un temps de rétention (13,7 min) et de spectres UV (219,6 nm et 278,8 nm) similaires à ceux du standard. Enfin, l'évaluation de l'effet de la bactérisation des graines de tomate (*Saint Pierre*) sur la stimulation de la germination et sur l'indice de vigueur a montré des différences notables entre les quatre traitements testés, en comparaison au témoin. Toutefois, l'analyse statistique (ANOVA) n'a révélé aucune différence significative entre les traitements au seuil de 5%. Ces résultats renforcent l'intérêt d'exploiter les *Pseudomonas fluorescens* dans le développement de solutions biologiques pour une agriculture plus durable.

**Mots clés :** Acide indole-3-acétique (AIA), endophyte, optimisation, PGPB, *Pseudomonas* spp. fluorescents, rhizosphérique.

## Abstract

In the context of the transition to more environmentally friendly agriculture, beneficial bacteria offer an interesting alternative to chemical inputs. Among them, fluorescent *Pseudomonas* spp. stand out for their ability to produce various secondary metabolites that stimulate growth and enhance plant health. The aim of this study is to highlight the production of indole acetic acid (IAA), a phytohormone known for its essential role in root growth, in ten strains of *Pseudomonas* spp. fluorescents isolated from the rhizosphere and endophytosphere of date palms, and to optimize the parameters influencing this biosynthesis. Phenotypic (macroscopic and microscopic examination) and biochemical (API 20 E galleries) characterization of these strains confirmed that they belong to the *Pseudomonas fluorescens* species. IAA production was observed in all strains, with varying rates. The highest concentrations were recorded in strains F27 (10.581  $\mu\text{g/ml}$ ), TR7 (10.308  $\mu\text{g/ml}$ ) and CF1 (8.907  $\mu\text{g/ml}$ ), while strain TC1 showed the lowest production (0.747  $\mu\text{g/ml}$ ). Optimization of the biosynthesis parameters in the most efficient strains (CF1, TR7, F27) revealed that several parameters influence this biosynthesis, including temperature, incubation time, medium pH, tryptophan concentration, and the nature of the nitrogen and carbon sources. Identification of AIA by thin-layer chromatography (TLC) revealed the presence of a compound with an  $R_f = 0.88$  in extracts from strains F48, TR7, and CF1 identical to that of the standard, confirming the presence of AIA and other metabolites. Furthermore, high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis corroborated the presence of AIA in the filtered extract of strain F27, based on a retention time (13.7 min) and UV spectra (219.6 nm and 278.8 nm) similar to those of the standard. Finally, the evaluation of the effect of bacterial inoculation of tomato seeds (Saint Pierre) on germination stimulation and vigor index showed significant differences between the four treatments tested, compared to the control. However, statistical analysis (ANOVA) revealed no significant differences between treatments at the 5% threshold. These results reinforce the interest in exploiting *Pseudomonas fluorescens* in the development of biological solutions for more sustainable agriculture.

**Keywords:** Indole-3-acetic acid (IAA), endophyte, optimization, PGPB, *Pseudomonas* spp. *fluorescens*, rhizosphere.

## ملخص

في سياق الانتقال إلى زراعة أكثر احترامًا للبيئة، توفر البكتيريا المفيدة بديلاً مثيراً للاهتمام للمواد الكيميائية. ومن بقدرتها على إنتاج العديد من المستقلبات الثانوية التي تحفز نمو *Pseudomonas spp. fluorescents* بينها، تتميز ، وهو هرمون نباتي معروف (AIA) النباتات وتعزز صحتها. يهدف هذا العمل إلى إبراز إنتاج حمض الإندول الأسيتيك المعزولة من منطقة الجذور *Pseudomonas spp. fluorescents* بدوره الأساسي في نمو الجذور في عشر سلالات من والبيئة الداخلية لنخيل التمر، وتحسين المعلمات التي تؤثر على هذا التخليق الحيوي. أكدت الخصائص الفينوتوبية (الفحص *Pseudomonas* لهذه السلالات انتمائها إلى نوع (API 20 E) الماكرو والمجهري) والكيميائية الحيوية (مجموعات F27 في جميع السلالات، بمعدلات متفاوتة. وسُجّلت أعلى التركيزات في السلالات AIA لوحظ إنتاج *fluorescens*. (ميكروغرام/مل)، في حين سجلت السلالة CF1 (8,907 ميكروغرام/مل) و TR7 (10,308) (ميكروغرام/مل) (10,581) (CF1 و TR7) أقل إنتاج (0,747 ميكروغرام/مل). أظهر تحسين معلمات التخليق الحيوي في السلالات الأكثر أداءً TC1 أن هناك عدة معلمات تؤثر على هذا التخليق الحيوي، بما في ذلك درجة الحرارة ووقت الحضانة ودرجة (F27 و بواسطة AIA الحموضة في الوسط وتركيز التريتوفان، فضلاً عن طبيعة مصدر النيتروجين والكربون. كشف تحديد TR7 و F48 في مستخلصات السلالات  $R_f = 0,88$  عن وجود مركب بقيمة (CCM) الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة بالإضافة إلى مستقلبات أخرى. علاوة على ذلك، سمح التحليل AIA مطابق للمعيار، مما يؤكد وجود CF1 و ، على أساس F27 في المستخلص المرشح من السلالة AIA بتأكيد وجود (HPLC) بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (نانومتر و 278,8 نانومتر) مماثلة لتلك المعيارية. أخيراً، أظهر تقييم UV (219,6) وقت احتجاز (13,7 دقيقة) وأطياف على تحفيز الإنبات ومؤشر القوة اختلافات ملحوظة بين المعالجات (Saint Pierre) تأثير التلقيح البكتيري لبذور الطماطم عن أي اختلافات ذات دلالة (ANOVA) الأربعة التي تم اختبارها، مقارنةً بالشاهد. ومع ذلك، لم يكشف التحليل الإحصائي في تطوير حلول *Pseudomonas fluorescens* تعزز هذه النتائج أهمية استخدام إحصائية بين المعالجات عند عتبة 5% .-بيولوجية لزراعة أكثر استدامة

، جذري، إندوفيت، تحسين، حمض إندول-3-PGPB، *Pseudomonas spp. fluorescents* : الكلمات المفتاحية (AIA) أسيتيك

## Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction .....2

### Chapitre I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralité sur la rhizosphère et les microorganismes rhizosphériques .....5

I.1.1. Définition de la rhizosphère .....5

I.1.2. Les exsudats racinaires .....6

I.1.3. les microorganismes de la rhizosphère.....6

I.1.3.1. Les PGPB .....6

I.1.4. Rôle des microorganismes de la rhizosphère .....8

II.1. *Pseudomonas* spp. fluorescents bénéfiques.....10

II.1.1. Introduction au genre *Pseudomonas* .....10

II.1.2. Taxonomie .....11

II.1.3. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents .....11

II.1.4. Caractéristiques de *Pseudomonas fluorescens*.....11

II.1.4.1. Caractéristiques structurale et métabolique .....11

II.1.4.2. Caractéristiques génotypique .....	12
II.1.5. Quorum sensing .....	12
II.1.6. Métabolites secondaires .....	12
III.1 L'acide indole-3-acétique (AIA).....	14
III.1.1. Définition .....	14
III.1.2. Structure chimique d'AIA .....	14
III.1.3. Voie de biosynthèse de l'acide indole acétique .....	15
III.1.4. Rôle de l'acide indole-3-acétique (AIA) .....	17
III.1.5. Les facteurs influencent la biosynthèse de l'AIA .....	17
 <b>Chapitre II. Matériel et Méthodes</b>	
II.1. Matériel.....	19
II.1.1. Matériel biologique .....	19
II.1.1.1. Les souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents .....	19
II.1.1.2. les semences de tomate .....	19
II.1.2. Matériels non biologique .....	19
II.2. Méthodes .....	20
II.2.1. purification et revivification des souches.....	20
III.2.2. conservation .....	20
III.2.3. Caractérisation des souches .....	20
III.2.3.1. Examens macro et microscopique .....	20
a. Examen macroscopique .....	20
b. Examen microscopique .....	20

III.2.3.2.Examen physiologique et biochimique des souches.....	22
a. Test de fluorescence .....	22
b. Test d'oxydase .....	22
c. Test du catalase .....	22
d. Identification biochimique .....	23
II.2.4.La mise en évidence de la production de l'acide indole -3- acétique (AIA).....	24
II.2.4.1.Courbe d'étalonnage de l'acide indole acétique (AIA).....	24
II.2.4.2.Production de l'acide indole acétique (AIA) .....	25
II.2.4.3.Optimisation des paramètres de production de l'acide indole acétique (AIA) .....	27
II.2.5.Extraction et purification de l'AIA.....	29
II.2.5.1.Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	30
II.2.5.2.Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) .....	30
II.2.8.Application <i>in vitro</i> .....	31
II.2.8.1.Désinfection des semences .....	32
II.2.8.2.Bactérisation des semences.....	32
II.2.8.3.Taux de germination et Indice de la vigueur .....	33
II.2.8.3.1.Taux de germination .....	33
II.2.8.3.2.Indice de la vigueur .....	33
 <b>Chapitre III. Résultats et Discussion</b>	
III.1. Résultats et interprétation.....	36
III.1.1. résultats de caractérisation des souches.....	36
III.1.1.1.Examen macroscopique des colonies .....	36

III.1.1.2. Examen microscopique des colonies.....	38
III.1.1.3.Examen physiologique et biochimique des colonies.....	39
III.1.2.Production qualitative et quantitative d'Acide Indole Acétique (AIA) .....	42
III.1.3.Optimisation des paramètres de production de l'acide indole acétique (AIA) .....	43
III.1.3.1.Température d'incubation.....	43
III.1.3.2.PH.....	44
III.1.3.3.Temps d'incubation .....	44
III.1.3.4. Concentration de tryptophane .....	45
III.1.3.5.Sources d'azote .....	46
III.1.3.6.Source de carbone .....	46
III.1.4.Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	47
III.1.5.Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) .....	49
III.1.6.application <i>in vitro</i> .....	52
III.1.7.1.Taux de germination .....	52
III.1.7.2.Indice de la vigueur .....	53
III.2.Discussion.....	55
Conclusion .....	67
Les références bibliographiques .....	70

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Un diagramme représentant les trois zones de la rhizosphère.....	5
<b>Figure 02</b> : Vue d'ensemble du mode d'entrée des bactéries endophytes dans différents tissus végétaux .....	6
<b>Figure 03</b> : Représentation schématique des interactions plante -microorganismes et entre les microorganismes eux-mêmes au sein de la rhizosphère .....	8
<b>Figure 04</b> : Mécanismes directs et indirects des microorganismes de la rhizosphère pour soutenir le développement de la plante .....	9
<b>Figure 05</b> :Cartographie phylogénétique des groupes de Pseudomonas .....	10
<b>Figure 06</b> : structure chimique de l'acide indole 3-acétique (AIA) .....	15
<b>Figure 07</b> : Les voies de biosynthèse de l'AIA dépendantes et indépendante du tryptophane .....	16
<b>Figure 08</b> : Purification des souches.....	20
<b>Figure09</b> : Préparation de solutions standards à différentes concentrations avec le réactif de Salkowski.....	25
<b>Figure 10</b> : Préparation des suspensions et des cultures bactériennes.....	26
<b>Figure 11</b> : Mesure de la densité optique à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.....	26
<b>Figure 12</b> : Organigramme qui montre tous les paramètres d'optimisation .....	27
<b>Figure 13</b> : Préparation des cultures bactériennes et dosage colorimétrique.....	28
<b>Figure 14</b> :Mesure de la densité optique à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.....	28
<b>Figure 15</b> : les étapes d'obtention des extraits de l'AIA.....	29
<b>Figure 16</b> : caractérisation de l'extrait par la CCM.....	30
<b>Figure 17</b> : les étapes d'analyse des échantillons par HPLC.....	31

<b>Figure 18:</b> Inoculation des semences dans une suspension bactérienne contenant de la carboxyméthylcellulose (CMC).....	32
<b>Figure 19:</b> La répartition des graines dans une boîte de Pétri en verre.....	32
<b>Figure 20:</b> La couverture de boîte de Pétri en verre par papier aluminium.....	32
<b>Figure 21:</b> Mensuration de la longueur des plantules.....	34
<b>Figure 22:</b> croissance des colonies après repiquages successifs des souches bactériennes.....	36
<b>Figure 23:</b> observation des isolats sous lampe UV (350nm) .....	38
<b>Figure 24:</b> Observation des souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> après coloration de Gram, au microscope photonique (G×100).....	39
<b>Figure 25 :</b> Formation d'un filament mucoïde confirmant le Gram négatif par le test de KOH.....	39
<b>Figure 26:</b> Résultats du test d'oxydase.....	40
<b>Figure 27:</b> Résultats du test catalase .....	40
<b>Figure 28:</b> Coloration des souches après l'addition du réactif de Salkowski.....	43
<b>Figure 29:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction de la température d'incubation.....	43
<b>Figure 30:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du PH de milieu.....	44
<b>Figure31:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du temps d'incubation.....	45
<b>Figure32:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du Concentration de tryptophane.....	45
<b>Figure33:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction de la source d'azote.....	46

<b>Figure34:</b> Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction de la source de carbone.....	47
<b>Figure35:</b> Profil chromatographique par CCM des composés extraits des souches F27, CF1 et TR7, après pulvérisation au réactif de Salkowski et observation sous UV à 366 nm.....	48
<b>Figure36:</b> Profil d'HPLC de blanc .....	49
<b>Figure37 :</b> Profil d'HPLC de l'AIA standard.....	50
<b>Figure38:</b> Profil HPLC après injection de l'extrait filtré de la souche F27.....	50
<b>Figure 39 :</b> Spectre d'absorbance UV aux longueurs d'onde de 220nm et 280 nm de l'AIA standard.....	51
<b>Figure40 :</b> Spectre d'absorbance UV aux longueurs d'onde de 220nm et 280 nm de l'extrait filtré de la souche F27.....	51
<b>Figure 41:</b> Effet des différents traitements (T1 à T4) sur le taux de germination des graines.....	52
<b>Figure42:</b> Longueurs de la plantule (longueur moyenne des racines + longueur moyenne des pousses).....	54

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Les métabolites secondaires impliqués dans la protection contre les agents pathogènes et la stimulation de la croissance des végétaux.....	13
<b>Tableau 02 :</b> Les 10 souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents utilisées au cœur de ce travail.....	19
<b>Tableau 03:</b> les volumes nécessaires pour prépare des solutions étalons d'AIA à partir de la solution mère a 100 µg/mL.....	25
<b>Tableau 04 :</b> quelques caractéristiques macroscopiques des souches <i>Pseudomonas fluorescens</i> isolées.....	36
<b>Tableau 05 :</b> quelques caractéristiques d'identification des souches <i>Pseudomonas fluorescens</i> isolées.....	40
<b>Tableau 06 :</b> Identification biochimique des souches <i>Pseudomonas fluorescens</i> isolées par la Galerie API 20E .....	40
<b>Tableau 07:</b> Production qualitative et quantitative d'Acide Indole Acétique (AIA).....	42
<b>Tableau 08:</b> effet des différents traitements (T1 à T4) sur l'indice de vigueur des graines .....	53

## Liste des abbreviations

**PGPR:** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

**PGPB:** Plant Growth-Promoting Bacteria

**AIA:** L'acide indole-3-acétique AIA

**CCM :** Chromatographie sur couche mince

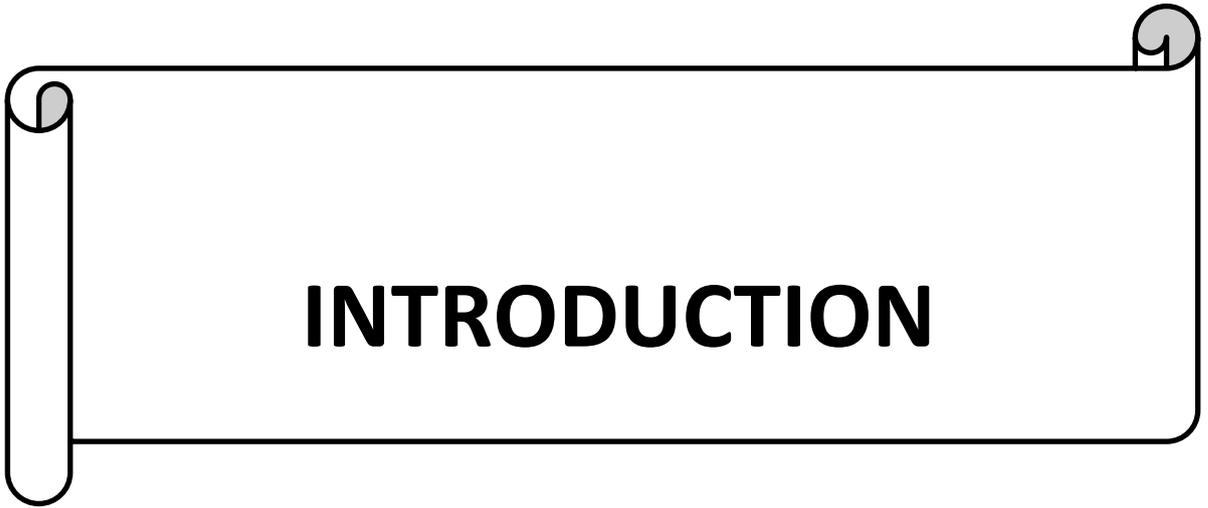
**HPLC :** Chromatographie liquide haute performance

***P :*** *Pseudomonas*

**Trp :** Tryptophane

**T :** Traitement

**RF :** Rapport frontal



# INTRODUCTION

Les intrants chimiques, tels que les engrais synthétiques et les pesticides, sont largement utilisés en agriculture pour améliorer les rendements et lutter contre les agents pathogènes. Toutefois, leur usage intensif entraîne de multiples conséquences néfastes, non seulement pour la santé humaine, mais aussi pour l'environnement. Ils altèrent la qualité des sols, perturbent les écosystèmes, réduisent la biodiversité et contaminent les ressources en eau (**Rani et al., 2021**). Face à ces préoccupations croissantes, l'agriculture moderne s'oriente vers des alternatives plus durables, respectueuses de l'environnement et de la santé humaine, notamment les solutions biologiques. Parmi elles figurent les bactéries bénéfiques de la rhizosphère, telles que les *Pseudomonas* spp. fluorescents, qui favorisent la croissance des plantes et offrent une protection contre certains pathogènes, réduisant ainsi le recours aux intrants chimiques (**Charma et al., 2019; Alattas et al., 2024**)

La rhizosphère est la zone du sol riche en nutriments qui entoure les racines des plantes. Elle se caractérise par une activité et une diversité microbiennes intenses, ce qui en fait l'un des écosystèmes les plus complexes de la planète (**Sasse et al., 2018 ; Goswami et Deka, 2022** ).

Au sein des microorganismes qui colonisent la rhizosphère, les bactéries sont les plus abondantes en raison de leur présence généralisée et de leur influence profonde sur la santé des plantes et les écosystèmes du sol (**Liu et al., 2024**). Parmi ces bactéries, on distingue les bactéries promotrices de croissance des plantes, regroupées en PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents font partie des microorganismes de la rhizosphère à oxydase positive, incluant diverses espèces, principalement *Pseudomonas fluorescens*, qui représentent une partie importante du genre *Pseudomonas* dans la rhizosphère (**Santoyo et al., 2021** ). Ces bactéries peuvent adopter deux modes de vie distincts : rhizosphérique, lorsqu'elles colonisent la surface des racines ou la zone proche du sol, et endophytique, lorsqu'elles pénètrent et vivent à l'intérieur des tissus végétaux sans provoquer de maladie.

Elles sont connues pour leur capacité à produire divers métabolites secondaires impliquées dans la protection et la stimulation de la croissance des végétaux. Parmi ces métabolites figure l'acide indole-3-acétique (AIA), une phytohormone appartenant à la famille des auxines qui joue un rôle crucial dans la stimulation de la croissance des végétaux

en intervenant dans divers processus physiologiques (Harbawi et al., 2023 ; Vasanthabharathi et al., 2025).

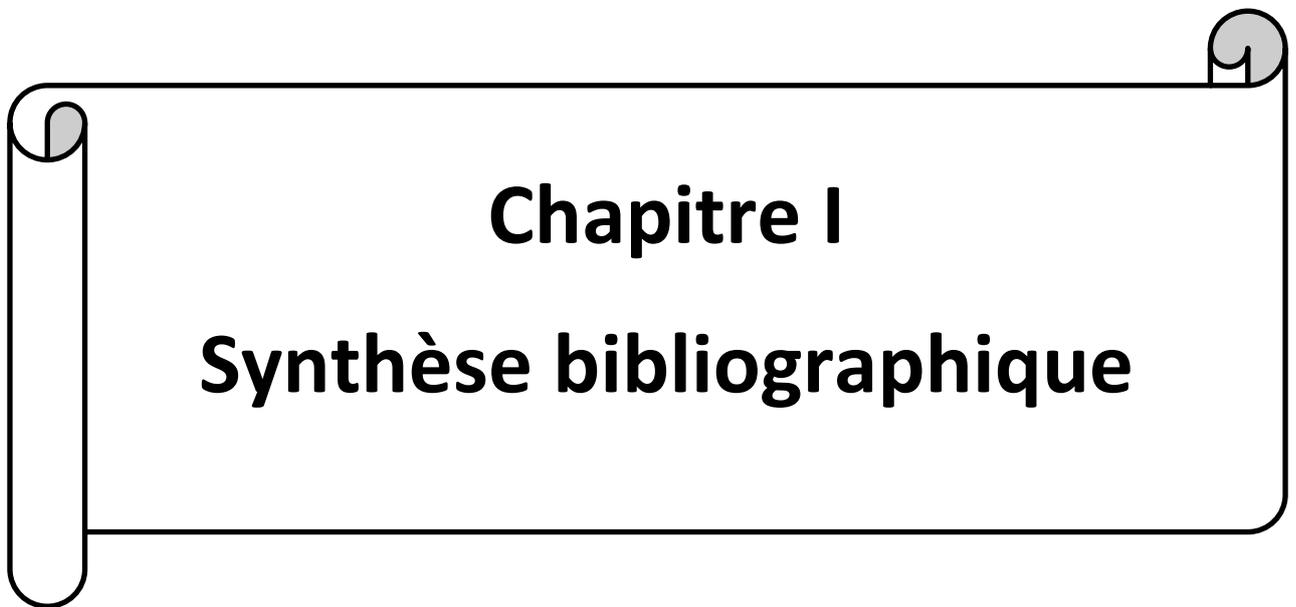
La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) *in vitro* par les souches rhizosphériques et endophytiques de *Pseudomonas fluorescens* est influencée par plusieurs paramètres. Elle dépend notamment du choix du milieu de culture, de son pH, de la nature et de la concentration des sources de carbone et d'azote, ainsi que de la présence ou non de précurseurs (L-tryptophane) à différentes concentrations. Les conditions d'incubation, telles que la durée et la température, jouent également un rôle déterminant dans cette production (Ng et al., 2022 ; Pérez Cordero et al., 2024)

L'optimisation de ces paramètres permet de déterminer les conditions optimales de biosynthèse de l'AIA, en vue d'augmenter son taux de production et, par conséquent, de renforcer l'effet promoteur de croissance des souches de *Pseudomonas fluorescens*, en tant que biofertilisants (Vasanthabharathi et al., 2025).

Dans ce sens, notre travail se propose sur la production et l'optimisation des paramètres de production de l'acide indole -3-acétique (AIA) par les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

Les objectifs tracés pour la réalisation de ce présent travail sont :

- ✓ Caractérisation des souches préalablement isolées à partir de sol de palmier dattier et la sélection des souches productrices de l'AIA.
- ✓ Optimisation des paramètres de production de l'AIA par les souches de *Pseudomonas fluorescens* sélectionnées.
- ✓ Extraction de l'acide indole acétique (AIA) produit par les souches de *Pseudomonas fluorescens* et sa caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) ainsi que par chromatographie liquide haute performance (HPLC).
- ✓ Evaluation de l'effet phytostimulateur des souches sélectionnées *in vitro* sur les semences de tomate.



# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

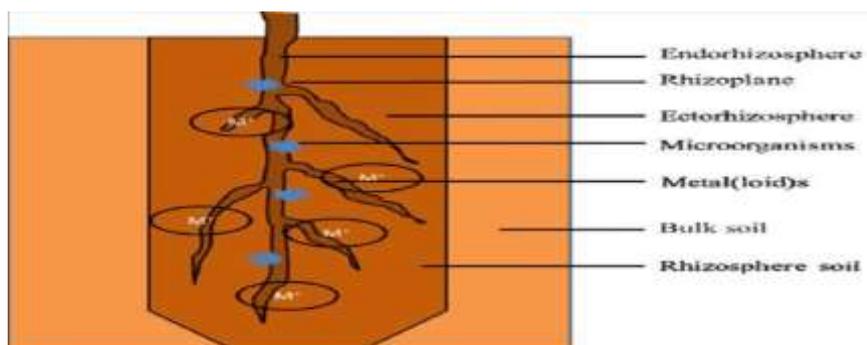
## I.1. Généralité sur la rhizosphère et les microorganismes rhizosphériques

### I.1.1. Définition de la rhizosphère

Le terme « rhizosphère » provient du grec *rhíza* (ρίζα), signifiant racine, et *sphaira* (σφαῖρα), signifiant sphère ou zone. Il a été défini par Lorenz Hiltner en 1904 pour désigner la zone du sol entourant les racines des plantes, au sein de laquelle se déroulent la plupart des réactions du sol, qui sont influencées chimiquement, physiquement et biologiquement par les racines des plantes (Philippot *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2022; Wang et Yang, 2024).

La rhizosphère mesure environ 1 à 2 mm de large et n'a pas de limites distinctes (Sasse *et al.*, 2018 ; Barra Caracciolo et Terenzi, 2021; Kabato et Janda, 2023). Elle se compose de trois régions différentes : l'endorhizosphère, qui englobe les tissus des racines, le rhizoplane, qui est la surface bidimensionnelle des racines, et l'ectorhizosphère, qui représente le sol adjacent (Figure 01) (Morgan *et al.*, 2005 ;Hakeem et Akhtar ,2016 ; Khoso *et al.*, 2024; Sun *et al.*, 2024) .

Cependant, le terme endorhizosphère a été écarté car sur le plan sémantique, il pourrait déterminer une zone de la niche écologique et pas exactement une niche à l'intérieur de la plante. Actuellement la rhizosphère et le rhizoplane sont utilisés pour désigner les niches externes aux racines et il existe une divergence de termes pour définir la niche interne (Raaijmakers *et al.*, 2016) .



**Figure 01** : Un diagramme représentant les trois zones de la rhizosphère (Seshadri *et al.* , 2015).

La rhizosphère du sol se caractérise par deux propriétés dynamiques fondamentales qui sont les exsudats racinaires et les microorganismes du sol (Lemanceau *et al.*, 2017 ;Oppenheimer-Shaanan *et al.*, 2022).

### I.1.2. Les exsudats racinaires

Les exsudats racinaires, également appelés rhizodépôts, sont des composés organiques de faible poids moléculaire sécrétés par les racines. Leur nature est variée, incluant des amides, des sucres, ainsi que des acides phénoliques, aromatiques et aminés. Ils comprennent aussi la libération d'ions, d'oxygène, d'eau et des facteurs de croissance (**Upadhyay et al., 2022**).

Leur quantité est susceptible de varier en fonction des conditions biotiques et abiotiques de l'environnement, du stade de développement de la plante, de son état physiologique (âge, plante saine ou malade), de la proximité des espèces voisines ainsi que de l'état physiologique des micro-organismes (**Sharma et al., 2023 ; Sun et al., 2024**).

### I.1.3. Les microorganismes de la rhizosphère

Les micro-organismes du sol colonisent principalement la coiffe racinaire, l'épiderme et le cortex des racines. Bien que de nombreuses communautés microbiennes coexistent dans la zone rhizosphérique, les bactéries y sont les plus abondantes. Parmi elles, on distingue les bactéries promotrices de croissance des plantes, regroupées en PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) (**Compant et al., 2010 ; Backer et al., 2018 ; Chauhan et al., 2023**).

#### I.1.3.1. Les PGPB

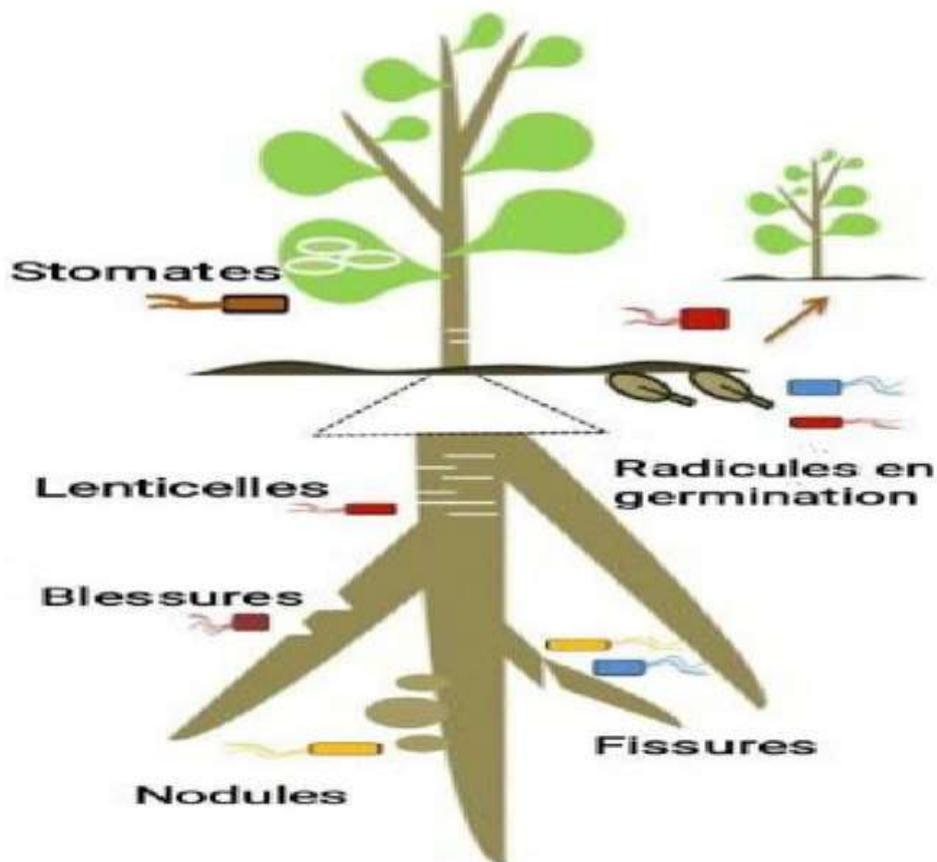
Les PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) représentent une catégorie spécifique de micro-organismes bénéfiques, impliqués dans des interactions positives entre eux et avec les plantes, afin de favoriser la croissance de ces dernières (**Fanai et al., 2024**).

Les PGPB se caractérisent par trois particularités primordiales: (i) elles doivent être capables de coloniser la surface des racines, (ii) elles doivent survivre, se multiplier et entrer en compétition avec d'autres microbiotes, au moins pendant le temps nécessaire pour exprimer leurs activités, et (iii) elles doivent favoriser la croissance des plantes (**Kloepper et al., 1980 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009; Mahdi et al., 2022**).

Sur la base de leurs interactions avec les plantes, les PGPB peuvent être répartis en deux catégories: les PGPB rhizosphériques et les PGPB endophytiques (**Compant et al., 2019**). Les microbes rhizosphériques sont présents à l'extérieur des cellules végétales et colonisent la zone racinaire (**Afzal et al., 2019**). En revanche, les bactéries endophytiques sont des micro-organismes qui colonisent les tissus internes des plantes, au moins une fois au

cours de leur cycle de vie (Djaya et al., 2019). Diverses genres de bactéries endophytes notamment *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium* et *Halomonas* (Adeleke et Babalola, 2022; Hnini et Aurag, 2024), colonisent différentes parties des plantes telles que les feuilles, les tiges, les racines et les fleurs (Santoyo et al., 2016). Ces bactéries sont également capables de communiquer et d'interagir avec la plante de manière plus efficace que les bactéries rhizosphériques (Ali et al., 2012 ; Kandel et al., 2017).

À l'exception des endophytes déjà établis, ces bactéries utilisent différents mécanismes pour pénétrer dans les tissus végétaux en particulier au niveau des racines (Truyens et al., 2014). Le mode d'entrée le plus courant des bactéries endophytes dans les tissus végétaux se fait par les fissures des racines primaires et latérales, ainsi que par diverses lésions tissulaires résultant de la croissance des plantes (Sørensen et Sessitsch, 2015 ; Santoyo et al., 2016). Par ailleurs, il existe d'autres sites de pénétration notamment les stomates des feuilles et des jeunes tiges, les lenticelles ainsi que les radicules germinatives (Santoyo et al., 2016 ; Kandel et al., 2017) (Figure02).

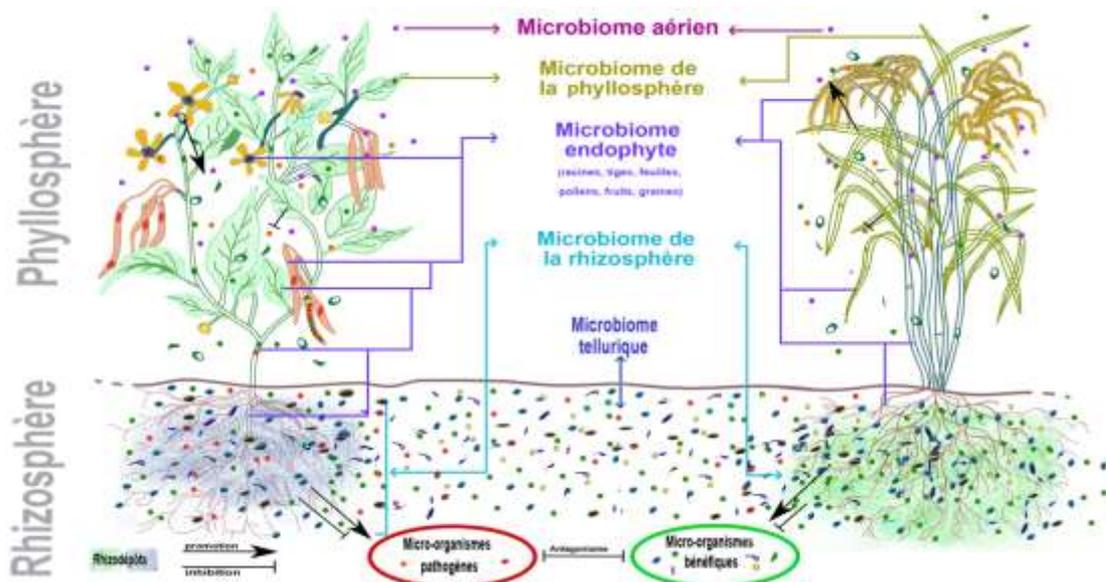


**Figure02** : Vue d'ensemble du mode d'entrée des bactéries endophytes dans différents tissus végétaux (Santoyo et al., 2016).

### I.1.4. Rôle des microorganismes de la rhizosphère

Les plantes sélectionnent préférentiellement les bactéries bénéfiques à leur croissance en libérant par leurs exsudats racinaires divers composés (Sasse *et al.*, 2018 ; Vives-Peris *et al.*, 2020). Ce processus crée un environnement où la diversité microbienne tend à diminuer, car seules les bactéries capables d'utiliser ces composés se développent efficacement (Das *et al.*, 2013 ; Sasse *et al.*, 2018 ).

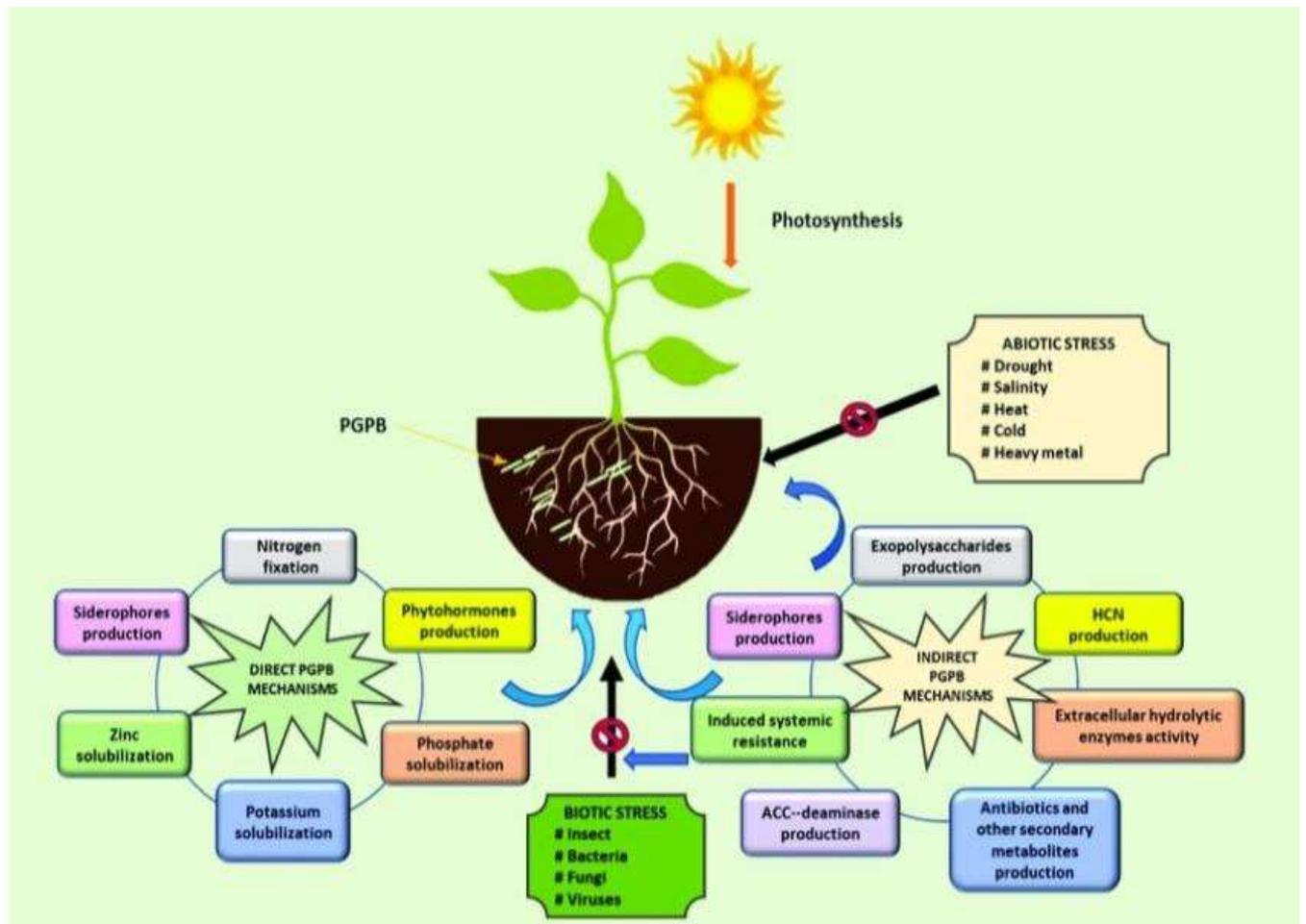
De nombreuses interactions microbiennes améliorent le contrôle biologique dans la rhizosphère (Pieterse *et al.*, 2014). (Figure03) : les interactions positives (le commensalisme, la synergie et le mutualisme), les interactions négatives (la compétition et l'amensalisme) ou encore des interactions qui sont positives pour une population et négatives pour l'autre (le parasitisme ou la prédation) (Jeyanthi *et Kanimozhi*, 2018).



**Figure 03** : Représentation schématique des interactions plante -microorganismes et entre les microorganismes eux-mêmes au sein de la rhizosphère (LEPINAY, 2013).

De plus, Les microorganismes de la rhizosphère agissent sur la croissance de la plante par divers mécanismes, notamment des mécanismes directs et indirects (Jeyanthi *et Kanimozhi*, 2018 ;Ajijah *et al.*, 2023) (Figure 04) en mettant à sa disposition des molécules organiques absorbables par la racine telles que des acides aminés, des auxines, des vitamines

et des antibiotiques, ou en améliorant sa nutrition minérale par la solubilisation ou la minéralisation d'éléments.



**Figure04** : mécanismes directs et indirects des microorganismes de la rhizosphère pour soutenir le développement de la plante (Ajjah et al., 2023)

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents font partie des microorganismes de la rhizosphère à oxydase positif, incluant diverses espèces principalement *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens* qui représentent une partie importante du genre *Pseudomonas* dans la rhizosphère (Haas et Défago, 2005 ; Santoyo et al., 2021).

## II.1. *Pseudomonas* spp. fluorescents bénéfiques

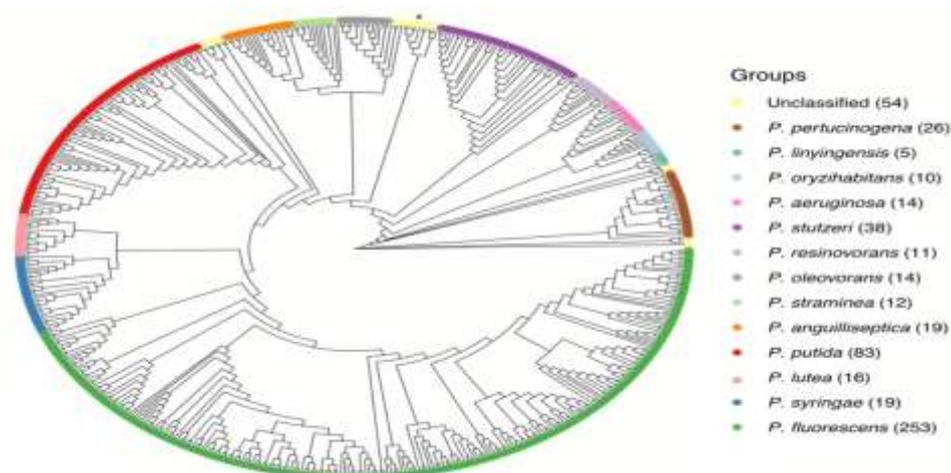
### II.1.1. Introduction au genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* (du grec : pseudes, « faux » et mona, « unité ») a été décrit la première fois par Migula en 1894 sur la base des critères morphologiques, incluant une morphologie bacillaire, une coloration Gram négatif et une motilité assurée par des flagelles polaires (Migula, 1900).

Ce genre est l'un des genres bactériens les plus omniprésents au monde, il est largement répandu dans divers environnements, notamment le sol, l'eau, les surfaces végétales (Bloomfield et al., 2024). Il contient 741 espèces répertoriées et valablement décrites sur le site <https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudomonas>.

Des études sur l'homologie des acides nucléiques spécifiquement sur les séquences de l'ARN ribosomique 16S, ont permis de regrouper les espèces du genre *Pseudomonas* en cinq groupes phylogénétiques : *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri* et *P. syringae*. Ces groupes comprennent à la fois des espèces fluorescentes (comme *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *P. syringae*) et non fluorescentes (comme *P. stutzeri*, *P. alcaligenes* et *P. pseudoalcaligenes*) (Khan et al., 2022 ; Udaondo et al., 2024)(Figure05).

Grâce à leurs propriétés biochimiques et leur implication en santé humaine, en agriculture et en biotechnologie, les *Pseudomonas* sont devenus un sujet d'étude majeur en microbiologie.



**Figure 05:** Cartographie phylogénétique des groupes de *Pseudomonas* (Passarelli-Araujo et al., 2022).

### II.1.2. Taxonomie

Selon la Genome Taxonomy Database (GTDB), version R226 (2023), accessible à l'adresse <https://gtdb.ecogenomic.org>, le genre *Pseudomonas* est classé comme suit :

- ✓ **Phylum** : Proteobacteria
- ✓ **Classe** : Gammaproteobacteria
- ✓ **Ordre** : Pseudomonadales
- ✓ **Famille** : Pseudomonadaceae
- ✓ **Genre** : *Pseudomonas* (*sensu stricto*).

### II.1.3. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents

Dans le groupe *Pseudomonas sensu stricto*, les *Pseudomonas* fluorescentes regroupent toutes les espèces capables de synthétiser la pyoverdine fluorescente, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *P. syringae*, *P. putida* et *P. fluorescens* (Ringel et Brüser ,2018). Ces bactéries se distinguent par un rapport de bases azotées (C+G) compris entre 58 et 70 % et un génome de taille comprise entre 6 et 7 Mpb (Elsevier et al., 2024).

La différenciation entre les espèces *P. fluorescens* et *P. putida*, ainsi que les groupes intermédiaires est basée sur la détection de deux fonctions métaboliques : la protéolyse et l'exploitation du tréhalose. Ces deux fonctions sont présentes chez *P. fluorescens* mais absentes chez *P. putida*, tandis que dans les groupes intermédiaires, seule l'une des deux est exprimée (Mulet et al., 2010 ;Gomila et al., 2017 ).

### II.1.4. Caractéristiques de *Pseudomonas fluorescens*

#### II.1.4.1. Caractéristiques structurale et métabolique

*Pseudomonas fluorescens* est une bactérie bacille à Gram négatif, de forme simple, droite ou légèrement incurvée, mais non spiralée. Sa taille varie généralement entre 0,5 et 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5 µm de longueur. C'est une bactérie non sporulante. Elle se multiplie dans un milieu riche en éléments organiques à PH neutre et sa température optimale de croissance varie entre 25 à 30 °C. Cependant dans certains cas, elle peut se développer à une température aussi basse que 4°C, mais jamais dans des conditions acides à un pH inférieur à 4,5 (Scales et al., 2014 ;Santos et Cenci ,2017; Ahli et al.,2022).

Elle est chimio-organotrophe strictement aérobie, caractérisée par un métabolisme respiratoire non fermentatif qui nécessite à la fois de l'oxygène et une source de carbone organique pour sa croissance (Madigan et al., 2021). Par ailleurs, *P. fluorescens* réagit positivement à plusieurs tests biochimiques, notamment l'hydrolyse de l'amidon, la liquéfaction de la gélatine, les tests de la catalase et de l'oxydase, la formation de levain à partir de saccharose et l'utilisation du citrate (Sravani et Patil, 2023).

#### II.1.4.2. Caractéristiques génotypique

*Pseudomonas fluorescens* se caractérise par une hétérogénéité marquée, aussi bien phénotypique que génotypique, ce qui justifie les révisions taxonomiques successives au sein de ce complexe d'espèces (Garrido-Sanz et al., 2016). *P. fluorescens* est subdivisée en cinq sous-groupes ou biovars : I, II, III, IV et V sur la base de critères génétiques et physiologiques (Scales et al., 2014 ; CABI Compendium, 2022).

#### II.1.5. Quorum sensing

*Pseudomonas fluorescens* utilise un système de quorum sensing basé sur des acyl homosérine lactone (AHL), qui régule des fonctions clés telles que la formation de biofilms, le biocontrôle, la compétition bactérienne dans la rhizosphère, la production d'antibiotiques et de métabolites secondaires (Venturi, 2006; Li et al., 2023).

#### II.1.6. Métabolites secondaires

*Pseudomonas fluorescens* est connue pour sa capacité à produire différents métabolites secondaires, notamment des sidérophores, des antibiotiques (tels que le diacéthylyphloroglucinol (DAPG), les phenazines, les pyrrolnitrine (PRN), la pyolutéorine (PLT) et le cyanure d'hydrogène (HCN)), des enzymes hydrolytiques (comme la chitinase, la  $\beta$ -1,3-glucanase, les protéases, les lipases) et des phytohormones (les cytokinines, les gibbérellines, l'éthylène). Ces composés jouent un rôle clé dans la colonisation de la rhizosphère et permettent à la fois la protection des plantes contre les pathogènes et la stimulation de leur croissance (tableau 01) (Santoyo et al., 2021 ; Mehmood et al., 2023 ; Wang et Yang, 2024).

**Tableau 01** : Les métabolites secondaires impliqués dans la protection contre les agents Pathogènes et la stimulation de la croissance des végétaux

Métabolites secondaire	Rôle	Références
Le diacéthylephloroglucinol (DAPG)	Protection contre les agents pathogènes	(Mehmood <i>et al.</i> , 2023 ; Wang et Yang, 2024).
Les phenazines	Protection contre les agents pathogènes	( Yan <i>et al.</i> , 2023)
Les pyrrolnitrine (PRN)	Protection contre les agents pathogènes	(Sokolowski <i>et al.</i> , 2024).
La pyolutéorine (PLT)	Protection contre les agents pathogènes	(Li, 2025)
Le cyanure d'hydrogène (HCN)	Protection contre les agents pathogènes	(Rijavec et Lapanje, 2016).
La chitinase	Protection contre les agents pathogènes	(Pusztahelyi <i>et al.</i> , 2015).
$\beta$ -1,3-glucanase	Protection contre les agents pathogènes	(Mehmood <i>et al.</i> , 2023).
Protéase	Protection contre les agents pathogènes	(Ali <i>et al.</i> , 2022)
Lipases	Protection contre les agents pathogènes	(Bandi <i>et al.</i> , 2023)
Sidérophores	Protection contre les agents pathogènes et stimulation de la croissance des végétaux	(Ahmed et Holmström, 2014 ; Verbon et Liberman, 2016 ).
Les cytokinines	Stimulation de la croissance des végétaux	(Mengistu <i>et al.</i> ,2022)
Les gibbérellines	Stimulation de la croissance des végétaux	(Kumar <i>et al.</i> , 2023)
L'éthylène	Stimulation de la croissance des végétaux	(Iqbal <i>et al.</i> , 2021 )
L'acide indole-acétique(AIA)	Stimulation de la croissance des végétaux	(Pérez Cordero <i>et al.</i> , 2023)

Parmi les métabolites secondaires impliqués dans la stimulation de la croissance végétale, on retrouve une phytohormone essentielle : l'acide indole-3-acétique (AIA), qui joue un rôle clé dans le développement des plantes (Pérez Cordero *et al.*, 2023)

### III.1. L'acide indole-3-acétique (AIA)

#### III.1.1. Définition

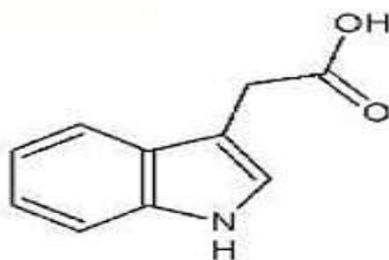
L'auxine est la première phytohormone identifiée, et elle demeure l'une des plus étudiées en raison de son influence et de son rôle fondamental et indispensable dans le développement des plantes (Gomes et Scortecci, 2021). En outre, le terme auxine a été étendu à un ensemble de composés naturels présentant des propriétés analogues ainsi qu'à des hormones de synthèse aux effets comparables (Kochar et al., 2011).

Parmi les diverses auxines biologiquement actives, la littérature scientifique se concentre principalement sur l'AIA, de sorte que les termes AIA et auxine sont souvent utilisés de manière interchangeable (Spaepen et al., 2007). Néanmoins, il existe d'autres composés qui présentent une activité semblable à celle de l'auxine, tels que l'indole-3-pyruvate, l'indole-3-acétamide et l'indole-3-acétaldéhyde. Par ailleurs, certaines formes d'auxine sont biologiquement inactives, comme l'acide 4-chloroindole-3-acétique ou diverses formes conjuguées à des alcools, des acides aminés, des sucres ou des glycoprotéines (Korasick et al., 2013).

L'AIA est généralement produit sous forme de métabolite secondaire par les PGPR, notamment *Pseudomonas fluorescens* (Rajkumar et al., 2008). Ces bactéries utilisent les substrats riches présents dans les exsudats racinaires pour synthétiser et libérer l'AIA dans la rhizosphère, où il favorise le développement des plantes (Khan et al., 2009).

#### III.1.2. Structure chimique d'AIA

L'acide indole-3-acétique est un acide faible avec un pKa compris entre 4,75 et 4,85. En solution à pH neutre, l'AIA se présente sous sa forme dissociée anionique (Ljung, 2013 ; Fu et al., 2015 ; Zhang et al., 2021). Il est formé d'un noyau indole relié à une courte chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle (Normanly, 2010 ; Giri et al., 2020) (Figure06). C'est la seule phytohormone pour laquelle un transport polarisé actif a été clairement démontré, impliquant des transporteurs spécifiques tels que les protéines PIN et AUX/LAX (Zazimalová et al., 2010).



**Figure 06:** structure chimique de l'acide indole 3-acétique (AIA) (simon, 2020)

### III.1.3. Voie de biosynthèse de l'acide indole acétique

Le tryptophane est le principal précurseur de la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) chez les bactéries promotrices de croissance des plantes (PGPB), telles que *Pseudomonas fluorescens* (Monteiro et al., 1988 ; Oberhänsli et al., 1991 ; Tang et al., 2023). Ce composé est généralement acquis par les bactéries à partir des exsudats racinaires, riches en substances hydrosolubles comme les acides aminés, les sucres et les acides organiques.

Selon Tang et al. (2023), la biosynthèse de l'AIA implique cinq voies dépendantes du tryptophane (figure07) :

**1 – La voie de l'indole-3-acétamide (IAM) :** chez les PGPB, l'AIA serait synthétisée via la voie constitutive IAM, non encore observée chez les plantes. Dans cette voie, le L-Trp est converti en AIA en deux étapes, la première catalyse la décarboxylation oxydative du Trp par la Trp-2-monooxygénase (TMO) pour former l'IAM. Cette dernière est ensuite hydrolysée en AIA par l'IAM-hydrolase (IAH) (Tang et al., 2023).

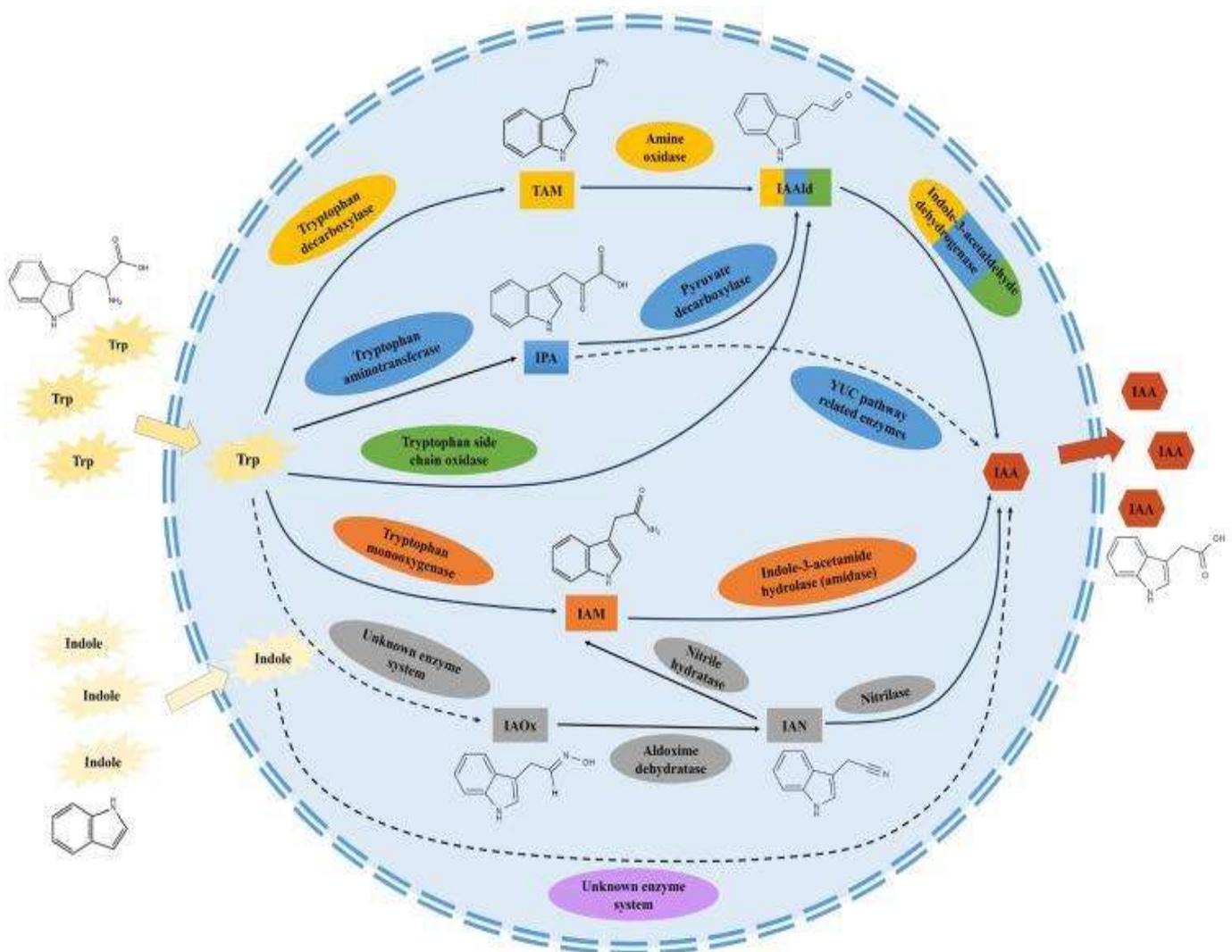
**2– La voie de l'acide indole-3-pyruvique (IPyA) :** dans cette voie, le tryptophane est d'abord converti en IPA par les aminotransférases, puis en indole-3-acétaldéhyde (IAAld/IAD) sous l'action du pyruvate décarboxylase (IPDC). Enfin, l'IAAld est converti en IAA sous l'action des aldéhydes déshydrogénases (Spaepen et Vanderleyden ,2011).

**3 – La voie de la tryptamine (TAM) :** le tryptophane est d'abord converti en tryptamine par le tryptophane décarboxylase, ensuite la tryptamine est à nouveau convertie en indole-3-acétaldéhyde par l'amine oxydase. Enfin, l'IAAld est convertie en AIA par l'aldéhyde déshydrogénase (Tang et al., 2023).

**4–La voie de l'indole-3-acétonitrile (IAN) :** elle est largement étudiée à l'aide des enzymes nommées AIA-nitrilases qui catalysent la conversion de L'IAN en AIA, ce qui indique la conversion de L'IAN en AIA via L'IAM (**Bartling et al., 1992**).

**5 – La voie de l'oxydase de la chaîne latérale du tryptophane (TSO) :** cette voie n'a été observée que chez *Pseudomonas fluorescens* et elle implique deux enzymes clés, la TSO et le tryptophane transaminase. D'abord le tryptophane est directement converti en IAAld par l'oxydase de la chaîne latérale, ensuite l'IAAld est converti en IAA par l'indole-3-acétaldéhyde déshydrogénase (**Tang et al., 2023**).

Une voie indépendante du tryptophane qui a besoin de la présence d'indole-3-glycérol phosphate ou l'indole comme principaux précurseurs (**Spaepen et al., 2007**) (**Figure07**).



**Figure07 :** les voies de biosynthèse de l'IAA dépendantes et indépendantes du tryptophane (**Tang et al., 2023**)

### III.1.4. Rôle de l'acide indole-3-acétique (AIA)

L'acide indole-3-acétique (AIA) est l'auxine naturelle la plus courante dans le monde végétal. Il influence divers processus physiologiques des plantes en stimulant leur croissance et en modifiant l'équilibre hormonal (Nutaratat *et al.*, 2016 ; Bishnu *et al.*, 2021).

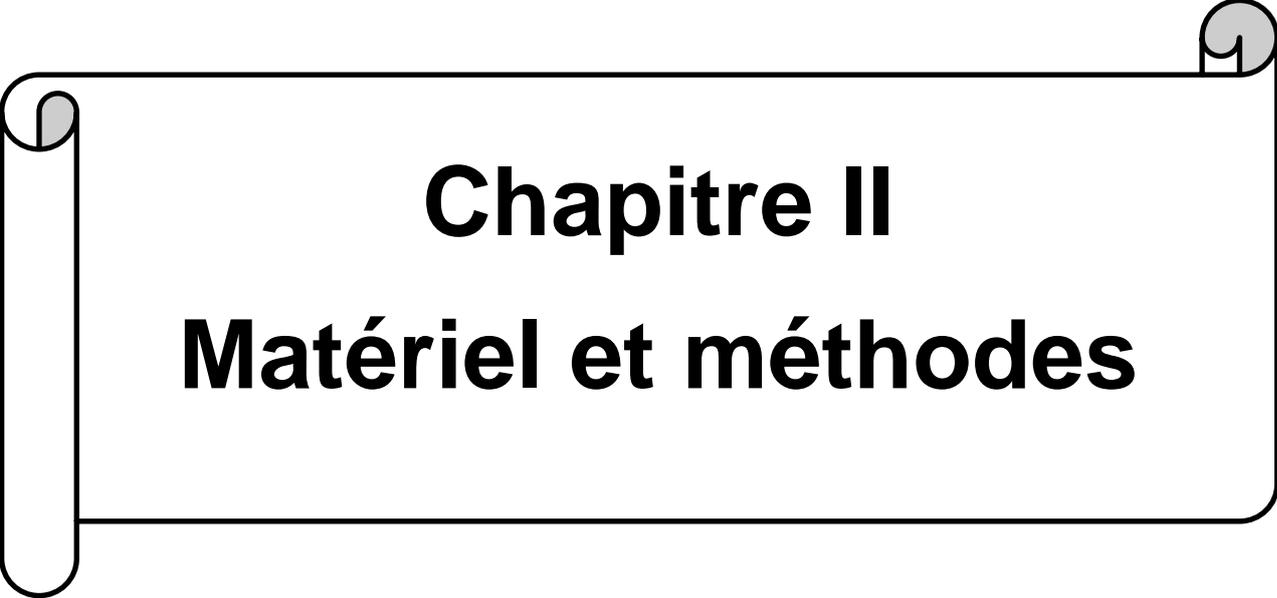
L'AIA favorise un large éventail de caractéristiques de croissance des plantes, notamment la croissance des racines et des pousses, l'expansion cellulaire, la colonisation bactérienne des racines, la différenciation des tissus vasculaires, la défense contre les pathogènes, la stimulation de la division cellulaire, le relâchement des parois cellulaires des racines et l'absorption des minéraux et des nutriments du sol par la plante. En outre, l'AIA augmente le taux de développement du xylème, contrôle les processus de croissance végétative, initie la formation latérale et l'adventice de la racine, affecte la photosynthèse, la production des pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance aux conditions stressantes (Duca *et al.*, 2018 ; Chandra *et al.*, 2018 ; Alemneh *et al.*, 2021 ; Vega-Celedón *et al.*, 2024; Vasanthabharathi *et al.*, 2025 )

L'effet des auxines dans les plantes dépend de leur concentration et du type de tissu sur lequel elle agit. Une quantité plus élevée d'auxine inhibe l'élongation des racines, tandis qu'une quantité plus faible la favorise (Ahemad et Kibret, 2014).

### III.1.5. Les facteurs influencent la biosynthèse de l'AIA

La biosynthèse d'AIA est influencée par divers facteurs environnementaux, tels qu'un pH acide, la température, la concentration de tryptophane, le stress osmotique de la matrice ou une carence de source de carbone, ainsi que par des facteurs génétiques principalement les gènes impliqués dans la biosynthèse et leur mode d'expression (Ona *et al.*, 2003 ; Spaepen *et al.*, 2007 ; Gopalakrishnan *et al.*, 2015 ; Bouremani *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2024).

La régulation hormonale croisée joue un rôle crucial. L'AIA entre en interaction avec d'autres phytohormones, telles que l'éthylène, les cytokinines ou l'acide abscissique, formant un réseau complexe de signalisations qui module son taux de biosynthèse et son transport (Teale *et al.*, 2006 ; Müller et Sheen, 2008)



# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

Notre travail qui porte sur l'optimisation de la production de l'acide indole -3-acétique (AIA) par quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, a été réalisé au sein du Groupe SAIDAL, au niveau du département de microbiologie et de physicochimie, ainsi qu'à l'institut pasteur et au laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques de l'université Blida 1, durant la période allant du 13 février au 29 mai 2025.

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel biologique

#### II.1.1.1. Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents

Dix souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été utilisées dans notre travail. Ces dernières ont été isolées en Mars 2021 à partir de la rhizosphère et l'endophytosphère du palmier dattier des régions de Kenadsa et Taghit situées respectivement à 22 km et 93 km de la wilaya de Bechar (**tableau 02**). L'identification moléculaire préalable par PCR a permis de confirmer qu'il s'agit de *Pseudomonas fluorescens*

**Tableau 02** : Origine des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents utilisées

Code de la souche	Type	Lieu d'isolement
TBR51	Endophyte	Taghit( Biskra)
CF1	Endophyte	Taghit( Ra El Hmar)
TB1	Endophyte	Tarit( Biskra)
KHE7	Endophyte	Kenadsa (Hmira)
BB10	Rhizosphérique	Tarhit Biskra
F21	Rhizosphérique	Kenadsa (Feggous)
F27	Rhizosphérique	Kenadsa (Feggous)
F48	Rhizosphérique	Kenadsa (Hmira)
TC1	Rhizosphérique	Taghit( Chirka)
TR7	Rhizosphérique	Taghit( Ra El Hmar)

#### II.1.1.2. Les semences de tomate

Les semences de tomate de la variété *Saint Pierre* ont été fournies par l'institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) de Staouéli – Alger.

### II.1.2. Matériels non biologique

Nous avons utilisé comme matériel non biologique ; les milieux de culture, les verreries, les réactifs, les solvants ainsi que les appareillages (**Annexe01**).

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Purification et revivification des souches

La pureté des souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents a été vérifiée sur le milieu King B, après une incubation de 24 h à 30 °C (King et al., 1954), en réalisant plusieurs repiquages successifs jusqu'à l'obtention de souches pures ( Figure 08 ).



Figure 08 : purification des souches (original).

### III.2.2. conservation

Après purification, les isolats sont conservés sur milieux King B additionné de glycérol (25%) (Annexe 01) dans des tubes inclinés maintenus à 4°C.

### III.2.3. Caractérisation des souches

#### III.2.3.1. Examens macro et microscopique

##### a. Examen macroscopique

L'examen macroscopique consiste à étudier à l'œil nu l'aspect, l'opacité, l'élévation, la forme, les bords et la couleur des colonies.

##### b. Examen microscopique

L'observation microscopique à l'état frais (examen entre lame et lamelle de bactéries vivantes) ainsi que la coloration de Gram permettent d'étudier l'aspect morphologique des cellules microbiennes.

## ✓ Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration de base en bactériologie, également appelée double coloration en raison de l'utilisation de deux colorants : le violet de gentiane et la fuchsine. Son objectif est de classer les micro-organismes en deux groupes, Gram positif (Gram +) et Gram négatif (Gram -), en fonction de la composition chimique de leur paroi cellulaire et de leur affinité pour les différents colorants (Perry *et al.*, 2004 ; Camille, 2007).

## □ Étapes de la coloration de Gram

1. **Préparation du frottis bactérien** : Une goutte d'eau distillée stérile est déposée au centre d'une lame. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, une colonie bactérienne jeune (âgée de 24 heures) est prélevée, puis étalée de manière homogène sur la lame. Le frottis est ensuite fixé par la chaleur à l'aide d'un bec Bunsen. Avant de procéder à la coloration, il est essentiel de s'assurer que le frottis est parfaitement refroidi.
2. **Coloration de base** : Le frottis est entièrement recouvert de violet de gentiane. Après une minute d'action, la lame est rincée à l'eau distillée.
3. **Mordantage** : La lame est recouverte de solution de lugol pendant 45 secondes, puis rincée à l'eau distillée.
4. **Décoloration** : L'alcool est appliqué goutte à goutte sur une lame inclinée durant 10 à 20 secondes, jusqu'à décoloration complète. Un rinçage immédiat à l'eau distillée est effectué.
5. **Contre-coloration** : La lame est recouverte de fuchsine (ou de safranine) pendant une minute, puis rincée à l'eau distillée.
6. **Séchage et observation** : La lame est séchée entre deux feuilles de papier filtre, puis brièvement à la chaleur. L'observation se réalise ensuite au microscope photonique à immersion (objectif  $\times 100$ ).

Une autre méthode complémentaire décrite par Suslow *et al.* (1982) consiste à déposer 2 à 3 gouttes d'une solution de KOH à 3 % sur une lame, puis à y ajouter une petite quantité d'une culture bactérienne âgée de 24 h. Une réponse positive (indiquant un Gram négatif) se manifeste par la formation d'un fil visqueux lors de l'agitation à l'aide d'une pipette stérile.

Cette viscosité résulte de la lyse des cellules bactériennes Gram négatif sous l'effet de la potasse, libérant leur ADN, ce qui confère à la préparation un aspect filant. En revanche, les

bactéries Gram positif, dotées d'une paroi plus épaisse et résistante à la lyse par le KOH, ne produisent pas ce filament, ce qui permet de les différencier rapidement et simplement.

### III.2.3.2. Examen physiologique et biochimique des souches

#### a. Test de fluorescence

Selon **Olmar et al. (2001)**, le test de fluorescence est considéré comme le premier test pour la sélection préliminaire des isolats.

La mise en évidence de la production du pigment fluorescent est réalisée sur le milieu King B après une incubation de 24 à 96 heures à 30°C. Le développement du pigment fluorescent est révélé sous UV (350-400nm) (**Guiraud, 1998**), ou à l'œil nu dans le cas d'intensité élevée en comparaison avec un témoin non ensemencé.

#### b. Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à coloration de Gram négative.

Le test de l'oxydase consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxydés un réactif incolore (NN-diméthyle - paraphylène diamine) en un dérivé rose violacé. Le test est réalisé par mise en contact d'une crème bactérienne jeune de 24h avec un disque d'oxydase, la réponse indique la présence de cytochrome oxydase se manifeste par l'apparition d'une coloration violette après 10 secondes. La réponse est positive tardive lorsqu'elle apparaît en retard (10 à 60 secondes) au-delà de 60 secondes la réponse est négative (**Hildebrand et al., 1988**).

#### c. Test du catalase

La catalase catalyse la décomposition du peroxyde d'oxygène, très toxique, produits par des réactions cellulaires.

Une colonie de bactéries est disposée sur une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le dégagement de bulles signifie une réaction catalase positive (**Raylomanantsoa, 2004**).

#### d. Identification biochimique

La galerie API 20 E est un système standardisé de tests biochimiques, contenant 20 cupules renfermant différents substrats déshydratés utilisés pour l'identification rapide des bactéries. Chaque cupule correspond à un test biochimique spécifique.

##### ✓ Technique

**Préparation de la galerie :** Le fond de la boîte d'incubation (partie alvéolée) est rempli avec de l'eau distillée stérile afin de maintenir un niveau d'humidité optimal durant toute la période d'incubation.

**Préparation de l'inoculum :** À partir d'une culture pure âgée de 18 à 24 heures, quelques colonies isolées et morphologiquement similaires sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile, puis mises en suspension dans 5 ml d'eau distillée stérile. La densité de la suspension obtenue doit être équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland.

**Inoculation de la galerie :** Une quantité appropriée de la suspension bactérienne est prélevée à l'aide d'une micropipette ou d'une seringue stérile, puis les cupules de la galerie sont soigneusement remplies, conformément aux instructions du fabricant.

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir le tube et la cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.
- Pour les tests LDC, ODC, ADH, H<sub>2</sub>S et Urée, créer une anaérobiose en recouvrant les cupules avec de l'huile de vaseline stérile.
- Marquer le plateau avec le code de la souche et la date.
- Refermer la boîte, puis incubé à 37 °C pendant 24 heures (selon les recommandations de BioMérieux).

Les réactions produites pendant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés après l'addition de réactifs spécifiques.

La lecture des résultats se fait à l'aide d'un tableau d'interprétation, et l'identification finale est obtenue à partir du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification fourni par BioMérieux (**Annexe02**).

## II.2.4. La mise en évidence de la production de l'acide indole -3- acétique (AIA)

Pour sélectionner les souches productrices d'acide indole-3-acétique (AIA) et déterminer leur concentration en  $\mu\text{g/ml}$ , on a besoin de tracer une courbe d'étalonnage.

### II.2.4.1. Courbe d'étalonnage de l'acide indole acétique (AIA)

La courbe d'étalonnage est une méthode utilisée pour quantifier la concentration d'AIA dans un échantillon en se basant sur la mesure de l'absorbance spectrophotométrique à 530 nm d'une série de solutions étalons de concentrations connues.

La méthode suivie est celle décrite par **Chandra et al. (2018)**, avec quelques modifications.

#### ✓ Préparation de la solution mère d'AIA (100 $\mu\text{g/ml}$ )

1. Peser précisément 10 mg d'AIA à l'aide d'une balance analytique.
2. Dissoudre la poudre d'AIA dans une petite quantité d'éthanol.
3. Compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'éthanol pur pour atteindre un volume final de 100 ml.
4. Homogénéiser doucement la solution.

#### ✓ Préparation des solutions étalons d'AIA à partir de la solution mère (100 $\mu\text{g/ml}$ ) (Tableau 04)

**Formule utilisée :**  $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

- ❖  $C_1$  = concentration de la solution mère (100  $\mu\text{g/ml}$ )
- ❖  $V_1$  = volume à prélever
- ❖  $C_2$  = concentration désirée
- ❖  $V_2$  = volume final (10 ml)

**Tableau 03:** les volumes nécessaires pour préparer des solutions étalons d'AIA à partir de la solution mère à 100 µg/ml

Concentration désirée C2 (ug/ml)	Volume à prélever (V <sub>1</sub> ) de la SM à 100 µg/ml (en ml)	Volume d'éthanol ajouté pour compléter le volume final à 10 ml
5	0.5	9.5
10	1	9
20	2	8
30	3	7
40	4	6
50	5	5

Prélever le volume correspondant de la solution mère à l'aide d'une pipette graduée, puis le transférer dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter ensuite jusqu'au trait de jauge avec de l'éthanol, puis homogénéiser soigneusement la solution.

#### ✓ Réaction avec le réactif de Salkowski

1ml de chaque solution est additionné de 2ml du réactif de Salkowski (50ml d'acide perchlorique 35% et 1 ml de FeCl<sub>3</sub> à 0,5M) (**figure09**).

L'incubation est réalisée à l'obscurité pendant 30 minutes pour permettre le développement de la couleur rose (**Figure09**). Après incubation, l'absorbance est mesurée à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

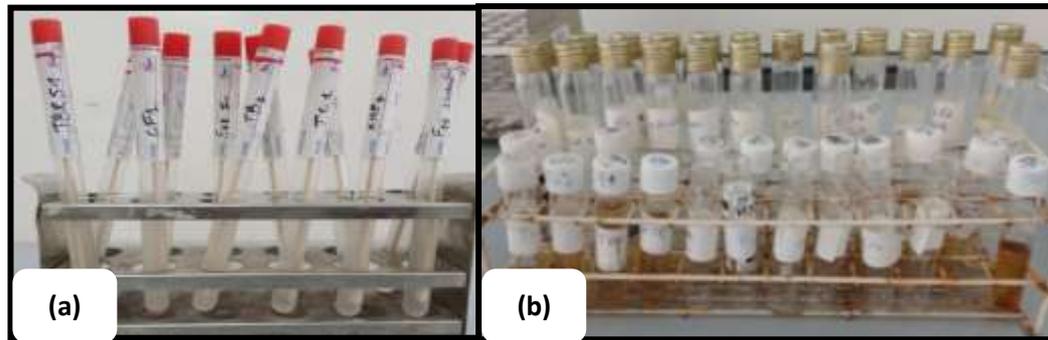


**Figure09 :** Préparation de solutions standards à différentes concentrations avec le réactif de Salkowski (original).

#### II.2.4.2. Production de l'acide indole acétique (AIA)

Un volume de 100 µL de chaque suspension d'isolat est inoculé dans 10 ml de bouillon Luria-Bertani (LB) additionné de tryptophane (5 g/L) (**Figure10**), puis incubé

pendant 96 heures à 30 °C. Après incubation, les cultures bactériennes sont centrifugées à 5000 rpm pendant 20 minutes.



**Figure 10:** Préparation des suspensions et des cultures bactériennes (original)

(a) : Suspension bactérienne (b) : Ensemencement de bouillon Luria-Bertani (LB) avec la culture bactérienne

L'estimation de la production d'AIA dans le surnageant est réalisée par dosage colorimétrique selon la méthode de **Loper et Schroth (1966)**. Un volume de 1 ml de chaque surnageant est mélangé avec 2 ml du réactif de Salkowski (50 ml d'acide perchlorique 35 % et 1 ml de  $\text{FeCl}_3$  à 0,5 M). Le développement d'une coloration rose après 30 minutes d'incubation à température ambiante, dans l'obscurité, indique la présence d'AIA produite par l'isolat (**Bric et al., 1991**).

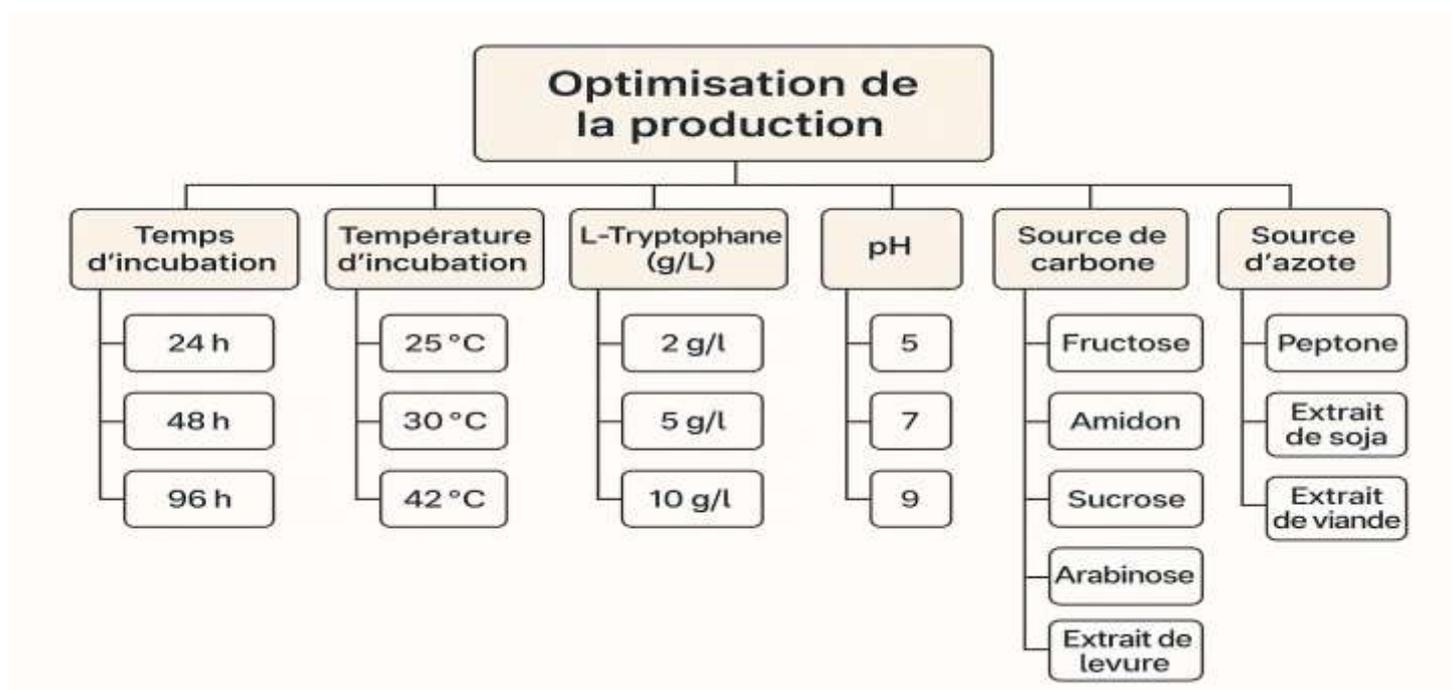
La densité optique est mesurée à 530 nm (**Figure11**), et les concentrations d'AIA produites par chaque souche sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage (**annexe3**) établie à l'aide d'une solution standard d'AIA (Fluka).



**Figure 11:** Mesure de la densité optique à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (original).

### II.2.4.3. Optimisation des paramètres de production de l'acide indole acétique (AIA)

Afin d'optimiser la production d'acide indole-3-acétique (AIA), les trois souches les plus performantes (F48, TR7 et CF1) ont été sélectionnées pour une série d'essais expérimentaux ciblant six paramètres environnementaux et nutritionnels. Chaque paramètre a été étudié individuellement, en maintenant constants les autres facteurs selon les conditions de base définies (culture en milieu liquide contenant 5 g/L de L-tryptophane, à pH 7, 30 °C, pendant 96 h) (**Figure 12**).



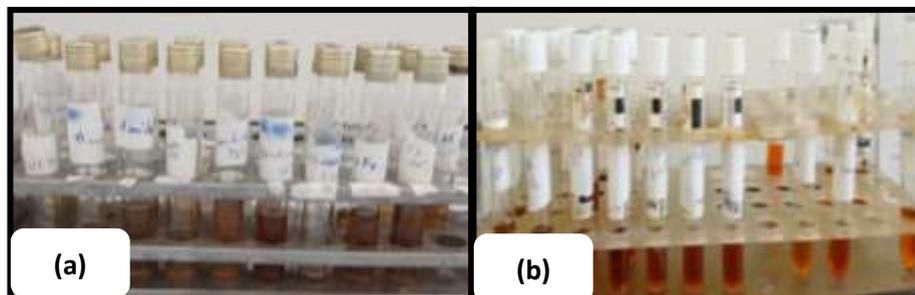
**Figure 12:** les paramètres d'optimisation (original).

Les paramètres suivants ont été évalués :

- ✓ **Temps d'incubation** : Les cultures ont été incubées pendant 24, 48 et 96 heures. Des aliquotes ont été prélevées à chaque intervalle pour dosage de l'AIA par la méthode de Salkowski.
- ✓ **Température d'incubation** : Les souches ont été cultivées à trois températures différentes : 25 °C, 30 °C et 42 °C, tout en maintenant les autres paramètres constants.
- ✓ **Concentration en L-tryptophane** : Le milieu a été enrichi avec trois concentrations différentes de L-tryptophane : 2 g/L, 5 g/L et 10 g/L. Ce précurseur étant essentiel à la biosynthèse de l'AIA, son effet a été observé sur la quantité produite.

- ✓ **pH initial du milieu** : Le pH du milieu de culture a été ajusté à l'aide de NaOH ou HCl à des valeurs de 5, 7 et 9, avant stérilisation, afin d'étudier l'effet de l'acidité/alcalinité sur la production d'AIA.
- ✓ **Source de carbone**: l'extrait de levure représente une source de carbone secondaire a été remplacé séparément par l'une des sources suivantes : fructose, amidon, sucrose, arabinose, toutes à une concentration équivalente (5g/L), pour tester leur effet sur la production d'AIA.
- ✓ **Source d'azote** : De même, la source d'azote du milieu (la peptone) a été remplacée par l'un des composés suivants : extrait de soja ou extrait de viande (à 5 g/L), afin d'évaluer leur impact sur la biosynthèse de l'AIA

Pour chaque essai, les cultures ont été réalisées dans des tubes contenant 10 ml de milieu de culture, incubés sous agitation. Après incubation, les cultures bactériennes sont centrifugées à 5000 rpm pendant 20 minutes. L'estimation de la quantité d'AIA dans le surnageant est réalisée par dosage colorimétrique selon la méthode de **Loper et Schroth (1966)**. Un volume de 1 ml de chaque surnageant est mélangé avec 2 ml du réactif de Salkowski (**Figure13**).



**Figure13:** Préparation des cultures bactériennes et dosage colorimétrique (original).

(a) : Ensemencement de bouillon Luria-Bertani (LB) optimisé avec la culture bactérienne (b) : dosage colorimétrique avec le réactif Salkowski

La densité optique est mesurée à 530 nm (**Figure14**), et les concentrations d'AIA produites par chaque souche sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie à l'aide d'une solution standard d'AIA



**Figure 14:** Mesure de la densité optique à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (original)

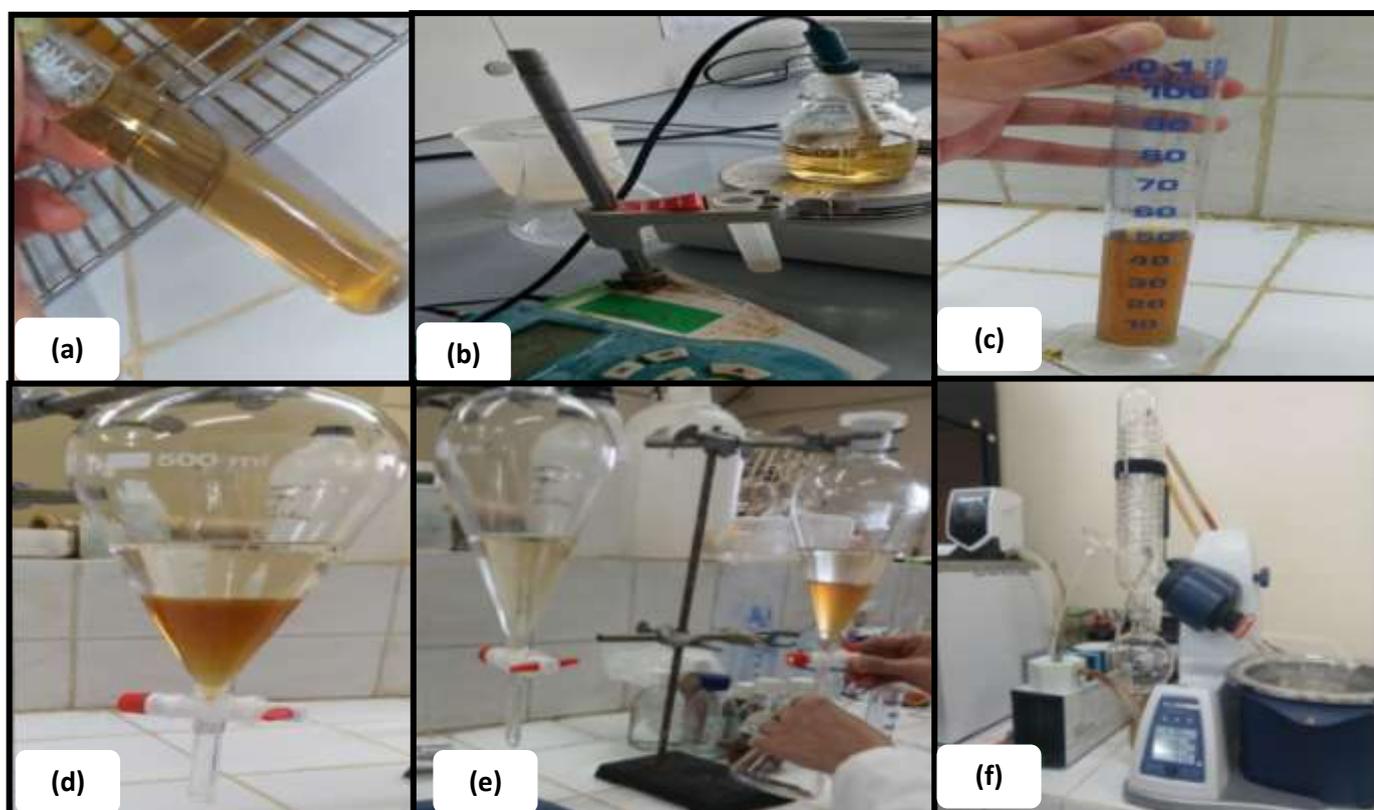
### II.2.5. Extraction et purification de l'AIA

La méthode suivie est celle décrite par **Ahmad et al. (2005)**, avec quelques modifications.

Des colonies bactériennes ont été inoculées dans 200 ml de bouillon LB amendé avec 5 g/L de tryptophane, puis incubées à  $28 \pm 2$  °C pendant une semaine dans un incubateur à agitation. Après incubation, les cellules bactériennes ont été séparées du surnageant par centrifugation à 10 000 rpm pendant 30 minutes.

Le surnageant a ensuite été acidifié à un pH compris entre 2,5 et 3,0 à l'aide de HCl 1 N, puis extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle, à un volume double de celui du surnageant. À chaque extraction, la phase aqueuse a été éliminée, et seule la phase organique (phase contenant l'AIA) a été conservée à 4 °C pour être évaporée à sec par la suite (**Figure15**).

La fraction d'acétate d'éthyle extraite a été évaporée à sec dans un évaporateur rotatif à 40°C. L'extrait a été dissous dans 1 ml de méthanol (**figure15**).



**Figure15** : les étapes d'obtention des extraits de l'AIA (original).

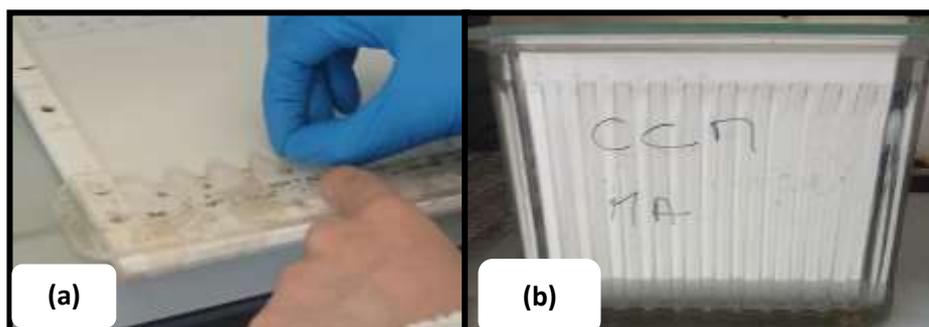
(a) : récupération de surnageant après centrifugation (b) : acidification de surnageant (c) : mesure de volume de surnageant (d) : phase de décantation (e) : élimination de la phase aqueuse (f) : évaporation par le rot à vapeur

### II.2.5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La méthode suivie est celle décrite par **Ahmad et al. (2005)**, avec quelques modifications

Les fractions d'acétate d'éthyle (10-20 ul) ont été déposées sur des plaques TLC (gel de silice Gf254, épaisseur 0,25mm), puis développées dans une phase mobile composée l'acétate d'éthyle: chloroforme : acide formique (55:35:10) (**Figure16**)

Les tâches présentant des valeurs Rf identiques à celles de l'AIA standard ont été identifiées sous lumière UV (366nm), puis révélées par pulvérisation avec le réactif de Salkowski



**Figure16** : caractérisation de l'extrait par la CCM (original).

(a) : Dépôt des fractions sur la plaque TLC Gf254 (b) : Immersion de la plaque TLC Gf254 dans la cuve contenant la phase mobile

### II.2.8. Application *in vitro*

L'évaluation du potentiel biostimulant des souches rhizosphérique F27 et endophytique CF1 a été menée via une application *in vitro* sur des graines de tomate, en vue de mesurer le taux de germination et l'indice de vigueur associés aux différents traitements (**Bellishree et al.,2014**)

#### II.2.8.1. Désinfection des semences

Les graines de tomate ont été stérilisées en surface à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 30 secondes, puis rincées cinq fois avec de l'eau distillée stérile et séchées sur du papier filtre stérile.

### II.2.8.2. Bactérisation des semences

Les semences ont été imprégnées dans 10 ml d'une suspension bactérienne contenant 0,1 g de la carboxyméthylcellulose (CMC) (**Figure18**). Pour ce faire quatre traitements (T1, T2, T3 et T4) ont été effectués.

**T<sub>1</sub>** : Témoins, semences traitées avec de l'eau distillée stérile.

**T<sub>2</sub>** : Semences bactérisées avec la souche F27.

**T<sub>3</sub>** : Semences bactérisées avec la souche CF1.

**T<sub>4</sub>** : Semences bactérisées avec les souches F27+ CF1.



**Figure 18:** Inoculation des semences dans une suspension bactérienne contenant de la carboxyméthylcellulose (CMC) (original).

Après une nuit de contact sous agitation, les semences ont été réparties à raison de 10 graines par boîte de pétri en verre stérile, contenant du papier filtre humide stérile maintenues en position à l'aide d'une autre bande de papier filtre préalablement humidifiée et placée sur les graines et doucement pressée (**Figure19**). Trois réplicas ont été réalisés pour chaque traitement, soit un total de 30 graines pour chaque traitement.



**Figure 19:** La répartition des graines dans une boîte de Pétri en verre (original).

Afin de favoriser la germination, les boîtes ont été recouvertes de papier aluminium et incubées pendant 9 à 10 jours à 23 °C dans une chambre de culture (mini serre) (**Figure 20**).



**Figure 20:** incubation des boîtes de Pétri en verre recouvertes de papier aluminium (original).

### II.2.8.3. Taux de germination et Indice de la vigueur

#### II.2.8.3.1. Taux de germination

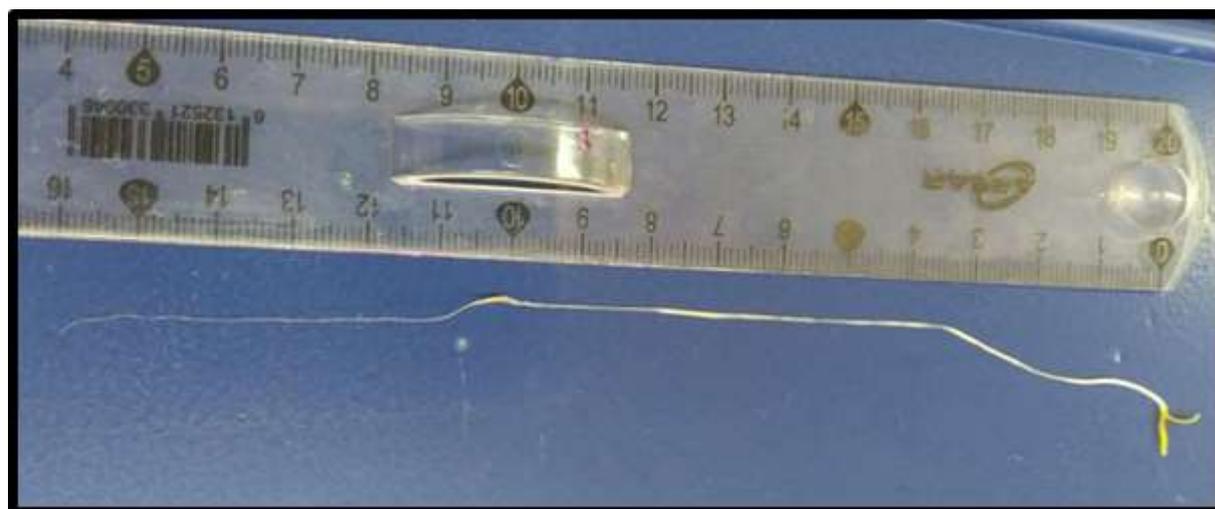
L'estimation du taux de germination des semences consiste à compter le nombre de graines germées par rapport au nombre initial de graines placées dans chaque boîte. Le suivi de la germination a commencé 24 heures après la mise en boîte, à raison d'une observation par jour pendant 9 à 10 jours. Le taux de germination a été calculé selon la formule décrite par **Abdul Baki et Anderson (1973)**.

Taux de germination = (Nombre de graines germées / Nombre de graines semées) × 100

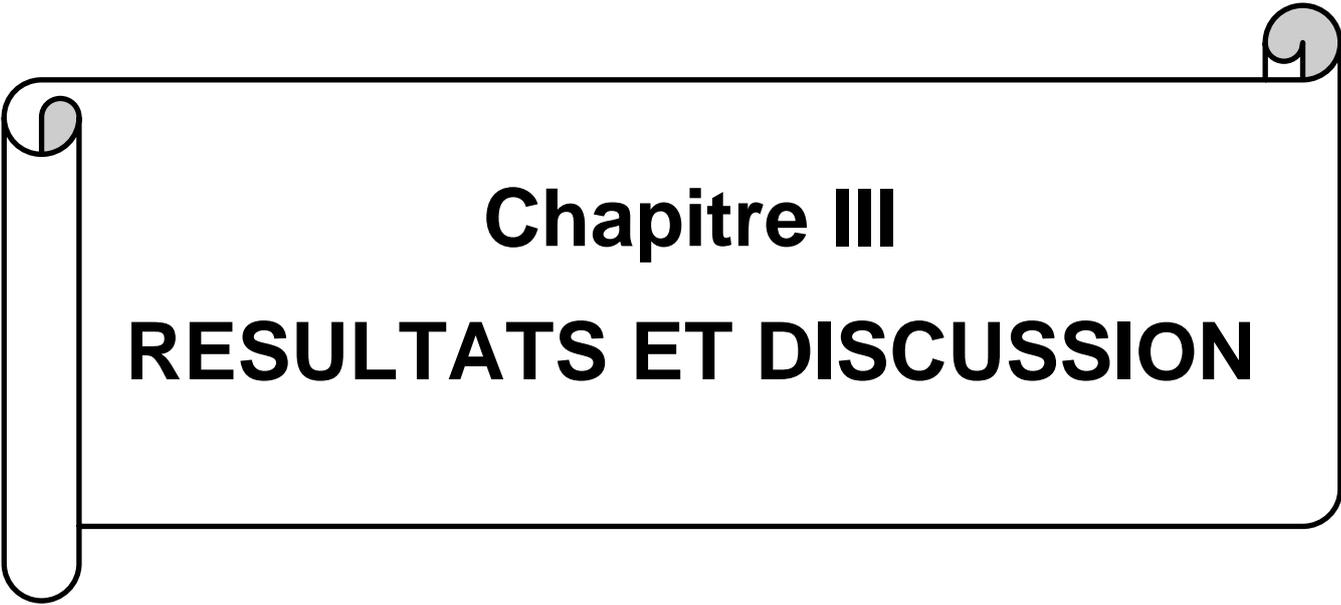
#### II.2.8.3.2. Indice de la vigueur

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

Indice de la vigueur = longueurs de la plantule (longueur moyenne des racines + longueur moyenne des pousses) × pourcentage de germination .



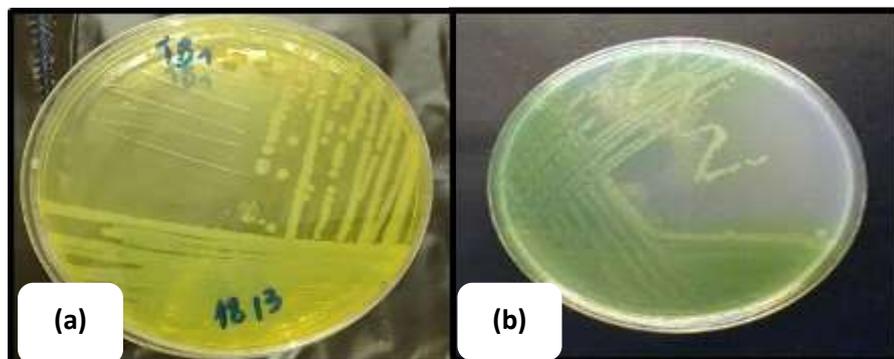
**Figure21** : Mensuration de la longueur des plantules (original).



**Chapitre III**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Résultats et interprétation

Le repiquage successives des dix souches (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) sur milieu king B et milieu cétrimide a permis d'obtenir des colonies pures (**Figure 22**).



**Figure 22:**croissance des colonies après repiquages successifs des souches bactériennes (original)

(a) croissance sur milieu king B (b) croissance sur milieu cétrimide

#### III.1.1. Caractérisation des souches

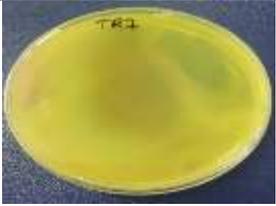
##### III.1.1.1. Examen macroscopique des colonies

Après purification, les souches bactériennes ont montré sur le milieu KB des caractères culturaux très rapprochés. D’une manière générale, les colonies présentent un contour régulier, la coloration est souvent crème et parfois beige. Pour toutes les souches, l’aspect des colonies est lisse et parfois rugueuse, leur élévation est convexe et le diamètre varie de 0.5 à 4 mm et cela en fonction de l’âge de la culture (**Tableau 04**).

**Tableau 04:** quelques caractéristiques macroscopiques des souches *Pseudomonas fluorescens* isolées (originale).

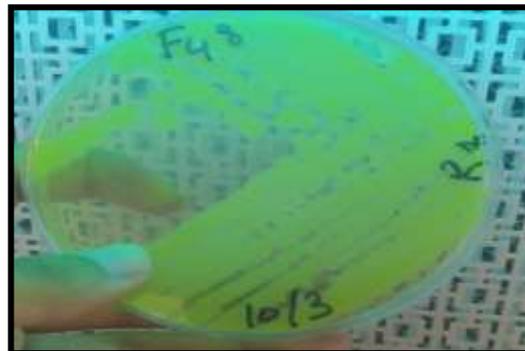
Souches	Aspect	forme	Bord	Elévation	Opacité	Pigmentation sur king B
TC1	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Blanc à jaune

TB1	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert
F48	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 vert
F21	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert
BB10	Lisse	Circulaire	Ondulé	Convexe	Opaque	 Marron
TBR51	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert
KHE7	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Jaune a vert
CF1	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert

TR7	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert
F27	Lisse	Circulaire	Régulière	Convexe	Opaque	 Vert

● **Test de la Fluorescence**

Le test de la fluorescence réalisé sur les 10 isolats a révélé la présence d'un pigment fluorescent traduisant par une couleur jaune verdâtre sous la lampe UV (350nm) (**Tableau 04**), dont l'intensité de la fluorescence varie d'une souche à une autre. 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 émis varie du vert jaune au jaune brun( **Figure 23**).



**Figure 23:** Observation des isolats sous lampe UV (350nm)

**III.1.1.2. Examen microscopique des colonies**

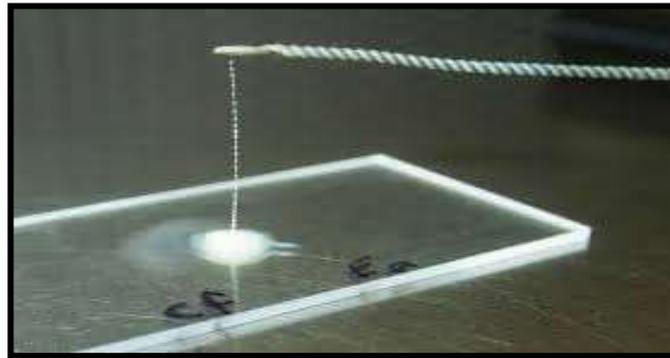
● **Coloration de Gram**

La coloration de Gram a révélé que les dix souches sont des bacilles à Gram négatif (**Figure24**).



**Figure 24:** Observation des souches de *Pseudomonas fluorescens* après coloration de Gram, au microscope photonique (G×100) (original).

Ce constat est vérifié par le test de potasse indicateur de Gram, l'augmentation de la viscosité du KOH et la formation d'un filament mucoïde confirme que ces bactéries sont à Gram négatif (**Figure25**).



**Figure 25:** Formation d'un filament mucoïde confirmant le Gram négatif par le test de KOH (originale).

- **Mobilité**

L'observation en microscopie optique (G×40) a révélé des cellules de morphologie bacillaire. Bien que ce grossissement ne permette pas une confirmation directe de la mobilité, le déplacement aléatoire observé dans le champ suggère une motilité potentielle chez les dix souches de *Pseudomonas fluorescens*.

### III.1.1.3. Examen physiologique et biochimique des colonies

- **Test d'oxydase**

D'après les résultats obtenus, les dix souches sont oxydase positives (oxydase+) (**Figure 26**).

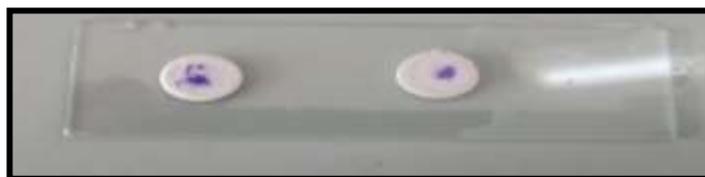


Figure 26 : Résultats du test d'oxydase (originale).

### ● Test de Catalase

D'après les résultats obtenus, les dix souches sont catalase positives (catalase +) (Figure 27).

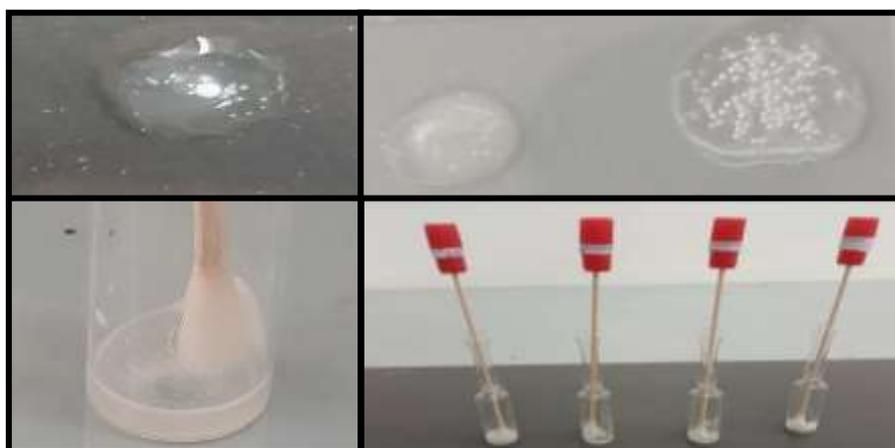


Figure 27: Résultats du test catalase (originale).

Toutes les souches sont fluorescentes (+), à Gram négatif (-), KOH positives, mobiles (+), et présentent des tests d'oxydase et de catalase positifs, indiquent fortement qu'il s'agit de souches *Pseudomonas fluorescens* (Tableau 05)

Tableau 05 : quelques caractéristiques d'identification des souches *Pseudomonas fluorescens* isolées (originale).

Souches	Fluorescence	Gram	KOH	Mobilites	oxydase	Catalase
TC1	+	-	+	+	+	+
TB1	+	-	+	+	+	+
F48	+	-	+	+	+	+
F21	+	-	+	+	+	+
BB10	+	-	+	+	+	+
TBR51	+	-	+	+	+	+
KHE7	+	-	+	+	+	+
CF1	+	-	+	+	+	+

TR7	+	-	+	+	+	+
F27	+	-	+	+	+	+

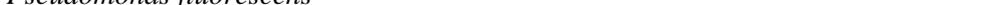
(+) : positive

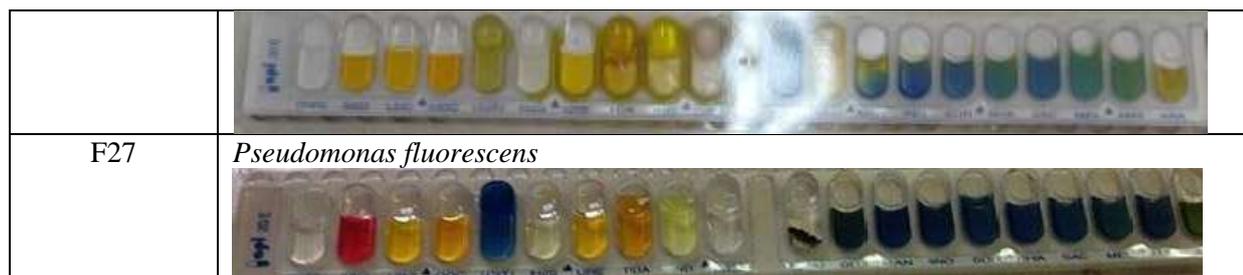
(-) : négative

● **Identification biochimique**

L'identification biochimique des souches isolées (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) par la Galerie API 20E a permis de confirmer qu'il s'agit de *Pseudomonas fluorescens* (**Tableau 06**)

**Tableau 06:** Identification biochimique des souches *Pseudomonas fluorescens* isolées par la Galerie API 20E (originale).

Souches	Identification biochimique
TC1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
TB1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
F48	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
F21	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
BB10	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
TBR51	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
KHE7	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
CF1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 
TR7	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 



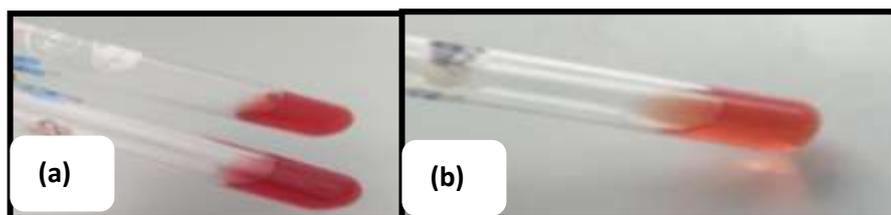
### III.1.2. Production qualitative et quantitative d'acide indole -3-acétique (AIA)

La production qualitative d'acide indole-3-acétique (AIA) a été observée chez toutes les souches testées (**Tableau 07**). Ces dernières (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) ont développé une coloration rose à rouge (**Figure28**) après 30 minutes d'incubation à température ambiante, dans l'obscurité, suite à l'addition du réactif de Salkowski, qui révèle la présence d'AIA. L'intensité de la coloration varie en fonction de la quantité d'AIA produite par chaque isolat. La quantité de l'AIA a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage (**Annexe 03**), le taux le plus élevé a été enregistré chez la souche rhizosphérique F27 (10,581  $\mu\text{g/ml}$ ), suivie de la souche rhizosphérique TR7 (10,308  $\mu\text{g/ml}$ ) et enfin de la souche endophytique CF1 (8,907  $\mu\text{g/ml}$ ). La plus faible concentration a été observée chez la souche rhizosphérique TC1 (0,747  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Tableau 07:** Production qualitative et quantitative d'acide indole acétique (AIA).

Souches	Production Qualitative	Production Quantitative $\mu\text{g/ml}$
	+	
TC1		0,747
TB1	++	4,358
F48	++	5,934
F21	++	7,183
BB10	++	7,341
TBR51	++	7,347
KHE7	++	7,75
CF1	+++	8,907
TR7	+++	10,308
F27	+++	10,581

(+) : légèrement rose, (++) : rose, (+++) : rose virant vers le rouge



**Figure28:** coloration des souches après l'ajout du réactif de Salkowski

(a): souches F27+TR7 (b) : souche TBR51

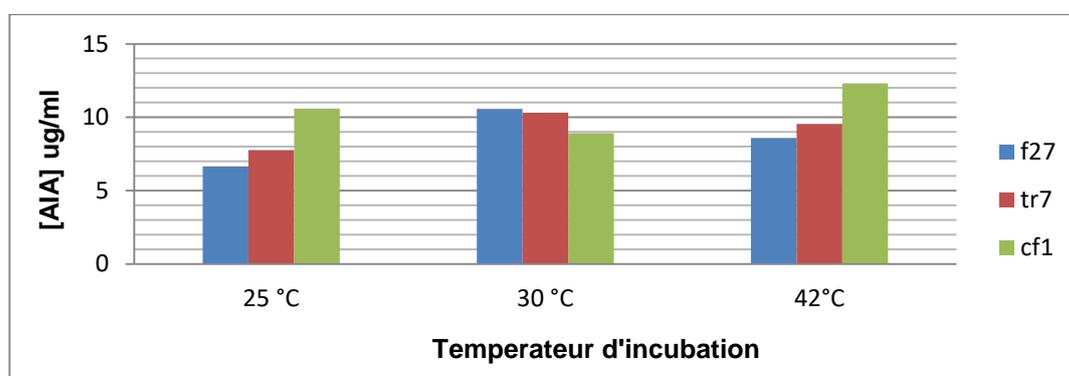
### III.1.3. Optimisation des paramètres de production de l'acide indole acétique (AIA)

#### III.1.3.1. Température d'incubation

L'effet de la température d'incubation a été étudié dans l'intervalle de 25 °C à 42 °C (**Figure28**). La production d'AIA par les trois souches varie en fonction de la température d'incubation.

Chez les souches F27 et TR7, la valeur maximale a été observée à une température d'incubation de 30°C, avec des concentrations respectives de 10,581 µg/ml et 10,308 µg/ml. Cette production a diminué aux températures d'incubation de 25°C et 42°C, avec des concentrations respectives de 6.643 µg/ml et 8.585 µg/ml pour F27 et de 7,756 µg/ml et 9,550 µg/ml pour TR7.

En revanche, chez la souche CF1, la valeur maximale a été observée à une température d'incubation de 42 °C avec une concentration de 12,310 µg/ml. Cette production a diminué aux températures d'incubation de 25°C et 30°C, avec des concentrations respectives de 10,587 µg/ml et 8,907 µg/ml mais restent élevés comparativement avec les souches F27 et TR7 (**Figure 29**).



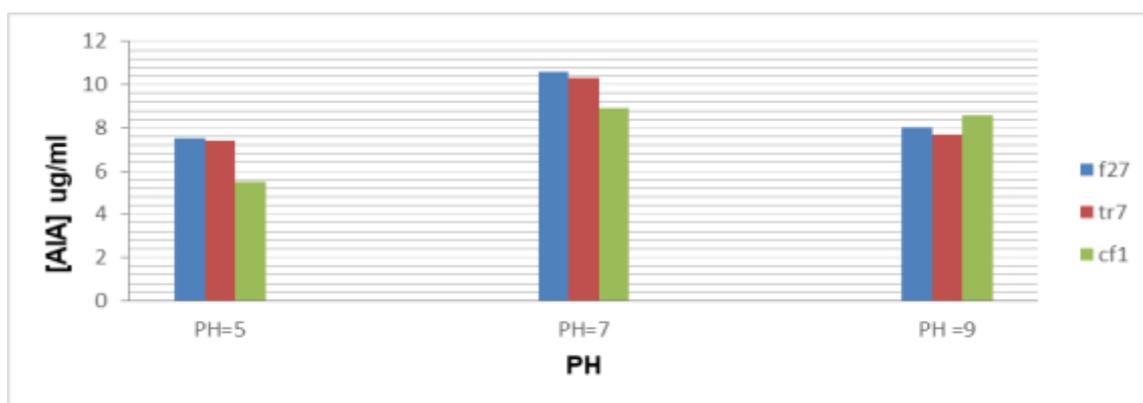
**Figure 29:** Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction de la température d'incubation.

### III.1.3.2. PH

La capacité des isolats bactériens à produire de l'AIA a été testée en utilisant une gamme de pH allant de 5 à 9 (**Figure 30**). Les trois souches ont été capables de produire de l'AIA dans toute la gamme de pH testée, et leur production varie en fonction du pH de milieu.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1, la valeur maximale de production d'AIA a été observée à pH neutre (pH=7), avec des concentrations respectives de 10,581 µg/ml, 10,308 µg/ml et 8,907 µg/ml.

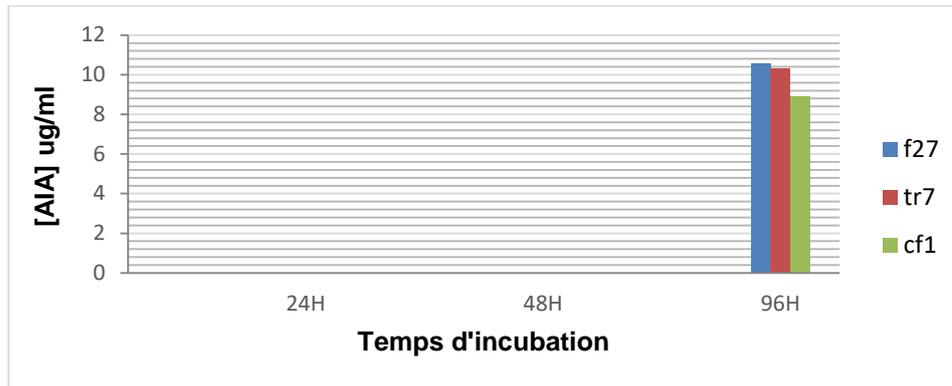
Cette production a diminué dans les milieux acide (pH = 5) et basique (pH = 9) pour les trois souches. Aux pH acides (pH = 5), les concentrations obtenues étaient de 7,532 µg/ml pour F27, 7,407 µg/ml pour TR7 et 5,476 µg/ml pour CF1. Aux pH basiques (pH = 9), les valeurs étaient respectivement de 8,012 µg/ml, 7,707 µg/ml et 8,590 µg/ml.



**Figure 30** : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du PH de milieu.

### III.1.3.3. Temps d'incubation

Aucune production d'AIA n'a été enregistrée pour les trois souches après un temps d'incubation de 24 h et 48 h. Cependant, les trois souches ont produit de l'AIA après un temps d'incubation de 96h. La valeur maximale a été enregistrée chez la souche F27, avec une concentration de 10,581 µg/ml, suivie de la souche TR7 avec une concentration de 10,308 µg/ml. La valeur minimale a été observée chez la souche CF1, avec une concentration de 8,907 µg/ml (**Figure31**).



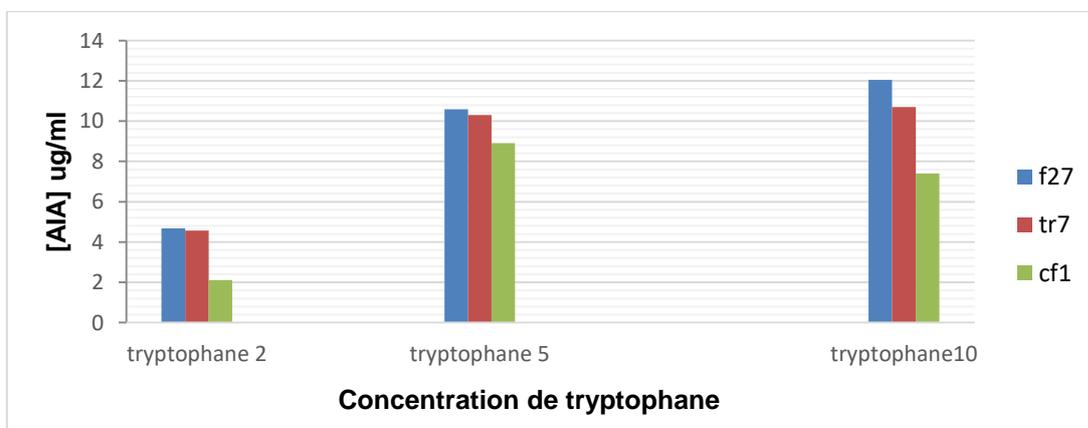
**Figure 31 :** Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du temps d'incubation.

### III.1.3.4. Concentration de tryptophane

La capacité des isolats bactériens à produire de l'AIA a été testée en utilisant des concentrations croissantes de tryptophane (2, 5 et 10 g/l) (**Figure32**). Les trois souches ont été capables de produire de l'AIA à toutes les concentrations testées, et leur production varie en fonction de la concentration de tryptophane présente dans le milieu.

Chez les souches F27 et TR7, la valeur maximale a été observée à 10 g/l de tryptophane, avec des concentrations respectives de 12,048 µg/ml et 10,701 µg/ml. Cette production a diminué avec 5 g/l et 2 g/l de tryptophane, avec des concentrations respectives de 10,581 µg/ml et 4,685 µg/ml pour F27, et de 10,308 µg/ml et 4,576 µg/ml pour TR7.

En revanche chez la souche CF1, la valeur maximale a été observée à 5g/l de tryptophane avec une concentration de 8,907 µg/ml. Cette production a diminué aux 10 g/l et 2 g/l de tryptophane, avec des concentrations respectives de 7,412 µg/ml et 2.121 µg/ml



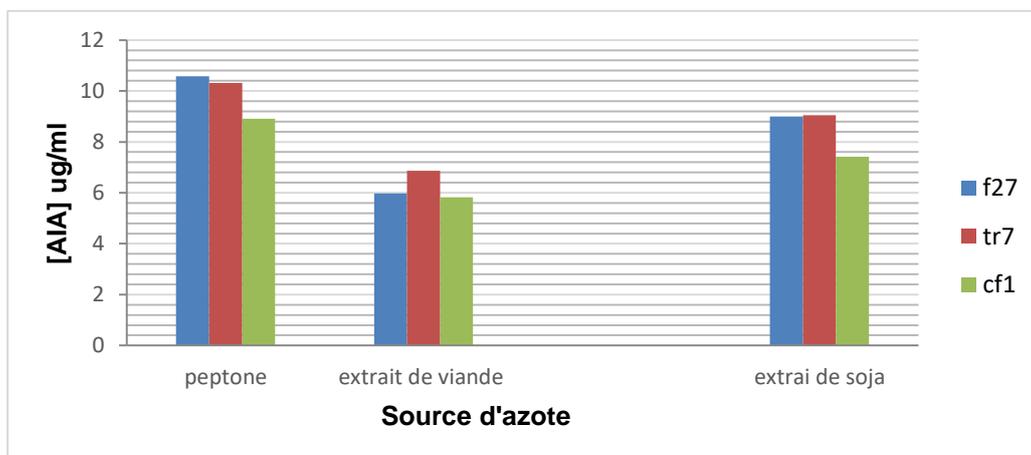
**Figure 32 :** Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction du Concentration de tryptophane.

### III.1.3.5. Sources d'azote

La capacité des isolats bactériens à produire de l'AIA a été testée en utilisant différentes sources d'azote à savoir la peptone, l'extrait de viande et l'extrait de soja (**Figure33**). La production d'AIA par les trois souches varie en fonction de la source d'azote utilisée dans le milieu de culture.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1 la valeur maximale de production d'AIA a été observée dans le milieu contenant de la peptone, avec des concentrations respectives de 10,581  $\mu\text{g/ml}$  pour F27, 10,308  $\mu\text{g/ml}$  pour TR7 et 8,907  $\mu\text{g/ml}$  pour CF1.

Cette production a diminué dans les milieux contenant de l'extrait de viande ou de l'extrait de soja, pour les trois souches, comparativement au milieu de base contenant la peptone comme source d'azote. Dans le milieu contenant de l'extrait de soja, les valeurs étaient respectivement de 8,994  $\mu\text{g/ml}$  pour F27, 9,048  $\mu\text{g/ml}$  pour TR7 et 7,417  $\mu\text{g/ml}$  pour CF1. Dans le milieu contenant de l'extrait de viande, les concentrations obtenues étaient de 5,972  $\mu\text{g/ml}$  pour F27, 6,861  $\mu\text{g/ml}$  pour TR7 et 5,825  $\mu\text{g/ml}$  pour CF1.



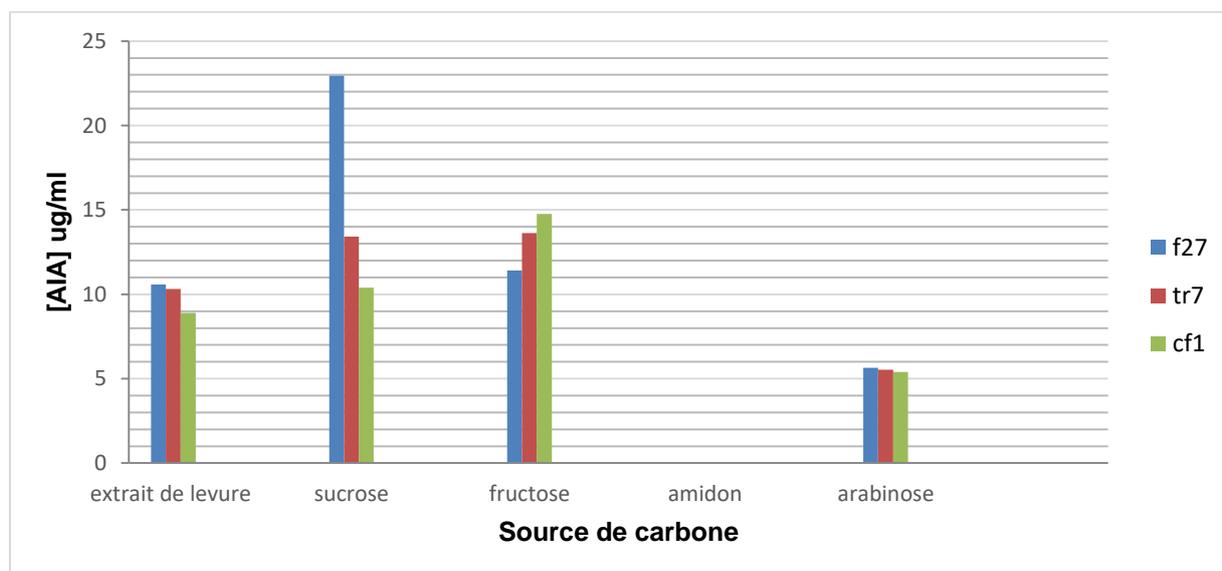
**Figure33:** Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en  $\mu\text{g/ml}$  en fonction de la source d'azote.

### III.1.3.6. Source de carbone

La capacité des isolats bactériens à produire de l'AIA a été testée en utilisant différentes sources de carbone à savoir l'extrait de levure, le sucrose, le fructose, l'amidon et l'arabinose (**Figure34**). La production d'AIA par les trois souches varie en fonction de la source de carbone utilisée dans le milieu de culture.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1 aucune production d'AIA n'a été observée dans le milieu contenant de l'amidon. Pour la souche F27, la valeur maximale de production a été observée dans le milieu contenant du sucrose, avec une concentration de 22,947  $\mu\text{g/ml}$ . Cette production a diminué dans les milieux contenant du fructose, de l'extrait de levure, et de l'arabinose avec des concentrations respectives de 11,405  $\mu\text{g/ml}$  pour le fructose, 10,581  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait de levure et 5,639  $\mu\text{g/ml}$  pour l'arabinose.

Chez les souches TR7 et CF1 la valeur maximale de production d'AIA a été observée dans le milieu contenant du fructose avec des concentrations respectives de 13,625  $\mu\text{g/ml}$  pour TR7 et 14,754  $\mu\text{g/ml}$  pour CF1. Cette production a diminué dans les milieux contenant du sucrose, de l'extrait de levure et de l'arabinose. Pour la souche TR7 les concentrations obtenues étaient de 13,417  $\mu\text{g/ml}$  pour le sucrose, 10,30  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait de levure et 5,525  $\mu\text{g/ml}$  pour l'arabinose. Pour la souche CF1 les concentrations obtenues étaient de 10,390  $\mu\text{g/ml}$  pour le sucrose, 8,907  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait de levure et 5,394  $\mu\text{g/ml}$  pour l'arabinose.



**Figure34:** Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en  $\mu\text{g/ml}$  en fonction de la source de carbone.

#### III.1.4. résultats de Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince a été réalisée dans le but de séparer les différents constituants des trois extraits de souches F27, TR7 et CF1 provenant du surnageant de cultures en milieu LB supplémenté avec 5 g/L de tryptophane. Les trois extraits ont été déposés au bord inférieur de la plaque TLC Gf254, puis la migration a été effectuée à l'aide

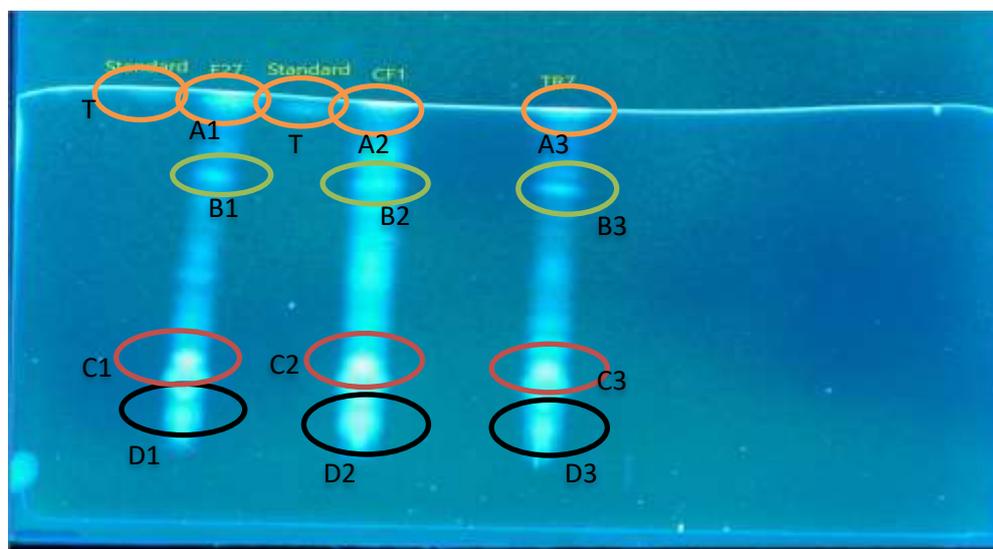
d'une phase mobile composée d'acétate d'éthyle, de chloroforme et d'acide formique. Après migration plusieurs tâches ont été détectées dans chaque extrait (**Figure35**).

La tâche (A1) de la souche F27, la tâche (A2) de la souche CF1 et la tâche (A3) de la souche TR7 ont montré une ressemblance avec la molécule standard de l'AIA avec un Rapport frontal (RF=0.88), ce qui suggère la présence probable de l'AIA dans les extraits des trois souches.

La tâche(B1) de la souche F27, la tâche (B2) de la souche CF1 et la tâche (B3) de la souche TR7 ont présenté un RF=0.76 différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un autre type de métabolites.

La tâche (C1) de la souche F27, la tâche (C2) de la souche CF1 et la tâche (C3) de la souche TR7 ont présenté un RF=0.49 différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un second type de métabolites.

La tâche (D1) de la souche F27, la tâche (D2) de la souche CF1 et la tâche (D3) de la souche TR7 ont présenté un RF=0.37 différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un troisième type de métabolites.



**Figure 35:** Profil chromatographique par CCM des composés extraits des souches F27, CF1 et TR7, après pulvérisation au réactif de Salkowski et observation sous UV à 366 nm.

### III.1.6. Application *in vitro*

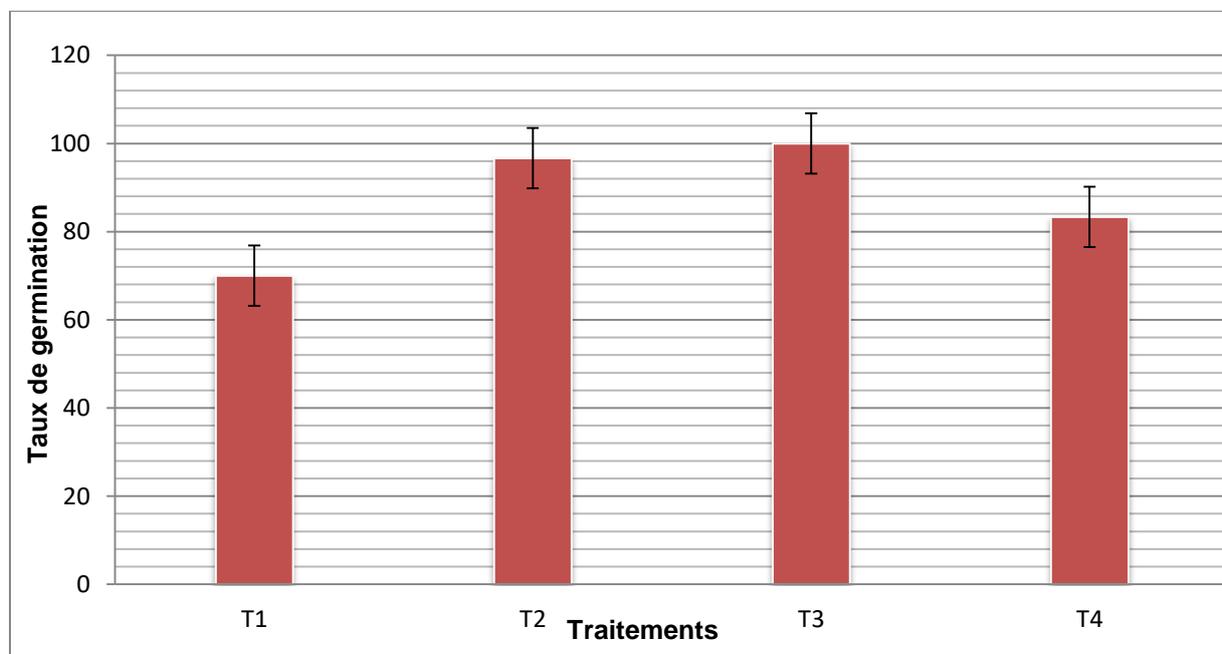
L'application *in vitro* de la bactérisation des semences de tomate de la variété *Saint Pierre* par deux souches de *Pseudomonas fluorescens* a permis d'évaluer deux paramètres importants : le taux de germination et l'indice de vigueur.

#### III.1.6.1. Taux de germination

Le calcul de taux de germination des semences de tomate bactérisées avec les deux souches utilisées séparées et en association a été réalisé dans le but d'identifier le traitement le plus favorable au développement précoce des plantules.

Après 9 jours d'incubation, les taux de germination les plus élevés ont été enregistrés avec les semences bactérisées par les souches CF1(T2) et F27(T3) utilisées séparément, atteignant respectivement 100 % et 99,66 %, des valeurs nettement supérieures à celle du témoin(T1) (70 %) (**Figure 41**)

Concernant les semences traitées avec l'association des souches F27 + CF1(T4), un taux de germination de 83,33 % a été observé, également supérieur au témoin, mais inférieur à ceux obtenus avec les traitements T2 et T3 (semences traitées séparément avec les souches F27 et CF1 respectivement) (**Figure41**).



**Figure 41:** effet des différents traitements (T1 à T4) sur le taux de germination des graines

De plus l'analyse de la variance (ANOVA) a montré qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative entre les quatre traitements (T1 à T4) au seuil de 5 %

La probabilité calculée ( $p = 0,512$ ) est supérieure au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , et la valeur de F calculée ( $F = 0.75$ ) est inférieure à la valeur critique de F ( $F_{crit} = 5.143$ )

Ces résultats indiquent qu'il n'existe pas de différence significative entre les quatre traitements sur l'augmentation du taux de germination, au seuil de 5 %

### III.1.6.2. Indice de la vigueur

Le calcul de l'indice de vigueur pour les trois traitements (T2, T3 et T4) des semences de tomate a été réalisé dans le but de sélectionner les traitements de semences les plus efficaces pour améliorer la vitesse de germination, l'uniformité et la vigueur des plantules de tomate.

Après 9 jours d'incubation, les indices de vigueur les plus élevés ont été enregistrés avec les semences bactérisées par les souches F27 et CF1, atteignant respectivement 1087.666 cm. et 938.666 cm, des valeurs nettement supérieures à celle du témoin (685 cm) (**Tableau08**)

Concernant les semences traitées avec l'association des souches F27 + CF1, un indice de vigueur de 801 cm a été observé, également supérieur au témoin, mais inférieur à ceux obtenus avec les traitements T2 et T3 (semences traitées séparément avec les souches F27 et CF1 respectivement) (**Tableau08**)

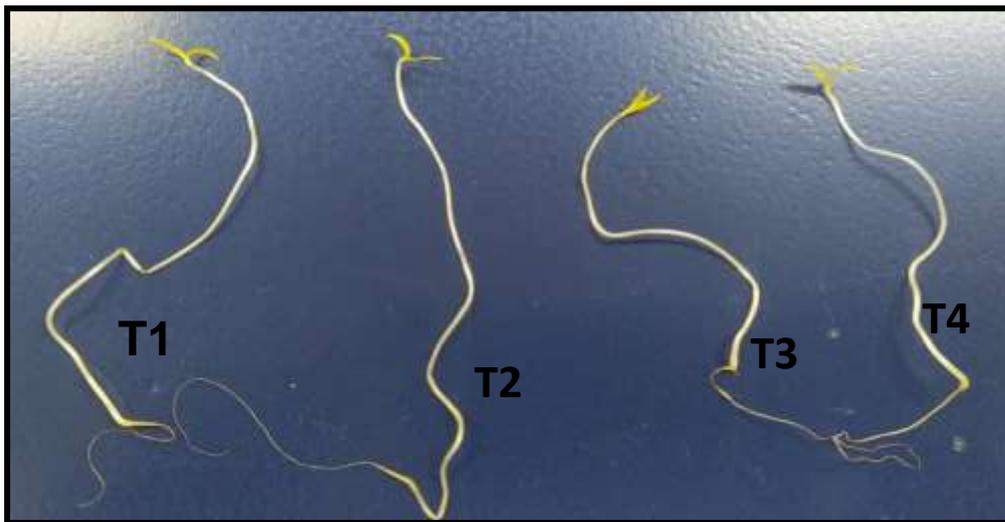
**Tableau 08:** effet des différents traitements (T1 à T4) sur l'indice de vigueur des graines

Traitements	T 1	T2	T3	T4
Indice de vigueur (cm)	685 cm	1087.666 cm	938.666 cm	801 cm

Cependant, l'analyse de la variance (ANOVA) a montré qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative entre les quatre traitements (T1 à T4) au seuil de 5 % (**Figure 42**).

La probabilité calculée ( $p = 0,0905$ ) est supérieure au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , et la valeur de F calculée ( $F = 3,076$ ) est inférieure à la valeur critique de F ( $F_{crit} = 4,066$ )

Ces résultats indiquent que tous les groupes sont statistiquement homogènes et il n'existe pas d'hétérogénéité entre eux au seuil de 5 %



**Figure42:** longueurs de la plantule (longueur moyenne des racines + longueur moyenne des pousses).

### III.2. Discussion

La rhizosphère du sol se distingue par deux activités biologiques majeures qui sont les exsudats racinaires et les microorganismes du sol. Elle représente une niche écologique privilégiée pour différents types de micro-organismes, y compris les bactéries telles que *Pseudomonas* spp. fluorescents, en raison de la disponibilité de composés organiques qualifiés de rhizodépôts. Ces composés favorisent le développement microbien ainsi que les interactions symbiotiques bénéfiques pour les microorganismes, mais aussi pour la plante (Oppenheimer-Shaanan *et al.*, 2022 ; Yang *et al.* ,2024 ; Anderson *et al.* ,2024 ; Bending *et al.*,2025 ).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents font partie des espèces bactériennes les plus étudiées à cause de leur omniprésence dans le monde. Elles sont largement répandues dans diverses niches écologiques, notamment le sol, l'eau, les surfaces végétales et même les habitats extrêmes tels que le sol de palmier dattier du désert. Cette caractéristique est due au grand pouvoir d'adaptation de ces souches qui a été déjà mis en évidence par Latour *et al.* (1996); Hall *et al.* (2018).

Les travaux effectués au préalable par Benoussaid en 2018 et 2021, ont permis d'isoler une collection de souche endophytiques et rhizosphériques de *Pseudomonas* spp. fluorescents à partir du sol de palmier dattier du désert algérien. Dans notre étude, nous avons utilisé 10 souches (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) sélectionnées sur la base de leur capacité à produire une grande variété de métabolites impliqués dans la phytostimulation et la protection de plusieurs espèces végétales.

Cette étude consiste à mettre en évidence la production de l'acide indole -3- acétique (AIA) par les dix souches(TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) ,d'optimiser les paramètres de production de cette phytohormone ainsi que la caractérisation de l'extrait obtenue par chromatographie sur couche mince (CCM) pour les souches (CF1, TR7, F27) et par chromatographie liquide haute performance (HPLC) pour la souche F27 . Enfin, l'effet de ces souches sur la germination *in vitro* des semences de tomate a été évalué, mettant particulièrement en évidence les performances des souches CF1 et F27.

La purification des souches sur milieu King B a permis d'observer des colonies de forme circulaire, à bords réguliers et ondulés, avec une élévation convexe. Ces colonies montraient une opacité accompagnée d'une pigmentation verte. Nos résultats corroborent avec celle de **King et al.(1954)** ; **Palleroni .(1984)** ; **De Vos et al.( 2009 )**;**Lamichhane et Varvaro.(2012)** et **Bagul et al. (2023)**.

L'examen microscopique à l'état frais a montré que les dix souches de *Pseudomonas fluorescens* (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27) sont mobiles. La coloration de Gram a révélé une coloration rose des cellules de forme bacillaire. Ce résultat a été confirmé par le test de potasse indicateur de Gram qui indique une augmentation de la viscosité du KOH et la formation d'un filament mucoïde, confirmant que ces bactéries sont à Gram négatif. De plus, la réaction aux tests d'oxydase et de catalase est une réaction positive. Nos résultats corroborent avec celle de **Lamichhane et Varvaro.(2012)** ;**Labhasetwar et al.(2023)**. Les résultats de l'identification biochimique par la Galerie API 20E des souches ont confirmé qu'il s'agit de *Pseudomonas fluorescens*.

Nos résultats indiquent que toutes les souches sont productrices de l'acide indole acétique avec des quantités assez variables. Le taux le plus élevé a été enregistré chez la souche rhizosphérique F27 (10,581 µg/ml), suivie de la souche rhizosphérique TR7 (10,308 µg/ml) et de la souche endophyte CF1 (8,907 µg/ml). La plus faible concentration a été observée chez la souche rhizosphérique TC1 (0,747 µg/ml). Cette variation est probablement due au type de souches endophytique ou rhizosphérique et à la variabilité génétique entre les souches ainsi que la voie de biosynthèse.

Selon les résultats de **Benoussaid (2018)**, ainsi que de **Larbaoui-Dahoumane et Benchabane (2023)**, les souches rhizosphériques F21 et BB10 ont montré leur capacité de biosynthèse, ce qui concorde avec nos résultats. Cependant, les travaux de **Benoussaid. (2018)** sur les souches rhizosphériques F48, BB10 et F21 ont montré des concentrations respectives de 18,3 µg/ml pour la souche F48, 5,9 µg/ml pour la souche BB10 et 1,8 µg/ml pour la souche F21. Ces résultats ne concordent pas avec nos résultats et cela peut être dû à une mutation génétique affectant la capacité de biosynthèse de ces souches, ou bien à un changement de voie de biosynthèse vu que l'AIA peut être produite par six voies différentes : cinq dépendantes du tryptophane et une indépendante (**Spaepen et al.,2007** ; **Tang et al.,2023**)

En outre, d'après **Duca et al. (2018)**, **Zboralski et Filion (2023)**, la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les souches de *Pseudomonas fluorescens* associées à la rhizosphère se fait principalement à partir d'un précurseur qui est le L-tryptophane. Il existe cinq voies dépendantes de L-tryptophane, mais la voie de l'indole-3-acétamide (IAM) et celle de l'indole-3-pyruvate (IPyA) sont les plus fréquentes. La voie IAM fait intervenir les gènes *iaaM* et *iaaH*, tandis que la voie IPyA mobilise le gène *ipdC* ainsi que des gènes codant Nos résultats concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique pour des aldéhyde-déshydrogénases tels que *aldA*, *aldB* ou *iadI*.

(AIA) en fonction de la température d'incubation indiquent que la production d'AIA par les trois souches sélectionnées sur la base de leur production importante de L'AIA, varie selon la température d'incubation, dans l'intervalle de 25 °C à 42°C.

Chez les souches rhizosphériques F27 et TR7, la valeur maximale a été observée à une température d'incubation de 30°C, avec des concentrations de 10,581 µg/ml pour F27 et 10,308 µg/ml pour TR7. Cette production a diminué aux températures d'incubation de 25°C et 42°C, avec des concentrations de 6.643 µg/ml et 8.585 µg/ml pour F27 et de 7,756 µg/ml et 9,550 µg/ml pour TR7. Ces résultats concordent avec ceux de **Apine et Jadhav.(2011)**; **Janani et al.(2017)** et **Vasanthabharathi et al.(2025)**, qui ont également trouvé que 30°C était la température la plus favorable pour la production d'AIA chez *Pseudomonas fluorescens*. De plus, des résultats similaires ont été observés dans les travaux de **Harikrishnan et al.(2014)**, chez *Streptomyces sp*, indiquant que 30°C semblait être la température optimale de la production d'AIA.

En revanche, chez la souche endophytique CF1, la valeur maximale a été observée à une température d'incubation de 42 °C avec une concentration de 12,310 µg/ml. Cette production a diminué aux températures d'incubation de 25°C et 30°C, avec des concentrations de 10,587 µg/ml et 8,907 µg/ml. Ces résultats concordent avec ceux de **Patten et Glick. (2002)** ; **Tsavkelova et al. (2006)**, qui ont montré que certaines souches bactériennes peuvent produire plus d'AIA à des températures élevées, même si leur croissance ralentit, cette production est due à une réponse au stress thermique. De plus, selon les travaux actuels de **Dlamini et al. (2025)**, certaines bactéries endophytiques associées aux plantes sont capables de maintenir une activité métabolique élevée à des températures élevées. Cette activité métabolique comprend notamment la production d'acide indole-3-acétique (AIA) et

de sidérophores, contribuant ainsi à la tolérance thermique des plantes hôtes. Cependant la diminution de la production aux températures d'incubation de 25°C et 30°C peut résulter d'une baisse de l'expression des gènes *iaaM* et *iaaH*, impliqués dans la voie de biosynthèse de l'AIA à partir du tryptophane, comme le suggèrent les recherches de **Spaepen et al. (2007)**.

Nos données concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) en fonction du pH du milieu révèlent que les trois souches F27, TR7 et CF1 sont capables de produire de l'AIA dans toute la gamme de pH allant de 5 à 9, et leur production varie en fonction du pH du milieu.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1 la valeur maximale de production d'AIA a été observée à pH neutre (pH=7), avec des concentrations de 10,581 µg/ml pour F27, 10,308 µg/ml pour TR7 et 8,907 µg/ml pour CF1. Cette production a diminué dans les milieux acide (pH = 5) et basique (pH = 9) pour les trois souches. Aux pH acides (pH = 5), les concentrations obtenues étaient de 7,532 µg/ml pour F27, 7,407 µg/ml pour TR7 et 5,476 µg/ml pour CF1. Aux pH basiques (pH = 9), les valeurs étaient de 8,012 µg/ml pour F27, 7,707 µg/ml pour TR7 et 8,590 µg/ml pour CF1. Ces résultats concordent avec ceux de **Janani et al. (2017)**; **Kalimuthu et al. (2019)** ; **Lata et al. (2024)**, qui ont également montré que la production maximale de l'AIA par *Pseudomonas* est observée à pH=7. Des résultats similaires ont été observés chez *Acinetobacter* et *Bacillus sp* pour une production maximale d'AIA à pH 7 (**Huddedar et Chopade, 2000**; **Khamna et al., 2010**) .

De plus, selon l'étude **Spaepen et al. (2007)**, la biosynthèse d'AIA augmente dans des conditions de pH basique cela justifie la diminution de la biosynthèse à pH=5 par rapport aux pH=9 dans notre étude.

Nos résultats concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) en fonction du temps d'incubation montrent qu'aucune production d'AIA n'a été enregistrée pour les trois souches après un temps d'incubation de 24 h et 48 h. Cependant les trois souches ont produit de l'AIA après un temps d'incubation de 96h. La valeur maximale a été enregistrée chez la souche F27, avec une concentration de 10,581 µg/ml, suivie de la souche TR7 avec une concentration de 10,308 µg/ml. La valeur minimale a été observée chez la souche CF1, avec une concentration de 8,907 µg/ml. L'absence de production après un temps d'incubation de 24 h et 48 h peut être due au fait que les souches bactériennes étaient

en phase de croissance exponentielle, durant laquelle y a une absence de production car l'énergie et les ressources cellulaires sont utilisées pour la division cellulaire. De plus, des résultats similaires de **Yousef et al. (2018)** et **Kalimuthu et al. (2019)**, ont montré que la production maximale d'AIA était observée au troisième jour d'incubation, moment où les bactéries entreraient en phase stationnaire. À ce stade, la croissance cellulaire ralentit ou cesse, et les bactéries activent des voies métaboliques secondaires, telles que la biosynthèse de l'AIA

Nos résultats concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) en fonction de la concentration en L-tryptophane indiquent que les trois souches sont capables de produire de l'AIA à toutes les concentrations testées, et leur production varie en fonction de la concentration de tryptophane présente dans le milieu.

Chez les souches F27 et TR7, la valeur maximale a été observée à 10 g/l de tryptophane, avec des concentrations de 12,048 µg/ml pour F27 et 10,701 µg/ml pour TR7. Cette production a diminué aux 5 g/l et 2 g/l de tryptophane, avec des concentrations de 10,581 µg/ml et 4,685 µg/ml pour F27, et de 10,308 µg/ml et 4,576 µg/ml pour TR7. Ces résultats confirment que le L-tryptophane est un précurseur indispensable pour la production d'AIA comme cela a été déjà démontré par **Kalimuthu et al. (2019)**. De plus, les études de **Ahmad et al. (2005)** ; **Spaepen et al. (2007)** ; **Patel et al. (2014)** et **Janani et al. (2017)**, indiquent que le taux de production d'AIA augmente proportionnellement à la concentration en L-tryptophane, ce qui corrobore avec nos résultats.

En revanche chez la souche CF 1, la valeur maximale a été observée à 5g/l de tryptophane avec une concentration de 8,907 µg/ml. Cette production a diminué aux 10 g/l et 2 g/l de tryptophane, avec des concentrations de 7,412 µg/ml et 2.121 µg/ml. Ces résultats confirment que le L-tryptophane est un précurseur indispensable pour la production d'AIA comme cela a été déjà démontré par **Kalimuthu et al.( 2019)** .Par ailleurs le taux de production d'AIA augmente proportionnellement à la concentration en L-tryptophane comme il a été déjà confirmée par les études de **Ahmad et al.(2005);Patel et al.(2014 )** ; **Janani et al.(2017)** .Cependant les recherches de **Harikrishnan et al.( 2014)** et **Janani et al.(2017)** indiquent que des concentrations élevées de L-tryptophane exerce un effet négatif et peuvent être inhibitrices la production d'AIA ce qui justifie la diminution de taux d'AIA chez la souche CF1 a la concentration de 10 g/l de L-tryptophane.

Nos résultats concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) en fonction de la source d'azote indiquent que la production d'AIA par les trois souches varie selon la source d'azote utilisée dans le milieu de culture à savoir la peptone, l'extrait de viande ou l'extrait de soja.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1 la valeur maximale de production d'AIA a été observée dans le milieu contenant de la peptone, avec des concentrations de 10,581 µg/ml pour F27, 10,308 µg/ml pour TR7 et 8,907 µg/ml pour CF1.

Cette production a diminué dans les milieux contenant de l'extrait de viande et de l'extrait de soja pour les trois souches. Dans le milieu contenant de l'extrait de soja, les valeurs étaient de 8,994 µg/ml pour F27, 9,048 µg/ml pour TR7 et 7,417 µg/ml pour CF1. Dans le milieu contenant de l'extrait de viande, les concentrations obtenues étaient de 5,972 µg/ml pour F27, 6,861 µg/ml pour TR7 et 5,825 µg/ml pour CF1. Ces résultats montrent que la peptone constitue la meilleure source d'azote pour la production maximale d'AIA, suivie de l'extrait de soja puis de l'extrait de viande. Les fluctuations observées dans le taux de production d'AIA en fonction de la source d'azote utilisée soulignent l'importance de la qualité et de la composition de ces sources dans la régulation de la production d'AIA chez les *Pseudomonas*. Nos résultats ne se coordonnent pas avec ceux de **Janani et al. (2017)** ; **Chandra et al. (2018)** et **Lata et al. (2024)**, qui ont montré une valeur maximale de production d'AIA en présence de l'extrait de levure, de l'extrait de viande et de la tryptone.

Nos résultats concernant l'optimisation de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) en fonction de la source de carbone indiquent que la production d'AIA par les trois souches varie selon la source de carbone utilisée dans le milieu de culture à savoir l'extrait de levure, le sucrose, le fructose, l'amidon ou l'arabinose.

Chez les trois souches F27, TR7 et CF1 aucune production d'AIA n'a été observée dans le milieu contenant de l'amidon. Ce résultat peut être justifié par le fait que l'amidon est un polysaccharide complexe qui ne peut pas être assimilé directement par la bactérie, il nécessite une hydrolyse enzymatique par les enzymes amylolytiques comme l'amylase qui dégrade ce polysaccharide complexe en sucre simple (glucose + fructose) assimilable facilement par la bactérie. L'absence de production d'AIA par les trois souches peut être due à une absence d'enzymes amylolytiques chez ces bactéries. De plus, les études de **Janani et al. (2017)** ; **Chandra et al. (2018)** et **Kalimuthu et al. (2019)** ont montré que les

monosaccharides sont de meilleures sources de carbone que les disaccharides et les polysaccharides pour la production d'AIA, ce qui est en accord avec nos résultats.

Pour la souche F27, la valeur maximale de production a été observée dans le milieu contenant du sucrose, avec une concentration de 22,947 µg/ml. Cette production a diminué dans les milieux contenant du fructose, de l'extrait de levure et de l'arabinose avec des concentrations de 11,405 µg/ml pour le fructose, 10,581 µg/ml pour l'extrait de levure et 5,639 µg/ml pour l'arabinose par rapport au milieu qui contient le sucrose comme source de carbone. Ce résultat indique que le sucrose, qui est un disaccharide constitué de glucose et de fructose, constitue la meilleure source de carbone pour la production d'AIA chez la souche F27. Ce qui est en accord avec les résultats de **Lata et al. (2024)**, qui ont montré que la source de carbone la plus appropriée pour la production la plus élevée d'AIA par les isolats bactériens était le sucrose, suivi du dextrose, du glucose et du fructose. En revanche, nos résultats ne se corroborent pas avec ceux de **Janani et al. (2017)** ; **Chandra et al. (2018)** et **Kalimuthu et al. (2019)**, qui ont montré que les monosaccharides sont de meilleures sources de carbone que les disaccharides et les polysaccharides pour la production d'AIA. Ces variations peuvent être dues aux préférences métaboliques spécifiques à chaque souche.

Chez les souches TR7 et CF1 la valeur maximale de production d'AIA a été observée dans le milieu contenant du fructose avec des concentrations de 13,625 µg/ml pour TR7 et 14,754 µg/ml pour CF1. Cette production a diminué dans les milieux contenant du sucrose, de l'extrait de levure et de l'arabinose par rapport au milieu qui contient le fructose comme source de carbone. Pour la souche TR7 les concentrations obtenues étaient de 13,417 µg/ml pour le sucrose, 10,308 µg/ml pour l'extrait de levure et 5,525 µg/ml pour l'arabinose. Pour la souche CF1 les concentrations obtenues étaient de 10,390 µg/ml pour le sucrose, 8,907 µg/ml pour l'extrait de levure et 5,394 µg/ml pour l'arabinose. Ce résultat montre que la meilleure source de carbone pour la production d'AIA est le fructose, car c'est un monosaccharide facile à assimiler par les souches bactériennes. Cependant, une diminution du taux de production d'AIA dans l'extrait de levure, l'arabinose et le sucrose, est peut-être liée à la spécificité et aux préférences des voies métaboliques des souches.

Nos résultats corroborent partiellement ceux de **Janani et al. (2017)** ; **Chandra et al. (2018)** et **Kalimuthu et al. (2019)**, qui ont montré que les monosaccharides, notamment le fructose, sont de meilleures sources de carbone que les disaccharides et les polysaccharides pour la production d'AIA.

Les résultats de la caractérisation des extraits des souches F27, TR7 et CF1, obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM) après migration ont permis de détecter plusieurs tâches dans chaque extrait

La tâche (A1) de la souche F27, la tâche (A2) de la souche CF1 et la tâche (A3) de la souche TR7 ont montré une ressemblance avec la molécule standard de l'AIA avec un  $RF=0.88$ , ce qui suggère la présence probable de l'AIA dans les extraits des trois souches. Nos résultats de chromatographie sur couche mince (CCM) sont en accord avec les rapports d'autres scientifiques **Xie et al. (1996)** ; **Ahmad et al. (2005)** ; **Janani et al. (2017)**, qui ont montré le même Rapport frontal ( $RF=0.88$ ) et **Kalimuthu et al. (2019)**.

La tâche(B1) de la souche F27, la tâche (B2) de la souche CF1 et la tâche (B3) de la souche TR7 ont présenté un  $RF=0.76$  différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un autre type de métabolites.

La tâche (C1) de la souche F27, la tâche (C2) de la souche CF1 et la tâche (C3) de la souche TR7 ont présenté un  $RF=0.49$  différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un second type de métabolites.

La tâche (D1) de la souche F27, la tâche (D2) de la souche CF1 et la tâche (D3) de la souche TR7 ont présenté un  $RF=0.37$  différent de celui du standard suggérant qu'il s'agit d'un troisième type de métabolites.

Les résultats des tâches B, C et D se corroborent avec les résultats d'**Ahmad et al. (2005)**, qui ont montré qu'outre l'AIA, il existe d'autres composés qui ont également été détectés sur les plaques TLC et restent à identifier. Ces composés peuvent être des dérivés indoliques ou bien d'autres phytohormones.

De plus, la récurrence des mêmes valeurs Rf dans les trois souches indique un profil métabolique similaire, caractérisé par la production de l'AIA ainsi que d'au moins trois autres métabolites différents.

L'application *in vitro* des quatre traitements sur les semences de tomate de la variété *Saint Pierre* a permis de mettre en évidence deux paramètres importants : le taux de germination et l'indice de vigueur.

Les calculs de taux de germination des semences bactérisées avec la souche rhizosperique F27 et des semences bactérisées avec la souche endophytique CF1 ont montré une amélioration sur le taux de germination par rapport au témoin T1, avec des pourcentages respectifs de 96,666 % pour la souche F27 et 100 % pour la souche CF1. Ces résultats se corroborent avec ceux de **Rivera-Conde et al. (2018)**. Cette amélioration est due probablement aux capacités de ces souches à produire une phytohormone, l'AIA et d'autre métabolites secondaire qui stimulent la germination (**Karakan et al., 2024 ; Ali et Moon, 2025**). La souche F27 est productrice de l'AIA avec une concentration de 10,581 ug/ml et la souche CF1 avec une concentration de 8,907 ug/ml.

Cependant, la combinaison de ces deux souches productrices d'AIA sur la germination a montré également une amélioration du taux de germination par rapport au témoin, avec un pourcentage de 83,333 %, mais ce taux reste inférieur aux résultats observés avec les semences bactérisées avec la souche F27 et les semences bactérisées avec la souche CF1. Cela suggère une absence de synergie entre les deux souches. En effet, une véritable synergie impliquerait que l'association des deux souches entraîne un effet supérieur à la somme des effets individuels, ce qui n'est pas le cas ici. Au contraire, les résultats obtenus indiquent que la combinaison pourrait avoir limité le potentiel optimal de chaque souche (**Sadiq et al., 2023**). Ce phénomène pourrait s'expliquer par des mécanismes d'antagonisme, une compétition pour les nutriments, ou une interférence dans la production de métabolites bioactifs (**Köhl et al., 2019**).

De plus l'analyse de la variance (ANOVA) a montré qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative entre les quatre traitements (T1 à T4) au seuil de 5 %

La probabilité calculée ( $p = 0,512$ ) est supérieure au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , et la valeur de F calculée ( $F = 0.75$ ) est inférieure à la valeur critique de F ( $F_{crit} = 5.143$ )

Ces résultats suggèrent que, bien qu'il puisse exister des variations apparentes entre les pourcentages de germination selon les traitements, ces différences ne sont pas significatives d'un point de vue statistique. On ne peut donc pas attribuer l'augmentation du taux de germination à l'effet différentiel des traitements testés avec un seuil de 5 %.

Les calculs des indices de vigueur des semences bactérisées avec la souche rhizosperique F27 et des semences bactérisées avec la souche endophytique CF1 ont montré

une amélioration sur l'indice de vigueur par rapport au témoin T1, avec des valeurs respectifs de 1087.666 cm pour la souche F27 et 938.666cm pour la souche CF1 ces résultats se corroborent avec (Cardarelli et al., 2022)

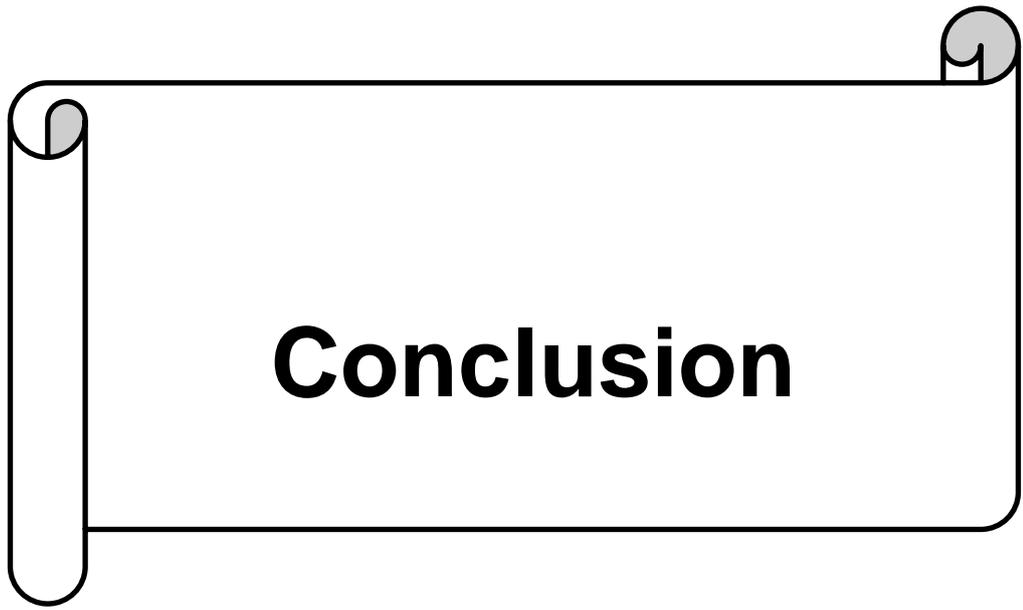
Concernant les semences traitées avec l'association des souches F27 + CF1, un indice de vigueur de 801 cm a été observé, également supérieur au témoin, mais inférieur à ceux obtenus avec les traitements T2 et T3 (semences traitées séparément avec les souches F27 et CF1 respectivement) ces résultats ne se corroborent pas avec l'étude de (Konappa et al., 2020).

En outre l'analyse de la variance (ANOVA) de l'indice de vigueur a montré qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative entre les quatre traitements (T1 à T4) au seuil de 5 %.

La probabilité calculée ( $p = 0,0905$ ) est supérieure au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , et la valeur de F calculée ( $F = 3,076$ ) est inférieure à la valeur critique de F ( $F_{crit} = 4,066$ ).

Ces résultats indiquent que tous les groupes sont statistiquement homogènes et il n'existe pas d'hétérogénéité entre eux au seuil de 5 %. Cette homogénéité entre les groupes pourrait s'expliquer par la sensibilité relative de l'indice de vigueur comme paramètre discriminant, de plus l'indice de vigueur pourrait être moins sensible aux variations hormonales ou microbiennes que d'autres paramètres, comme le dosage de la chlorophylle, le calcul de poids frais et poids sec ainsi que la longueur de la plantule

Une étude similaire de Nantoumé (2023), a montré que certaines bactéries endophytes ont significativement augmenté la longueur des tiges et l'indice de vigueur des plantes. En revanche, elles n'ont pas eu d'effet significatif sur la longueur des racines et le taux de germination.



**Conclusion**

La rhizosphère est un environnement biologique dynamique où s'effectuent des interactions complexes entre les racines et les bactéries bénéfiques telles que *Pseudomonas fluorescens*, qu'elle soit d'origine rhizosphérique ou endophytique. Cette bactérie joue un rôle crucial dans la régulation et la stimulation de la croissance des végétaux via la biosynthèse de phytohormones, notamment l'acide indole-3-acétique (AIA).

La caractérisation phénotypique et biochimique (galeries API 20 E) des dix souches (TC1, TB1, F48, F21, BB10, TBR51, KHE7, CF1, TR7, F27), préalablement isolées à partir de sols de palmier dattier, a confirmé qu'il s'agit de *Pseudomonas fluorescens*.

La sélection que nous avons menée a permis de dire que les dix souches sont toutes productrices d'acide indole-3-acétique (AIA), avec des concentrations variables allant de 0,747 µg/ml chez la souche rhizosphérique TC1 jusqu'à 10,581 µg/ml chez la souche rhizosphérique F27.

L'optimisation des paramètres de production de l'AIA par les trois souches les plus productrices (F27, TR7 et CF1) a mis en évidence que cette production est influencée par plusieurs facteurs, notamment la température, le temps d'incubation, le pH du milieu, la concentration en tryptophane, ainsi que la nature des sources d'azote et de carbone. L'optimisation de ces paramètres a permis soit d'augmenter soit de diminuer la quantité d'AIA produite, tout dépend du type de souche, soit endophytique soit rhizosphérique, et de ses préférences métaboliques. En particulier, la souche CF1 s'est distinguée par la stabilité de sa production d'AIA à des températures élevées, révélant ainsi une thermotolérance notable et un potentiel intéressant en conditions de stress thermique.

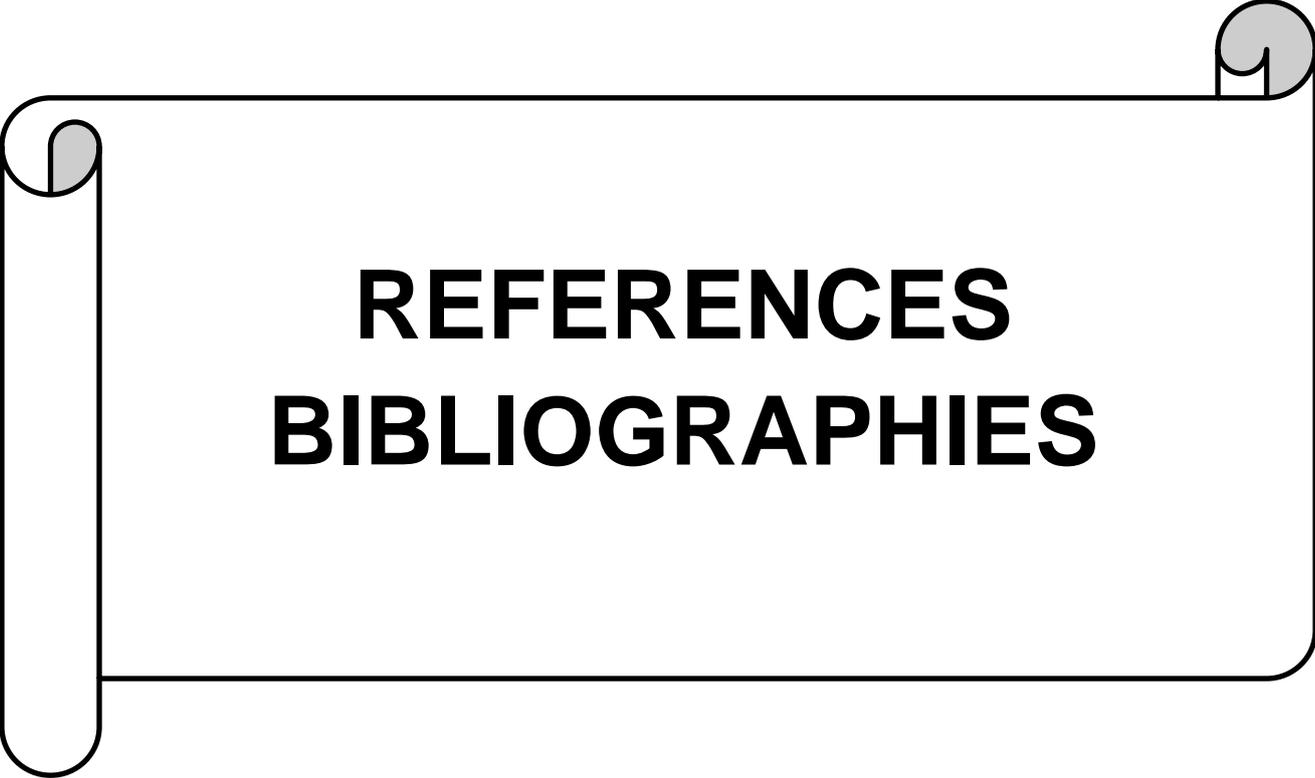
La présence d'AIA a été confirmée dans les extraits des souches F27, TR7 et CF1 par chromatographie sur couche mince (CCM), avec un rapport frontal identique à celui du standard. Pour la souche F27, l'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a révélé un temps de rétention et des spectres UV similaires à ceux de l'AIA standard, confirmant également sa présence.

L'application *in vitro* des quatre traitements (T1 à T4) a permis d'évaluer le taux de germination et l'indice de vigueur des semences. Les semences bactérisées avec la souche rhizosphérique F27 et des semences bactérisées avec la souche endophytique CF1 ont significativement amélioré le taux de germination et l'indice de vigueur par rapport au

témoin T1. Tandis que les semences traitées avec l'association des souches F27 + CF 1 ont également montré une amélioration, bien que moins marquée que celles observées avec T2 et T3. En revanche, l'analyse statistique (ANOVA) de taux de germination et l'indice de vigueur n'a révélé aucune différence significative entre les traitements au seuil de 5 %.

Les perspectives qui résultent de ce travail sont nombreuses et multiples

- ✓ Identifier moléculairement les gènes impliqués dans la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) et les voies métaboliques impliquées.
- ✓ Optimiser d'autres paramètres de production tels que la concentration en NaCl ainsi que celle d'autres phytohormones (cytokinines, gibbérellines) et effectuer une optimisation combinée de l'ensemble des paramètres afin de déterminer les conditions maximales de production en vue d'une application industrielle.
- ✓ Optimiser la production d'AIA à partir de déchets biologiques valorisés telle que le lactosérum, mélasse
- ✓ Identifier les autres métabolites présents dans les extraits des souches F27, TR7 et CF1 observés par CCM, en utilisant des techniques récentes et performantes telles que la chromatographie liquide ultra-performante (UPLC).
- ✓ Caractériser les extraits des souches F27, TR7 et CF1 par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) et par chromatographie liquide ultra-performante (UPLC).
- ✓ Applique *in vivo* ces souches productrices d'AIA sur les semences de tomate et sur d'autres espèces végétales.
- ✓ Exploiter et commercialiser ces souches en tant que biostimulants pour réduire l'usage des intrants chimiques et promouvoir une agriculture durable.
- ✓ Exploiter et formuler des bio-inoculants thermotolérants à base de la souche CF1, utilisables dans des environnements chauds ou soumis à de fortes variations climatiques.



**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIES**

- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973).** Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13(6), 630–633
- Adeleke, R. W., & Babalola, O. O. (2022).** Roles of plant growth-promoting endophytic microbes in agriculture: Mechanisms, applications, and future prospects. *Sustainable Food Systems*, 6, 903114.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019).** Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36–49.
- 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
- Ahli, M., Benoussaid, N., & Khelifi, S. (2022).** Impact of *Pseudomonas fluorescens* on plant growth promotion under saline conditions. *Journal of Microbial Ecology*, 58(4), 345–360.
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2005).** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and its effect on the growth of *Triticum aestivum* L. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(2), 129–132.
- Ahmed, E., & Holmström, S. J. M. (2014).** Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208.
- Ajijah, N., Fiodor, A., Pandey, A. K., Rana, A., & Pranaw, K. (2023).** Plant growth-promoting bacteria (PGPB) with biofilm-forming ability: A multifaceted agent for sustainable agriculture. *Diversity*, 15(1), Article 112.
- Alemneh, A. A., Cawthray, G. R., Zhou, Y., Ryder, M. H., & Denton, M. D. (2021).** Ability to produce indole acetic acid is associated with improved phosphate solubilising activity of rhizobacteria. *Archives of Microbiology*, 203, 3825–3837
- Ali, M. A., Luo, J., Ahmed, T., Zhang, J., Xie, T., Dai, D., Jiang, J., Zhu, J., Hassan, S., Alorabi, J. A., Li, B., & An, Q. (2022).** *Pseudomonas* *bijieensis* Strain XL17 within the *P. corrugata* subgroup producing 2,4-diacetylphloroglucinol and lipopeptides controls bacterial canker and gray mold pathogens of kiwifruit. *Microorganisms*, 10(2), 425.
- Ali, S., & Moon, Y.-S. (2025).** Unveiling auxin's role in seed dormancy, germination and possible impact of IAA-producing PGPR in seed bio-priming and plant growth. *Pakistan Journal of Botany*, 57(2), 1–8.
- Ali, S., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2012).** Endophytic phytohormones and their role in plant growth promotion. Dans *Functional Importance of the Plant Microbiome* (pp. 89–105) [Chapitre 7]. Springer.
- Anderson, H. M., Cagle, G. A., Majumder, E. L.-W., Silva, E., Dawson, J., Simon, P., & Freedman, Z. B. (2024).** Root exudation and rhizosphere microbial recruitment are influenced by novel plant trait diversity in carrot genotypes. *bioRxiv*

- Apine, O. A., & Jadhav, J. P. (2011).** Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *Journal of Applied Microbiology*, 110(5), 1235–1244.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Eden, H., Murrell, J., Eskin, N., ... Garcia-Mena, J. (2018).** Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1473
- Bagul, V., Magar, S., Markad, H. N., & Khillare, P. (2023, septembre).** Isolement et caractérisation des isolats de *Pseudomonas fluorescens* provenant de différents sols rhizosphériques du district de Latur, au Maharashtra. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 10(3), 528.
- Bandi, L., Lakshmisetty, N. S., Ankireddy, K., Pulipati, L. L. V., Bontu, A. L., Aluru, R. R., & Chanda, C. (2023).** Optimization of lipase production from *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Biochemical Technology*, 14(4), 25–32
- Barra Caracciolo, A., & Terenzi, V. (2021).** Rhizosphere microbial communities and heavy metals. *Microorganisms*, 9(7), 146
- Bartling, D., Seedorf, M., Mithöfer, A., & Weiler, E. W. (1992).** Cloning and expression of an *Arabidopsis* nitrilase which can convert indole-3-acetonitrile to the plant hormone indole-3-acetic acid. *European Journal of Biochemistry*, 205(2), 417–424
- Bending, G. D., et al. (2025).** Diurnal rhythmicity in the rhizosphere microbiome—Mechanistic insights and significance for rhizosphere function. *Plant, Cell & Environment*, 48(3), 2040–2052.
- Benoussaid, N. (2018).** Étude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolisme secondaire lié au biocontrôle et à la phytostimulation chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents (Thèse de doctorat en Biologie, Université Saad Dahlab–Blida 1, Algérie). Université Saad Dahlab–Blida 1. 764 p.
- Bishnu, A., Phadte, P., Dhadve, A., Sakpal, A., Rekhi, B., & Ray, P. (2021).** Molecular imaging of the kinetics of hyperactivated ERK1/2-mediated autophagy during acquirement of chemoresistance. *Cell Death & Disease*, 12(2), 161.
- Bloomfield, S. J., Palau, R., Holden, E. R., Webber, M. A., & Mather, A. E. (2024).** Genomic characterization of *Pseudomonas* spp. on food: implications for spoilage, antimicrobial resistance and human infection. *BMC Microbiology*, 24(1), 20
- Bouremani, N., Cherif-Silini, H., Silini, A., Bouket, A. C., Luptakova, L., Alenezi, F. N., Baranov, O., & Belbahri, L. (2023).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Rampart against the Adverse Effects of Drought Stress. *Water*, 15(3), 418

**Bric, J. M., Bostock, R. M., & Silverstone, S. E. (1991).** Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2), 535–53

**CABI Compendium. (2022).** CABI compendium (ISSN 2958-3969). Wallingford, UK : CAB International. Consulté sur <https://www.cabidigitallibrary.org/cabicompendium>

**Cardarelli, M., Colla, G., Roupael, Y., & Rea, E. (2022).** Plant growth-promoting rhizobacteria: Mechanisms and applications in sustainable agriculture. *Journal of Applied Microbiology*, 132(5), 1234–1248.

**Chandra, S., Askari, K., & Kumari, M. (2018, décembre).** Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 581–586

**Chauhan, P., Sharma, N., Tapwal, A., Kumar, A., Verma, G. S., Meena, M., Seth, C. S., & Swapnil, P. (2023).** Soil microbiome: Diversity, benefits and interactions with plants. *Sustainability*, 15(19), Article 14643.

**Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010).** Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 669–678.

**Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019).** A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research*, 19, 29–37.

**Das, A. J., Kumar, R., & Podile, A. R. (2013).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizer: Mechanisms and applications. *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*, 1(4), 21–23.

**De Vos, P., et al. (2009).** *Pseudomonas*. In P. De Vos (Ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed., Vol. 2, Part B, pp. 646–703). Springer.

**Djaya, L., Istifadah, N., Hartati, S., & Made Joni, I. (2019).** In vitro study of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and endophytic bacteria antagonistic to *Ralstonia solanacearum* formulated with graphite and silica nanoparticles as a biocontrol delivery system (BDS). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, Article 101153.

**Dlamini, W. N., Lai, W.-A., Chen, W.-C., & Shen, F.-T. (2025).** Unveiling the Thermotolerance and Growth-Promoting Attributes of Endophytic Bacteria Derived from *Oryza sativa*: Implications for Sustainable Agriculture. *Microorganisms*, 13(4), 766.

**Duca, D., Lory, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2018).** Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111(5), 609–625

- Elsevier, A., Smith, B., Jones, C., Patel, D., & Wang, E. (2024).* Biofilm formation and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: A comprehensive overview. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Fanai, A., Bohia, B., Lalremruati, F., Lalhriatpuii, N., Lalrokimi, L., Lalmuanpuii, R., Singh, P. K., & Zothanpuia. (2024).** Plant growth promoting bacteria (PGPB)–induced plant adaptations to stresses: An updated review. *PeerJ*, 12, e17882.
- Fu, S.-F., Wei, J.-Y., Chen, H.-W., Liu, Y.-Y., Lu, H.-Y., & Chou, J.-Y. (2015).* Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling & Behavior*, 10(8), e1048052.
- Garrido-Sanz, D., Meier-Kolthoff, J. P., Göker, M., Martín, M., & Rivilla, R. (2016).** Genomic and genetic diversity within the *Pseudomonas fluorescens* complex. *PLoS ONE*, 11(2), e0150183
- Giri, B., Sinha, A., & Prasad, R. (2020).** Microbial production of phytohormones. In R. Prasad (Ed.), *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 163–190). Springer
- Gomes, G. L. B., & Scortecci, K. C. (2021).* Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology*, 23(6), 894–904.
- Gomila, M., Busquets, A., Mulet, M., García-Valdés, E., & Lalucat, J. (2017).** Clarification of taxonomic status within the *Pseudomonas syringae* species group based on a phylogenomic analysis. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2422
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Alekhya, G., et al. (2015).* The extent of grain yield and plant growth enhancement by plant growth-promoting broad-spectrum *Streptomyces* sp. in chickpea. *SpringerPlus*, 4, 31
- Goswami, M., & Deka, S. (2022).** Rhizodeposits: An essential component for microbial interactions in rhizosphere. In S. Deka & J. P. Verma (Eds.), *Rhizosphere biology – Revisiting the rhizosphere eco-system for agricultural sustainability* (pp. 129–151). Springer Nature Singapore
- Guiraud, J.-P. (1998).* *Microbiologie alimentaire. Paris: Dunod*
- Haas, D., & Défago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307–319
- Hakeem, K. R., Akhtar, M. S., & Abdullah, S. N. (Eds.). (2016).** *Plant, Soil and Microbes : Volume 1 – Implications in Crop Science. Cham, Suisse : Springer International Publishing*
- Hall, E. K., et al. (2018).* Understanding how microbiomes influence the systems they inhabit. *Nature Microbiology*, 3(9), 977–982
- Harbawi, M. A., Al-Barhawe, N. I. K., & Al-Wazzan, F. A. (2023).** Estimation of indole-3-acetic acid production from new molecularly characterized rhizobacterial strains. University

of Mosul, College of Agriculture and Forestry, Department of Soil Science and Water Resources.

**Harikrishnan, H., Shanmugaiah, V., & Balasubramanian, N. (2014).** Optimisation de la production d'acide indole acétique (IAA) par des *Streptomyces* sp. VSMGT1014 isolés de la rhizosphère du riz et favorisant la croissance des plantes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8), 158–171.

**Hildebrand, C., Wiberg, J., & Holje, L. (1988).** Trigeminal alveolar nerve of the lower jaw in the cichlid *Tilapia mariae*: evidence for continual axon generation and presence of exceptionally small myelinated axons. *Journal of Comparative Neurology*, 272, 309–316.

**Hnini, M., & Aurag, J. (2024).** Prévalence, diversité et potentiel d'application des bactéries endophytes nodulaires : une revue systématique. *Frontiers in Microbiology*, 15, Article 1386742

**Huddedar, A. V., & Chopade, B. A. (2000).** Production of plant growth promoter indole-3-acetic acid by *Acinetobacter* strains isolated from rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(5), 520–523.

**Iqbal, S., Xu, J., Khan, S., Arif, M. S., Yasmeen, T., Nadir, S., & Schaefer, D. A. (2021).** Deciphering microplastic ecotoxicology: Impacts on crops and soil ecosystem functions. *Circular Agricultural Systems*, 1, Article 10

**Janani N, Revathi K, Rengarajan R, Anjalai K, Vidhya G.** Production d'acide indole acétique par *Pseudomonas fluorescens* et son effet sur l'élongation des racines de *Vigna radiata*. *Int J Curr Res*. 2017 Oct;9(10):58454–60.

**Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospective and mechanisms – A review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 733–749.

**Kabato, W. S., & Janda, T. (2023).** Dévoiler l'importance de la rhizosphère : implications pour la croissance des plantes, la réponse au stress et l'agriculture durable. *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108290.

**Kalimuthu, R., Suresh, P., Varatharaju, G., Balasubramanian, N., Rajasekaran, K. M., & Shanmugaiah, V. (2019).** Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing tomato rhizobacterium *Pseudomonas* sp. VSMKU4050 and its potential for plant growth promotion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), 443–455

**Kandel, S. L., Joubert, P.-M., & Doty, S. L. (2017).** Biological nitrogen fixation and plant growth promotion properties of endophytic bacteria isolated from poplar and willow. *Symbiosis*, 73(3), 83–95.

**Karakan, F. Y., Kaymak, H. Ç., Akan, S., Ercisli, S., Assouguem, A., Ullah, R., Ali, E. A., & Fidan, H. (2024).** Revealing the effects of amino acid, organic acid, and

phytohormones on the germination of tomato seeds under salinity stress. *Open Life Sciences*, 19(1), 20220892

**Khamna, S., Tanasupawat, S., & Takeuchi, T. (2010).** Optimization of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Streptomyces* sp. CMU-H009 isolated from rhizosphere soil of medicinal plants. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4(1), 24–28.

**Khan, M. A., Gangopadhyay, S., Jatav, H. S., & Meena, R. K. (2022).** *Pseudomonades fluorescentes* : diversité, abondance et applications biotechnologiques potentielles en agriculture. In *Services écosystémiques : types, gestion et avantages* (pp. [pages]). Nova Science Publishers, Inc

**Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. (2009).** Plant growth-promoting rhizobacteria: Emerging trend in agriculture. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(1), 1–12

**Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., Poudel, T. R., Manghwar, H., & Liu, F. (2024).** Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, 1100341

**King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44(2), 301–307.

**Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., & Schroth, M. N. (1980).** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286(5776), 885–886.

**Kochar, M., Upadhyay, A., & Srivastava, S. (2011).** Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. *Research in Microbiology*, 162(4), 426–435

**Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019).** Mode d'action des agents de lutte biologique microbienne contre les maladies des plantes : une pertinence au-delà de l'efficacité. *Frontiers in Plant Science*, 10, 845

**Korasick, D. A., Enders, T. A., & Strader, L. C. (2013).** Auxin biosynthesis and storage forms. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2541–2555.

**Kumar, A., Mishra, S., Pandey, R., Yu, Z., Kumar, M., Khoo, K. S., et al. (2023).** Microplastics in terrestrial ecosystems: Un-ignorable impacts on soil characteristics, nutrient storage and its cycling. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry*, 158, 116869

**Labhassetwar, A. A., Bramhankar, S. B., Pillai, T. S., Isokar, S. S., Dinkwar, G. T., & Bhure, S. S. (2023).** Biochemical and physiological characterizations of *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(1), 299–303.

**Lamichhane, J. R., & Varvaro, L. (2012).** A new medium for the detection of fluorescent pigment production by pseudomonads. *Plant Pathology*, 61(6), 1248–1256.

- Larbaoui-Dahoumane, A., & Benchabane, M. (2023).** Effet de *Pseudomonas fluorescens* sur la germination du cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) et d'une légumineuse (*Acacia nilotica*). *Revue des Bio Ressources*, 13(1), 1–15.
- Lata, D. L., Abdie, O., & Rezene, Y. (2024).** IAA-producing bacteria from the rhizosphere of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Isolation, characterization, and their effects on plant growth performance. *Archives of Microbiology*, 206, Article 181.
- Latour, X., Corberand, T., Laguerre, G., Allard, F., & Lemanceau, P. (1996).** The composition of fluorescent *Pseudomonas* populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7), 2449–2456
- Lemanceau, P., Barret, M., Mazurier, S., Mondy, S., Pivato, B., Fort, T., & Vacher, C. (2017).** Plant communication with associated microbiota in the spermosphere, rhizosphere and phyllosphere. Dans G. Becard (Éd.), *How Plants Communicate with their Biotic Environment* (pp. 101–133). Academic Press.
- Li, H. (2025).** Éditorial : Perspectives en génomique végétale fonctionnelle et appliquée : 2023. *Frontiers in Plant Science*, 16.
- Li, J., Nie, M., Ma, H., Tao, X., Soleil, Y., Tu, X., Zhang, P., Zhang, L.-Q., Jia, R., He, Y.-X., Zhang, N., & Ge, H. (2023).** Quorum sensing coordinates carbon and nitrogen metabolism to optimize the production of public goods in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *The ISME Journal*, 17(2), 249–262
- Li, K., Fang, S., Zhang, X., & Wei, X. (2024).** Effects of environmental stresses on 2-phenylethanol and IAA production by *Enterobacter* sp. CGMCC 5087. *Microorganisms*, 12(4), 663.
- Liu, X., Wang, Y., Zhang, L., et al. (2024).** Mechanisms of rhizosphere plant–microbe interactions: physiological adjustments and signal modulation. *Frontiers in Plant Science*, 15:1491495
- Ljung, K. (2013).** Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, 140(5), 943–950
- Loper, J. E., & Schroth, M. N. (1966).** Molybdenum-reducing substances produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 56, 104–109.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009).** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021).** *Brock Biology of Microorganisms (16th ed.)*. Pearson.
- Mahdi, I., Fahsi, N., Hijri, M., & Sobeh, M. (2022).** Antibiotic resistance in plant growth-promoting bacteria: A comprehensive review and future perspectives to mitigate potential genetic invasion risks. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 999988.

**Mehmood, U., Ahmed, I., Khan, S. T., Khan, M. S., & Aziz, M. (2023).** Multifaceted impacts of plant-beneficial *Pseudomonas* spp. in managing various plant diseases and crop yield improvement. *ACS Omega*, 8(14), 12560–12573.

**Mengistu F. Mekureyaw, C. Pandey, R. C. Hennessy, M. H. Nicolaisen, F. Liu, O. Nybroe & T. Roitsch (2022).** The cytokinin-producing plant beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* G20-18 primes tomato (*Solanum lycopersicum*) for enhanced drought stress responses. *Journal of Plant Physiology*, 270, 153629.

**Migula, W. (1900).** System der Bakterien. Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien (Vol. 2, pp. 884–885). Gustav Fischer

**Monteiro, A. M., & Crozier, A. (1988).** Transfer of exogenous auxin from the phloem to the polar auxin transport pathway in pea. *Planta*, 176(3), 247–253

**Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J. (2005).** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1729–1739

**Mulet, M., Lalucat, J., & García-Valdés, E. (2010).** DNA sequence–based analysis of the *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology*, 12(6), 1513–1530.

**Müller, B., & Sheen, J. (2008).** Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature*, 453(7198), 1094–1097.

**Nantoumé, D. (2023).** In vitro screening of bacterial endophytes isolated from rice roots for their plant growth promoting traits. *South Asian Journal of Research in Microbiology*, 17(1), 24–33.

**Ng, C. W. W., Yan, W. H., Tsim, K. W. K., So, P. S., Xia, Y. T., & To, C. T. (2022).** Effects of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* as the soil amendment. *Heliyon*, 8(11), e11575.

**Normanly, J., Slovin, J. P., & Cohen, J. D. (2010).** Auxin biosynthesis and metabolism. In P. J. Davies (Ed.), *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* (pp. 36–62). Springer

**Nutaratat, P., Srisuk, N., Arunrattiyakorn, P., & Limtong, S. (2016).** Indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in the basidiomycetous yeast *Rhodosporidium paludigenum*. *Archives of Microbiology*, 198(5), 429–437

**Ona, O., Smets, I., Gysegom, P., & Bernaerts, K. (2003).** L'effet du pH sur la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (IAA) d'*Azospirillum brasilense* Sp7. *Symbiose*, 35(1), 199–208.

**Oppenheimer-Shaanan, Y., Jakoby, G., Starr, M. L., Karliner, R., Eilon, G., Itkin, M., Malitsky, S., & Klein, T. (2022).** A dynamic rhizosphere interplay between tree roots and soil bacteria under drought stress. *eLife*, 11, e79679

- Palleroni, N. J. (1984).** Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In N. R. Krieg & J. G. Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 1, pp. 141–199). Williams & Wilkins.
- Parks, D. H., Chuvochina, M., Chaumeil, P. A., Rinke, C., Mussig, A. J., Waite, D. W., ... & Hugenholtz, P. (2023).** Genome Taxonomy Database (GTDB) release R226. Ecogenomics, University of Queensland. <https://gtdb.ecogenomic.org/>
- Parmesan, C. (2007).** Conservation Achievement Award in Science. National Wildlife Federation.
- Parvin, W., Rahman, M. M., Govender, N. T., & Wong, M. Y. (2020).** Identification, determination and quantification of indole-3-acetic acid produced by *Pseudomonas aeruginosa* UPMP3 and its effect on the growth of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *World Journal of Agricultural Research*, 8(3), 75–83.
- Passarelli-Araujo, H., Franco, G. R., & Venancio, T. M. (2022).** Network analysis of ten thousand genomes shed light on *Pseudomonas* diversity and classification. *Microbiological Research*, 254, 126919.
- Patel, D., Saraf, M., & Ghosh, A. (2014).** Isolation and characterization of indole acetic acid producing plant growth promoting rhizobacteria from rhizosphere of *Bacopa monnieri*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 265–274.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002).** Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795–3801.
- Pérez Cordero, A., Montes Vergara, D. E., & Aguas Mendoza, Y. (2023).** Indole-3-acetic acid production by *Pseudomonas fluorescens* LC830621.1 under high temperature conditions. Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias et Facultad de Ingeniería, Colombia
- Pérez Cordero, A., Montes Vergara, D. E., & Aguas Mendoza, Y. (2024).** Indole-3-acetic acid production by *Pseudomonas fluorescens* LC830621.1 under high temperature conditions. *Evolutionary Studies in Imaginative Culture*, 8(1 Suppl 2), 2123–2127. Posté le 19 juin 2024.
- Perry, L. G., Weir, T. L., Bais, H. P., Callaway, R. M., & Vivanco, J. M. (2004).** How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 9(1), 26–32.
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W. H. (2013).** Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789–799.
- Pieterse, C. M. J., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S. C. M. (2014).** Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52(1), 347–375.

- Pusztahelyi, T., Holb, I. J., & Pócsi, I. (2015).** Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Frontiers in Plant Science*, 6, 573.
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moëgne-Loccoz, Y. (2016).** The rhizosphere: a playground and battlefield for soil-borne pathogens and beneficial microorganisms. *Journal of Plant Pathology*, 90(5), 635–644.
- Rajkumar, M., & Freitas, H. (2008).** Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology*, 99(9), 3491–3498.
- Ravelomanantsoa, S. (2004).** Biologie des populations du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* phylotype III. *Infection, Genetics and Evolution*, 4, 205–213.
- Rijavec, T., & Lapanje, A. (2016).** Hydrogen cyanide in the rhizosphere: Not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1785.
- Ringel, M. T., & Brüser, T. (2018).** The biosynthesis of pyoverdines. *Microbial Cell*, 5(10), 424–437.
- Rivera-Conde, M. I., Aranda-Ocampo, S., Carrillo-Castañeda, G., Gijón-Hernández, A. R., & Bueno-Aguilar, G. M. (2018).** Effect of fluorescent *Pseudomonas* on tomato seed germination and seedling vigor. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 24(2), 121–131
- Sadiq, F. A., De Reu, K., Burmølle, M., Maes, S., & Heyndrickx, M. (2023).** Synergistic interactions in multispecies biofilm combinations of bacterial isolates recovered from diverse food processing industries. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 9(1), 28
- Santos, C. A., & Cenci, M. (2017).** Predictive modeling of *Pseudomonas fluorescens* growth under different temperature and pH conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 286–293.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. d. C., & Glick, B. R. (2016).** Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99.
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. d. C., & Glick, B. R. (2021).** Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology*, 10(6), 475
- Sasse, J., Martinoia, E., & Northen, T. (2018).** Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? *Trends in Plant Science*, 23(1), 25–41.
- Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2014).** Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 927–948

- Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2014).** Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 927–948
- Sharma, I., Kashyap, S., & Agarwala, N. (2023).** Biotic stress-induced changes in root exudation confer plant stress tolerance by altering rhizospheric microbial community. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1132824.
- Simon, Y. A., Brestovitsky, A., & Friml, J. (2020).** Auxin Transporters — A Biochemical View. *Plant Physiology*, 184(2), 345–359
- Sokolowski, E. K., Kursawe, R., Selvam, V., Bhuiyan, R. M., Thibodeau, A., Zhao, C., Spracklen, C. N., Ucar, D., & Stitzel, M. L. (2024, November 5).** Multi-omic human pancreatic islet endoplasmic reticulum and cytokine stress response mapping provides type 2 diabetes genetic insights. *Cell Metabolism*, 36(11), 2468–2488.e7
- Sørensen, J., & Sessitsch, A. (2015).** Plant-associated bacteria: lifestyle and molecular interactions. In R. Kumar (Ed.), *Plant Microbe Symbiosis – Fundamentals and Advances* (pp. 45–68). Springer.
- Spaepen, S., & Vanderleyden, J. (2011).** Auxin and plant–microbe interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(4), a001438.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448.
- Sravani, A., & Patil, C. R. (2023).** Isolation and characterization of *Pseudomonas fluorescens* from forest soils of Uttar Karnataka with high regeneration. *The Pharma Innovation Journal*, SP-12(9), 1705–1708
- Sun, J., Zhao, Q., Gao, Y.-N., Long, Q.-G., Yan, W.-J., & Zhang, P.-D. (2024).** Restoration of degraded seagrass meadows: Effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on *Zostera marina* growth, rhizosphere microbiome and ecosystem functionality. *Journal of Environmental Management*, 371, 123286
- Sun, W., Li, Q., Qiao, B., Jia, K., Li, C., & Zhao, C. (2024).** Advances in Plant–Soil Feedback Driven by Root Exudates in Forest Ecosystems. *Forests*, 15(3), 515.
- Suslow, T. V., & Schroth, M. N. (1982).** Role of deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology*, 72(1), 111–115.
- Tang, C., Wang, S., Goldsack, T., & Lin, C. (2023).** Improving biomedical abstractive summarisation with knowledge aggregation from citation papers. *In Proceedings of EMNLP 2023* (pp. 606–618). Singapore: Association for Computational Linguistics.
- Teale, W. D., Paponov, I. A., & Palme, K. (2006).** Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(11), 847–859.

**Truyens, S., Weyens, N., Cuypers, A., & Vangronsveld, J. (2014).** Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 6(1), 40–50.

**Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Yu., Cherdyntseva, T. A., & Netrusov, A. I. (2006).** Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(2), 117–126.

**Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., Rajput, V. D., Chauhan, P. K., Bhojiya, A. A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., & Minkina, T. (2022).** Root exudates: Mechanistic insights into plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *Frontiers in Microbiology*, 13, 916488.

**Vasanthabharathi, V., Ramasamy, L., & Singaram, J. L. (2025).** Utilisation durable des sources de carbone pour la production d'acide indole-3-acétique par *Pseudomonas fluorescens* BCPBMS-1 marin à l'aide de l'approche « un facteur à la fois ». *Asian Journal of Biological Sciences*, 18(2 Adv), 300–307.

**Vega-Celedón, P., Castillo-Navales, D., Bravo, G., Cárdenas, F., Romero-Silva, M. J., & Seeger, M. (2024).** Synthèse et dégradation de la phytohormone acide indole-3-acétique par la bactérie polyvalente *Paraburkholderia xenovorans* LB400 et sa promotion de la croissance de la plante *Nicotiana tabacum*. *Plants*, 13(24), 3533

**Venturi, V. (2006).** Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), 274–291.

**Verbon, E. H., & Liberman, L. M. (2016).** Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends in Plant Science*, 21(3), 218–229

**Vives-Peris, V., Pérez-Clemente, R. M., & Alegre, L. (2020).** Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Reports*, 39(1), 3–17.

**Wang, M., & Yang, X. (2024).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on blueberry growth and rhizosphere soil microenvironment. *PeerJ*, 12, e16992

**Xie, H., Pasternak, J. J., & Glick, B. R. (1996).** Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria that reduce stress-induced ethylene production in plants. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(11), 1072–1080.

**Yan, X., Li, Y., Zhao, H., Zhang, W., & Wu, J. (2023).** Mechanisms of colonization and persistence of gut commensal bacteria across age and dietary habits in a Chinese population. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1176453.

**Yang, L., Qian, X., Zhao, Z., Wang, Y., Ding, G., & Xing, X. (2024).** Mechanisms of rhizosphere plant–microbe interactions: Molecular insights into microbial colonization. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1491495.

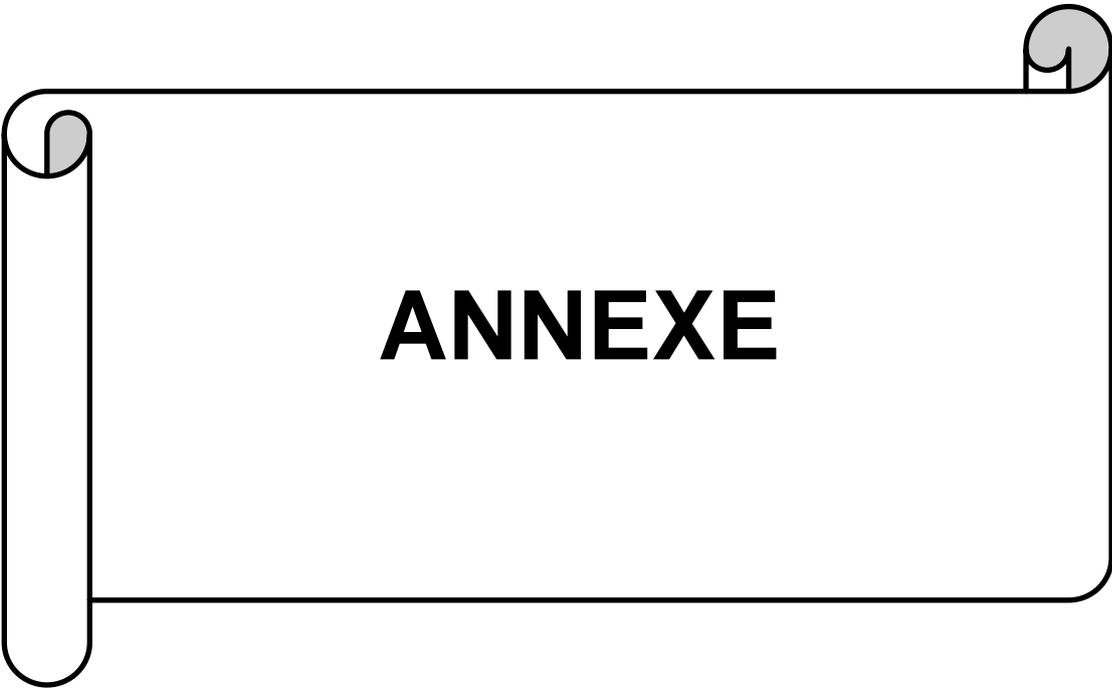
*Yousef, H. H., El-Meihy, R. M., & Ageez, A. (2018).* Indole-3-acetic acid production by plant-associated bacteria: An overview. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 8(2), 1–10.

*Zazímalová, E., Petrášek, J., & Benková, E. (2010).* Auxin transport and its role in plant development. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(4), 665–674.

*Zboralski, Antoine & Fillion, Martin. (2023).* Genome exploration and ecological competence are key to developing effective *Pseudomonas*-based biocontrol inoculants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 45, 330–339.

*Zhang, L., Liu, Q., Pan, H., Li, X., & Guo, D. (2021).* Characterization and synthesis of indole-3-acetic acid in plant-associated bacteria. *RSC Advances*, 11(55), 36323–36331.

*Zhang, R., Li, Y., Zhao, X., Degen, A. D., Lian, J., Liu, X., Li, Y., & Duan, Y. (2022).* Fertilizers have a greater impact on the soil bacterial community than on the fungal community in a sandy farmland ecosystem, Inner Mongolia. *Ecological Indicators*, 140, 108972



## Annexe 01

## I. Milieu de culture

Le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes, à une température d'environ 120 °C. Ces ingrédients pour 1 litre d'eau distillée.

Il est ensuite placé à température ambiante afin de le refroidir pour le manipuler plus facilement et surtout afin d'éviter la condensation sur les couvercles des boîtes de Pétri.

Milieu King B (KB) (King et al., 1954) Peptone.....20 g Glycérol.....15 ml K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....1,5 g MgSO <sub>4</sub> .....1,5 g Agar.....20 g pH = 7,2	milieu cétrimide Peptone.....20 g Glycérol.....10ml K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....10 g MgSO <sub>4</sub> .....1,4 g Agar..... 13,6 g Cetrimide (bromure de cétyltriméthylammonium).....0,3 g pH = 7,2
Bouillon Luria-Bertani (LB) Peptone.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7	Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation pH Peptone.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 5
Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation pH Peptone.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 9	Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de [ ] Tryptophane Peptone.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....2 g pH = 7
Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de [ ] Tryptophane Peptone.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....10 g pH = 7	Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de source d'azote Extrait de viande.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7
Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de source d'azote Extrait de soja.....10 g Extrait de levure.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7	Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de source de carbone Peptone.....10 g Sucrose.....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7
Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de	Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de

source de carbone Peptone.....10 g Fructose .....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7	source de carbone Peptone.....10 g amidon .....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7
Bouillon Luria-Bertani (LB) optimisation de source de carbone Peptone.....10 g Arabinose .....5 g NaCl.....5 g Tryptophane .....5 g pH = 7	Milieu King B (KB) pour conservation Peptone.....20 g Glycérol.....250ml K <sub>2</sub> Hpo <sub>4</sub> .....1,5 g MgSO <sub>4</sub> .....1,5 g Agar.....20 g pH = 7,2

## II. Les accessoires et les verreries utilisées

Anse de platine	Seringue stérile.
Barreau magnétique.	Pince
Embout bleu	Fiole
Becher graduée de 10ml, 50ml, 100ml et 200ml.	Micropipette
Embout jaune.	Boîtes de pétries
Eprouvette graduée de 10ml, 20ml ,100ml et 250ml	Ampoule de décantation
Erlenmeyer de1000ml et 2000ml.	Cuve de ccm
Flacons stérile de 180 ml et 250ml.	Ecouvillon
Lame en verre.	Papier filtre
Entonnoir.	Filtre à membrane PTFE 0.2 µm
Lamelle en verre.	Colonne c 18
Portoir	Plaque TLC Gf254
Papier Wattman	
Pipette Pasteur	
Spatule	
Tubes à essaie	

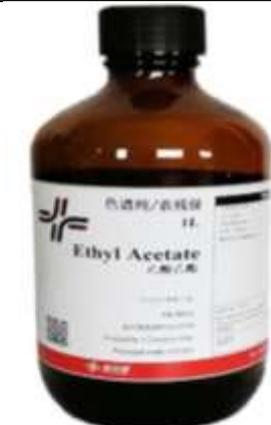
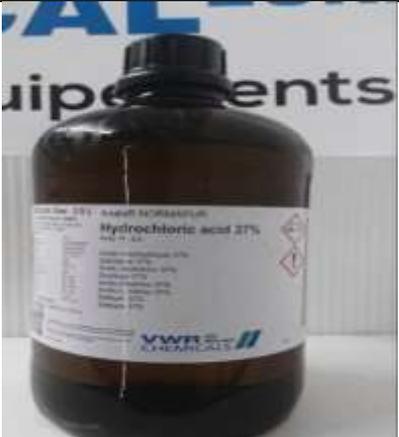
### III. Les colorants de coloration de Gram



### IV. Les réactifs

 <p>VP1 et VP2</p>	 <p>TDA</p>	 <p>KOVACS</p>
 <p>Nitrate réductase</p>	 <p>FeCl<sub>3</sub></p>	 <p>Salkowski</p>

## V. Les solvants

		
Méthanol	Ethanol	Chloroforme
		
Acide formique	Acétate d'éthyle	Hcl
		
Acide perchlorique	acide acetique	NaOH

VI. Les appareillages



Microscopie optique



Vortex



Balance de précision



Ph mètre



Hôte biologique



Bain marie



Bec benzène



Vaporisateur avec billes en caoutchouc



Lecture de la lumière UV



Hotte de sécurité microbologique



Hotte de sécurité chimique



agitateur chauffant



Autoclave



Ampoule a decanter de 500 ml



Etuve



Refrigerateur



Cuve en verre pour ccm 200×200



plaque TLC (gel de silice G f254)



spectrophotomètre UV-visible



Centrifugeuse



Évaporateur rotatif



Appareil HPLC

## Annexe02

Tableau de lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT <sub>1</sub>	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
VP <sub>1</sub>	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL <sub>1</sub>	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> -)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

## Annexe03

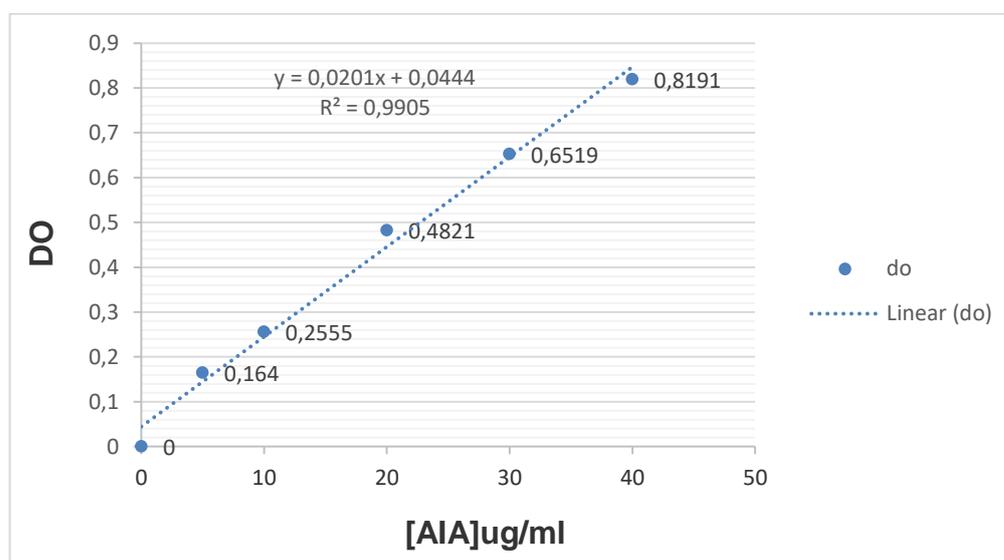
Date : 10/03/2023 Time : 12:47:15  
Wavelength Program

Date: 10/03/2023 Time: 12:41:55 Method: v01  
Slit: 09/VIS: 1.00 nm  
Analyte: NARCOM

Sample ID Cys Factor 530.00 nm

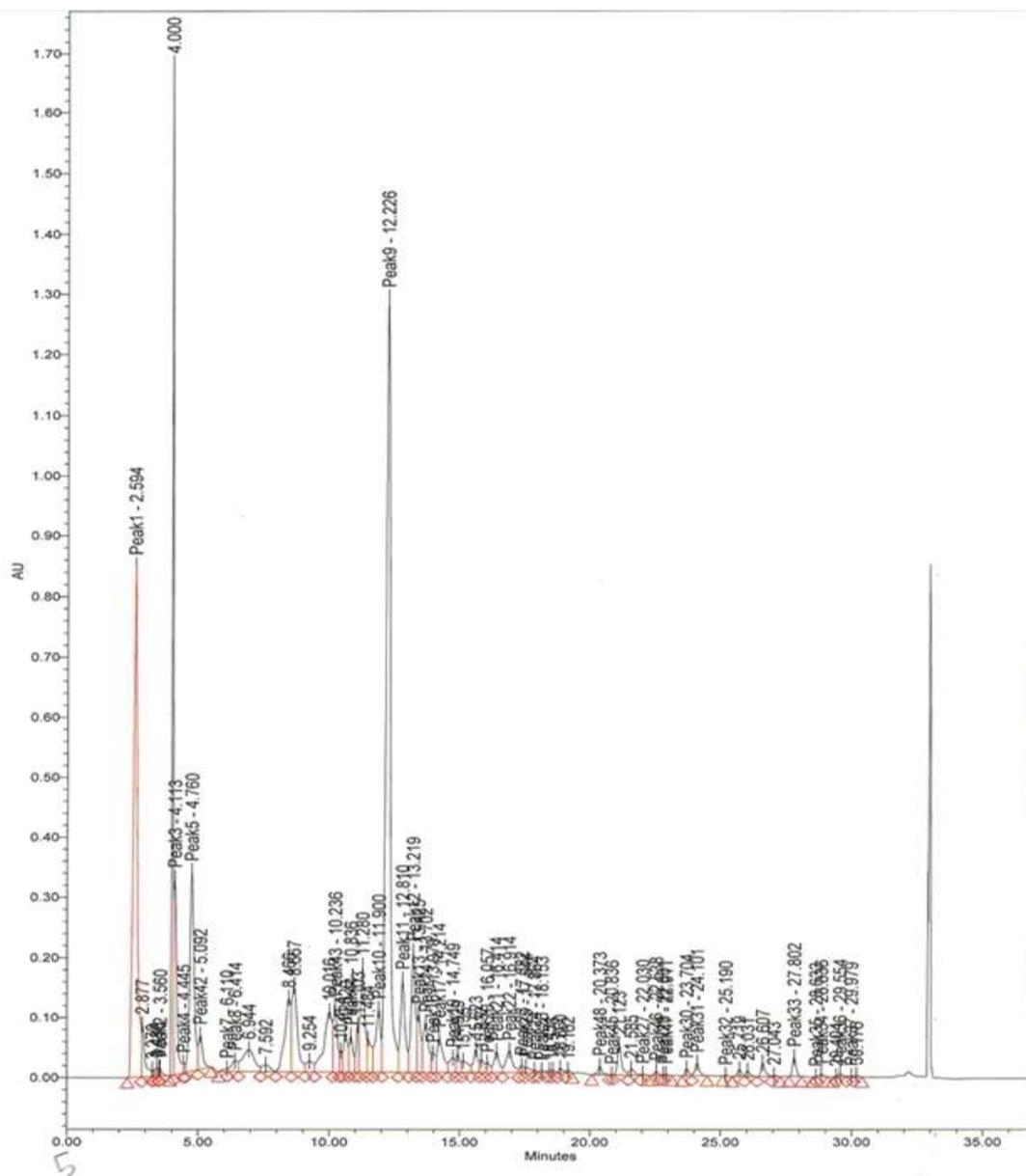
Wavelength (nm)	Concentration (µg/ml)	Absorbance	Method
05	1	0,1640	AIA
10	1	0,2555	AIA
20	1	0,4821	AIA
30	1	0,6519	AIA
40	1	0,8191	AIA
50	1	0,9178	AIA

**Figure01** : L'absorbance UV des concentrations étalons par spectrophotométrie a 530 nm (original)



**Figure02** : Courbe d'étalonnage de l'acide indole -3-acétique (AIA) (original)

## Annexe04



**Figure03** : Profil d'absorbance et temps de rétention des métabolites de la souche F27 analysés par HPLC.

## Annexe05

## I. Taux de germination

**Tableau 01** : calculs de taux de germination de T<sub>1</sub> (Témoins, semences traitées avec de l'eau distillée stérile)

Répétions	Répétions 1	Répétions 2	Répétions 3
Taux de germination	70 %	80%	60%

**MOYENNE DE TAUX DE GERMINATION DES TROIS REPETIONS : 70 %**

**Tableau 02**: calculs de taux de germination de T<sub>2</sub>(semences bactérisés avec la souche F27 )

Répétions	Répétions 1	Répétions 2	Répétions 3
Taux de germination	100 %	90%	100%

**MOYENNE DE TAUX DE GERMINATION DES TROIS REPETIONS : 96,666%**

**Tableau 03**: calculs de taux de germination de T<sub>3</sub> (semences bactérisés avec la souche CF1)

Répétions	Répétions 1	Répétions 2	Répétions 3
Taux de germination	100 %	100%	100%

**MOYENNE DE TAUX DE GERMINATION DES TROIS REPETIONS : 100%**

**Tableau 04**: calculs de taux de germination de T<sub>4</sub>, ( semences bactérisés respectivement avec les souches F27+ CF1)

Répétions	Répétions 1	Répétions 2	Répétions 3
Taux de germination	70 %	80%	100%

**MOYENNE DE TAUX DE GERMINATION DES TROIS REPETIONS : 83.333%**

## II. Indice de la vigueur

**Tableau 05**: Indice de la vigueur de T<sub>1</sub> (Témoins, semences traitées avec de l'eau distillée stérile)

Répétions 1

Longueur	10.3	12	11.4	14.2	9.8	7.9	4
----------	------	----	------	------	-----	-----	---

<b>en cm</b>							
<b>Indice de la vigueur</b>	721	840	798	994	686	553	280

Moyenne d'indice de la vigueur : 696

Répétions 2 :

<b>Longueur en cm</b>	16	14.8	10.7	8.4	12.2	10	8.7	13.5
<b>Indice de la vigueur</b>	1280	1184	856	672	976	800	696	1080

Moyenne d'indice de la vigueur : 943

Répétions 3 :

<b>Longueur en cm</b>	11.8	10.5	0.6	10.4	7.8	0.5
<b>Indice de la vigueur</b>	708	630	36	624	468	30

Moyenne d'indice de la vigueur : 416

Moyenne d'indice de la vigueur des trois Répétions de t1 : 685

**Tableau 06:** Indice de la vigueur de T<sub>2</sub>( semences bactérisés avec la souche F27)

Répétions 1

<b>Longueur en cm</b>	14.5	10.9	11.3	6.5	10.4	12.3	14.2	14.4	12.8	11.6
<b>Indice de la vigueur</b>	1450	1090	1130	650	1040	1230	1420	1440	1280	1160

Moyenne d'indice de la vigueur : 1189

Répétions 2 :

<b>Longueur en cm</b>	8.3	12	14.5	12.3	9.2	12.6	9.2	10.8	6.3
<b>Indice de</b>	747	1080	1305	1107	828	1134	828	972	567

<b>la vigueur</b>										
-------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Moyenne d'indice de la vigueur :952

Répétions 3 :

<b>Longueur en cm</b>	13.2	9.7	10.6	12.4	13.2	10.5	12.1	8.2	11.8	10.5
<b>Indice de la vigueur</b>	1320	970	1060	1240	1320	1050	1210	820	1180	1050

**Moyenne d'indice de la vigueur : 1122**

**Moyenne d'indice de la vigueur des trois Répétions de t2 :1087.666**

**Tableau 07:** Indice de la vigueur de T<sub>3</sub> (semences bactérisés avec la souche CF1)

Répétions 1 :

<b>Longueur en cm</b>	7.6	10.9	9.5	9.4	9	9.1	8.4	10.9	6.8	6.2
<b>Indice de la vigueur</b>	760	1090	950	940	900	910	840	1090	680	620

Moyenne d'indice de la vigueur :878

Répétions 2 :

<b>Longueur en cm</b>	7.5	11.3	12.8	10	8.5	12.5	9.4	9.9	10.1	0.3
<b>Indice de la vigueur</b>	750	1130	1280	1000	850	1250	940	990	1010	30

Moyenne d'indice de la vigueur :923

Répétions3 :

<b>Longueur en cm</b>	10.5	14.3	11.3	10.7	8.6	7.4	8.1	11.3	10.5	8.8
<b>Indice de la vigueur</b>	1050	1430	1130	1070	860	740	810	1130	1050	880

**Moyenne d'indice de la vigueur :1015**

**Moyenne d'indice de la vigueur des trois Répétions de t3 :938.666**

**Tableau 08:** Indice de la vigueur de T<sub>4</sub>, (semences bactérisés respectivement avec les souches F27+ CF1)

Répétions1 :

<b>Longueur en cm</b>	9.8	14.1	8.9	10.1	10	6.8	7.1
<b>Indice de la vigueur</b>	686	987	623	707	700	476	497

Moyenne d'indice de la vigueur : 668

Répétions2 :

<b>Longueur en cm</b>	15.1	11	6.4	8.5	10.2	10.6	9	3.5
<b>Indice de la vigueur</b>	1208	880	512	680	816	848	720	280

Moyenne d'indice de la vigueur : 743

Répétions 3 :

<b>Longueur en cm</b>	10	11.5	12.2	10.6	10.3	7.6	9.9	9.6	6.1	11.4
<b>Indice de la vigueur</b>	1000	1150	1220	1060	1030	760	990	960	610	1140

Moyenne d'indice de la vigueur : 992

**Moyenne d'indice de la vigueur des trois Répétions de t4 : 801**

### III. Test ANOVA (1 facteur)

**Taux de germination**

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
---------------	--------------	------------	----------------	-----------------

0,7	3	2,7	0,9	0,03
0,8	3	2,7	0,9	0,01
0,6	3	3	1	0

## ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,02	2	0,01	0,75	0,512	5,143 253
Within Groups	0,08	6	0,013 333			
Total	0,1	8				

## Indice de vigueur

SUMMARY				
<i>groupes</i>	<i>n d'échantillon</i>	<i>sommes</i>	<i>moyenne</i>	<i>Variance</i>
T1	3	2055	685	69523
T2	3	3263	1087,666667	14926,3
T3	3	2816	938,6666667	4876,33
T4	3	2403	801	28767

---

<i>Source des Variations</i>	<i>somme des carres</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyennes des carres</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
entre groupes	272455,58 33	3	90818,527 78	3,076 18	0,0905473 72	4,0661805 51
A l'intérieur des groupes	236185,33 33	8	29523,166 67			
Total	508640,91 67	11				

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Saad Dahleb Blida -1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Département de Biologie

## Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme Master dans le domaine SNV

Filière : science biologique

Option : Microbiologie

Thème

**Optimisation de la production de l'acide indole -3-  
acétiques par les souches de *Pseudomonas* spp.  
fluorescents.**

Soutenu le : 08/07/2025

Réalisé et présenté par :

M<sup>lle</sup> LAKHEDER FATTOUMA MAROUA

M<sup>lle</sup> KHEDIM AHLEM AYA

Devant le jury :

M <sup>me</sup> LOUNACI. L	MCB	Université Blida -1-	Présidente
M <sup>me</sup> FARES. R	MAA	Université Blida -1-	Examinatrice
M <sup>me</sup> AIT SAADI. N	MCA	Université Blida -1-	Promotrice

Promotion : 2024-2025

Fares Roufaiida