

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIES ET AGRO-ECOLOGIE



Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière: Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

Application de bio stimulant microbien sur la tomate (*Solanum lycopersicum*) pour améliorer la croissance et la tolérance au stress salin

Présenté par:

- BOUDILMI RACHIDA
- BOUKEROUCHA IMANE
- DRIOUCHE WISSEM

Devant le jury composé de :

Dr. BOUCHENAK F	MCB Université Blida 1	Examinatrice
Dr. ABBAD M.	MCA Université Blida 1	Président
Dr. ZOUAOUI A.	MCA Université Blida 1	Promoteur
Mr. RABHI M A	Doctorant Université Blida 1	Co-Promoteur

Année Universitaire 2022/2023



Remerciements

Louange A Allah Qui A Illumine Le Chemin De La Science Et De La Connaissance Et Nous A Aides A Remplir Ce Devoir Et Nous A Permis D'accomplir Ce Travail.

Nous Exprimons Notre Gratitude Et Notre Appreciation A Tous Ceux Qui Nous Ont Aides A Mener A Bien Cette Recherche Et A Surmonter Les Difficultes Que Nous Avons Rencontrees, En Particulier Le Mon Encadreur Qui Ne Nous A Pas E Epargne Pour Ses Precieux Conseils Et Orientations.

Je Remercie Egalement Le Président

Mr ZOUAOUI, A

Et Les Membres De Jury Mr Abbado M Et Mme BOUCHENAK, F

D'avoir Accepte D'examiner Ce Modeste Travail.

Aussi, Tous Nos Remerciements Et Notre Gratitude A

L'ingenieur Distingue, Qui A Ete Credite D'avoir

Termine Ce Travail

Merci Pour Votre Generosite Et Votre Esprit Large, Et Pour Votre Service Continu De Science, De Connaissances Et D'etudiants

Dédicace

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir
mon père.*

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

À ma Grande mère: ZOËRA

A mon grand-père décédé ABD ELWAHAB

A mes chères oncles BACHIR et MOHAMED

A ma chère tante FATIMA ZAHRAA

À mes frères OMAR , NAAIM ,MIMI

A ma sœur SAMIA et son fils RAIAN

A mon grand-père, ma grand-mère et tous la famille SLIMANI et BOUDILMI

À mes chers amis MERIEM, MANAL, ZOLA, NOSSAIBA

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui ont toujours été à mes côtés, qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours vers l'enseignement supérieur

BOUDILMI RACHIDA

Dédicace

Dieu Merci

Ce N'est Que Des Lignes A Ecrire, Que Des Simples Paroles A Dire

Pour Toi

Ma Chère Maman, Mon Cher Papa : Je Vous Remercie Enormément

D'être

Toujours A Mes Cote, De Votre Soutien Sempiternel. Si J'ai Atteint

Ce Stade

Là C'est Grace A Vous Mes Parents Bien Aimes.

Je Tien A Dédier Ce Modeste Travail :

A Mes Chers Parents Mon Père Et Ma Mère Pour La

Compréhension, La Patience Et Le Soutien Moral Et Financier

. A Mes Frères Yusra Et Imad Et A Tous Les Membres De La Famille,

Et

A Tous Mes Amis

DRIOUCHE WISSEM

Dédicace

Avec toute sincérité et avec tout respect, je dédie ce travail à :

A ma chère mère qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, qui ma

entourée de son amour et de son affection, je la remercie et je

n'oublierai jamais son

Soutien moral dans les moments les plus difficiles, que dieu la protège.

Mon cher père en témoignage de l'amour, affection et le soutien que tu

m'as offerts

Depuis ma naissance.

Je dédie mon travail à ma sœur Bouchra qui a partagée avec moi

instant par instant la préparation de ce travail.

Je dédie mon travail aussi à Mes frères « Ziad , Ishak et Sofiane »

A ma tante Faïza qui ne m'a jamais quitté pendant mes dures périodes

A ma grand-mère qui a été toujours avec moi , que dieu la garde

Et A toutes mes amies,

Et surtout Latifa , Lina , Celia

A tous les gens qui me connaissent

Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent

pas devant les obstacles de la vie.

Boukeroucha imene

Sommaire

Liste des figures.....	7
Résumé	9
Introduction :	1
Chapitre 01 : Biostimulants microbiens.....	3
1.1 Généralités	4
1.2 Avantages des biostimulants microbiens	4
2.2 Méthodes d'application des biostimulants microbiens	5
1.3 Considérations importantes lors de l'application de biostimulants microbiens	5
1.4 Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)	5
1.5 Effets bénéfiques des PGPR.....	6
1.6 La bactérie du genre Bacillus et effets sur plante	7
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	10
2-1 Objectif de l'essai	11
2-2 Matériel végétal	11
2-4 Substrat :	11
2-5 Conteneurs :	11
2-6 Dispositif expérimental :	12
2-7 Les traitements utilisés	13
2-8 Stérilisation des semences	14
2.9 Semis et plantation.....	14
2-10 Matériel bactérien :.....	14
2-10-1 Préparation du milieu de culture :	14
2-10-1-1 Milieu liquide : milieu LB (Lauria Bertani)	14
2-10-2 Préparation de l'inoculum	15
2-11 Les paramètres mesurés :	16
2-11-1 Paramètres morphologique :	16
2-11-2 Paramètres physiologiques :	16
2-11-3 Paramètres biochimique :	17
Chapitre 03 : Résultats et discussions	19
3.1-Variation des paramètres Morphologique :	20
3.1.1-Hauteur des plantes (cm)	20
3.1.2-Nombre des feuilles :	20
3.1.3- Poids frais et sec de la partie aérienne (g) :.....	21

3.2- Variation des paramètres physiologiques :	24
3.2.1 Teneur relative en eau TRE %	24
3.2.2 Teneur en chlorophylle a et b ($\mu\text{g/g}$ MF)	25
3.2.3 Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g}$ MF).....	26
3.3- Variations des Paramètres biochimique :	27
3.3.1-Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)	27
Conclusion générale	28
Conclusion.....	29
Références bibliographiques	32
Annexe A :	35
Annexe B :	39

Liste des figures

Figure 1 : Biostimulants Microbiens	4
Figure 2 : vue microscopique de la bactérie <i>Bacillus subtilis</i> (Carballido-López ;2007)	7
Figure 3 : le conteneur utilisé. (Photo personnelle 2023).....	12
Figure 4 : Dispositif expérimental (photo personnelle 2023).....	12
Figure 5 : Schéma du dispositif expérimental	13
Figure 6 : Semis et plantation de la tomate (photo personnelle 2023).....	14
Figure 7 : Préparation du milieu liquide LB (Photo personnelle 2023).....	15
Figure 8 : Les souches bactériennes dans les deux milieux (Photo personnelle 2023).....	15
Figure 9 : Hauteur des plantes (cm)	20
Figure 10 : Le nombre de feuilles	21
Figure 11 : Poids frais de la partie aérienne (g)	22
Figure 12 : Poids sec de la partie aérienne (g)	22
Figure 13: Poids frais des racines(g)	23
Figure 14 : Poids sec des racines (g)	23
Figure 15: Teneur relative en eau TRE %	24
Figure 16 : Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g}$ MF)	25
Figure 17 : Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g}$ MF)	26
Figure 18 : Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g}$ MF).....	26
Figure 19 : Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)	27

Résumé

Parmi les stress abiotiques la salinisation est reconnue comme la principale menace pour les ressources agricoles dans le monde. L'utilisation des microorganismes phytobénéfiques en tant qu'inoculant pour les plantes est de plus en plus importante, et le recours aux PGPR est également l'une des stratégies qui ont été envisagées pour atténuer les effets de stress salin des sols.

Cette étude vise à étudier la capacité de la souche *Bacillus SP*, d'induire une résistance vis-à-vis du stress salin chez une variété de tomate "Assif", irrigués avec différents niveaux de salinité de l'eau (100, 200, 300 et 400 mM de NaCl).

L'étude des paramètres morphologiques (hauteur des plants, le nombre des feuilles, la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine) des lots des plantes non inoculées ont montré l'effet de la salinité sur la diminution de ces paramètres tout en augmentant la concentration en NaCl. D'une manière générale l'inoculation du sol avec *Bacillus sp* n'a pas d'effet nettement visible sur la croissance des plantes de la tomate testée.

L'inoculation de la bactérie *Bacillus sp*, n'a pas un effet positif sur l'amélioration des paramètres physiologiques et biochimiques chez les plantes de tomate testées où on a enregistré des pertes au niveau des teneurs en chlorophylle et la proline,

Mots clés : biostimulant microbien, *Bcillus sp*, inoculation, tomate, stress salin , Proline .

ملخص

تعد الملوحة من بين الضغوط اللاأحيائية، يُعترف بالملوحة على أنها التهديد الرئيسي للموارد الزراعية في العالم. إن استخدام الكائنات الحية الدقيقة المفيدة للنباتات كملقحات نباتية له أهمية متزايدة، واستخدام PGPRs هو أيضًا أحد الاستراتيجيات التي تم النظر فيها للتخفيف من آثار الإجهاد الملحي في التربة.

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة قدرة سلالة *Bacillus SP* على إحداث مقاومة للإجهاد الملحي في مجموعة متنوعة من طماطم "«Assif المرورية بمستويات مختلفة من ملوحة الماء (100، 200، 300 و400 ملي مول كلوريد الصوديوم).

أظهرت دراسة المعلمات المورفولوجية (ارتفاع النباتات، عدد الأوراق، الكتلة الحيوية الطازجة والجافة للجزء الجوي وتحت الأرض) لدفعات النباتات غير الملقحة تأثير الملوحة على تقليل هذه المعلمات بينما زيادة تركيز كلوريد الصوديوم. بشكل عام، ليس لتلقيح التربة باستخدام *Bacillus sp* أي تأثير واضح على نمو نباتات الطماطم التي تم اختبارها.

لم يكن لتلقيح بكتيريا *Bacillus sp* تأثير إيجابي على تحسين المعلمات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية في نباتات الطماطم التي تم اختبارها حيث تم تسجيل خسائر في مستويات الكلوروفيل والبرولين،

الكلمات الأساسية: محفز حيوي ميكروبي، *Bcillus sp*، تلقيح، طماطم، إجهاد الملح، البرولين.

Summary

Among the abiotic stresses salinization is recognized as the main threat to agricultural resources in the world. The use of phytobeneficial microorganisms as plant inoculants is increasingly important, and the use of PGPRs is also one of the strategies that have been considered to mitigate the effects of salt stress in soils.

This study aims to study the ability of the Bacillus SP strain to induce resistance to salt stress in a variety of "Assif" tomato, irrigated with different levels of water salinity (100, 200, 300 and 400 mM NaCl).

The study of the morphological parameters (height of the plants, the number of leaves, the fresh and dry biomass of the aerial and underground part) of the batches of the non-inoculated plants showed the effect of salinity on the reduction of these parameters while increasing the NaCl concentration. In general, the inoculation of the soil with Bacillus sp has no clearly visible effect on the growth of the tomato plants tested.

The inoculation of the bacterium Bacillus sp, does not have a positive effect on the improvement of the physiological and biochemical parameters in the tomato plants tested where losses in the levels of chlorophyll and prolin were recorded,

Key words: *microbial biostimulant, Bcillus sp, inoculation, tomato, salt stress. Prolin.*

Introduction Générale

Introduction générale

Introduction :

La salinité du sol constitue le problème majeur dans beaucoup des pays du monde, elle est considérée comme le principal facteur abiotique qui limite la productivité végétale et le rendement agricole (Ashraf, 1994).

Dans les écosystèmes arides et semi arides, la salinité peut affecter la croissance des plantes en réduisant leur capacité à absorber l'eau et les nutriments, cela peut entraîner une diminution de leur rendement (Ashraf, 1994).

L'accumulation des quantités excessives de sels cause une perturbation d'équilibre ionique des plantes et leur fonctionnement normal, enfin, la salinité peut également affecter la synthèse de chlorophylle, ce qui peut réduire la croissance des plantes. Elle peut augmenter la concentration de sels dans l'eau du sol, ce qui peut rendre plus difficile pour les plantes d'absorber l'eau, ce qui peut perturber leur capacité à absorber les nutriments essentiels tels que le potassium, le calcium et le magnésium.

Le stress salin a pour effet immédiat de limiter la croissance en inhibant la croissance foliaire par des messages hormonaux partant des racines en directions des feuilles. L'hormone impliquée est probablement l'acide abscissique (Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014). La salinité provoque le plus souvent un retard dans le développement, D'une manière générale ; la croissance en longueur, le diamètre des tiges et la grosseur des fruits diminuent d'une façon importante avec l'augmentation de la salinité

Devant de telles situations, le recours à l'utilisation de bioressources comme alternative est de plus en plus sollicité. Dans ce contexte, les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont considérés comme des outils potentiels pour fournir des avantages substantiels à l'agriculture (Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014). Les PGPR sont des bactéries rhizosphériques compétentes qui colonisent fortement les racines plantes et qui sont bénéfiques pour leur croissance. Les genres les plus étudiés de ce groupe de bactéries sont surtout : *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. L'utilisation de ces microorganismes phyto-bénéfiques en tant qu'inoculant pour les plantes est de plus en plus importante. Cette pratique, est justifiée par le caractère ubiquiste de ces microorganismes à large spectre d'hôtes, permettant de diminuer l'utilisation des produits

Introduction générale

phytosanitaires et de fertilisants. Le recours aux PGPR est également l'une des stratégies qui ont été envisagées pour atténuer les effets de stress salin et de la toxicité aluminique des sols (Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Hayat et al., 2010). Il est à souligner que ces PGPR exercent leurs activités phytobénéfiques au niveau de la rhizosphère des plantes. La rhizosphère, le volume du sol entourant les racines, influencé chimiquement, physiquement et biologiquement par la racine de la plante (Hiltner, 1904 *in* Hartmann et al., 2008), est un habitat très favorable pour la reproduction des microorganismes, qui exercent un impact potentiel sur la santé de la plante et la fertilité du sol (Antoun et al., 1998).

Les bactéries PGPR phytostimulatrices peuvent stimuler la croissance du végétal via la synthèse de phytohormones (auxines et gibbérellines) (Lugtenberg, 2001 ; Kaymak, 2010), la fixation atmosphérique de l'azote (Hayat et al., 2012), la production d'oxyde nitrique et/ou en interférant avec le métabolisme de l'éthylène (Belimov et al., 2009). Quant aux bactéries phytoprotectrices, le principal mode d'action est l'inhibition de microorganismes phytopathogènes par la production d'antibiotiques et l'induction de résistance systémique chez la plante (Reddy et al., 2007 ; Denert et al., 2015). L'application des espèces de PGPR est souvent associée à des réussites sur une large gamme de plantes cultivées notamment les plantes maraichères, tels que le concombre et la tomate (Liang et al., 2013 ; Ordookhani, 2010) et les céréales, tels que le blé et le maïs (Singh, 2010).

L'objectif de l'étude menée dans ce manuscrit est de mettre en évidence les effets phytostimulateurs de la souche rhizobactérienne *Bacillus sp* appliquée individuellement en interaction avec un géotype de tomate : *Solanum lycopersicum* Mil var. Asif. Cette étude vise aussi à étudier la capacité de la souche d'induire une résistance vis-à-vis du stress salin appliqué.

Chapitre 01 :

Biostimulants microbiens

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

1.1 Généralités

Les biostimulants microbiens sont des produits qui contiennent des micro-organismes vivants bénéfiques pour les plantes. Ils peuvent améliorer la croissance, la santé et la productivité des cultures.

L'intérêt pour l'utilisation de biostimulants microbiens

- Augmente en raison de leur rôle potentiel dans l'atténuation de la qualité fonctionnelle des aliments. La symbiose entre les plantes et les micro-organismes bénéfiques a montré une meilleure performance pour faire face au stress environnemental (sécheresse, salinité) et aux attaques de pathogènes (Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014).
- Améliorer les caractéristiques des plantes et de la rhizosphère, y compris la résistance au stress abiotique/biotique, les traits qualitatifs et la disponibilité des nutriments du sol. Cela pourrait se traduire par une approche durable visant à minimiser les applications agrochimiques et à promouvoir la durabilité environnementale (Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014).

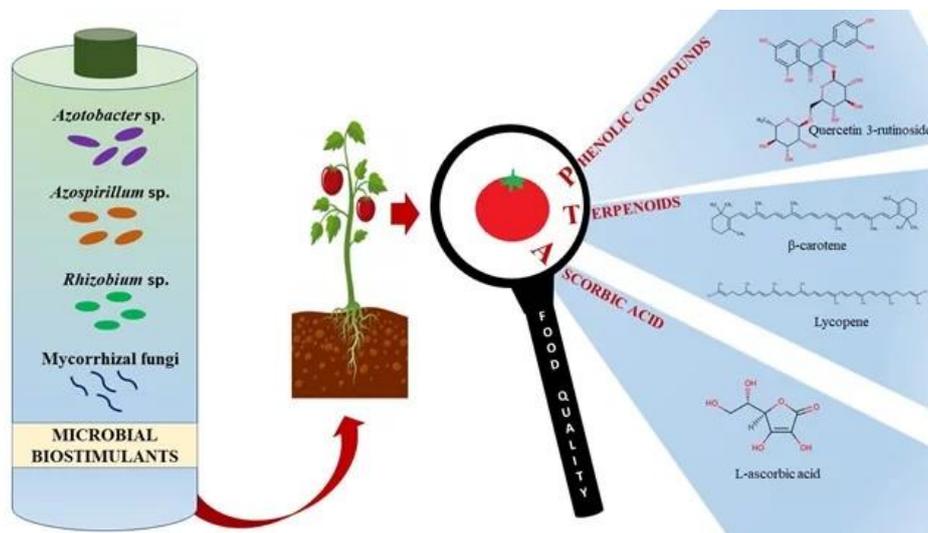


Figure 1 : Biostimulants Microbiens

1.2 Avantages des biostimulants microbiens

Les biostimulants microbiens peuvent améliorer la qualité du sol en augmentant la biodiversité microbienne. Cela peut stimuler la croissance des racines et améliorer l'absorption des nutriments.

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

Ils peuvent également renforcer la résistance des plantes aux maladies et aux stress environnementaux, ce qui peut réduire la nécessité d'utiliser des pesticides ou des engrais chimiques **(Antoun et al., 1998)**.

Germination accélérée et Améliorer l'activité biologique des sols sportifs sableux souvent à faible activité microbienne **(Antoun et al., 1998)**.

2.2 Méthodes d'application des biostimulants microbiens

Il existe plusieurs méthodes pour appliquer les biostimulants microbiens sur la tomate. L'une des méthodes les plus courantes est l'inoculation des semences avec des bactéries fixatrices d'azote, qui peuvent aider à fournir de l'azote aux plantes **(Antoun et al., 1998)**.

D'autres méthodes comprennent l'application foliaire, l'arrosage au sol et l'ajout de biostimulants microbiens au compost ou au fumier utilisé pour fertiliser les plantes **(Antoun et al., 1998)**.

1.3 Considérations importantes lors de l'application de biostimulants microbiens

Il est important de choisir le bon produit de biostimulant microbiens en fonction des besoins spécifiques de vos plantes et de votre sol. Il est également important de suivre les instructions d'application pour éviter toute surdose ou sous-dosage **(Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014)**.

Enfin, il est important de noter que l'utilisation de biostimulants microbiens ne doit pas remplacer une gestion appropriée du sol et des pratiques agricoles durables.

1.4 Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)

Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont considérés comme des outils potentiels pour fournir des avantages substantiels à l'agriculture **(Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014)**.

Les PGPR sont des bactéries rhizosphériques compétentes qui colonisent fortement les racines des plantes et qui sont bénéfiques pour leur croissance. Le genre le plus étudié de ce groupe de bactéries sont surtout : Bacillus

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

L'utilisation des produits phytosanitaires et de fertilisants. Le recours aux PGPR est également l'une des stratégies qui ont été envisagées pour atténuer les effets de stress salin. **(Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Hayat et al., 2010).**

Très favorable pour la reproduction des microorganismes, qui exercent un impact potentiel sur la santé de la plante et la fertilité du sol **(Antoun et al., 1998)**. Parmi ces PGPR, une distinction peut être établie. Certaines ont des effets de phytostimulation et sont qualifiées de biofertilisants elles peuvent stimuler directement la croissance de plantes via la synthèse de phytohormones **(auxines et gibbérellines) (Lugtenberg, 2001 ; Kaymak, 2010)**, d'autres sont qualifiées comme bactéries phytoprotectrices, la fixation atmosphérique de l'azote **(Hayat et al., 2012)**, la production d'oxyde nitrique et/ou en interférant avec le métabolisme de l'éthylène **(Belimov et al., 2009)**. Quant aux bactéries phytoprotectrices, le principal mode d'action est l'inhibition de microorganismes phytopathogènes par la production d'antibiotiques et l'induction de résistance systémique chez la plante **(Reddy et al., 2007 ; Denert et al., 2015)**. Agents de bio contrôle, phytostimulateurs **(Brock et al., 2000 ; Lugtenberg et al., 2001)**.

1.5 Effets bénéfiques des PGPR

Les effets bénéfiques de ces rhizobactéries ont été attribués à leur aptitude à produire divers composés comprenant les phytohormones, les acides organiques, les antibiotiques, la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation du phosphate et d'autres mécanismes non identifiés **(Brock et al., 2000 ; Lugtenberg et al., 2001)**.

De ce fait on distingue des effets directs

➤ **Phytostimulation des PGPR**

1. Fixation de l'azote atmosphérique
2. Solubilisation du phosphore
3. Production des sidérophores
4. Régulateurs de croissance des plantes et indirects

➤ **Phytoprotection des PGPR**

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

Les PGPR aident indirectement la croissance des plantes par la suppression des micro-organismes délétères qui inhibent la croissance des plantes, ou des pathogènes des racines par antibiose, parasitisme, compétition pour les nutriments et l'espace à proximité des racines des plantes, et/ou l'activation des réactions de défense de la plante

Les *Bacillus subtilis* sont les PGPR les plus utilisées en raison de leur capacité de produire des antibiotiques et de réduire la nuisibilité de la maladie (**Brock et al., 2000 ; Lugtenberg et al., 2001**).

1.6 La bactérie du genre *Bacillus* et effets sur plante

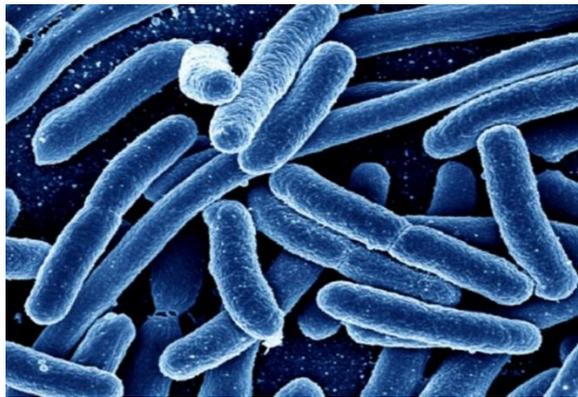


Figure 2 : vue microscopique de la bactérie *Bacillus subtilis* (Carballido-López ;2007)

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (*Bacillaceae*), l'ordre des bacillales (*Bacillales*), la classe des bacilles (*Bacilli*). Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique

Le genre *Bacillus* regroupe des caractérisées par leur forme en bâtonnet. Les *Bacillus* ont en commun la capacité de former des endospores dormantes par métabolisme aérobie lorsque les conditions sont défavorables à la croissance

Dans le domaine agronomique, le genre *Bacillus* a de nombreuses applications.

Parmi ces applications, on retrouve notamment la dégradation de polluants présents dans le sol tels les pesticides, la stimulation de la croissance de plantes, la production de sidérophores et de composés antifongiques dans le sol.

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

Les bactéries du genre *Bacillus* figurent parmi les microorganismes les plus étudiés pour une utilisation en lutte biologique. Bien que plusieurs souches de *Bacillus* spp. S'avèrent prometteuses ou sont déjà utilisées comme agents de lutte biologique, la recherche de souches plus performantes constituant une avenue de remplacement aux fongicides de Synthèse est en plein essor **(Amer et Utkhede, 2007)**.

Bacillus très résistantes en conditions de stress Favorisant la croissance des plantes Action sur la synthèse de phytohormones chez la plante, une augmentation de la croissance des plants et une augmentation de la synthèse de molécules de défense **(Amer et Utkhede, 2007)**

Bacillus améliore la tolérance aux stress abiotiques par la synthèse de substances stimulant les défenses naturelles de la plante Améliorent le rendement des cultures Elles améliorent le développement des systèmes racinaires et renforcent les Capacités défensives des plantes contre les maladies **(Van Loon et al., 1998)**. Utilisées fréquemment en agriculture pour la bio fertilisation des sols l'amélioration de la disponibilité des nutriments et pour la protection des plantes Favoriser la croissance des plantes par Divers mécanismes tels que la fixation d'azote **(Van Loon et al., 1998)**

Les espèces de *Bacillus* utilisées comme biofertilisants ont probablement des effets Directs sur La croissance des plantes grâce à la synthèse des hormones de croissance **(Amer et Utkhede, 2007)**.

Le biostimulant *Bacillus* favorise la production d'hormones de croissance "hormone like" vont avoir une action sur la rapidité et l'homogénéité de la germination des semences **(Amer et Utkhede, 2007)**.

Les souches de *Bacillus* solubilisatrices de phosphate stimulent la croissance Des plantes grâce à une meilleure absorption de N, P, K et Fe. Les biofertilisants phosphoriques pourraient aider à accroître la disponibilité de phosphates accumulés dans le sol et favoriser la croissance des plantes en augmentant l'efficacité de la fixation biologique de l'azote et la disponibilité du fer et le zinc à travers la production des substances de croissance **(Amer et Utkhede, 2007)**.

Chapitre 01 : Biostimulants microbiens

Bacillus est très cohérent dans l'amélioration de différents paramètres de croissance des racines (la performance d'enracinement, la longueur des racines ainsi que la teneur en matière sèche) dans la menthe (**Amer et Utkhede, 2007**).

Utilisation potentielle comme engrais (**Han et al., 2006 ; Supanjani et al., 2006**) et augmentant la disponibilité des éléments nutritifs des plantes

Bactéries sont hautement résistantes à la chaleur, à la sécheresse et à la dégradation chimique

Leur effet sur le rendement en fruits de plants de tomate

La défense des plantes contre les stress biotiques et abiotiques

Bacillus à l'étude a un effet antagoniste sur la croissance in vitro (**Han et al., 2006 ; Supanjani et al., 2006**)

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2-1 Objectif de l'essai

Le but de notre travail est d'évaluer l'effet d'un biostimulant bactérien : *Bcillus* Sp. Sur les paramètres morpho-physiologiques et biochimiques de la tomate (*Solanum lycopersicum Mill*) variété Asif, soumises à quatre concentrations de chlorure de sodium (NaCl) : 100mM, 200mM, 300mM, 400mM.

2-2 Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre expérimentation concerne la tomate (*Solanum lycopersicum Mill*) C'est une espèce réagis rapidement au changement du milieu, et qui est moyennement sensible à la salinité. La variété testée est "Asif".

2-3 Site de l'essai

L'expérimentation a été réalisé à la station expérimentale du département de biotechnologie et agro-écologie de l'université Blida1, dans une serre en polycarbonate dont l'orientation est nord sud, l'aération est assurée par plusieurs fenêtres placées latéralement de part et d'autre de la serre. Des radiateurs sont installés au niveau de la serre pour assurer le chauffage pendant l'hiver.

2-4 Substrat :

Le substrat utilisé dans notre expérimentation est le sol de notre station expérimentale, stérilisé à 180 C° pendant une période 45min. selon la méthode (Thermal Soil Disinfestation (TSD) for Soil-Borne Disease Management : A Review)

2-5 Conteneurs :

Les conteneurs utilisés dans notre expérimentation sont des pots en plastique, de couleur marron ayant une capacité de 1 litre. Après avoir stérilisé le sol pour éviter toute contamination, nous avons procédé à la désinfection des pots en utilisant de l'éthanol.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes



Figure 3 : le conteneur utilisé. (Photo personnelle 2023)

2-6 Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental adopté est un plan sans contrôle d'hétérogénéité, c'est-à-dire en randomisation totale. L'ensemble du dispositif expérimental se compose de 24 pots au total, répartis en 8 traitements avec trois répétitions.



Figure 4 : Dispositif expérimental (photo personnelle 2023)

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

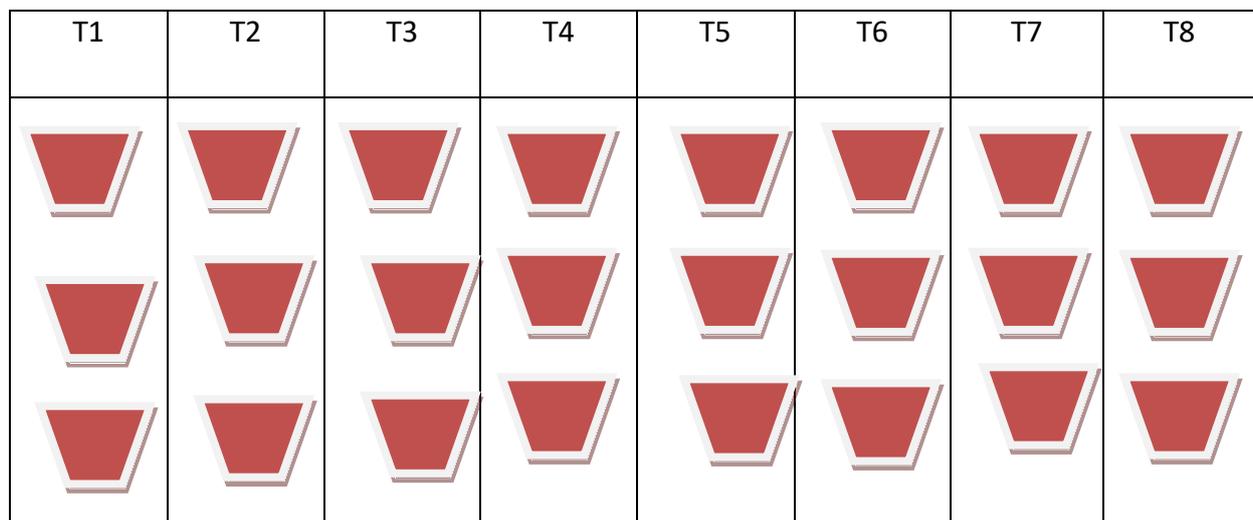


Figure 5 : Schéma du dispositif expérimental

2-7 Les traitements utilisés

Au stade deux feuilles, les plantes ont été soumises aux différents traitements. Pour l'ensemble des paramètres étudiés dans cette expérimentation, des lots inoculés et non inoculés par *Azospirillum* sp. ont été mis en place. Ces derniers ont été irrigués par des solutions salines, contenant différentes concentrations de NaCl (100mM, 200mM, 300mM, 400mM) correspondant respectivement à (5.84g, 11.69g, 17,52g, 23,36g)

Lots de plantes	Traitements	Désignations
1	T1	100 mM de NaCl – Sans inoculation bactérienne
	T2	200 mM de NaCl – Sans inoculation bactérienne
	T3	300 mM de NaCl – Sans inoculation bactérienne
	T4	400 mM de NaCl – Sans inoculation bactérienne
2	T5	100 mM de NaCl – Avec inoculation bactérienne (5ml)
	T6	200 mM de NaCl – Avec inoculation bactérienne (5ml)
	T7	300 mM de NaCl – Avec inoculation bactérienne (5ml)
	T8	400 mM de NaCl – Avec inoculation bactérienne (5ml)

Remarque : il est à noter que les plants irrigués avec T4 et T8 dont la concentration est 400mM de NaCl n'ont pas terminés leurs cycles de développement et ont dépérir au début de l'expérimentation.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2-8 Stérilisation des semences

Le but de cette méthode est généralement de désinfecter les graines et d'éliminer les agents pathogènes ou les contaminants présents à leur surface, La méthode consiste à faire tremper les graines dans de l'éthanol à 70% pendant 20 seconde, Ensuite dans de l'eau de Javel à 3° pendant 20 minutes, puis les rincer trois fois avec de l'eau distillée pour élimine les résidus d'éthanol et de l'eau de Javel. **(Benson E, al.2017)**

La germination a été réalisée dans un récipient contenant un tissu en coton imbibé d'eau et déposées dans un endroit à température ambiante. L'eau distillée est ajoutée en cas de dessèchement du tissu.

2.9 Semis et plantation

Les graines de tomate ont été semées dans une alvéole de semis remplis de tourbe et déposée au niveau de la serre expérimentale. Le dispositif été régulièrement irrigué avec de l'eau de robinet pour éviter le dessèchement du substrat. Après 40 jours environ une transplantions des jeunes plantules homogènes ont été effectuées à raison d'une plante par pot.



Figure 6 : Semis et plantation de la tomate (photo personnelle 2023)

2-10 Matériel bactérien :

2-10-1 Préparation du milieu de culture :

2-10-1-1 Milieu liquide : milieu LB (Lauria Bertani)

Préparation pour 100 ml :

Dans une éprouvette de 100 ml on met :

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

- 1 g de peptone
- 0,5 g d'extrait de levures
- 0,5 g de NaCl

Ensuite on ajuste le volume à 100 ml avec de l'eau distillée et à la fin on met le contenu dans l'autoclave à 121 °C pendant 20 min. (Bertani, 2004).



Figure 7 : Préparation du milieu liquide LB (Photo personnelle 2023)

2-10-2 Préparation de l'inoculum

La souche d'*Azospirillum* sp. A été cultivée dans un milieu LB pendant 48h à 37°C, puis une anse de la culture a été ensemencée sur une gélose nutritive dans des boîtes de pétri, et incubé à 37°C pendant 48 h. Après incubation, la crème bactérienne est récupérée pour préparer une suspension bactérienne dans de l'eau distillée stérile, la concentration de la suspension a été ajustée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600 nm ($DO=0.8$) (Atlas, R.M. (2010)).



Figure 8 : Les souches bactériennes dans les deux milieux (Photo personnelle 2023)

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2-11 Les paramètres mesurés :

2-11-1 Paramètres morphologique :

- **Hauteur des plantes** : Au moment de la coupe nous avons mesuré les hauteurs de la base des plants jusqu'à l'apex à l'aide d'une règle graduée.

- **Nombre de feuilles** : Le nombre de feuilles a été comptabilisé au moment des coupes, pour chaque plant.

- **Biomasse fraîche produite** : Lors des coupes, nous avons pesé séparément les deux parties de la plante (aérienne et souterraine) à l'aide d'une balance, afin d'avoir pour chaque plante le poids frais des deux parties.

- **Biomasse sèche produite** : Après le séchage de la matière fraîche dans une étuve à 70°C jusqu'à stabilité du poids sec, nous avons pesé séparément la partie aérienne et souterraine, afin d'avoir pour chaque plante le poids sec des deux parties.

- **Longueur des racines (cm)** : Consiste à mesurer la longueur de l'axe principale des racines. Elle a été mesurée en (cm) à l'aide d'une règle graduée à partir du collet jusqu'à son extrémité inférieure.

2-11-2 Paramètres physiologiques :

-Teneur relative en eau :

La teneur relative en eau est un indicateur de l'état hydrique d'une plante, déterminée selon la méthode de Bars et Weatherley (1962). La feuille est coupée à la base du limbe et immédiatement pesé pour avoir le poids frais initial (Pf). L'extrémité sectionnée est trempée dans un tube à essai dans de l'eau distillée, l'ensemble est placé à l'obscurité dans un endroit frais pendant 24 heures. Scippa et al (2004).

La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante : (la formule de Clark et Mac – Caig, 1982).

$$\text{TRE (\%)} = \frac{(\text{PF-PS})}{(\text{PT-PS})} \cdot 100$$

PF : poids frais initial de la feuille

PS : poids sec de la feuille (laisser à l'étuve à 80°C pendant 48 heures)

PT : poids turgescence (trempée dans l'eau distillée pendant 24h)

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

-Dosage de la chlorophylle :

L'extraction de la chlorophylle (a et b) a été réalisée selon la méthode de **FRANCIS et al (1970)**. Elle consiste en une macération des feuilles (0.1g) dans 10 ml d'acétone (80%), les feuilles ont été coupées en petits morceaux et mises dans des tubes à essais recouvertes de papier aluminium (pour éviter l'oxydation de la chlorophylle).

La lecture a été faite après 48h, on a procédé à la détermination des densités optiques des solutions avec un spectrophotomètre, à deux longueurs d'ondes (645 et 663 nm).

La détermination des teneurs en Chlorophylle a et b a été réalisé par les formules suivantes :

Selon d'Arnon (1949).

Chlorophylle(a) ($\mu\text{g/ml}$) = $12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})$

Chlorophylle (b) ($\mu\text{g/ml}$) = $22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})$

Chlorophylle (totale) ($\mu\text{g/ml}$) = $20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})$

A645 : valeur d'absorption à 645nm

A663 : valeur d'absorption à 663nm

2-11-3 Paramètres biochimique :

-Dosage de la proline :

La proline est dosée selon la technique utilisée par Monneveux et Nemmar (1986). Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique. La proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon. La méthode consiste à :

- Mettre 100 mg de matière fraîche végétale dans des tubes à essai
- Ajouter 2 ml de Méthanol à 40 %. Les tubes couverts (pour éviter la volatilisation de l'alcool) sont portés à l'ébullition au bain-marie à 85 °C pendant 60 min.

Après refroidissement.

- Prélever 1 ml de la solution de chaque tube

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

- Mettre dans de nouveaux tubes
- Ajouter 1 ml d'acide acétique + 25 mg de ninhydrine. + 1 ml d'un mélange contenant : 120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide ortho phosphorique
- Porter les tubes à essai à ébullition au bain Marie durant 30 min.

Après refroidissement des solutions :

- Ajouter 5 ml de toluène dans chaque tube.
- Après agitation au vortex deux phases apparaissent.
- Prélever la phase supérieure
- Ajouter 5 mg du sulfate de sodium,
- Laisser au repos pendant 48h.

On procède à la lecture de la densité optique des échantillons avec le spectrophotomètre à la longueur d'onde de 528 nm.

La détermination de la teneur de la proline est réalisée selon la formule :

$$\text{Proline } (\mu\text{g/g MF}) = \text{DO}_{528} \times 0.62$$

Chapitre 03 :

Résultats et discussions

Chapitre 03 : Résultats et discussions

3.1-Variation des paramètres Morphologique :

3.1.1-Hauteur des plantes (cm)

Les résultats de la hauteur des plantes sont présentés dans la figure (09)

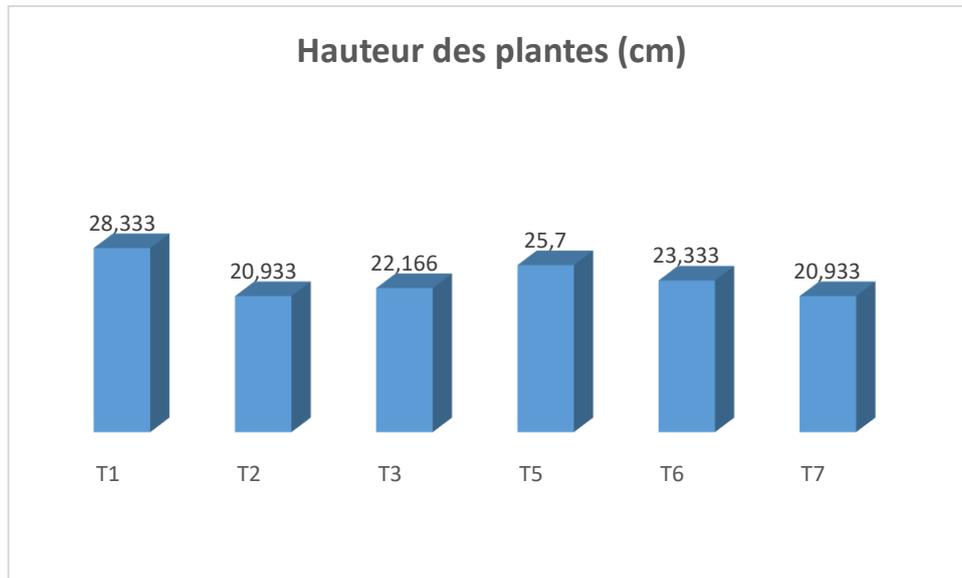


Figure 9 : Hauteur des plantes (cm)

Les résultats de l'analyse de la variance montrent que l'effet traitement exerce une influence significative sur la croissance en longueur des tiges. (**Annexe A**)

Selon les résultats présentés dans la **figure (09)** nous remarquons que les hauteurs des plants des tomates obtenues présentent des réponses différentes au niveau des traitements testés où l'effet de l'inoculation de la bactérie n'est pas nettement observé. Les hauteurs des plants sont comprises entre 20,93 chez T2 et 28,33 chez T1.

Les hauteurs des tiges finales les plus longues ont été obtenues par les plants du traitement T1 présentant une moyenne de 28,33 cm. Par contre Les hauteurs des tiges finales les plus courtes ont été obtenues par les plants du traitement T2 20,93 cm

3.1.2-Nombre des feuilles :

Les résultats du nombre de feuilles par plant sont présentés dans la figure (10)

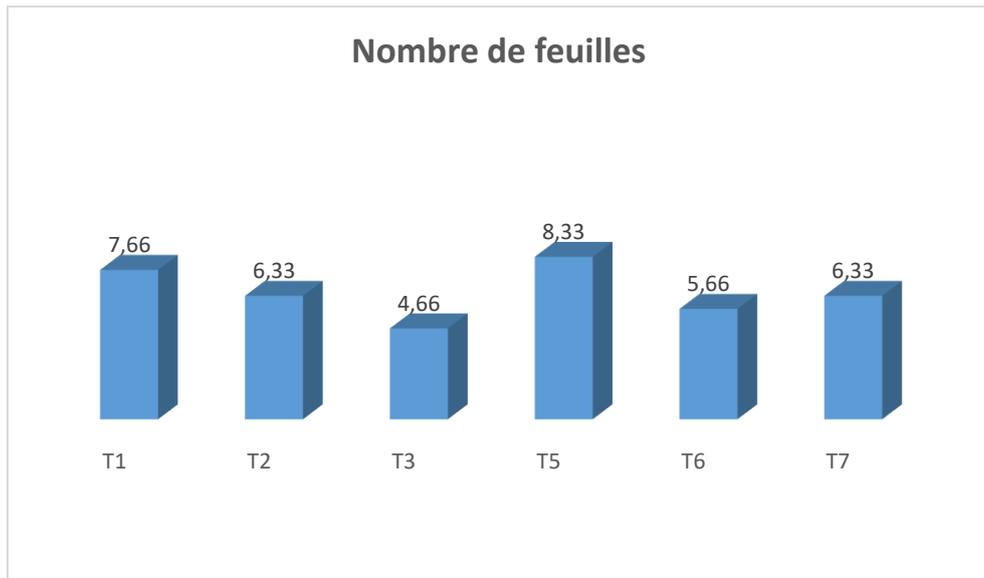


Figure 10 : Le nombre de feuilles

L'analyse de variance a révélé une différence significative des traitements sur le paramètre mesuré, d'après les résultats présentés sur la figure 10 on remarque que l'inoculation de la bactérie *Bacillus* au niveau des traitements T5 et T7 a amélioré le nombre de feuilles par plant par rapport aux témoins non inoculés (T1 et T3). Le nombre de feuilles par plant le plus élevé est-ceux des plantes irriguées par le traitement T5 8,33, alors que le nombre de feuilles le plus faible est obtenu par les plants irriguées avec le traitement T3 4,66.

3.1.3- Poids frais et sec de la partie aérienne (g) :

Les résultats de la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne sont présentés dans les figures (11) et (12)

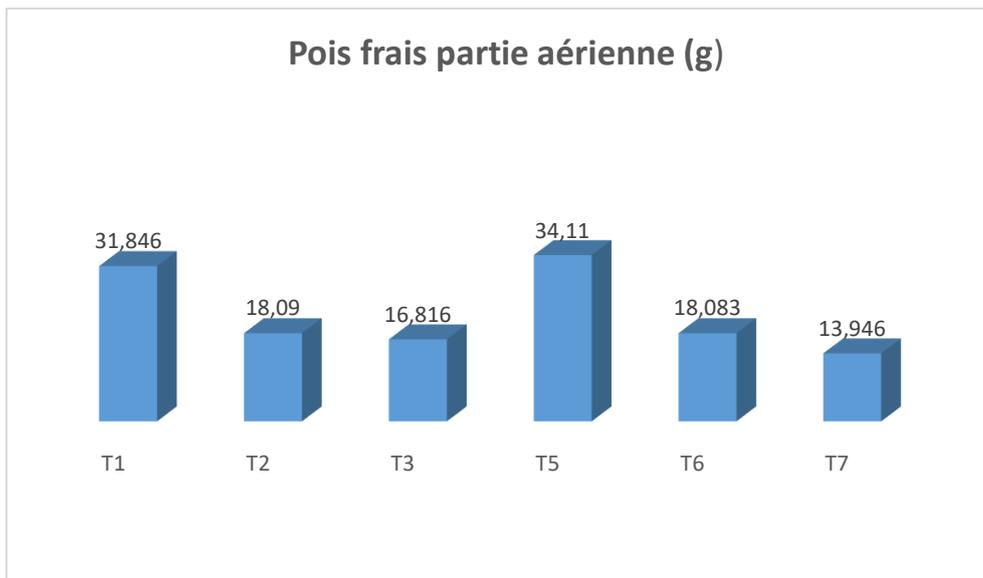


Figure 11 : Poids frais de la partie aérienne (g)

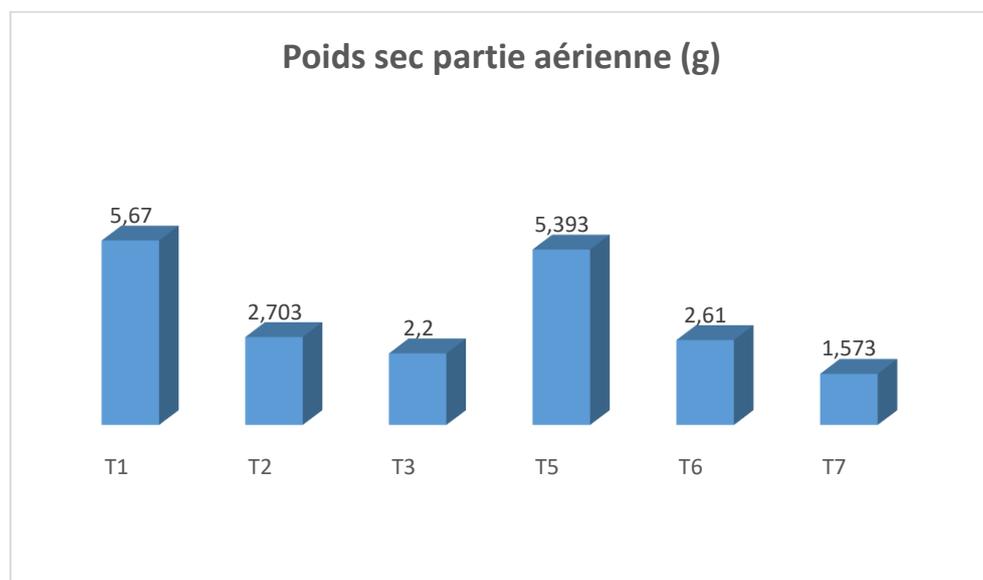


Figure 12 : Poids sec de la partie aérienne (g)

Concernant ce paramètre l'analyse de la variance a révélé une différence significative pour la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne entre les différents traitements testés.

La production de la biomasse fraîche et sèche totale des plantes de tomates a montré des réponses différentes au niveau des traitements testés.

Concernant le poids frais, l'inoculation a un effet positif où on a enregistré une amélioration du paramètre mesuré chez T5 avec une valeur maximale de 34,11g (irrigation avec 100Mm

Chapitre 03 : Résultats et discussions

de NaCl et qui est la plus faible concentration avec présence de bactérie), alors que pour les autres traitements à savoir T6 et T7 l'inoculation n'a pas d'effet positif

En revanche les résultats du poids sec obtenus montrent que pour la biomasse sèche produite les traitements dont la présence de la bactérie présentent les moyennes les plus faibles (T5, T6, T7,) par rapport à leurs témoins non inoculés avec une valeur minimale de 1,57 g chez T7 qui ont été irriguées par 300 Mm de NaCl plus le biostimulant bactérien

3.3.2 Poids frais et sec des racines (g)

Les résultats de la biomasse fraîche et sèche des racines obtenus sont illustrés dans les figures (13) et (14)

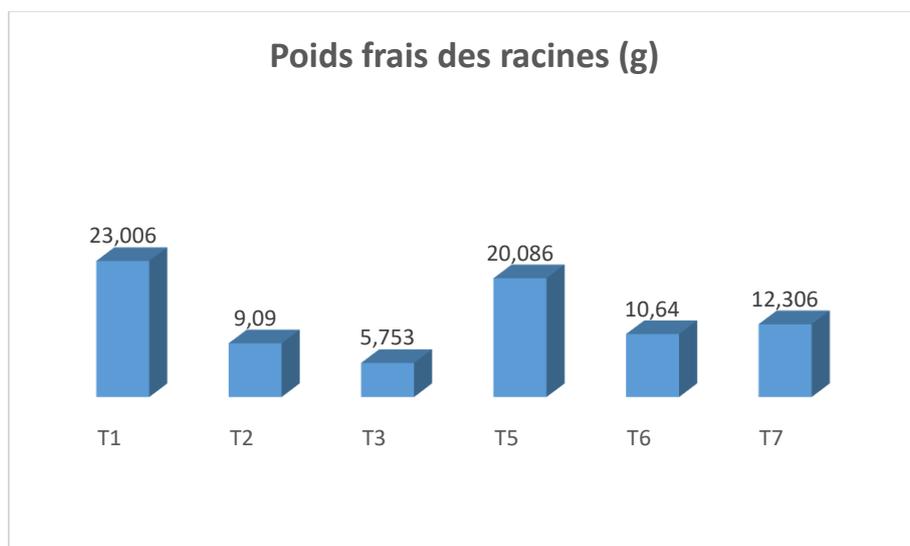


Figure 13: Poids frais des racines(g)

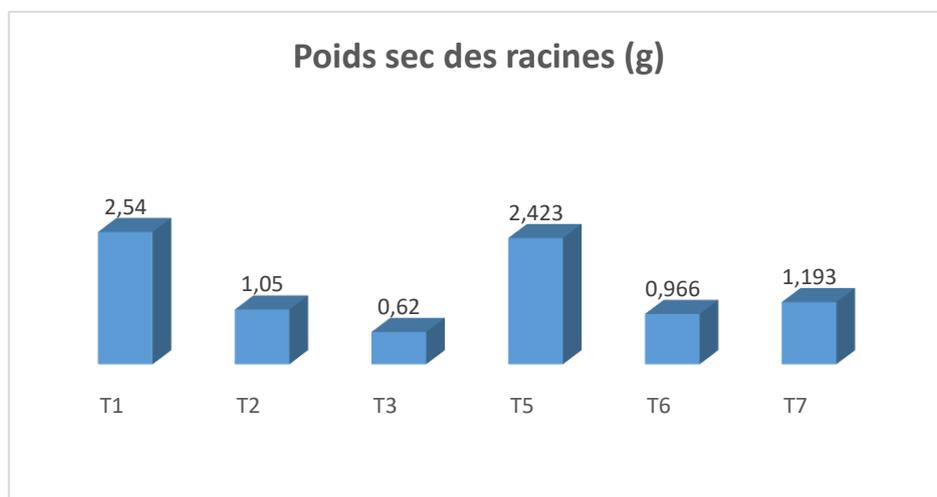


Figure 14 : Poids sec des racines (g)

Chapitre 03 : Résultats et discussions

Les résultats de l'analyse de la variance pour ces paramètres n'ont pas montré de différence significative

À l'exception du traitement T5 les résultats du poids frais des racines obtenues montrent que les plantes non inoculées présentent les valeurs du paramètre mesuré les plus faibles par rapport aux plantes inoculées avec la bactérie *Bacillus* en présence du NaCl à différentes concentrations et qui présentent les meilleures performances pour la biomasse fraîche racinaire. On peut citer le traitement T6 et T7 produisant 10.64g et 12.30g de biomasse fraîche respectivement par rapport à leurs témoins les traitements T2 et T3 et qui ont donné les valeurs de 9.09g et 5.75g respectivement on peut noter aussi que les plantes du traitement T1 irriguées avec la solution saline à faible concentration (50 mM en NaCl) présentent les poids les plus élevés.

Concernant le poids sec des racines les résultats obtenus ont montré que l'inoculation de la bactérie *Bacillus* n'a pas d'effet positif sauf au niveau du traitement T7 où on a enregistré un gain du poids sec par rapport à son témoin le T3.

3.2- Variation des paramètres physiologiques :

3.2.1 Teneur relative en eau TRE %

Les résultats de la teneur relative en eau dans les feuilles de tomate sont présentés dans la figure (18)

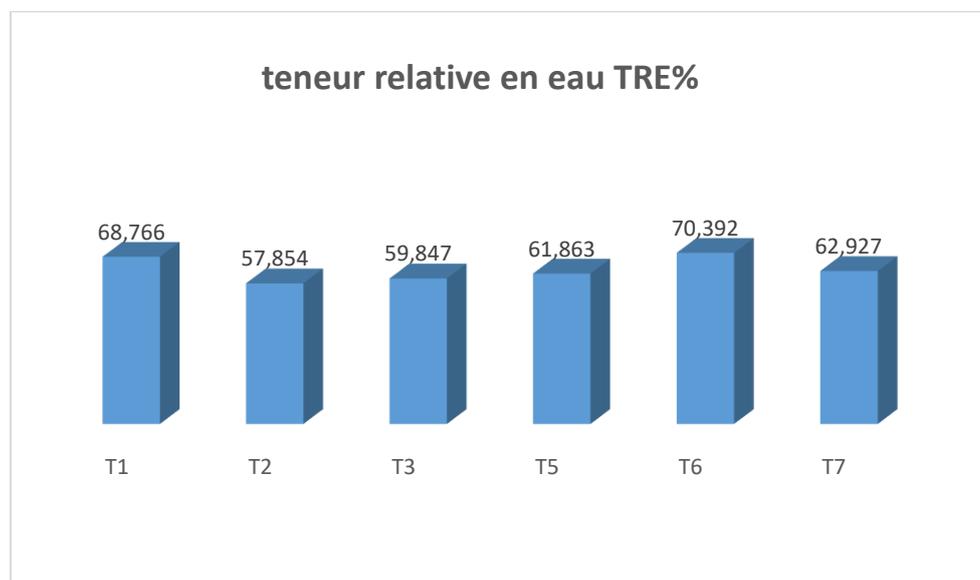


Figure 15: Teneur relative en eau TRE %

Chapitre 03 : Résultats et discussions

Le comportement des huit Traitements est analysé par une étude d'état hydrique des feuilles des plantes sous les traitements testés (les deux lots de plants inoculés et non inoculés). Selon l'analyse de la variance, les résultats de la teneur relative en eau enregistrent une différence non significative des traitements appliqués sur la tomate.

Cependant, les plantes irriguées avec les solutions salines plus inoculation bactérienne correspondants aux traitements T6 et T7 semblent donner des valeurs différentes avec amélioration du paramètre mesuré par rapport aux plantes irriguées avec solutions salines seulement au niveau des traitements T2 et T3, ce qui explique l'implication de la bactérie dans le maintien d'un bon état hydrique des plantes

3.2.2 Teneur en chlorophylle a et b ($\mu\text{g/g MF}$)

Les résultats de la teneur en chlorophylle A dans les feuilles de tomate sont présentées dans les figures (16) et (17)

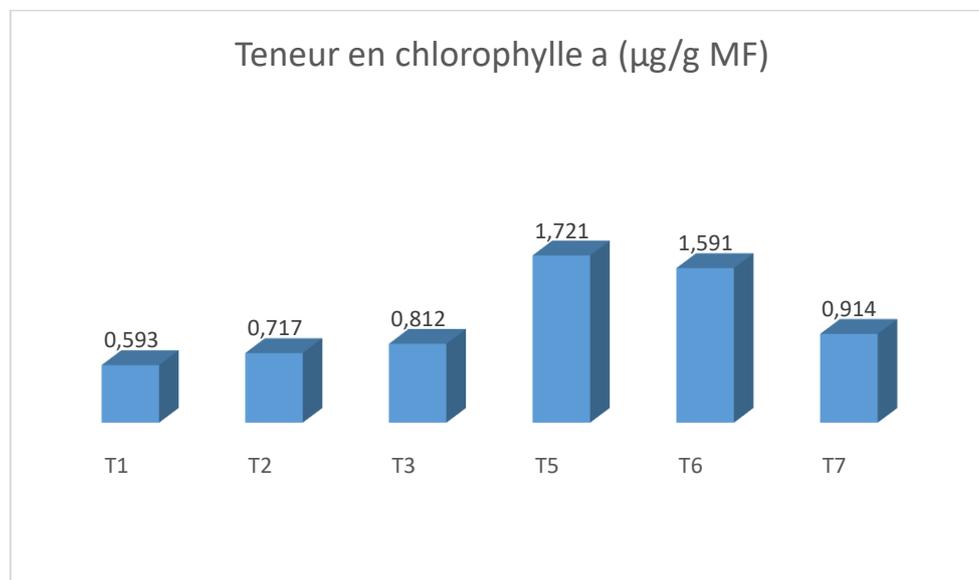


Figure 16 : Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$)

L'analyse de la variance révèle une différence significative du facteur traitement sur la teneur en chlorophylle A et B dans les feuilles de tomate.

Globalement on peut remarquer que les plantes irriguées par la suspension bactérienne au niveau des traitements (T5, T6 et T7) montrent une augmentation importante de la chlorophylle par rapport aux plantes stressées chez les traitements (T1, T2 et T3). Le traitement T5 présente les teneurs en chlorophylle mesurées les plus élevées.

Chapitre 03 : Résultats et discussions

Les faibles teneurs en chlorophylle peuvent être expliqués par l'effet des sels et le déséquilibre ionique qui exercent une répression sur les chloroplastes en perturbant ainsi le bon déroulement de l'acte photochimique des photosystèmes II.

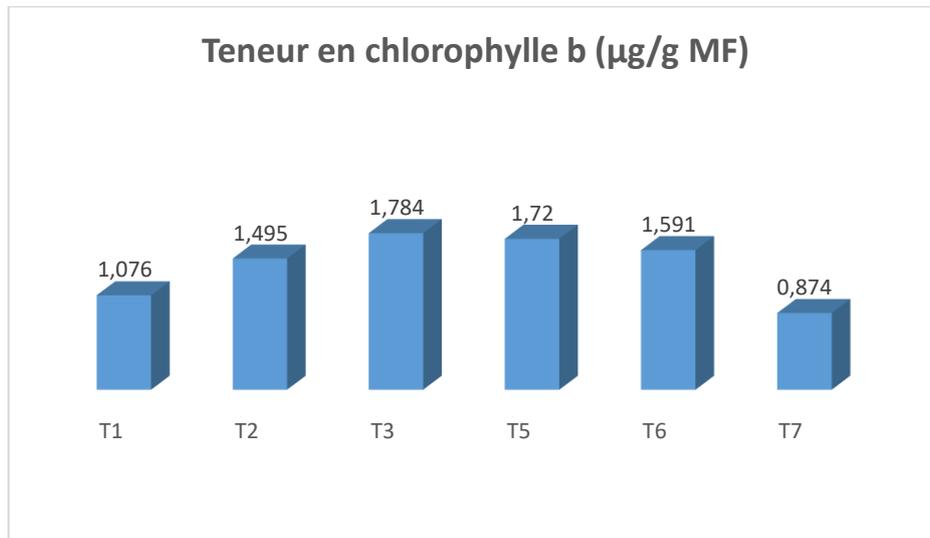


Figure 17 : Teneur en chlorophylle b (µg/g MF)

3.2.3 Teneur en chlorophylle totale (µg/g MF)

Les résultats de la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles de tomate sont présentés dans la figure (18)

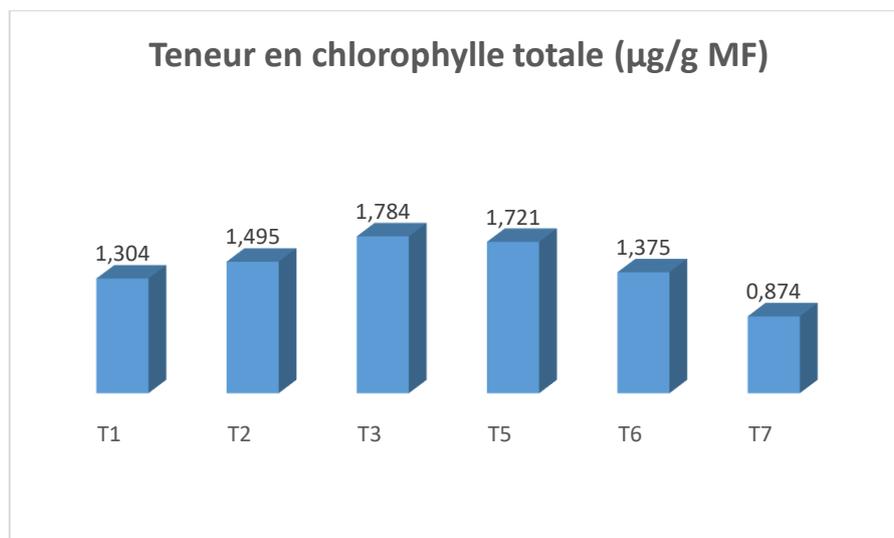


Figure 18 : Teneur en chlorophylle totale (µg/g MF)

L'analyse de la variance des résultats montre que l'effet traitement exerce une influence significative

Chapitre 03 : Résultats et discussions

L'inoculation de la bactérie *Bacillus sp*, n'a pas un effet positif sur l'amélioration des teneurs en chlorophylle totale chez les plantes de tomate testées où on a enregistré des pertes au niveau de ces traitements, il s'agit de T6 et T7. En effet on note une teneur en chlorophylle de 1,307 $\mu\text{g/g}$ MF pour le traitement T1 à la concentration de 100 mM sans inoculation et une teneur de 1.721 $\mu\text{g/g}$ MF après inoculation à la même concentration en sel chez le traitement T5, ce qui explique l'implication de la bactérie dans l'amélioration de la teneur en chlorophylle mais sous des faibles concentrations en sel.

3.3- Variations des Paramètres biochimique :

3.3.1-Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)

Les résultats de la teneur en proline dans les feuilles de tomate sont présentés dans la figure (19)

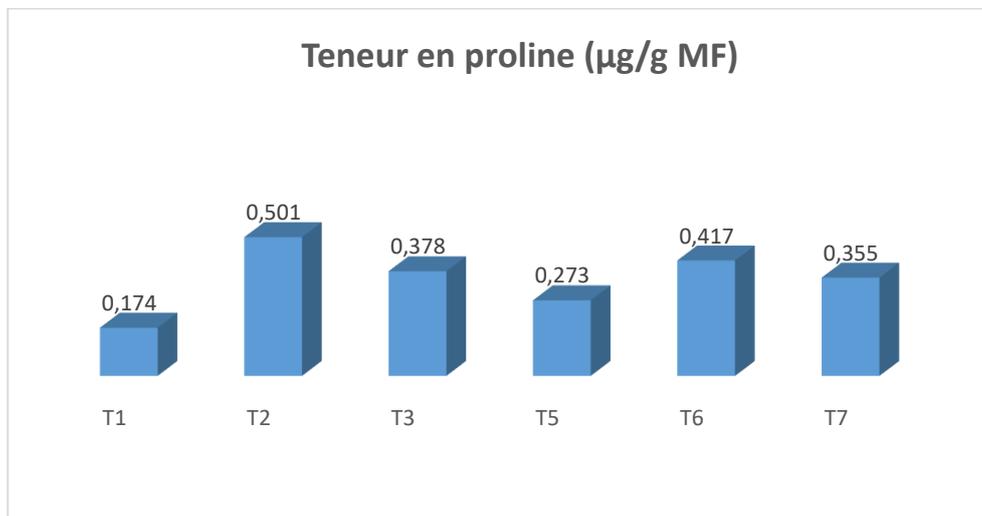


Figure 19 : Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)

A partir des résultats obtenus dans la figure 19, on note une variation des taux en proline en présence de stress salin. En effet on note une valeur de 0.501 $\mu\text{g/g}$ MF à la concentration moyenne (200 mM) qui est d'ailleurs la valeur maximale. La valeur minimale (0,174 $\mu\text{g/g}$ MF est enregistrée à la concentration la plus faible (100 mM).

L'inoculation de *Bacillus sp*, entraîne une différence significative dans la teneur en proline en présence des différentes concentrations en sel comparé aux lots de plantules non inoculés. On note une diminution de la teneur en proline chez les plantes inoculées exception faite au niveau du traitement T5 où on a enregistré une légère augmentation par rapport à son témoin le T1.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion :

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer l'effet positif de l'inoculation bactérienne sur le développement et la croissance de la tomate cultivée sous stress salin.

Notre étude a montré que le stress salin a un effet dépressif sur la majorité des paramètres mesurés.

L'augmentation des doses en NaCl (100mM, 200mM, 300mM, 400mM) s'est traduite par une diminution de la croissance des plantules de la tomate pour la partie aérienne et racinaire), cette diminution est accompagnée de modifications biochimiques. En effet, les teneurs en chlorophylles ont ; b et totale sont des paramètres très sensibles qui représentent des indicateurs du degré de tolérance et de sensibilité des plantes. Par ailleurs, la teneur en chlorophylle est sensible à l'effet du stress salin. Pour le cas de la tomate (matériel végétal utilisé lors de notre expérience), une baisse est enregistrée en fonction de l'intensité de stress salin, cette baisse résulte d'une perturbation physiologique des plantes en question.

L'accumulation de la proline est impliquée dans les mécanismes d'ajustement osmotique et serviraient aussi comme osmoprotecteurs. Dans notre étude, l'action du sel sur la variété étudiée s'est traduite par des teneurs en proline qui vont de pair avec la concentration en NaCl.

L'inoculation par *Bacillus sp*, nous a permis d'observer quelques effets bénéfiques de cette rhizobactérie ainsi son rôle dans la phytostimulation.

D'une manière générale, on a constaté une légère amélioration en croissance des plantules de la tomate, cette amélioration est remarquable dans la partie aérienne et racinaire.

L'accumulation de la proline a vu une augmentation en présence de *Bacillus sp*, un point positif comparé à leur faible accumulation dans les plants soumis au stress salin en absence d'inoculation bactérienne.

Au final, et mais d'une manière générale les résultats de ce travail montrent que l'inoculation par *Bacillus sp* exerce un effet négatif sur la majorité des paramètres mesurés

Conclusion générale

ceci est dû à la durée de l'expérimentation qui a été relativement courte où les effets des traitements n'ont pas été pleinement développés et observables.

Les résultats auxquels a conduit le présent travail ont besoin d'être vérifiés dans de prochaines études.

Il est nécessaire d'effectuer des recherches supplémentaires au niveau moléculaire afin de compléter ce travail. Ces recherches devraient inclure l'identification et la caractérisation de souches microbiennes spécifiques, ainsi que des essais sur le terrain à grande échelle pour évaluer l'efficacité de la bactérie *Bacillus sp* et de prolonger l'expérience.

Une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents grâce à ces analyses ouvrira la voie à des applications pratiques pour fournir une compréhension plus approfondie, telles que l'utilisation ciblée de l'inoculation de la bactérie *Bacillus sp* pour améliorer la productivité des cultures et réduire le stress salin.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Amer, G.A. et Utkhede, R.S. (2000). Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. *Revue canadienne de microbiologie*, 46(9), 809-816
2. Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., et Lalande, R. (1998). Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and soil*, 204(1), 57-67
3. Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., et Lalande, R. (1998). Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and soil*, 204(1), 57-67.
4. Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., et Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), 157-162.
5. Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., et Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), 157-162.
6. Belimov, A. A., Dodd, I. C., Hontzeas, N., Theobald, J. C., Safronova, V. I., et Davies, W. J. (2009). Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytologist*, 181(2), 413-423
7. Belimov, A. A., Dodd, I. C., Hontzeas, N., Theobald, J. C., Safronova, V. I., et Davies, W. J. (2009). Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytologist*, 181(2), 413-
8. Belimov, A. A., Dodd, I. C., Safronova, V. I., Hontzeas, N., et Davies, W. J. (2007). *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1485-1495
9. Belimov, A. A., Hontzeas, N., Safronova, V. I., Demchinskaya, S. V., Piluzza, G., Bullitta, S., et Glick, B. R. (2005). Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry*, 37(2), 241-250
10. Brock, J. L., Albrecht, K. A., Tilbrook, J. C., et Hay, M. J. M. (2000). Morphology of white clover during development from seed to clonal populations in grazed pastures. *The Journal of Agricultural Science*, 135(02), 103-111.
11. Glick, B. R., Karaturović, D. M., et Newell, P. C. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(6), 533-536.
12. Han, H. S., et Lee, K. D. (2006). Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil and Environment*, 52(3), 130.

Références bibliographiques

13. Hartmann, A., Rothballer, M., et Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*, 312(1-2), 7-14.
14. Hayat, R., Ahmed, I., et Sheirdil, R. A. (2012). An overview of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In *Crop Production for Agricultural Improvement* (pp. 557-579). Springer Netherlands.
15. Kaymak, H. C. (2010). Potential of PGPR in agricultural innovations. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 45-79). Springer Berlin Heidelberg.
16. Kloepper, J. W., et Schroth, M. N. (1978, August). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria* (Vol. 2, pp. 879-882).
17. Liang, J. G., Tao, R. X., Hao, Z. N., Wang, L. P., et Zhang, X. (2013). Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. *African Journal of Biotechnology*, 10(36), 6920-6927.
18. Lugtenberg, B. J., Dekkers, L., et Bloemberg, G. V. (2001). Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 461-490.
19. Lugtenberg, B., et Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541-556.
20. Podile, A.R., et Kishore, G.K. (2007). Plant growth-promoting rhizobacteria. In *Plant-associated bacteria* (pp. 195-230). Springer Netherlands.
21. Podile, A.R., et Kishore, G.K. (2007). Plant growth-promoting rhizobacteria. In *Plant-associated bacteria* (pp. 195-230). Springer Netherlands.
22. Reddy, K. R. N., Choudary, K. A., et Reddy, M. S. (2007). Antifungal metabolites of *Pseudomonas fluorescens* isolated from rhizosphere of rice crop. *JOURNAL OF MYCOLOGY AND PLANT PATHOLOGY*, 37, 280-284.
23. Singh, G., Biswas, D. R., et Marwaha, T. S. (2010). Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.): a hydroponics study under phytotron growth chamber. *Journal of plant nutrition*, 33(8), 1236-1251
24. Sivasakthi, S., Usharani, G., et Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* : A review. *African Journal Agricultural Research*, 9, 1265-1277.
25. van Loon, L. C., et Glick, B. R. (2004). Increased plant fitness by rhizobacteria. In *molecular ecotoxicology of plants* (pp. 177-205). Springer Berlin Heidelberg

Annexes

Annexes

Annexe A :

1- Hauteur des plantes (cm)

Tableau 1 : hauteur des plantes en (cm).

T1	T2	T3	T5	T6	T7
28,33	20,93	22.16	25.70	23.33	24.76
±	±	±	±	±	±
1,528	0.902	0.289	0.265	1.215	1.027
a	b	b	ab	ab	b

2- Nombre des feuilles

Tableau 2 : Nombre des feuilles.

T1	T2	T3	T5	T6	T7
7.66	6.33	4.66	8.33	5.66	6.33
±	±	±	±	±	±
0.43	0.33	0,27	0.50	0.07	0.15
ab	bc	d	a	cd	bcd

3- Poids frais des plants (g)

Tableau 3 : Poids frais des plants (g).

T1	T2	T3	T5	T6	T7
31.84	18.09	16.81	34.11	18.08	13.94
±	±	±	±	±	±
1,24	1.57	1,07	2.26	1.92	0.17
a	b	b	a	b	b

Annexes

4- Poids sec des plants (g)

Tableau 4 : Poids sec des plants (g).

T1	T2	T3	T5	T6	T7
5.67	2.70	2.02	5.39	2,61	1.57
±	±	±	±	±	±
0.22	0.14	0.14	0.16	0,17	0.12
a	b	b	a	b	b

5- poids frais des racines

Tableau 5 : poids frais des racines (g).

T1	T2	T3	T5	T6	T7
23.00	9.09	5.75	20.08	10.64	12.30
±	±	±	±	±	±
1.05	0.55	0.55	1.80	1.85	1.59
a	a	a	a	a	a

6-poids sec des racines

Tableau 6 : poids sec des racines (g).

T1	T2	T3	T5	T6	T7
2.54	1.05	0.62	2.42	0.96	1.19
±	±	±	±	±	±
0.06	0.18	0.03	0.05	0.06	0.08
a	a	a	a	a	a

Annexes

7-Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 7 : Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$)

T1	T2	T3	T5	T6	T7
0.593	0.717	0.812	1.721	1.591	0.914
±	±	±	±	±	±
0.005	0.082	0.008	0.048	0.067	0.054
b	b	b	a	a	b

8- Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 8 : Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g MF}$)

T1	T2	T3	T5	T6	T7
1.076	1.495	1.784	1.720	1.591	0.874
±	±	±	±	±	±
0.004	0.008	0.001	0.009	0.007	0.004
b	a	a	a	a	b

9- Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 9 : Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g MF}$)

T1	T2	T3	T5	T6	T7
1.304	1.495	1.784	1.721	1.375	0.874
±	±	±	±	±	±
0.006	0.008	0.004	0.008	0.004	0.002
ab	ab	a	a	ab	b

Annexes

10- la teneur relative en eau TRE %

Tableau 10 : la teneur relative en eau TRE %

T1	T2	T3	T5	T6	T7
68.76	57.8	59.84	61.86	70.39	62.92
±	±	±	±	±	±
2.13	2.88	2.38	2.36	1.63	3.34
a	a	a	a	a	a

11- la teneur en proline (µg/g MF)

Tableau N°11 : la teneur en proline (µg/g MF)

T1	T2	T3	T5	T6	T7
0.174	0.501	0.378	0.273	0.417	0.355
±	±	±	±	±	±
0.005	0.001	0.007	0.005	0.009	0.004
b	a	ab	ab	ab	ab

Annexes

Annexe B :

1-Hauteur des plantes (cm)

Tableau 11 : Hauteur des plantes en (cm).

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	105,6361111	21,1272222	5,56060828	0,00703824
Erreur	12	45,59333333	3,799444444		
Total corrigé	17	151,2294444			

2- Nombre des feuilles

Tableau 12 : Nombre des feuilles.

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	26,5	5,3	10,6	0,0004485
Erreur	12	6	0,5		
Total corrigé	17	32,5			

3- Poids frais des plants (g).

Tableau 13 : Poids frais des plants (g).

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	1097,4832	219,4965	23,1992	< 0,0001
Erreur	12	113,5365	9,4614		
Total corrigé	17	1211,0188			

Annexes

4- Poids sec des plants (g).

Tableau 14 : Poids sec des plants (g).

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	46,3381	9,2676	11,6747	0,0003
Erreur	12	9,5258	0,7938		
Total corrigé	17	55,8639			

5-poids frais des racines (g)

Tableau 15 : poids frais des racines (g)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	668,4636	133,6927	1,7100	0,2046
Erreur	12	932,9419	77,7452		
Total corrigé	17	1601,4055			

6-poids sec des racines (g)

Tableau 16 : poids sec des racines (g)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	9,8472	1,9694	1,7375	0,2006
Erreur	12	13,6020	1,1335		
Total corrigé	17	23,4492			

Annexes

7- Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 17 : Teneur en chlorophylle totale ($\mu\text{g/g MF}$)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	3,4111	0,6822	27,6188	0,0001
Erreur	12	0,2964	0,0247		
Total corrigé	17	3,7075			

8- Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 18 : Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	2,0211	0,4042	9,0510	0,0009
Erreur	12	0,5359	0,0447		
Total corrigé	17	2,5570			

9- Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g MF}$)

Tableau 19 : Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g MF}$)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	1,9257	0,3251	3,7777	0,0275
Erreur	12	1,2328	0,0861		
Total corrigé	17	2,6585			

Annexes

10- Teneur relative en eau TRE %

Tableau 20 : Teneur relative en eau TRE %

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	370,2130	74,0426	3,0189	0,0542
Erreur	12	294,3184	24,5265		
Total corrigé	17	664,5315			

11- Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)

Tableau 21 : Teneur en proline ($\mu\text{g/g}$ MF)

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	5	0,1951	0,0390	3,5627	0,0331
Erreur	12	0,1314	0,0110		
Total corrigé	17	0,3265			

Annexes

.....