



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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 Biotechnologie**

**Mémoire de fin d'Études**

**Pour l'obtention du Diplôme Master 2 en**

**Biotechnologie microbienne**

**Sujet :**

**Analyse de la résistance au stress abiotique chez l'orge en  
interaction avec des bactéries endophytes**

**Présenté par :**

**Melle Douiri Rania**

**Melle Kritli Wafa**

**Soutenu le : 07 /07/2019**

**Devant le jury composé de :**

<b>BELKAHLA H.</b>	<b>Professeur</b>	<b>U.S.D.B1</b>	<b>Présidente</b>
<b>KRIMI Z.</b>	<b>Professeur</b>	<b>U.S.D.B1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>TAFIFET L.</b>	<b>M. A. A</b>	<b>U. Bouira</b>	<b>Examinatrice</b>

**Promotion : 2018/2019**

## **Remerciement**

*Tout d'abord, louange a DIEU le clément la miséricorde de nous avoir guide et donne le courage et la volonté de poursuivre nos études.*

*Nous exprimons aussi toute notre gratitude au Mme KRIMI Z. Professeur, qui est à l'origine de ce sujet. Ses idées et ses conseils ont été essentiels et enrichissants pour l'aboutissement de ce modeste mémoire, et qui nous a fait l'honneur en nous encadrant dans ce travail.*

*C'est pour nous un plaisir et un honneur de remercier sincèrement Mme DJELLOUT H., qui ne nous a pas épargné de son aide et de nous fournir des informations précieuses et utiles*

*On tient également à remercier les membres du jury, Professeur BELKAHLA pour sa bienveillance de présider notre soutenance et Mme. TAFIFET L. qui nous a fait l'honneur en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier infiniment Mme. Selma, ingénieur*

*De laboratoire pour leur disponibilité et son aide morale durant*

*Le cycle de nos études du master,*

*Nous tenons aussi a remercie l'ensemble des enseignants de la spécialité **{Biotechnologie microbienne}** pour avoir*

*Consacré leur temps et leur savoir-faire afin de nous faire bénéficier de la meilleure formation.*

*En fin, on voudrait remercier tous nos amis qui nous ont toujours soutenus et l'ensemble des personnes, qui nous a aidés, de près ou de loin, à réaliser ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres qui n'ont cessé de se Sacrifier pour que je réussisse :*

*À **ma mère** qui a œuvré pour ma réussite par son amour son soutien tout au long de mes études, pour ses précieux conseils, et sa bienveillance dans ma vie.*

*À **mon père** pour le soutien et l'aide qu'il m'apporte sans cesse, qui peut être fière de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'avancer dans la vie.*

*Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et de Vos prières quotidiennes*

*À mes deux sœurs **Roumaïssa** et **Amina***

*À mes frères **Mohamed** et **Yassine***

*À ma **grande mère***

*À tous les membres de ma famille **DOUIRI***

*Sans aucune exception.*

*À ma très chère copine **Wafa** ma deuxième sœur ; le bon dieu te garde pour moi mon ange. Je te souhaite la bonne réussite dans ta vie.*

*À tous mes amies et la promo de biotechnologie microbienne*

***Naima, Soumia, Manel, Hasna, Rim, Maroua***

*À mes chères copines **Aïcha** et **Imène***

**RANIA**

***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail :*

*À qui Dieu a doté d'honneur et de gloire, à mes idéaux dans la vie et à mon bon pouvoir, je demande à Dieu de s'étendre dans votre âge*

***Mon père***

*À mon ange dans la vie, au sens de l'amour et au sens de la tendresse, je demande à Dieu de s'étendre dans votre âge*

***Ma mère***

*À ma chère sœur **Wassila***

*À Mes frères **Mohamed** et sa femme **Khaoula** et **Oussama***

*À ma grande mère*

*A tous les membres de ma famille **KRITLI***

*Et mes remerciements spéciaux à ma compagne spirituelle, ma chère sœur*

***Ma copine Rania***

*À ceux qui aiment la fraternité et qui se distinguent par leur loyauté et leur générosité, pour ceux qui étaient avec moi sur la voie du succès*

***Mes chères copines Aicha et Imène***

*A tous mes amies de la promo de biotechnologie microbienne*

***Naima, Soumia, Manel, Hasna, Rim, Maroua***

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à accomplir ce travail que je n'ai pas eu la chance de mentionner.*

**Wafa**

## Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>
<b>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique</b> .....	<b>04</b>
1. Les différents types de stress abiotiques environnementaux en interaction avec la plante et les microorganismes.....	04
1.1 Le stress hydrique et son action sur les plantes .....	04
1.2 La salinité des sols et son action sur les plantes .....	04
2. Contraintes et impact du stress abiotique sur les plantes	
2.1 Contraintes du stress salin .....	05
2.2 Contraintes de la sécheresse sur les plantes, leur physiologie et sur les microorganismes associés.....	06
2.3 Applications de lutte contre le stress salin et hydrique.....	07
2.3.1 Utilisation de cultures tolérantes au sel.....	07
3. Effets bénéfiques des microorganismes du sol et de la rhizosphère sur les plantes...	08
3.1 Mécanismes d'action des PGPR.....	08
3.2 Principaux genres bactériens du groupe des PGPR.....	09
3.2.1 Les bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> , caractères physiologiques et écologiques...	09
3.2.2 Les bactéries du genre <i>Bacillus</i> , caractères physiologiques et écologiques.....	10
4. Les rhizobactéries (PGPR): un outil biologique de réduction du stress abiotique chez les plantes.....	11
4.1 La tolérance au stress biotique et abiotique par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.....	11
4.2 La Production de sidérophores.....	13
4.3 L'Acide indole acétique (AIA).....	13
4.4 Les Cytokinines.....	14
4.5 Les Gibberellines.....	14
4.6 L'ACC désaminase.....	14

4.7 La résistance Systémique Induite (ISR).....	15
4.8 Les exopolysaccharides.....	15
5. Les marqueurs et mécanismes génétiques et physiologiques du stress salin chez les plantes.....	16
5.1 L'ajustement osmotique.....	16
5.2 Les sucres solubles.....	16
5.3 La proline.....	17
5.4. La Glycine bétaine (G.B).....	17
5.5 Les Polyols.....	17
6. Interactions plantes - bactéries et adaptation au stress abiotique –synthèse des conséquences et apports positifs des inoculations bactériennes.....	17
7. Présentation générale de la plante ( <i>Hordeum Vulgare</i> L.).....	20
<b>Chapitre 2 : Matériels et méthodes.....</b>	<b>21</b>
1. Matériel biologique.....	21
1.1 Les souches bactériennes.....	21
1.2 Matériel végétal.....	21
2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet de la salinité sur les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	21
2.1 Conditions de culture.....	21
3. Analyse <i>in planta</i> de l'effet du stress hydrique sur les plants d'orge inoculés par les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	22
3.1 Préparation des graines d'orge.....	22
3.2 Préparation de l'inoculum pour la bactérisation des semences.....	22
3.3 Inoculation et mise en culture de l'orge.....	22
3.4 Traitements appliqués pour les graines d'orge inoculées avec les bactéries <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> et conduits en conditions de stress hydrique.....	23
3.5 Evaluation des paramètres de la promotion de la croissance de l'orge pour le stress hydrique.....	23
3.5.1 Détermination du poids frais et sec des plants d'orge.....	23
3.5.2 Détermination de la teneur relative en eau.....	24
4. Analyse <i>in planta</i> de l'effet du stress salin sur les plants d'orge inoculés par les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	24
4.1 Préparation des inocula bactériens, souches et conditions de culture.....	25
4.2 Traitement pour l'orge inoculé avec les bactéries <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> et conduit en conditions de stress salin.....	25
4.3 Evaluation de la promotion de la croissance de l'orge pour le stress salin.....	25

4.3.1 Poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire.....	25
5. Analyse des marqueurs biochimiques du stress abiotique.....	25
5.1 Dosage de la proline.....	25
5.2 Dosage des sucres solubles.....	26
6. Analyse statistique.....	26
<b>Chapitre 3 : Résultats et discussions.....</b>	<b>27</b>
1. Résultats	
1.1 Évaluation in vitro de l'effet de la salinité sur les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	27
1.2 Analyse <i>in planta</i> de l'effet du stress hydrique sur les plants d'orge inoculés par <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> .....	28
1.2.1 Effet des quatre souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> sur le poids frais et sec des plants d'orge.....	28
1.2.2 La teneur relative en eau.....	28
1.3 Évaluation de la croissance de l'orge bactérisé par les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> sous des conditions de stress salin.....	29
1.3.1 Effet de quatre souches de <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> sur le poids frais et sec de la partie racinaire et la partie aérienne .....	29
1.4. Analyse des marqueurs biochimiques du stress abiotique.....	31
1.4.1 Teneur en proline pour le traitement du stress hydrique et du stress salin.....	31
1.4.2 Teneur en sucres solubles pour le traitement du stress hydrique et du stress salin.....	33
2. Discussion.....	36
2.1. Stress hydrique et teneur relative en eau (TRE) des plantes bactérisées.....	38
2.2 Effet du stress salin sur la croissance des plants d'orge inoculés par les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	39
2.3 Adaptation des plantes d'orge bactérisés par accumulation de proline et de sucres réducteurs.....	40
<b>Conclusion .....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>46</b>

**Annexe**

## Résumé

La présente étude a pour objectif d'analyser le pouvoir de tolérance et de promotion de la croissance de l'orge inoculé par des bactéries appartenant au genre *Bacillus* et *Pseudomonas* et conduit dans un essai *in planta* dans des conditions de stress hydrique et salin. La mise en évidence de la croissance bactérienne *in vitro* sous l'effet de la salinité sur les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* a révélé des résultats homogènes. Les différentes souches ont toléré les concentrations de NaCl appliquées (100mM, 200mM, 0,5M, 0,8M) mais pour la concentration 1M, l'ensemble des souches sans distinction, présente une croissance moins importante, notée en boîte de pétri par une baisse de leur aspect visqueux et crémeux comparés aux boîtes témoins.

L'analyse *in planta* de l'effet de l'inoculation de *Pseudomonas brassicacearum* (CR2), *Pseudomonas brassicacearum* (EPR3), *Bacillus cereus* (OS1) et *Bacillus methylotrophicus* (OS4) sur le comportement morfo-biochimique chez la variété d'orge Saida soumise à un stress hydrique a permis de montrer que la détermination du poids frais et du poids sec de la partie racinaire et ceux de la partie aérienne est un critère de résistance à la sécheresse. Le stress hydrique appliqué aux plants d'orge inoculés par les souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas* a induit une augmentation du poids frais et de la teneur relative en eau d'une manière très hautement significative (P= 0.000).

L'effet de l'inoculation de *Pseudomonas* et de *Bacillus* en conditions salines, sur le comportement de l'orge a été étudié et montre une amélioration considérable de la croissance de la plante et des poids frais et secs des racines. Le stress salin généré par l'application des deux doses de NaCl (100 mM et 200 mM) a permis de montrer qu'à la concentration de 100 mM, le poids frais de la partie aérienne et celui de la partie racinaire a augmenté avec les souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus*.

Les résultats des plants d'orge en interaction avec les bactéries testées obtenus en conditions de stress hydrique et salin, montrent que leur inoculation aux semences d'orge a permis de leur conférer une amélioration des paramètres morphologiques (poids frais et sec de la partie aérienne et de la partie racinaire).

Concernant les paramètres biochimiques marqueurs de stress testés, les valeurs de la proline et des sucres solubles dans le cas du stress hydrique sont variables. En effet, la souche *B. methylotrophicus* OS4 affiche les valeurs les plus élevées de la proline et des sucres solubles chez les plantes traitées par cette bactérie. La valeur minimale de ces mêmes données a été enregistrée chez l'orge inoculé par la souche CR2. Pour le stress salin, la valeur la plus élevée a été révélée chez les plantes d'orge bactérisés par la souche *P.brassicacearum*(EPR3) pour la proline et la souche *B.methylotrophicus* (OS4) pour les sucres et la valeur minimale marquée chez la souche CR2.

D'une manière générale, les résultats de l'essai *in vitro* et *in planta* sont concordants et concluent que l'inoculation de l'orge par ces bactéries a permis un effet bénéfique sur la croissance et l'adaptation au stress abiotique, marquée par la biomasse végétale et les marqueurs biochimiques.

**Mots clés :** Tolérance, Sécheresse, Salinité, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Hordeum vulgare*.

## المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل قدرة التحمل وتعزيز نمو الشعير الملقح بواسطة البكتيريا التي تنتمي إلى جنس *Bacillus* و *Pseudomonas* ، والتي أجريت في اختبار النبات تحت ظروف الماء والملوحة. كشفت مظاهره للنمو البكتيري في المختبر تحت تأثير الملوحة على سلالات *Bacillus* و *Pseudomonas* نتائج ثابتة. تحملت السلالات المختلفة تركيزات كلوريد الصوديوم المطبقة (100 مللي مولار، 200 مللي مولار، 0.5 مولار، 0.8 مولار) ولكن بالنسبة للتركيز 1 مولار، أظهرت جميع السلالات دون تمييز نموًا أقل أهمية، كما لوحظ في طبق بتري بواسطة قطرة من مظهرها اللزج والدمس مقارنة مع العلب الشاهدة.

في تحليل النبات لتأثير تلقيح (*Pseudomonas brassicacearum* (CR2)، *Pseudomonas brassicacearum* (EPR3)، *Bacillus cereus* (OS1) و *Bacillus methylotrophicus* (OS4) على سلوك المورفو-الكيمياء الحيوية في صنف الشعير سعيدة تحت ضغط الماء أظهرت أن تحديد الوزن الطازج والوزن الجاف للجزء الجذري وتلك الخاصة بالجزء الجوي هو معيار لمقاومة الجفاف. تسبب الإجهاد المائي المطبق على نباتات الشعير الملقحة بسلالات *Bacillus* و *Pseudomonas* في زيادة الوزن الطازج والمحتوى النسبي للماء بطريقة شديدة الأهمية ( $P = 0.000$ ).

تمت دراسة تأثير تلقيح *Bacillus* و *Pseudomonas* في ظروف الملح على سلوك الشعير ويظهر تحسن كبير في نمو النبات والأوزان الطازجة والجافة للجزء الجذري. تم توليد الإجهاد الملحي من خلال تطبيق جرعتين من كلوريد الصوديوم (100 مللي مولار و 200 مللي مولار) في أنه عند تركيز 100 مللي مولار، زاد الوزن الطازج للجزء الجوي وجزء الجذري مع سلالات كلا النوعين *Bacillus* و *Pseudomonas*.

أظهرت نتائج نباتات الشعير بالتفاعل مع البكتيريا التي تم الحصول عليها في ظروف الإجهاد المائي والملحي أن تلقيحها ببذور الشعير سمح بتحسينها في البارامترات المورفولوجية (الوزن الطازج والجاف للجزء الجوي والجزء الجذري).

فيما يتعلق بعلامات الإجهاد الكيميائي الحيوي التي تم اختبارها، فإن قيم البرولين و السكريات الذائبة في حالة الإجهاد المائي ، متغيرة. في الواقع، يعرض سلالة *B. methylotrophicus OS4* ، أعلى قيم للبرولين و للسكريات الذائبة في النباتات المعالجة بهذه البكتيريا. تم تسجيل الحد الأدنى لقيمة هذه البيانات نفسها في الشعير الملقح باستخدام سلالة *CR2*. بالنسبة للإجهاد الملحي ، تم العثور على أعلى قيمة في نباتات الشعير التي تم تجربتها باستخدام سلالة *EPR3* من أجل البرولين والسلالة *OS4* للسكريات والحد الأدنى للقيمة المحددة في سلالة *CR2*.

بصفة عامة نتائج الاختبار في المختبر وفي النبات متناسقة وتشير إلى أن تلقيح الشعير بواسطة هذه البكتيريا سمح له بتأثير مفيد على النمو النباتي والتكيف مع الإجهاد اللاحيوي، الذي يتميز بالعلامات الحيوية والكيميائية الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** التحمل، الجفاف، الملوحة، *Hordeum vulgare* ، *Pseudomona*، *Bacillus*

## Abstract

The present study aims to analyze the tolerance and promotion of the growth of barley inoculated by bacteria belonging to the genus *Bacillus* and *Pseudomonas* and conducted in an *in planta* test under conditions of water and salt stress. Demonstration of bacterial growth *in vitro* under the effect of salinity on *Pseudomonas* and *Bacillus* strains revealed consistent results. The different strains tolerated the NaCl *Pseudomonas brassicacearum* (CR2), *Pseudomonas brassicacearum* (EPR3), *Bacillus cereus* (OS1) and *Bacillus methylotrophicus* (OS4) concentrations, but for the 1M concentration, all strains indiscriminately less important, noted in box kneaded by a drop in their viscous and creamy appearance compared to control boxes.

*In planta* analysis of the effect of inoculation of *Pseudomonas brassicacearum* (CR2), *Pseudomonas brassicacearum* (EPR3), *Bacillus cereus* (OS1) and *Bacillus methylotrophicus* (OS4) on morpho-biochemical behavior in the barley variety Saida under water stress has shown that the determination of fresh weight and dry weight of the root part and those of the aerial part is a criterion of resistance to drought. Water stress applied to barley plants inoculated with *Bacillus* and *Pseudomonas* strains induced an increase in fresh weight and relative water content in a very highly significant manner ( $P = 0.000$ ).

The effect of inoculation of *Pseudomonas* and *Bacillus* in salt conditions on the behavior of barley has been studied and shows a considerable improvement in plant growth and fresh and dry weights of roots. Saline stress was generated by the application of the two doses of NaCl (100 mM and 200 mM) showed that at the concentration of 100 mM, the fresh weight of the aerial part and that of the root part increased with strains of both genera *Pseudomonas* and *Bacillus*.

The results of the barley plants in interaction with the bacteria tested, obtained under conditions of water and salt stress, show that their inoculation with barley seeds has allowed them to be improved in the morphological parameters (fresh and dry weight of the aerial part). And the root part).

Regarding the biochemical stress markers tested the values of proline and soluble sugars in the case of water stress are variable. Indeed, *B. methylotrophicus* strain OS4, displays the highest values of proline and soluble sugars in plants treated with this bacterium. The minimum value of these same data was recorded in the barley inoculated by the strain CR2. For the salt stress, the highest value was revealed in the barley plants bacterized by the EPR3 strain for the proline and the strain OS4 for sugars and the minimum marked value in strain CR2.

In general, the results of the *in vitro* and *in planta* test are concordant and conclude that the inoculation of barley with these bacteria has had a beneficial effect on growth and adaptation to abiotic stress, marked by biomass plant and biochemical markers.

**Key words:** Tolerance, Drought, Salinity, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Hordeum vulgare*.

## Liste des abréviations

ABA : Acide abscisique

ACC: Aminocyclopropane carboxylique désaminase

AIA: Acide Indole Acétique

D.O : Densité optique

EPS : Exopolysaccharides

GB : Glycine bétaine

HCN: Cyanure d'hydrogène

ISR: Résistance Systémique Induite

LPGA : Levure Peptone Glucose Agar

MF : Matière fraîche

mM : milli molaire

mn : minute.

NaCl : Chlorure de sodium

PA : partie aérienne

Pf : poids frais

PGPF: Plant Growth-Promoting Fungi

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

PGPY: Plant Growth-Promoting Yeasts

PR : partie racinaire

Ps : poids sec

Pt : poids total

TRE : teneur relative en eau

## Liste des figures et des tableaux

<b>Fig. 1</b> Évaluation <i>in vitro</i> de l'effet de la salinité sur les souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> .....	27
<b>Fig. 2</b> Comparaison de la teneur relative en eau chez les plantes inoculées par les 4 souches bactériennes.....	28
<b>Fig. 3</b> Effet des quatre souches de <i>Pseudomonas</i> et de <i>Bacillus</i> sur le poids frais et sec de la partie racinaire et de la partie aérienne des plants d'orge cultivés à différentes concentrations de NaCl.....	30
<b>Fig. 4:</b> Classification hiérarchique des quatre souches avec les différentes concentrations de NaCl.....	30
<b>Fig. 5 :</b> Analyse en Composante Principale (ACP) des quatre souches avec les différentes concentrations de NaCl.....	31
<b>Fig. 6 :</b> Teneur en proline des quatre souches de <i>Pseudomonas</i> et ( <i>CR2</i> et <i>EPR3</i> ) de <i>Bacillus</i> ( <i>OS1</i> et <i>OS4</i> ) pour le stress hydrique.....	32
<b>Fig. 7 :</b> Teneur en proline des quatre souches de <i>Pseudomonas</i> ( <i>CR2</i> et <i>EPR3</i> ) et <i>Bacillus</i> ( <i>OS1</i> et <i>OS4</i> ) sous différentes concentrations de NaCl.....	32
<b>Fig. 8 :</b> Tubes à essai préparés pour le dosage de la proline.....	33
<b>Fig. 9 :</b> Teneur en sucres des extraits des plantes bactérisées par les souches de <i>Pseudomonas</i> ( <i>CR2</i> et <i>EPR3</i> ) et de <i>Bacillus</i> ( <i>OS1</i> et <i>OS4</i> ) pour le traitement en stress hydrique.....	33
<b>Fig. 10 :</b> Teneur en sucres des extraits de plantes inoculées par les souches de <i>Pseudomonas</i> ( <i>CR2</i> et <i>EPR3</i> ) et de <i>Bacillus</i> ( <i>OS1</i> et <i>OS4</i> ) à différentes concentrations de NaCl.....	34
<b>Fig. 11 :</b> Tubes à essai préparés pour le dosage des sucres solubles.....	34
<b>Tableau 1 :</b> Les différentes concentrations de NaCl utilisées.....	21

# **Introduction**

### Introduction

Le sol, symbole de la production agricole, est le support de la biodiversité. C'est le réacteur biologique qui assure de nombreuses fonctions environnementales. Il offre un habitat pour un très grand nombre de microorganismes. La croissance des plantes est fortement influencée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques entraînant une baisse de la productivité des cultures conduisant à l'insécurité alimentaire en particulier dans les pays en voie de développement.

Parmi ces facteurs, la disponibilité des terres agricoles, les ressources en eau douce, une faible activité économique dans le secteur agricole et l'incessante croissance des stress biotiques et abiotiques. Il est généralement admis que les stress abiotiques sont considérés comme la principale cause de la chute du rendement agricole (Reynolds et Tuberosa, 2008). Les pertes potentielles de rendement sont estimées à 17% dues à la sécheresse, 20% à la salinité, 40% à la température élevée, 15% aux températures basses et 8% à d'autres facteurs (Rehman *et al.* 2005; Ashraf *et al.* 2008).

La salinité est l'un des facteurs abiotiques majeurs limitant la productivité des plantes et par conséquent la production agricole. Dans le monde, plus de 800 millions d'hectares de terres sont touchés par des niveaux de sel qui pourraient sensiblement réduire la productivité des cultures (Munns et Tester, 2008).

En Algérie, 3.2 millions d'hectares de terres agricoles sont menacés par la salinité (Belkhouja et Bidai, 2004). Le stress salin perturbe le fonctionnement physiologique normal de la plante, ralentit sa croissance et limite sa productivité. Face à cette contrainte, les plantes mettent en œuvre plusieurs mécanismes d'adaptation comme l'excrétion des ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> et l'accumulation de solutés telles que la glycine bêtaïne et la proline (Hasegawa *et al.*, 2000 ; Munns, 2002).

Plusieurs stratégies ont été développées afin de diminuer les effets toxiques causés par une salinité élevée sur la croissance des plantes, y compris le génie génétique des plantes (Wang *et al.*, 2000), et récemment, l'utilisation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Dimkpa *et al.*, 2009).

Les PGPR sont généralement définis comme des bactéries qui peuvent se développer dans, sur, ou autour de tissus végétaux, et stimuler la croissance des plantes par une variété des mécanismes (Vessey, 2003).

Ils peuvent également améliorer leur compétitivité et leurs réponses aux facteurs de stress externes. Ainsi, l'inoculation des plantes stressées par des souches PGPR atténue le stress salin (Ashraf *et al.*, 2008 ; Saharan et Nehra, 2011).

En conséquence, la croissance des micro-organismes halotolérants associés aux racines des plantes peuvent conduire à une meilleure fertilité des sols salins (Hallman *et al.*, 1997).

## Introduction

---

À l'heure actuelle, les PGPR incluent des taxons bactériens très divers (Ashraf *et al.*, 2008). Un nombre très important de bactéries incluant des espèces de *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Bacillus* et *Serratia*. L'inoculation de plantes cultivées par des bactéries affiliées à ces derniers genres a montré une capacité d'améliorer leur croissance et leur adaptation aux différents types de stress (Kloepper et Beauchamp, 1992; Glick, 1995). Ces rhizobactéries ont la capacité de produire de nombreux métabolites secondaires et sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler au laboratoire (Raaijmakers *et al.*, 2002). De plus, les *Bacillus* offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes aux changements des conditions environnementales (Cavaglieri *et al.*, 2005).

En outre, la sélection d'une souche PGPR efficace est liée à la caractérisation de ses propriétés favorisant la croissance végétale (Cattelan *et al.*, 1999). Ces propriétés sont le plus souvent la fixation biologique de l'azote (Graham et Vance, 2000), la solubilisation du phosphate (Rodriguez *et al.*, 2007), la production de sidérophores (Neilands, 1993) et la synthèse de phytohormones de la plante telles que l'acide indole acétique (AIA), les cytokinines ou les gibbérellines (Costacurta et Vanderleyden, 1995), et l'activité ACC désaminase (Cattelan *et al.*, 1999).

Les objectifs de cette étude ont donc naturellement découlé de ces acquis; évaluer les potentialités ayant trait à la croissance des plantes des rhizobactéries, caractériser les souches les plus performantes. Il s'agit principalement dans cette thématique d'estimer les effets de l'inoculation par des souches bactériennes sous stress salin et hydrique sur les paramètres morpho-biochimiques chez la variété d'orge Saida.

Dans le cadre des recherches multiples sur l'amélioration de la tolérance de l'orge aux contraintes salines et hydrique, cette étude se propose de répondre aux questions suivantes :

Quelle est la conséquence de l'inoculation d'une variété locale d'orge par deux espèces de *Pseudomonas* et de *Bacillus*, sous contrainte saline et hydrique ?

Pour répondre à cette question, nous avons testé des bactéries préalablement identifiées auparavant comme appartenant au genre *Bacillus* et au genre *Pseudomonas* et ayant prouvé leur efficacité comme agents de biocontrôle de bactérioses de plantes cultivées et comme stimulateurs de la croissance de la tomate (Krimi *et al.*, 2016).

Ces bactéries ont été d'abord évaluées *in vitro* pour leur tolérance à différentes concentrations de NaCl.

## Introduction

---

Dans un essai mené sur l'orge inoculé par ces mêmes bactéries et conduit sous des conditions de stress hydrique, nous avons évalué le potentiel de rétention d'eau de cette plante.

Parallèlement, un autre essai a été réalisé par inoculation de ces mêmes bactéries à des semences d'orge et repiquées par la suite dans un sol salinisé et irrigué en utilisant deux concentrations de sel, dans le but de rechercher l'effet stimulateur de croissance de ces bactéries sous de telles conditions.

Enfin, la confirmation de l'adaptation à la salinité et au stress hydrique des plantes d'orge inoculées par ces bactéries a été analysée par la détermination de deux marqueurs biochimiques de stress à savoir, la proline et les sucres réducteurs.

# **Chapitre 01**

## **Synthèse bibliographique**

La croissance des plantes est fortement influencée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques. Les microorganismes présents librement dans la rhizosphère peuvent avoir des effets bénéfiques sur la croissance de la plante en influençant la disponibilité des éléments nutritifs et sa protection contre les agressions biotiques et abiotiques (Van der Heijden et *al.*, 2008).

### **1. Différents types de stress abiotiques environnementaux**

Le stress abiotique est défini comme l'impact négatif des facteurs non vivants sur des organismes vivants dans un environnement spécifique. Les facteurs de stress abiotique, naturels ou anthropiques, influent négativement sur la performance de la population ou la physiologie des individus (Vinebrooke et *al.*, 2004). Ils causent des dommages aux végétaux et aux animaux mais les plantes sont plus affectées du fait qu'elles dépendent des facteurs environnementaux.

Divers facteurs de stress abiotiques sont décrits, tels que; la disponibilité d'eau comme la sécheresse et l'inondation, les températures extrêmes (froid, gel, chaleur), la salinité, les carences nutritionnelles et la structure des sols.

La salinité et la sécheresse sont les deux facteurs majeurs limitant le développement des plantes. Ils imposent aux plantes un stress osmotique qui perturbe la structure cellulaire et les fonctions physiologiques (Larcher, 2003).

#### **1.1. Stress hydrique et son action sur les plantes**

Le stress hydrique souvent provoqué par la sécheresse, se manifeste quand la quantité d'eau transpirée est supérieure à la quantité d'eau absorbée. Le manque d'eau et la rareté des précipitations sont les causes principales du stress hydrique, ce dernier affecte la croissance et le développement de la plante (Krista, 2003 ; Zryd, 2004).

#### **1.2. Salinité des sols et son action sur les plantes**

La salinité des sols est un problème de grande importance pour l'agriculture irriguée. Les sols sont souvent salins et présentent un faible potentiel agricole du fait de la présence de sels sous forme d'ions qui sont les formes d'atomes ou de composés chargés électriquement et solubles dans l'eau.

Les plantes absorbent les nutriments essentiels sous forme de sels solubles, mais une accumulation excessive de ces derniers, inhibe fortement la croissance de la plante.

Selon le type de source à partir de laquelle le sol est devenu salin, la salinité peut être classée en salinisation primaire et secondaire : La salinisation primaire ou naturelle est due à l'altération des minéraux et des sols issus de roches mères salines. La salinisation secondaire est causée par l'interférence humaine : l'irrigation, la déforestation, le surpâturage ou la culture intensive (Ashraf, 1994).

## 2. Contraintes et impact du stress abiotique sur les plantes

### 2.1. Contraintes du stress salin

Les halophytes sont des plantes naturellement adaptées aux milieux salés. La concentration intracellulaire de ces plantes en sels peut atteindre 1M grâce à l'haloadaptation spécifique des enzymes de la paroi cellulaire et des tissus (Flowers et Colmer, 2015).

Selon ce mécanisme d'haloadaptation ou d'adaptation à la salinité, et sur la base du contenu interne en sels, deux catégories sont distinguées : les plantes de type « inclusif » ou (Include), qui stockent le sel dans les vacuoles, le sel est ainsi isolé, par contre celles de type « exclusif » (Exclude) empêchent le sel de remonter jusqu'aux feuilles. Une première barrière existe au niveau de l'endoderme, une couche interne des cellules de la racine (Ashraf *et al.*, 2006).

Sur la base de leur réponse morphologique, les halophytes sont de deux types : celles excrétrices de l'excès de sel, visible sur la feuille sous forme de cristaux (Flowers et Colmer, 2015) ou bien, succulentes capables de stocker de l'eau dans leurs feuilles épaisses (Konnerup *et al.*, 2015).

Les cultures agricoles présentent un spectre de réponses sous le stress salin. La salinité diminue non seulement la production agricole de la plupart des cultures, mais affecte également les propriétés physicochimiques du sol et l'équilibre écologique de la région.

Les impacts de la salinité sur les cultures incluent: la faible productivité agricole, les faibles rendements économiques et les érosions des sols (Hu et Schmidhalter, 2002). Les effets de la salinité sont le résultat d'interactions complexes entre des processus morphologiques, physiologiques et biochimiques, notamment la germination des graines, la croissance des plantes et l'absorption d'eau et de nutriments (Singh et Chatrath, 2001; Akbarimoghaddam *et al.*, 2011).

La salinité du sol impose une toxicité ionique, un stress osmotique, une carence en éléments nutritifs (N, Ca, K, P, Fe, Zn) et un stress oxydatif sur les plantes, limitant ainsi l'absorption d'eau par le sol. La salinité du sol réduit considérablement l'absorption du phosphore (P) par les plantes car les ions phosphates précipitent avec les ions Calcium (Ca) (Bano et Fatima, 2009).

Le milieu de croissance salin provoque de nombreux effets néfastes sur la croissance des plantes, en raison du stress osmotique caractérisé par un faible potentiel osmotique des solutions de sol, un stress dû aux effets ioniques spécifiques et des déséquilibres nutritionnels ou une combinaison de ces trois facteurs (Ashraf, 2004).

En conclusion, le stress salin présente un triple effet: il réduit le potentiel hydrique, cause un déséquilibre ionique ou des perturbations en homéostasie ionique et provoque une toxicité ionique. Cet état hydrique altéré conduit à une croissance réduite et une limitation du rendement des cultures.

## 2.2. Contraintes de la sécheresse sur les plantes, leur physiologie et sur les microorganismes associés

Le réchauffement climatique est un phénomène d'augmentation de la température moyenne des océans et de l'atmosphère terrestre, qui se traduit par une augmentation de la quantité de chaleur retenue à la surface terrestre selon différents scénarios d'évolution de la concentration atmosphérique de CO<sub>2</sub>.

Ces changements ont des effets sur toutes les espèces vivantes. La mise en évidence de l'augmentation de la température permet de caractériser l'amplitude des problèmes dus au changement climatique, parce que la température est un indice important pour l'agriculture pour connaître le nombre de jours de soleil et la répartition des apports d'eau pendant l'année (Duong, 2000).

Les changements climatiques ont donc modifié l'environnement dans lequel tous les organismes se développent (Nicotra *et al.*, 2010). Les espèces qui ont une faible mobilité comme par exemple la plante, sont les plus désavantagées face aux changements climatiques (Newton *et al.*, 2012).

Les conditions climatiques et édaphiques vont assurer pour la plante, soit un environnement favorable à ses besoins, soit un environnement défavorable (stress biotique et abiotique) qui perturbe son métabolisme et son fonctionnement cellulaire et provoque des anomalies en conséquence (Beebe *et al.*, 2011).

Ce dysfonctionnement cellulaire entraîne souvent la réduction de la disponibilité d'eau qui ferme les stomates et par conséquent, entraînera une réduction de la conductance stomatique à l'absorption de CO<sub>2</sub> (Llusià et Peñuelas, 2000). Ces changements climatiques résumés par l'augmentation de CO<sub>2</sub> et la température, peuvent modifier la production de la biomasse végétale et la composition des communautés végétales (Kardol *et al.*, 2010).

Une perturbation au niveau des communautés végétales, peut modifier les fonctionnements des écosystèmes terrestres par des changements dans la productivité primaire nette (Norby *et al.*, 2005).

Les changements climatiques notamment la sécheresse et les hautes températures affectent la communauté microbienne du sol (Steinauer *et al.*, 2015) ainsi que l'interaction symbiotique (plante-symbiose), qui est nécessaire pour l'adaptation et la survie des espèces (Toby Kiers *et al.*, 2010).

La sécheresse est un facteur de stress qui augmente la résistance à la diffusion d'oxygène dans le nodule (Durand, 2007). Cette résistance augmente la concentration d'oxygène autour de la rhizosphère des nodules, mais cette augmentation ne stabilise pas le taux de fixation d'azote, ce

qui suggère qu'il y a d'autres facteurs qui peuvent être impliqués par ce processus (Del Castillo et Layzell, 1995).

La sécheresse affecte le potentiel hydrique des plantes et la turgescence, ce qui est suffisant pour interférer avec les fonctions normales (Hsiao, 2000) en modifiant les caractéristiques physiologiques et morphologiques des plantes (Rahdari et Hoseini, 2012).

La réduction de la croissance sous stress de sécheresse a été étudiée dans plusieurs cultures telles que, l'orge (Samarah, 2005), le maïs (Kamara et al., 2003), le riz (Lafitte et al., 2007) et le blé (Rampino et al., 2006). Le poids frais et la teneur en eau sont des paramètres de croissance courants affectés par la sécheresse (Jaleel et al., 2009).

La sécheresse en tant que stress multidimensionnel affecte plusieurs compartiments sous-cellulaires, organes cellulaires et plantes entières (Choluj et al., 2004 ; Rahdari et al., 2012 ). Ainsi, la sécheresse affecte négativement la quantité et la qualité de la croissance des plantes.

Le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants, affectant la productivité agricole autour du monde, il occupe et continuera d'occuper une très grande place dans les chroniques agro-économiques. C'est un problème sérieux dans beaucoup d'environnements arides et semi-arides comme le cas en Algérie, où les précipitations changent d'année en année et où les plantes sont soumises à des périodes plus ou moins longues de déficit hydrique (Mefti et al, 2000).

### **2.3. Applications de lutte contre le stress salin et hydrique**

#### **2.3.1. Utilisation de cultures tolérantes au sel**

L'utilisation de cultures tolérantes au sel est l'une des stratégies les plus importantes pour résoudre le problème de la salinité.

Une tolérance sera nécessaire pour les espèces en cours d'assèchement, mais également pour les cultures annuelles à suivre, car le sel restera dans le sol lorsque la nappe phréatique sera abaissée. La tolérance au sel dans les cultures permettra également d'utiliser plus efficacement une eau d'irrigation de mauvaise qualité. Pour augmenter la tolérance au sel des plantes, il est nécessaire de comprendre les mécanismes de la limitation du sel sur la croissance des plantes et le mécanisme de la tolérance au sel au niveau de la plante entière, des organites et des molécules.

Dans des conditions salines, le schéma d'expression des gènes change, ainsi que des modifications qualitatives et quantitatives de protéines. Bien qu'il soit généralement admis que le stress salin entraîne des changements quantitatifs dans la synthèse des protéines, il existe certaines controverses quant à savoir si la salinité active des gènes spécialisés impliqués dans le stress salin (Shrivastava et Kumar, 2014).

### 3. Effets bénéfiques des microorganismes du sol et de la rhizosphère sur les plantes

Le terme « rhizosphère » fût utilisé pour la première fois par Hiltner (1904) pour désigner la zone d'interaction entre les microorganismes et les racines des plantes (Durand et Knusden, 2002). Plus tard, Curl et Truelove (1986) décrivent la rhizosphère comme « la zone étroite du sol sujette à l'influence des racines, suite à la perte ou à l'exsudation de substances affectant l'activité microbienne ».

Les plantes et les bactéries peuvent établir des interactions de type symbiotiques mutualistes, avec des effets bénéfiques pour les deux partenaires.

Les microorganismes abrités par la rhizosphère peuvent être constitués de deux groupes: les PGPF et les PGPB.

Certains champignons stimulent la croissance et la défense de la plante, accompagnée d'une activité antagoniste envers différents organismes phytopathogènes. Ces champignons sont appelés PGPF "Plant Growth-Promoting Fungi" (Whipps, 2001). Les PGPF, peuvent être des champignons filamenteux voire même des levures également appelées PGPY pour "Plant Growth-Promoting Yeasts", présents naturellement chez des plantes herbacées que chez les plantes ligneuses et sont à l'origine de symbioses remarquables telles que les mycorrhizes (Harman et al., 2004).

Parallèlement aux PGPF, les bactéries bénéfiques sont également utilisées pour la protection de la plante contre les infections par les agents pathogènes, dont certaines peuvent stimuler la croissance de leur hôte végétal et présentent un grand intérêt pour l'agriculture.

Ces micro-organismes bactériens bénéfiques ou PGPB proviennent de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère, la spermosphère, la phyllosphère, l'anthosphère ou la carposphère (Compant, 2007). Dans la rhizosphère, la concentration en bactéries peut être 10 à 1000 fois supérieure à celle du reste du sol (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

#### 3.1. Mécanismes d'action des PGPR

Les rhizobactéries ou **PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)** sont les bactéries ayant la capacité de coloniser les racines de façon intense. Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp. et les *Pseudomonas* spp. fluorescents (Hallmann et al., 1997).

Plusieurs études sur la relation PGPR/amélioration de l'absorption des nutriments ont conclu que l'application des inoculations bactériennes améliore considérablement l'absorption des éléments minéraux comme l'azote, le phosphore et le potassium.

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes exercés, dont les modes d'action sont directs ou indirects, bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes indirects sont, en général, ceux qui se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement leur métabolisme (Cherif, 2014).

Ces mécanismes pouvant être actifs simultanément ou séquentiellement à différentes étapes de la croissance des plantes sont :

- La solubilisation des phosphates, la fixation de l'azote et les minéraux nutritifs, rendant ces aliments disponibles pour la plante.
- La production de phytohormones telles que l'acide d'indole-3-acétique (IAA)

La répression des microorganismes pathogènes du sol, par la production du cyanure d'hydrogène (HCN), de sidérophores, d'antibiotiques, et/ou de la concurrence pour les nutriments (Gupta *et al.*, 2000).

- De plus, les PGPR peuvent contribuer dans l'amélioration de la résistance de la plante aux stress biotiques et abiotiques tels que, la salinité, la sécheresse et la toxicité par les métaux lourds.

Sur la base de l'activité des PGPR, Somers *et al.*, (2004) ont classé les PGPR en 4 groupes, (i) les biofertilisants qui ont pour rôle d'augmenter la disponibilité des éléments nutritifs aux plantes, (ii) les phytostimulateurs qui améliorent la croissance des plantes, habituellement par la production de phytohormones, (iii) les rhizoremédiateurs qui dégradent les polluants organiques et (iiii) les biopesticides dont le rôle est de lutter contre les maladies, principalement par la production de métabolites antibiotiques et antifongiques.

## **3.2. Principaux genres bactériens impliqués dans la fonction PGPR**

### **3.2.1. Bactéries du genre *Pseudomonas*, caractères physiologiques et écologiques**

Les bactéries apparentées au genre *Pseudomonas* (du grec : *pseudes*, « faux » et *mona*, « Unité ») sont très ubiquistes, ils colonisent des niches écologiques très diverses, elles ont été isolées de diverses sources d'eau allant des eaux douces, aux eaux saumâtres et même l'eau de mer, du sol, des poussières en suspension dans l'air et des végétaux (Palleroni, 2009).

Selon Palleroni (2009), les caractéristiques morphologiques de base communes à presque toutes les espèces apparentées au genre *Pseudomonas* sont; la forme de bacille droit et la présence d'un ou plusieurs flagelles polaires. Aucune spore n'est produite, ce sont des bactéries à Gram négatif. Ces caractéristiques morphologiques définissent les «Pseudomonads», mais l'appartenance au genre *Pseudomonas* nécessite certains caractères physiologiques supplémentaires, comme un métabolisme énergétique strictement respiratoire et la nutrition du type chimio-organotrophe.

Les *Pseudomonas* sont à catalase positive avec une teneur en GC de 58-69% (Palleroni, 2009). Plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires sont comprises dans ce genre.

Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr. Le sous-groupe des *Pseudomonas* fluorescents, appartenant au premier groupe génomique, est le plus étudié. Les espèces appartenant à ce groupe sont : *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène pour l'homme, *P. syringae*, espèce phytopathogène, *P. fluorescens*, *P. putida*, et *P. chlororaphis* (= *Pseudomonas aureofaciens*) qui rassemble des espèces saprophytes (Höfte et Altier, 2010).

**Domaine: Bacteria**

**Phylum: Proteobacteria**

**Classe: Gamma-Proteobacteria**

**Ordre : Pseudomonadales**

**Famille : Pseudomonadaceae**

**Genre : *Pseudomonas***

### **3.2.2. Bactéries du genre *Bacillus*, caractères physiologiques et écologiques**

Ce sont des bactéries aérobies ou aéro-anérobies facultatives formant des endospores. Depuis la découverte des bactéries, la possession d'une spore a été utilisée comme une clé dans la classification. Les caractéristiques distinctives entre les membres du genre *Bacillus* et les autres bacilles sporulants, sont la nature aérobie stricte ou facultative, la forme bacillaire et la production de catalase.

Le genre *Bacillus* a subi des changements taxonomiques considérables. Les premières tentatives de classification des espèces de *Bacillus* sont fondées sur deux caractéristiques: la croissance aérobie et la formation d'endospores. Deux espèces forment des endospores, *Bacillus anthracis* et *B. subtilis*.

Les caractères physiologiques des *Bacillus* sont impressionnants ; ils peuvent dégrader la plupart de la matière organique animale ou végétale (cellulose, amidon, protéines, hydrocarbures...), ils produisent des enzymes extracellulaires, des antibiotiques peptidiques et des molécules peptidiques de signal.

Leurs caractères métaboliques les classent parmi les organismes hétérotrophes au carbone, ils peuvent être aussi bien nitrifiants que dénitrifiants, fixateurs d'azote, percepteurs de fer, oxydent le sélénium et oxydent et réduisent le manganèse. Les *Bacillus* spp. sont des chimolithotrophes facultatifs, acidophiles, alcalophiles, psychrophiles, thermophiles, halotolérants ou halophiles et sont capables de croître à des valeurs de pH, de température et de concentrations de sel où peu d'autres organismes peuvent survivre. A cause de cette variabilité physiologique, leur connaissances sur l'écologie du genre *Bacillus* sont très insignifiantes (Holt *et al.*, 1994 ).

Dans le sol, les *Bacillus* représentent une grande fraction de la communauté microbienne, ils partagent leur milieu avec d'autres bactéries commensales représentées principalement par les genres *Pseudomonas* et *Actinomyces*. On les retrouve sous tous les horizons, ils présentent une diversité de capacités physiologiques qui leur permet de vivre dans une large variété d'habitats tels que l'eau de mer, les profondeurs abyssales et les sédiments (Andrea et al., 2008).

**Domaine: Bacteria**

**Phylum: Firmicutes**

**Classe: Bacilli**

**Ordre: Bacillales**

**Famille: Bacillaceae**

**Genre: *Bacillus***

#### **4. Rhizobactéries (PGPR): un outil biologique de réduction du stress abiotique chez les plantes**

Plusieurs stratégies ont été développées afin de réduire les effets toxiques causés par la forte salinité sur la croissance des plantes, y compris l'utilisation de bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) (Dimkpa et al., 2009).

Le rôle des micro-organismes dans la promotion de la croissance des plantes, la gestion des éléments nutritifs et le contrôle des maladies est bien connu et bien établi. Ces micro-organismes bénéfiques colonisent la rhizosphère et ou l'endorhizosphère des plantes et favorisent leur croissance par le biais de divers mécanismes directs et indirects (Nia et al., 2012, Ramadoss et al., 2013).

Des études suggèrent que l'utilisation des PGPB est devenue une alternative prometteuse pour atténuer le stress des plantes causé par la salinité et que le rôle des microorganismes dans la gestion des stress biotiques et abiotiques gagne en importance (Yao et al., 2010).

##### **4.1. Tolérance au stress biotique et abiotique par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes**

La rhizosphère de la plante est enrichie de sources de nutriments excrétées par des racines qui abritent une plus grande abondance de population microbienne que le sol environnant (Lugtenberg et Kamilova, 2009). Les bactéries bénéfiques libres vivant dans la rhizosphère qui exercent des activités bénéfiques sont connues sous le nom de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR). Certaines d'entre elles sont des endophytes facultatifs qui envahissent davantage les espaces intercellulaires des tissus hôtes et se développent comme des endophytes pour établir une association mutuellement bénéfique.

Les PGPR vivant à l'extérieur de la cellule végétale sont associés différemment aux racines des plantes et sont directement liés aux mécanismes sous-jacents des interactions plante-microorganisme. La majorité des PGPR colonisent la surface radiculaire et prospèrent dans les espaces entre les poils radiculaires et les couches rhizodermiques, alors que certains ne sont pas physiquement en contact avec les racines (Gray et Smith, 2005). Les exsudats de racines font partie intégrante des événements de signalisation de la rhizosphère et régulent la communication lors d'interactions bénéfiques plante-microorganisme.

Il est admis que les phénols, les flavonoïdes et les acides organiques sécrétés par les racines agissent comme des signaux chimiques pour la chimiotactisme bactérien, la sécrétion d'exopolysaccharides, la détection du quorum et la formation de biofilms lors de la colonisation par la rhizosphère (Badri et *al.*, 2009; Narula et *al.*, 2009).

Isolés des sols ou de la rhizosphère, les PGPR sont criblés *in vitro* pour les caractéristiques favorisant la croissance des plantes et testés pour ses effets bénéfiques dans des essais en serre et au champ avant la commercialisation.

Les PGPR favorisent la croissance et le développement des plantes grâce à divers mécanismes, tels que l'assimilation améliorée des nutriments (biofertilisants) par fixation biologique de l'azote, solubilisation du phosphore ou acquisition du fer (Sharma et *al.*, 2013), le contrôle des agents pathogènes par antagonisme et concurrence (agents de biocontrôle) (Compant et *al.*, 2005). Par ailleurs, ils dégradent les polluants organiques et réduisent la toxicité des sols contaminés sur les métaux (bioremédiation) et facilitent la phytoremédiation (Divya et Kumar, 2011; Janssen et *al.*, 2015).

L'inoculation avec les PGPR est connue pour moduler la régulation du stress abiotique via des mécanismes directs et indirects induisant une tolérance systémique (Yang et *al.*, 2009). De nombreux PGPR ont été étudiés pour leur rôle dans l'amélioration des relations plante-eau, de l'homéostasie des ions et de l'efficacité photosynthétique chez les plantes soumises au stress salin; leurs mécanismes d'amélioration sont complexes et souvent mal compris.

Ces mécanismes sont régulés par un réseau complexe d'événements de signalisation se produisant pendant l'interaction plante-microbe et par conséquent, le soulagement des contraintes qui en résulte (Smith et *al.*, 2017). L'accumulation de preuves à l'aide de techniques à haut débit implique que la compréhension du fonctionnement dynamique des PGPR en relation avec la conductance stomatique, le transport des ions, l'absorption d'eau et de nutriments, l'état physiologique, les protéines de transduction du signal, les enzymes antioxydantes et le métabolisme des glucides chez les plantes est importante pour la détermination du facteur induit.

Le terme tolérance systémique induite (TSI) a été proposé pour désigner les modifications physiques et chimiques induites par les PGPR qui entraînent une tolérance accrue au stress abiotique. Les PGPR facilitent indirectement la croissance des plantes en réduisant les agents pathogènes des plantes ou directement en facilitant l'absorption de nutriments par la production de phytohormones comme par exemple, l'auxine, la cytokinine et les gibbérellines, par une réduction enzymatique des niveaux d'éthylène dans les plantes et/ou par la production de sidérophores (Shrivastava et Kumar, 2014).

Le rôle des micro-organismes dans la croissance des plantes, la gestion des éléments nutritifs et l'activité de biocontrôle est très bien établi. De plus, le rôle des micro-organismes dans la gestion des stress biotiques et abiotiques prend de l'importance. Les explications possibles du mécanisme de tolérance des plantes à la sécheresse induite par les rhizobactéries incluent:

- 1) la production de phytohormones comme l'acide abscisique (ABA), l'acide gibbérellique, les cytokinines et l'acide indole-3-acétique (IAA);
- 2) l'ACC désaminase pour réduire le niveau d'éthylène dans les racines;
- 3) la tolérance systémique induite par des composés bactériens;
- 4) les exopolysaccharides bactériens (Yang *et al.*, 2009; Dimkpa *et al.*, 2009). L'effet positif de ces molécules sur la germination des graines, la formation de racines et l'élongation de la tige est confirmé par plusieurs chercheurs (Zahir *et al.*, 2004; Glick *et al.*, 2007).

#### 4.2. Production de sidérophores

Le fer est un micronutriment indispensable pour la majorité des organismes. En dépit de son abondance, cet élément est peu soluble et donc peu disponible dans les sols cultivés (Ma, 2005). Pour l'acquérir, les micro-organismes ont recours à la synthèse de sidérophores (Schwyn et Neilands, 1987). Cette synthèse n'a lieu qu'en situation de carence en fer (whipps, 2001).

La pyoverdine (ou pseudobactine), la pyocheline et l'acide salicylique sont les principaux groupes produits par les *Pseudomonas* fluorescents (Meyer et Abdallah, 1978).

Les sidérophores sont libérés par les bactéries dans la rhizosphère où les concentrations peuvent atteindre  $10^{-7}$  à  $10^{-8}$  M (Powell *et al.*, 1980). Néanmoins, dans l'environnement, cette production est fortement influencée par une grande variété de facteurs tels que, la concentration du fer, la nature et la concentration en source de carbone et d'azote, les teneurs en phosphates, ainsi que la présence d'éléments traces comme le magnésium et le zinc (O'Sullivan et Ogara, 1992).

L'inoculation des semences par des bactéries PGPR productrices de sidérophores améliore la croissance végétale et augmente le taux de chlorophylle (Sharma *et al.*, 2003). Parmi les espèces utilisées comme inocula, citons : *Aeromonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* spp. (Sujatha et Ammani, 2013).

### 4.3. Acide indole acétique (AIA)

L'AIA est une phytohormone puissante produite par les PGPR. Elle contrôle un large éventail de processus liés au développement de la plante et de la croissance. En effet, cette hormone présente un rôle clé dans l'amélioration de la croissance des racines et des poils latéraux et polaires, dans la différenciation des tissus vésiculeuse et dans l'entretien du méristème (Fukaki et al., 2007). D'après (Ahemad et Kibret, 2014), l'AIA affecte la division cellulaire, l'extension et la différenciation, stimule la germination des graines des semences et des tubercules, augmente le taux de xylème et le développement des racines, contrôle des processus de croissance végétative, stimule la formation des racines latérales et adventives et intervient dans les tropismes en réponse à la gravité (gravitropisme) ou à la lumière (phototropisme).

La biosynthèse de l'AIA chez les bactéries est stimulée par différents types de stress environnementaux tels que; l'acidité, le stress osmotique et la carence en carbone (Spaepen et al., 2007). Ainsi, la supplémentation du milieu de germination (sable-tourbe) par des souches de *Pseudomonas fluorescens* productrices d'AIA améliore la croissance des plantes de tournesol soumises à un stress salin (Shilev et al., 2010).

### 4.4. Cytokinines

Les cytokinines stimulent la division cellulaire des plantes, régulent la différenciation de méristème de la racine et inhibent l'allongement des racines primaires et la formation de racines latérales (Riefler et al., 2006). Divers genres bactériens PGPR tels que *Arthrobacter*, *Azospirillum* et l'espèce *P. fluorescens*, sont capables de produire ce type de molécules (De Salamone et al., 2001).

### 4.5. Gibberellines

Ces phytohormones favorisent le développement des tissus de la tige et l'extension des racines latérales (Yaxley et al., 2001). Leur production est détectée chez divers PGPR tels *Azospirillum*, *Gluconobacter diazotrophicus*, *Azotobacter*, *Bacillus pumilus*, *B. licheniformis*, *Herbaspirillum seropedicae* et les *Rhizobia* (Bottini et al., 2004).

### 4.6. ACC désaminase

Chez les plantes, l'éthylène est une phytohormone inhibitrice de la croissance racinaire (Glick 1995). Le stress induit par l'éthylène est contourné par l'enzyme acide-1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) désaminase synthétisée par les PGPR. Cette enzyme réduit le taux d'éthylène en clivant son précurseur : l'ACC (Glick et al., 2007; Nascimento et al., 2014).

L'ACC désaminase induit chez la plante une tolérance au sel et à la sécheresse (Saleem et al., 2007; Zahir et al., 2009). Elle est synthétisée par plusieurs genres bactériens tels que ; *Acinetobacter*,

*Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia* et *Rhizobium* (Zahir et al., 2009 ; Nadeem et al., 2010). En conséquence, l'inoculation des semences avec des rhizobactéries productrices de l'ACC désaminase améliore l'élongation racinaire de la plante au moment de la germination et stimule la croissance des tiges en facilitant l'absorption du N, P et K chez diverses cultures (Glick, 2007 ; Nadeem et al., 2009).

#### **4.7. Résistance Systémique Induite (ISR)**

Les plantes peuvent acquérir des mécanismes de défense contre les organismes pathogènes par le phénomène de résistance systémique induite ou 'Induced Systemic Resistance' (ISR). En effet, de nombreux composants bactériens (lipopolysaccharides (LPS), flagelles, acide salicylique, sidérophores, lipopeptides cycliques, acétoïne et 2,3-butanedio) activent les défenses de la plante contre différentes maladies.

La résistance systémique induite est une forme de résistance stimulée, spécifiquement par les PGPR. Au cours des années 80, les PGPR ont surtout attiré l'attention en raison de leur capacité à stimuler la croissance végétale (Kloepper et al., 2004). La possibilité que les PGPR puissent aussi induire des effets indirects en sensibilisant la plante à se défendre contre l'attaque microbienne a par la suite été expérimentée. Ce concept de la résistance systémique induite (RSI) par les PGPR trouvait sa justification au travers de certaines études biochimiques indiquant que la protection des plantes traitées avec des PGPR était associée à de profonds changements métaboliques (Benhamou, 2000).

#### **4.8. Exopolysaccharides**

Les souches PGPR produisent des exopolysaccharides bactériens (EPS) qui se lient aux cations  $\text{Na}^+$  et notamment diminuent sa teneur contribuant ainsi à atténuer le stress salin chez les végétaux (Ashraf et al., 2004). La teneur en  $\text{Na}^+$  du soja cultivé dans des conditions salines diminue grâce à l'inoculation par des souches productrices d'EPS. L'inoculation non seulement réduit la concentration de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Cl}^-$  chez le maïs, mais également induit une augmentation marquée et progressive de la concentration en N, P, et K sous contrainte de la salinité.

Selon Vivas et al. (2003), les concentrations en N, P, et K chez la laitue inoculée par *Bacillus* sp. dans des conditions de stress, augmentent d'environ 5, 70 et 50%, respectivement.

Les EPS bactériens jouent un rôle important dans l'agrégation et l'adhérence du sol. Les souches PGPR productrices d'EPS induisent une tolérance à la salinité du sol et favorisent la croissance des plants de soja (Bezzate et al., 2000) et limitent l'absorption de  $\text{Na}^+$  par les racines de blé (Ashraf et al., 2004).

### **5. Marqueurs et mécanismes génétiques et physiologiques de stress salin chez les plantes**

La tolérance au sel ne semble pas être conférée par un ou plusieurs gènes uniques (Manchanda et Garg, 2008). Lorsqu'une plante est soumise à un stress abiotique, un certain nombre de gènes sont activés, ce qui entraîne une augmentation des taux de plusieurs métabolites et protéines, dont certains peuvent être responsables de la protection conférée à ces stress (Bhatnagar-Mathur *et al.*, 2008).

### 5.1. Ajustement osmotique

Le maintien de l'homéostasie de l'eau et le fonctionnement des structures photosynthétiques sont essentiels pour atténuer l'impact de la salinité sur la croissance des plantes et le rendement des cultures. Les pertes de turgescence induites par la salinité peuvent être transitoires, du fait de l'absorption par la plante des ions du sol permettant un ajustement foliaire osmotique (Munns et Tester, 2008). Sous l'effet de la sécheresse, les plantes inoculées avec des PGPR (Creus *et al.*, 2004) montrent souvent un meilleur ajustement osmotique.

Bien que ces changements locaux contribuent au maintien de la croissance des racines, les microorganismes du sol affectent également la capacité des racines à absorber de l'eau en présence de stress dû à la sécheresse et à la salinité (Dodd et Perez-Alfocea, 2012).

Bien que les ions toxiques tels que les  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  puissent contribuer à l'adaptation des plantes à la salinité en contribuant à l'ajustement osmotique vacuolaire, il est généralement admis que la tolérance au sel chez les espèces glycophytes est principalement liée à l'exclusion de ces ions des feuilles évitant ou retardant par conséquent les effets toxiques (Munns et Tester, 2008).

Par conséquent, toute contribution des microorganismes du sol au maintien de l'homéostasie des ions toxiques doit bénéficier à la croissance des plantes sous des conditions de salinité. Les microorganismes peuvent modifier l'absorption par les racines d'ions toxiques et d'éléments nutritifs en modifiant la physiologie de l'hôte (en régulant l'expression et / ou l'activité du transporteur d'ions) et en modifiant les barrières physiques autour des racines ou en réduisant directement l'accumulation foliaire de substances toxiques ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) tout en améliorant l'état nutritionnel des macroéléments (N, P, K) et des micronutriments (Zn, Fe, Cu, Mn), par des mécanismes inconnus (Dodd et Perez-Alfocea, 2012).

### 5.2. Sucres solubles

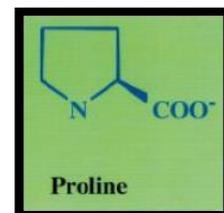
Le taux des sucres augmente considérablement chez des plantes soumises aux différents types de stress, en effet, cela a été vérifié par Chunyang (2001) chez des arbres adultes d'eucalyptus sous conditions de stress hydrique (Kameli et losel 1995). cette même constatation a été notée chez le blé suite à un déficit hydrique et chez le céleri sous stress de salinité (Noiraud *et al.*, 2000).

Les principaux sucres accumulés sont le glucose, le fructose et le saccharose (Hare et *al.*, 1998). Ils jouent un rôle dans le maintien d'une pression de turgescence qui est à la base de différents processus contrôlant l'activité de la cellule végétale.

### 5.3. Proline

Jones et *al* (1980) rapportent que les teneurs en acides aminés augmentent de façon très significative chez le sorgho et le tournesol en cas de stress hydrique. Parmi les acides aminés qui peuvent être accumulés; la proline représente l'une des manifestations les plus remarquées des stress hydrique et osmotique. Dès 1973, Singh et *al* proposent de l'utiliser comme un marqueur de tolérance de l'orge à la sécheresse.

La synthèse de la proline peut être incluse dans la régulation du pH cytoplasmique, (Bellinger et Lahrer, 1989). Par conséquent, elle aide dans la stabilisation des protéines membranaires et des protéines libres.



### 5.4. Glycine bétaine (G.B)

La GB est l'ammonium quaternaire le plus répandu chez les plantes supérieures, elle est accumulée suite à un stress abiotique, telle une salinité élevée (Rhodes et Hanson, 1993). Elle joue un rôle majeur dans la stabilisation des structures des enzymes et des complexes protéiques et dans le maintien de l'intégrité des membranes contre les effets délétères de l'excès de sel, du froid, de la chaleur et de la congélation (Sakamoto et Murata, 2002).

Le complexe de transport d'électrons (II) est protégé par la G.B contre les dommages de la salinité élevée d'où la restauration de la photosynthèse et l'augmentation du taux de chlorophylle (Hamilton III et Heckathorn, 2001). La G.B stimule aussi la fixation d'azote par les plantes soumises à un stress salin (Pocard et *al.*, 1991).

### 5.5. Polyols

Les polyols fonctionnent dans deux voies difficiles à séparer : l'ajustement osmotique en facilitant la rétention de l'eau dans le cytoplasme et l'osmoprotection grâce à l'interaction avec les membranes, les enzymes ou les complexes protéiques (Bohnert et *al.*, 1999).

Le mannitol et le pinitol sont accumulés par les plantes pour l'ajustement osmotique dans un milieu salé (Bohnert et *al.*, 1999).

## 6. Interactions plantes - bactéries et adaptation au stress abiotique—synthèse des conséquences et apports positifs des inoculations bactériennes

Dans leurs environnements, les bactéries doivent s'adapter à diverses contraintes abiotiques parmi lesquelles le stress ionique (Galinski et Truper, 1994) par le biais de l'osmoadaptation. Celle-ci comprend deux étapes :

La réponse primaire consiste en un rétablissement du gradient de la pression osmotique à travers la membrane cellulaire par une importante augmentation de la concentration intracellulaire des ions  $K^+$  et du glutamate (Kempf et Bremer, 1998).

La réponse secondaire intervient lorsque l'intensité du stress persiste ou augmente (Kempf et Bremer, 1998). La cellule fait alors appel à des solutés dits « compatibles » accumulés soit par synthèse (tréhalose) soit puisés à partir du milieu extérieur (proline et autres molécules osmoprotectrices) (Bernard et al., 1986).

En réponse à des teneurs élevées de sel du milieu externe, les microorganismes accumulent un soluté intracellulaire afin de rétablir la pression de turgescence et de protéger l'activité des enzymes et des macromolécules contre la déshydratation (Kempf et Bremer, 1998).

Chez les bactéries, La G.B glycine bétaine est l'osmoprotecteur le plus efficace (Csonka et Hanson, 1991). Elle est généralement accumulée dans le cytoplasme des cellules subissant un stress osmotique à des concentrations excédant 800 mM (Csonka, 1989). Plusieurs espèces bactériennes répondent positivement à un apport exogène de G.B, même à de faibles concentrations (1 mM) (Bernard et al., 1986).

Les *Pseudomonas* accumulent à partir du milieu externe ou par synthèse *de novo* une variété de solutés compatibles. Le glutamate et le tréhalose sont utilisés par ces espèces durant la croissance dans un milieu de forte osmolarité (Pocard et al., 1994). Selon ces mêmes auteurs, plusieurs espèces de *Pseudomonas* (*P.aeruginosa*, *P.fluorescens*, *P.mendocina*, *P.pseudoalcaligenes*, et *P. putida*) accumulent le N-actylglutaminy-glutamine lorsqu'elles sont confrontées à un stress osmotique en absence de bétaine. Le glucosylglycerol est le soluté compatible prédominant chez *P.mendocina* et *P.pseudoalcaligenes* (Pocard et al., 1994). Le mannitol est également détecté chez *P. putida* (Kets et al., 1996). La G. B. est un osmoprotecteur puissant pour les espèces de *Pseudomonas* (Pocard et al., 1994).

Les micro-organismes peuvent également conférer aux plantes un certain degré de tolérance aux stress abiotiques tels que la sécheresse, les dommages dus au froid, à la salinité, à la toxicité des métaux et aux températures élevées.

Au cours de la dernière décennie, des bactéries appartenant à différents genres, notamment ; *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Microbacterium*, *Methylobacterium*, *Variovorax*, *Enterobac*

*ter*, etc. ont été utilisées pour être inoculées à des plantes soumises à différents environnements de stress abiotiques (Grover *et al.*, 2011).

L'utilisation de ces micro-organismes a pu atténuer les contraintes en agriculture, ouvrant ainsi une nouvelle application de micro-organismes.

La tolérance de stress induite par les microorganismes chez les plantes peut être due à une variété de mécanismes proposés de temps à autre sur la base d'études réalisées. La production d'acide indole acétique, de gibbérellines et de déterminants inconnus par les PGPR entraîne une augmentation de la longueur des racines, de la surface racinaire et du nombre de poils absorbants, entraînant une absorption accrue des nutriments, améliorant ainsi la santé des plantes dans des conditions de stress (Egamberdieva et Kucharova, 2009).

Dans des conditions de stress, l'hormone végétale, l'éthylène, régule de manière endogène l'homéostasie des plantes et entraîne une croissance réduite des racines et des pousses. En présence de bactéries produisant de la désaminase ACC, la plante ACC est séquestrée et dégradée par des cellules bactériennes pour fournir de l'azote et de l'énergie. En outre, en éliminant les ACC, les bactéries réduisent l'effet nocif de l'éthylène, atténuent le stress et favorisent la croissance des plantes (Glick, 2007).

Les interactions complexes et dynamiques entre les microorganismes, les racines, le sol et l'eau dans la rhizosphère induisent des modifications des propriétés physicochimiques et structurelles du sol (Haynes et Swift, 1990). L'activité de cette enzyme confère, par exemple, une tolérance à la tomate, le piment et la fève, se traduisant par une augmentation du poids frais et sec des plantes et une amélioration du processus photosynthétique (Mayak *et al.*, 2004 ; Nadeem *et al.*, 2009).

La production de l'AIA par les bactéries rhizosphériques fournit un supplément à la plante pour maintenir la croissance racinaire et foliaire une fois exposée à de fortes teneurs en sel (Ahmad *et al.*, 2013). Cet effet positif est observé chez le blé inoculé avec des souches de *Pseudomonas* (Egamberdieva, 2009).

En réponse à un stress salin sévère, les plantes augmentent la synthèse d'osmo-protecteurs, afin d'ajuster la pression osmotique et de détoxifier les cellules (Le Rudulier, 2005 ; Ashraf et Foolad, 2007). Certaines rhizobactéries peuvent intervenir dans ces réponses en synergie avec les réponses intrinsèques des plantes. L'inoculation chez le riz par *P. pseudoalcaligenes*, sur productrice de glycine-bétaine, améliore la résistance des plantes par une augmentation de la matière sèche foliaire et racinaire (Yuwono *et al.*, 2005). Un accroissement du taux de la proline dans les feuilles est observé après la bactérisation des semences de maïs par *Azospirillum* (Kandowanko *et al.*, 2009).

**7. Présentation générale de la plante (*Hordeum Vulgare* L.)**

L'orge cultivée (*Hordeum vulgare*. L) est une céréale à paille, plante herbacée annuelle généralement diploïde ( $2n=14$ ) et autogame (Outi, 2000), des formes tétraploïdes peuvent apparaître spontanément, mais elles ne présentent guère d'intérêt agronomiques (Bonjeau et Picard, 1990), son ancêtre est *Hordeum spontaneum*, orge sauvage à deux rangs répandus depuis la Grèce et la Libye jusqu'au Nord-Est de l'Inde. C'est une espèce monocotylédone. L'orge est la céréale la plus rustique, elle présente une germination rapide et un système racinaire plus important que celui de blé (résistance à la sécheresse). Sa culture prédomine dans les régions arides et semi arides (Clement-Grandcourt., 1971).

# **Chapitre 02**

## **Matériel et Méthodes**

## 1. Matériel biologique

### 1.1 Les souches bactériennes

Les quatre souches bactériennes initialement endophytes de plantes spontanées apparentées aux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* utilisées dans la présente étude sont: *Pseudomonas brassicacearum* (CR2), *Pseudomonas brassicacearum*(EPR3), *Bacillus cereus* (OS1) et *Bacillus methylotrophicus* (OS4), elles ont été identifiées par séquençage de l'ARN ribosomique du 16S (Krimi et al., 2016).

Les souches sont stockées sous forme de gélose inclinée à 4°C dans la collection du laboratoire de phytopathologie du département des Biotechnologies de la faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV).

### 1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de semences et de plantes d'orge dont les graines, d'une variété locale (var. Saida) proviennent de la station expérimentale de l'Université Saad Dahlab Blida 1.

L'orge est considérée comme une espèce tolérante à la salinité, ce caractère lui est conféré grâce à la présence du *Kna1*, un gène responsable de l'exclusion du sodium. Cette forte capacité d'exclusion est due à la présence de transporteurs de K<sup>+</sup> et de Cl<sup>-</sup> et un transporteur externe de Na<sup>+</sup> dans le plasmalemmes de ses racines (Shannon, 1984).

## 2. Evaluation *in vitro* de l'effet de la salinité sur les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus*

La présente étude a pour objectif d'évaluer *in vitro* la tolérance au NaCl des souches bactériennes choisies. Elle a été mise en évidence *in vitro* en utilisant différentes concentrations de NaCl: 100mM (5.8 g/l) ; 200mM (11.6 g/l) ; 0.5M (29.3g/l) ; 0.8M (46.88g/l) et 1M (58.6g/l). Nous nous sommes basés sur une étude publiée par Sen et Chandrasekhar (2014).

**Tableau 1** : Les différentes concentrations de NaCl utilisées

Les concentrations de NaCl	100mM	200mM	0.5M	0.8M	1M
Les concentrations en g/l	5.8	11.6	29.3	46.88	58.6

### 2.1 Conditions de culture

Après une étape de purification des souches bactériennes de *Pseudomonas* et *Bacillus* sur le milieu LPGA. Les colonies de ces mêmes souches ont été ensemencées sur milieu LPGA préparé avec les différentes concentrations de NaCl. Le milieu LPGA préparé avec les différentes concentrations en NaCl est autoclavé puis coulé en boîtes de Pétri. Les bactéries sont ensemencées en stries à partir des cultures préalablement purifiées.

Nous avons réalisé 4 répétitions pour chaque souche (*OS1*, *OS4*, *CR2*, *EPR3*) et deux répétitions des boîtes témoins (sans NaCl).

Après ensemencement les boîtes de Pétri sont placées à l'étuve 27° C pendant une semaine. À la lecture, les boîtes sont comparées avec celles des cultures sans NaCl, une réaction est notée positive lorsque la croissance de la culture est évidente.

### **3. Analyse *in planta* de l'effet du stress hydrique sur les plants d'orge inoculés par *Pseudomonas* et *Bacillus***

#### **3.1 Préparation des graines d'orge**

Les graines sont d'abord rincées à l'eau du robinet pour éliminer les débris et les particules de sol qui y adhèrent, puis désinfectées par l'hypochlorite de calcium à 3% pendant 5 mn. Cette étape est suivie par lavages des semences par 5 passages successifs dans l'eau distillée stérile. Les semences sont par la suite séchées sur du papier filtre stérile.

Les semences désinfectées et séchées sont mises à germer dans des boîtes de Pétri contenant un milieu semi gélosé (7g d'agar/l). Les graines sont fixées sur le milieu agar-eau dans des boîtes de Pétri en verre et placées à l'étuve à 27C°.

Les graines d'orges désinfectées sont déposées sur le milieu semi gélosé à raison de 30 graines dans chaque boîte de Pétri puis mises à l'étuve pendant 48h pour vérifier qu'il n'y a pas de contaminations.

Toutes ces manipulations sont effectuées aseptiquement sur une paille désinfectée à l'eau de javel et à côté d'un bec Bünsen en utilisant des pinces stériles et des boîtes de Pétri en verre stérilisées auparavant au four pasteur.

#### **3.2 Préparation de l'inoculum pour la bactérisation des semences**

Les souches bactériennes (*OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3*) sont mises en culture sur milieu LPGA et placées à l'étuve pendant 48 heures. Des suspensions bactériennes sont préparées sur milieu LPG en bouillon nutritif à partir des cultures âgées de 48h, en prenant une colonie isolée pour chaque flacon de 100 ml. Les suspensions ainsi préparées sont mises sous agitation horizontale pendant 48h. Cette étape a été faite dans le but de préparer un inoculum pour bactériser les semences qui ont été mises à germer parallèlement.

#### **3.3 Inoculation et mise en culture de l'orge**

L'inoculation des graines d'orge avec les suspensions bactériennes (*OS1*, *OS4*, *CR2*, *EPR3*) a été appliquée sur les graines à raison de 300 µl par graine après vérification de l'absence de contaminations. Les boîtes avec les graines ainsi inoculées sont incubées pendant 24 heures.

Après cette période d'incubation de 24h permettant la colonisation des semences par les bactéries, le dépôt des semences a été fait à 1 cm de profondeur de la surface des pots contenant le substrat stérile à raison de 20 graines par pot. Le deuxième apport d'inoculum a été fait sur la graine au moment du semis (à raison de 300µl de chaque suspension bactérienne par graine). Les semences ont été couvertes par la suite avec le sol stérile sans arrosage. L'irrigation n'a été pratiquée qu'après 24 h avec une eau de robinet stérile.

Les témoins sont préparés sans inoculation avec des suspensions bactériennes et sont arrosés avec l'eau distillé stérile

Le substrat utilisé pour l'expérimentation est un mélange de sable et de terre végétale à raison de 50% pour chaque constituant. Le sol a été désinfecté par la chaleur à deux reprises au four Pasteur à une température de 105°C pendant 1h dans le but d'éliminer tous les microorganismes telluriques (Rapilly, 1986). Après refroidissement, le substrat sol est déposé dans des pots étiquetés en fonction des traitements appliqués.

Les plants d'orge sont arrosés régulièrement jusqu'à atteindre le stade de trois feuilles. Ensuite, ils sont stressés par arrêt d'arrosage pendant 10 jours pour des mesures de poids frais.

### **3.4 Traitements appliqués pour les graines d'orge inoculées avec les bactéries *Pseudomonas* et *Bacillus* et conduits en conditions de stress hydrique**

Pour le traitement du stress hydrique les mêmes souches de *Pseudomonas* (CR2, EPR3) et de *Bacillus* (OS1, OS4) ont été utilisées. Quatre pots par souche (20 graines d'orge par pot) ont été semés. Les témoins (20 graines d'orge par pot) n'ont pas subi d'inoculation avec les souches bactériennes, ils sont traités par irrigation avec l'eau du robinet stérile.

### **3.5. Evaluation de la promotion de la croissance de l'orge pour le stress hydrique**

Pour évaluer les effets des bactéries du genre *Pseudomonas* et *Bacillus* sur la biostimulation de la croissance de l'orge, nous avons mesuré les paramètres de croissance relative au développement de la partie aérienne et racinaire.

Après une période de 40 jours suivant la transplantation, des mesures de paramètres de croissance, notamment le poids frais et sec pour le traitement du stress hydrique ont été effectuées.

#### **3.5.1 Détermination du poids frais et sec des plants d'orge**

Pour chaque traitement, toutes les plantes d'orge (partie aérienne et racines ensemble) sont coupées et pesées immédiatement pour éviter les pertes dues à la déshydratation. Une fois le poids frais noté, les plantes sont mises au four Pasteur dans des boîtes de Pétri en verre à une température de 105°C pendant 48 heures afin de déterminer leur poids sec par dessiccation.

Le poids sec est déterminé après séchage au four à une température de 105°C et jusqu'à stabilisation de la lecture.

### 3.5.2 Détermination de la teneur relative en eau

Pour l'évaluation de l'effet du stress hydrique, nous avons évalué la teneur relative en eau des plants d'orge. La teneur relative en eau d'un matériau est le rapport du poids de l'eau contenu dans ce matériau au poids du même matériau sec.

On peut ainsi définir la teneur relative en eau (**TRE**) comme le poids de l'eau **W** contenu par unité de poids de matériau sec. La TRE renseigne sur le statut hydrique de la plante et l'installation du stress.

$$\text{TRE} = \frac{E}{P_s} = \frac{P_f - P_s}{P_s} \quad E = \text{poids de l'eau.}$$

Si on exprime en pourcentage  $W\% = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} 100$

$$P_t = P_f + P_s \quad (P_f = \text{poids frais, } P_s = \text{poids sec})$$

## 4. Analyse *in planta* de l'effet du stress salin sur les plants d'orge inoculés par *Pseudomonas* et *Bacillus*

### 4.1 Préparation des inocula bactériens, souches et conditions de culture

Pour l'analyse de l'effet du stress salin nous avons procédé de la même manière que celle décrite dans le traitement pour le stress hydrique en ce qui concerne la préparation des graines d'orge, la préparation de l'inoculum et l'étape de l'inoculation.

Le dépôt des semences d'orge bactérisées a été pratiqué à 1 cm de profondeur de la surface des pots contenant le substrat stérile, suivi par un deuxième apport d'inoculum sur la graine au moment du semé (à raison de 300µl par graine) (Rajput et al. ,2013). Un total de 15 graines par pot a été déposé pour chaque traitement.

Pour déterminer l'effet du stress salin sur la germination et la croissance des plantes, deux concentrations de NaCl (100mM et 200mM) ont été utilisées (Soltani et al.,1990; Sen et Chandrasekhar, 2014).

La première salinisation a été effectuée 3 jours avant le semis des graines d'orge, la deuxième a été réalisée au stade de semis âgé de 6 jours et la troisième aux semis âgés de 12 jours (Rajput et al. ,2013).

Des témoins sans NaCl sont préparés avec la même méthode que celle décrite pour le traitement du stress hydrique mais irrigués avec l'eau distillé stérile.

## **4.2 Traitement pour l'orge inoculé avec les bactéries *Pseudomonas* et *Bacillus* et conduit en conditions de stress salin**

Pour le traitement du stress salin pour les deux souches de *Pseudomonas* (*CR2*, *EPR3*) et de *Bacillus* (*OS1*, *OS4*). Deux pots par souche de la première concentration de NaCl 100mM (15 graines d'orge par pot) et deux pots par souche de la deuxième concentration de NaCl 200 mM (15 graines d'orge par pot) ont été semés. Deux pots témoins semés à raison de 15 graines chacun, l'irrigation s'est faite dans les mêmes conditions mais avec l'eau distillée stérile.

## **4.3 Evaluation de la promotion de la croissance de l'orge pour le stress salin**

Pour évaluer les effets des bactéries du genre *Pseudomonas* et *Bacillus* sur la biostimulation de l'orge, nous avons mesuré les paramètres de croissance relatives au développement de la partie aérienne et racinaire.

Après 4 semaines qui suit la transplantation, des mesures des paramètres de croissance ont été effectuées sur les plants d'orge ayant atteint un stade de 3 feuilles.

### **4.3.1 Poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire**

Toutes les plantes (partie aérienne et racines) sont coupées et les racines rincées sous le robinet et séchées sur papier absorbant puis pesées immédiatement pour éviter les pertes dues à la déshydratation. Une fois le poids frais noté, les plantes sont mises au four dans des boîtes de Pétri en verre à une température de 105°C pendant 48 heures afin de déterminer leur poids sec. Le poids sec est déterminé après séchage au four à une température de 105°C et jusqu'à stabilisation de la lecture.

## **5. Analyse des marqueurs biochimiques du stress abiotique**

### **5.1 Dosage de la proline**

La proline est un bon indicateur d'une réponse positive des plantes au stress salin (Rhodes et Hanson, 1993). La technique utilisée est celle décrite par Monneveux et Nemmar (1986). Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectro-photométrique. La proline se couple avec la ninhydrine 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 (pour 3 répétitions), 2 ml de méthanol à 40% sont ajoutés à la préparation. Les tubes couverts (pour éviter la volatilisation de l'alcool) sont portés à l'ébullition au bain-marie à 85°C pendant 60mn. Après refroidissement, un volume d'un 1 ml de l'extrait de chaque tube, est mis dans de nouveaux tubes et additionné de: 1ml 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.

Les tubes à essai sont portés à ébullition au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement des solutions, 5 ml de toluène sont ajoutés dans chaque tube. Une agitation au vortex permet l'apparition de 2 phases. La phase supérieure, contenant la proline, est récupérée et déshydratée par l'addition de 5mg de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Les tubes sont laissés au repos pendant 48h.

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

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

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

### 5.2 Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de Dubois et *al.* (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche (pour 3 répétitions), placée dans des tubes à essais, à laquelle 3 ml d'éthanol à 80% sont ajoutés pour l'extraction des sucres. Après 48h à l'obscurité à la température ambiante, les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essai propres, 2ml de la solution à analyser, puis 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée) et rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% sont ajoutés tout en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. La solution obtenue est de couleur jaune orangée à la surface, l'ensemble de la solution est homogénéisé au vortex. Les tubes sont placés pendant 10mn au bain-Marie pour 10 à 20mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures.). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'onde de 485 nm.

### 6. Analyse statistique

L'exploitation statistique des résultats est effectuée par l'utilisation du logiciel (**systat 09**) afin d'analyser la variance (Anova) des paramètres de croissance étudiés (les variables) vis-à-vis de deux facteurs la salinité et le stress hydrique. Dans le cas où cette variabilité est significative une comparaison des traitements a été effectuée sur la base des moyennes obtenues.

Pour le traitement du stress hydrique nous avons analysé 15 plants d'orge de chaque souche bactérienne (*OS1*, *OS4*, *CR2*, *EPR3*) par rapport aux paramètres suivants: le poids frais, le poids sec et la teneur relative en eau, et pour le traitement du stress salin, nous avons analysé 10 plants d'orge pour chacune des souches bactériennes (*OS1*, *OS4*, *CR2*, *EPR3*), en mesurant le poids frais et en déterminant le poids sec de la partie aérienne et racinaire.

# **Chapitre 03**

## **Résultats et Discussion**

## 1. Résultats

### 1.1 Évaluation de l'effet *in vitro* de la salinité sur les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus*

D'après les résultats, (**Annexe 1**), nous remarquons une croissance importante (+) des quatre souches ; *B. cereus* (OS1), *B. methylotrophicus* (OS4), *P. brassicacearum* (EPR3) et *P. brassicacearum* (CR2) aux différentes concentrations appliquées 100 mM, 0,5 M et 0,8 M de NaCl par rapport aux témoins.

Les souches, *B. methylotrophicus* (OS4) et *P. brassicacearum* (CR2) ont présenté une croissance importante (+) à une concentration de 200 mM de NaCl par rapport aux témoins, par contre les deux souches *B. cereus* (OS1) et *P. brassicacearum*(EPR3) présentent une croissance moins importante (+/-) par rapport aux témoins sans NaCl.

Les bactéries sur les boîtes de Pétri avec une croissance importante ont produit une couche muqueuse et bombée de polysaccharides qui leur permet de se protéger de l'effet de la salinité.

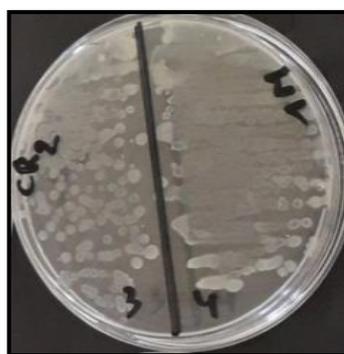
A la concentration 1M de NaCl présentent une croissance moins importante (+/-) par rapport aux témoins. Elles apparaissent moins muqueuses et sèches à cette concentration.



Les Témoins



Les souches à une concentration 100mM



1M

**Figure 1:** Évaluation *in vitro* de l'effet de la salinité sur les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* (original)

## 1.2 Analyse de l'effet *in planta* du stress hydrique sur les plants d'orge inoculés par *Pseudomonas* et *Bacillus*

### 1.2.1. Effet des quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* sur le poids frais et sec des plants d'orge

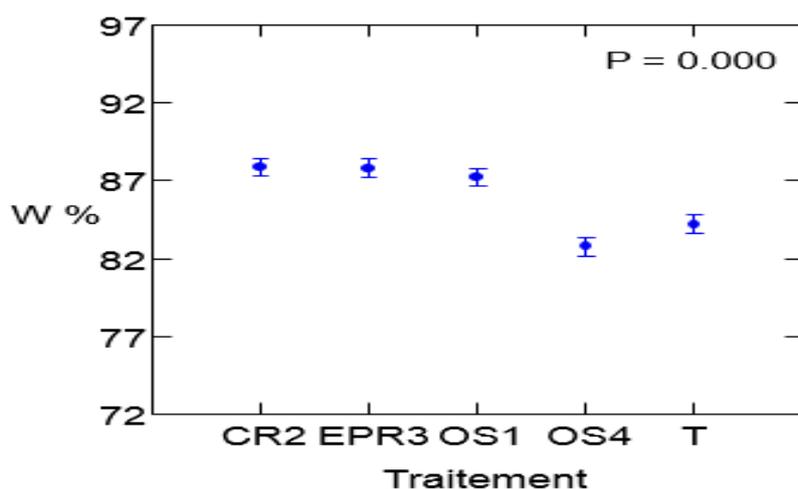
Concernant le poids frais des plants d'orge, nous constatons que les témoins présentent un poids frais moins élevé que les autres plants inoculées par les quatre souches (0,26 g - 0,52 g). Alors que les plants bactérisées par la souche *P. brassicacearum* (CR2) présentent une valeur plus élevée (0,69 g) par rapport aux autres souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* (Annexe 2).

Il s'avère que l'inoculation par les quatre souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* a permis une augmentation des valeurs du poids sec comparées à celles des témoins (de 0,04 g jusqu'à 0,08 g) (Annexe 2).

### 1.2.2. La teneur relative en eau

L'analyse statistique révèle que la teneur en eau est très hautement significative ( $P=0.000$ ) et est plus élevée chez les plants d'orge inoculés par les souches *P. brassicacearum* (CR2), *P. brassicacearum*(EPR3) et *B. cereus* (OS1) par rapport aux témoins qui présentent une teneur en eau moins élevée (Figure 2).

L'analyse de la figure 2 montre aussi que les plantes inoculées par la souche *B. methylotrophicus* (OS4) présentent une teneur en eau plus faible par rapport aux autres souches et par rapport aux témoins.



**Figure 2:** Comparaison de la teneur relative en eau chez les plantes inoculées par les 4 souches bactériennes.

### 1.3.Évaluation de la croissance de l'orge bactérisé par les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* sous des conditions de stress salin

#### 1.3.1. Effet des quatre souches de *Pseudomonas* et *Bacillus* sur le poids frais et sec de la partie racinaire et la partie aérienne

Concernant le poids frais de la partie racinaire, les résultats révèlent que les témoins présentent un poids frais de la partie racinaire moins élevé que les autres plantes traitées (0,03 g - 0,06 g). Les plantes d'orge bactérisées par la souche *P. brassicacearum* (CR2) et cultivées sous une concentration de 200 mM de NaCl présentent la valeur la plus élevée (0,30 g) par rapport aux autres souches des deux genres *Pseudomonas* (EPR3) et *Bacillus* (OS1, OS4) (**Annexe 3**).

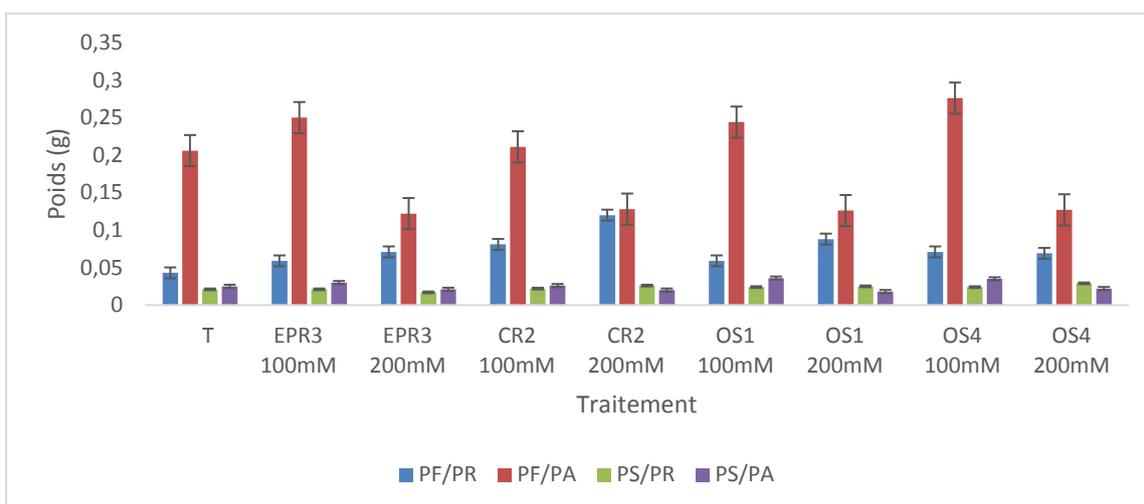
D'autre part, concernant le poids frais de la partie aérienne, les plantes traitées avec la souche *B. methylotrophicus*(OS4) à une concentration de 100 mM de NaCl présentent le poids frais de la partie aérienne le plus élevé par rapport aux témoins et aux autres souches (0,21 g - 0,36 g) (**Annexe 3**).

L'inoculation par les quatre souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* présente les mêmes valeurs du poids sec de la partie racinaire et de la partie aérienne avec celles des témoins (de 0,01 g jusqu'à 0,04 g pour la partie racinaire) et (de 0,01g jusqu'à 0,05 g pour la partie aérienne).

D'après les résultats, nous avons déduit que les plants d'orge inoculés par la souche *B. methylotrophicus*(OS4) à une concentration 100 mM de NaCl présentent un poids frais de la partie aérienne le plus élevé par rapport aux témoins non inoculés et aux autres plantes inoculées par les 3 autres souches (**figure 3**).

Concernant le poids frais de la partie racinaire, nous avons remarqué que la souche *P. brassicacearum*(CR2) à une concentration 200 mM de NaCl a permis aux plantes le poids le plus élevé(**figure 3**).

Aussi, les résultats de l'inoculation par les quatre souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sous les conditions de stress salin a permis sensiblement les mêmes valeurs du poids sec de la partie racinaire et de la partie aérienne que celles des témoins (**figure 3**).

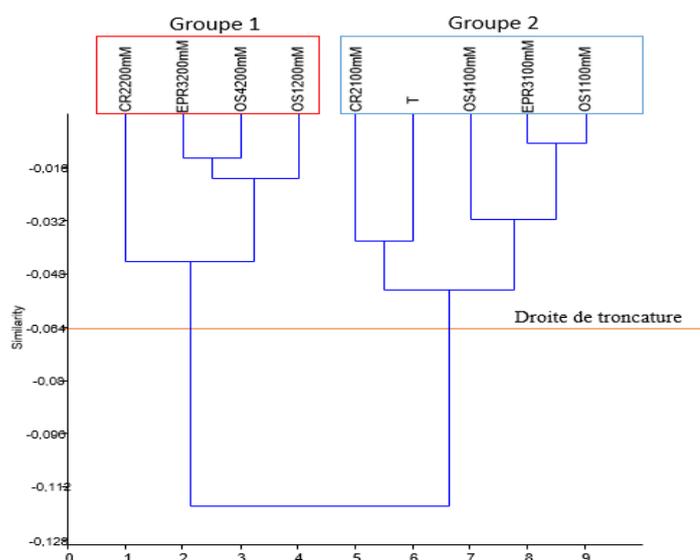


**Figure 3 :** Effet des quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* sur le poids frais et sec de la partie racinaire et de la partie aérienne des plants d’orge cultivés à différentes concentrations de NaCl.

D’autre part, la classification hiérarchique des quatre souches des deux genres bactériens *Pseudomonas* et *Bacillus* avec deux concentrations de NaCl (100 mM et 200 mM), montre la présence de deux groupes (**figure 4**).

Le premier regroupe les souches *OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3* à une concentration 200 mM de NaCl.

Le deuxième regroupe le témoin et les souches *OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3* à une concentration 100 mM de NaCl.

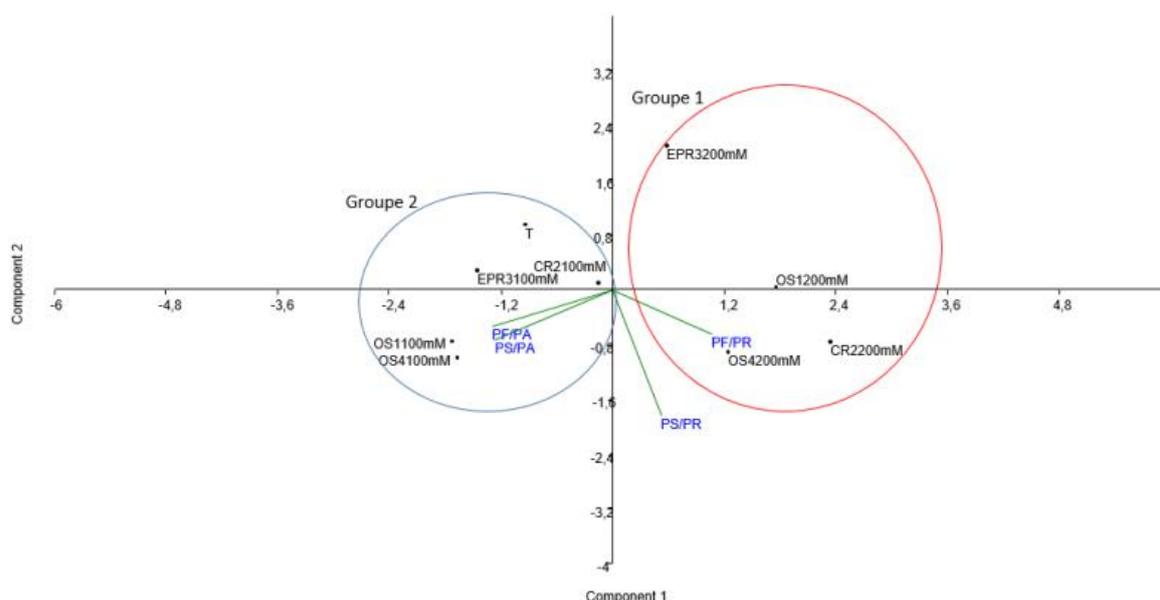


**Figure 4:** Classification hiérarchique des quatre souches avec les différentes concentrations de NaCl

Une analyse complémentaire basée sur l'Analyse en Composantes Principales (ACP) effectuée sur le poids frais et le poids sec de la partie aérienne et la partie racinaire des plants d'orge inoculés par les souches *OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3* à des concentrations 100 mM et 200 mM de NaCl, confirme la présence de deux groupes (**figure 5**).

Le premier groupe montre une corrélation du poids frais et du poids sec de la partie racinaire des souches *OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3* à une concentration 200 mM de NaCl.

Le deuxième groupe montre une corrélation du poids frais et du poids sec de la partie aérienne du témoin et des souches *OS1*, *OS4*, *CR2* et *EPR3* à une concentration 100 mM de NaCl.

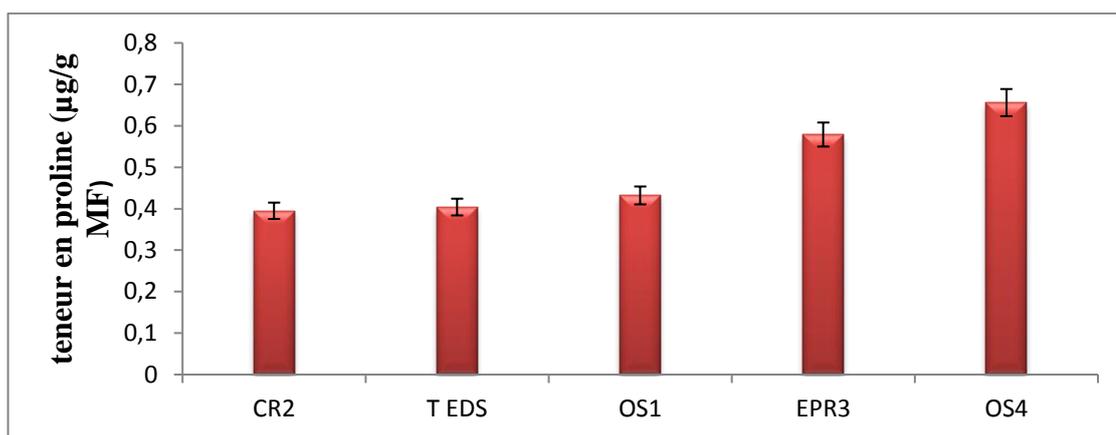


**Figure 5** : Analyse en Composante Principale (ACP) des quatre souches avec les différentes concentrations de NaCl (PF: poids frais, PS: poids sec, PA: partie aérienne, PR: partie racinaire)

#### 1.4. Analyse des marqueurs biochimiques du stress abiotique

##### 1.4.1. Teneur en proline pour le traitement du stress hydrique et du stress salin

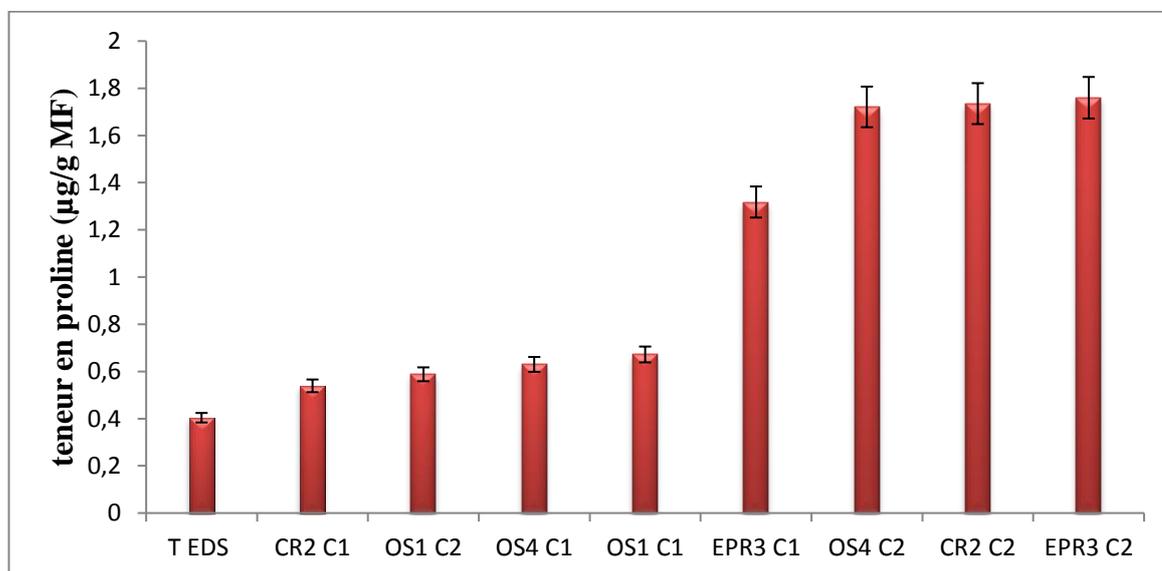
La teneur de la proline la plus élevée est marquée chez *B. methylotrophicus* (*OS4*) avec une valeur de 0,65 (mg/MF), tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (*CR2*) (0,39 mg/MF) (**figure 6**).



**Figure 6 :** Teneur en proline des quatre souches de *Pseudomonas* et (*CR2* et *EPR3*) de *Bacillus* (*OS1* et *OS4*) pour le stress hydrique

T EDS : Témoin (Eau Distillé Stérile)

Dans le cas de l'essai sous différentes concentrations de NaCl, la teneur de la proline la plus élevée est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (*EPR3*) à une concentration de 200 mM de NaCl avec une valeur de 1,76 (mg/MF), tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (*CR2*) à une concentration de 100 mM de NaCl (0,53 mg/MF) (figure 7).



**Figure 7 :** Teneur en proline des quatre souches de *Pseudomonas* (*CR2* et *EPR3*) et *Bacillus* (*OS1* et *OS4*) sous différentes concentrations de NaCl

T EDS : Témoin (Eau Distillé Stérile) / C1 :100 mM / C2 :200 mM

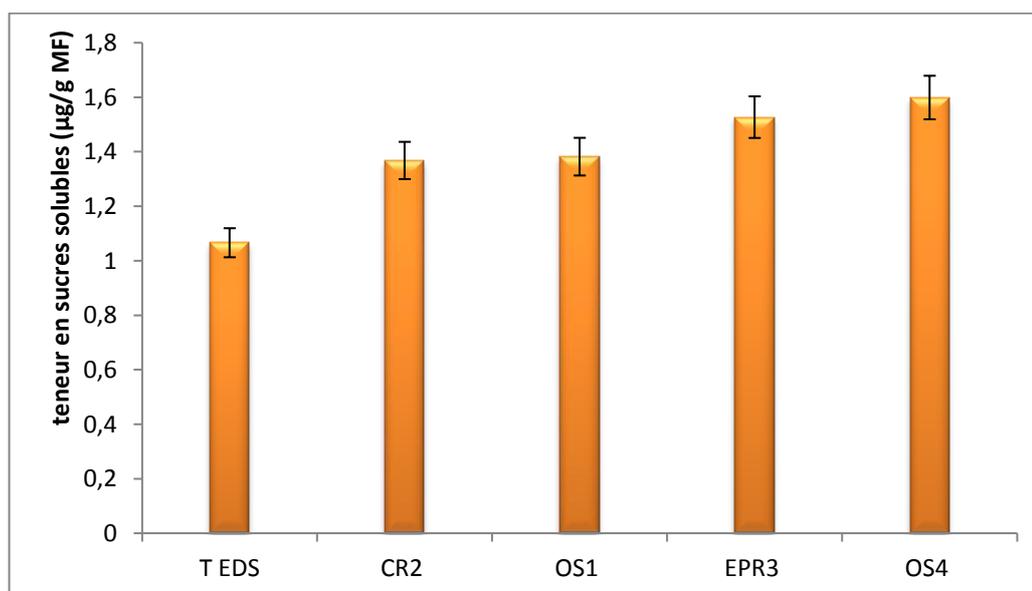


**Figure 8 :** Tubes à essai préparés pour le dosage de la proline (couleur claire : tube témoin « T » ; couleur rose à rouge : les traitements « H4 »)

En conclusion, les plants bactériésés par les souches *CR2* et *EPR3*, ainsi que les plants bactériésés par la souche *OS4* réagissent de la même manière sous des conditions de stress hydrique et de stress salin par rapport au marqueur biochimique la proline.

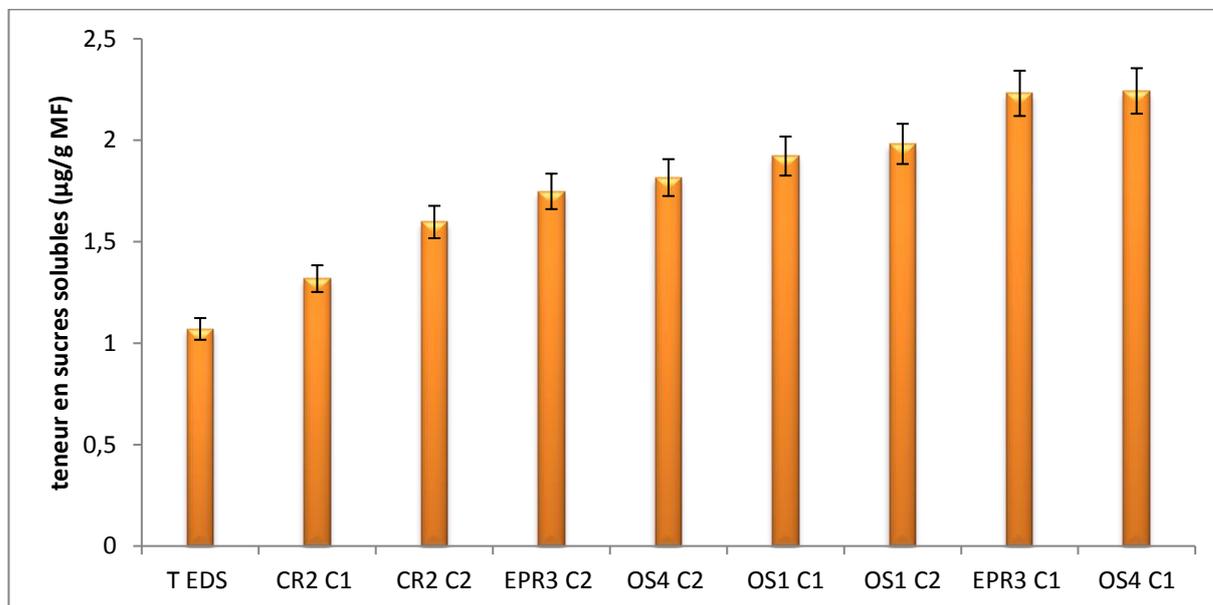
#### 1.4.2. Teneur en sucres solubles pour le traitement en conditions de stress hydrique et sous différentes concentrations de NaCl

La teneur en sucres la plus élevée est marquée chez la souche *B. methylotrophicus* (*OS4*) avec une valeur de 1,60 (mg/MF), tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (*CR2*) (1,37 mg/MF) (**figure 9**).



**Figure 9 :** Teneur en sucres des extraits des plantes bactériésés par les souches de *Pseudomonas* (*CR2* et *EPR3*) et de *Bacillus* (*OS1* et *OS4*) pour le traitement en stress hydrique

La teneur en sucres la plus élevée est marquée chez la souche *B.methylotrophicus* (OS4) à la concentration de 100 mM de NaCl avec une valeur de 2,24 (mg/MF), tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P.brassicacearum*(CR2) à la concentration 100 mM de NaCl (1,32 mg/MF) (**figure 10**).



**Figure 10** : Teneur en sucres des extraits de plantes inoculées par les souches de *Pseudomonas* (CR2 et EPR3) et de *Bacillus* (OS1 et OS4) à différentes concentrations de NaCl



**Figure 11** : Tubes à essai préparés pour le dosage des sucres solubles (couleur claire : tube témoin, couleur jaune : tubes des traitements)

En conclusion, dans les deux concentrations 100 mM et 200 mM les plants bactériésés par la souche *OS4* et les plants bactériésés par la souche réagissent de la même manière par rapport au marqueur biochimique sucres simples.

## 2. Discussion

Les PGPR sont généralement définis comme des microorganismes qui peuvent se développer dans, sur, ou autour de tissus végétaux, et stimuler la croissance des plantes par une variété de mécanismes (Vessey, 2003).

Il a été démontré dans des travaux que l'inoculation des plantes à intérêt économique, essentiellement le blé, l'orge par des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale tels que, *Pseudomonas* et plusieurs espèces de *Bacillus* est une approche biologique efficace et économiquement rentable pour la récupération des sols affectés par le sel et l'augmentation du rendement agricole (Zahir *et al.*, 2009).

Le stress dû à la sécheresse est l'un des stress abiotiques les plus destructeurs, dont l'intensité s'est accrue au cours des dernières décennies et qui affecte la sécurité alimentaire mondiale. La sécheresse est l'un des principaux obstacles à la productivité agricole dans le monde et devrait encore s'accroître (Vurukonda *et al.*, 2015). La sécheresse devrait causer de graves problèmes de croissance des plantes pour plus de 50% des terres arables d'ici 2050 (Kasim *et al.*, 2013).

D'autre part, la salinité est l'un des facteurs environnementaux les plus brutaux limitant la productivité des plantes cultivées, car la plupart des plantes cultivées sont sensibles à la salinité provoquée par les fortes concentrations de sels dans le sol. La salinité non seulement diminue la production agricole de la plupart des cultures, mais affecte également les propriétés physicochimiques du sol et l'équilibre écologique de la région (Shrivastava et Kumar, 2014).

Notre étude menée sur l'analyse de la résistance au stress abiotique (stress hydrique et stress salin) chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en interaction avec des bactéries initialement endophytes de deux genres de *Pseudomonas* (*EPR3*, *CR2*) et *Bacillus* (*OS1*, *OS4*) et l'évaluation de leurs capacités *in vitro* de résister et s'adapter à un milieu de culture (LPGA) préparé avec des concentrations de NaCl (100 mM et 200 mM) a révélé des résultats homogènes.

Le test *in vitro* de l'évaluation de l'effet de la salinité sur les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* a révélé que les quatre souches *OS1*, *OS4*, *EPR3* et *CR2* présentent une croissance importante à une concentration 100 mM (5,8 g/l), 0,5 M (29,88 g/l), et 0,8 M (46,88 g/l) de NaCl. Tandis qu'à une concentration de 200 mM (11,8 g/l) de NaCl, les souches *OS4* et *CR2* présentent une croissance importante, par contre deux souches *OS1* et *EPR3* manifestent une croissance moins importante comparée aux témoins.

À la concentration de NaCl la plus élevée 1M (58,6 g/l), les quatre souches présentent une croissance moins importante que celle enregistrée aux faibles concentrations. Dans ce dernier cas, nous avons noté un développement de colonies muqueuses, visqueuses, résultat d'un

accroissement de la capsule polysaccharidique. Des travaux ont montré que la souche *Pseudomonas aeruginosa* PF23 a montré une tolérance élevée au sel et une production d'EPS avec augmentation progressive de la salinité de 100 à 2000 mM de NaCl (Tewari et Arora, 2014).

Les souches de *Bacillus* ont une capacité de produire et sécréter différents biomolécules et en grande quantité telles que les enzymes extracellulaires, les antibiotiques, les polysaccharides et d'autres molécules de nature diverses (Zettam, 2013). La production d'exopolysaccharides par le *Bacillus licheniformis* HSW-16 peut également protéger du Na<sup>+</sup> en se liant à cet ion (Singh et Jha, 2016).

Qurashi et Sabri (2012) ont signalé que la composition des molécules d'EPS produites par les bactéries est variable en fonction de la présence de plusieurs molécules de sucre telles que le glucose, le galactose, le mannose, la xylose, les acides glucuroniques et galacturoniques.

Le développement des *Pseudomonas* spp. fluorescents peut être influencé par la salinité. Des souches de *Pseudomonas* spp. isolées de la rhizosphère de la tomate, d'aubergine et d'oignon ont montré une variabilité du nombre de colonies en fonction des différentes concentrations en NaCl. Toutes les souches tolèrent le sel jusqu'à 0,34 M (Diaw et al., 2018). Ces derniers résultats concordent avec les nôtres et avec ceux de Deshwal et Kumar (2013) qui ont montré que la plupart des microorganismes ont des besoins limités en sels et sont capables même de croître à des concentrations en NaCl inférieures à 0,3M.

Les teneurs en NaCl de 0,51 M à 0,85 M ralentissent fortement la croissance des souches des *Pseudomonas* spp fluorescents. Ce phénomène est dû au fait que les teneurs en NaCl supérieures à 0,51 M entraînent un choc hyper-osmotique pour les cellules vivantes du fait de la perméabilité des membranes cellulaires provoquant une plasmolyse suite à une augmentation de la teneur en sel. Cette plasmolyse aboutit à l'inhibition de certaines fonctions cellulaires comme l'absorption des nutriments, la réplication de l'ADN ou la biosynthèse de macromolécules, ce qui provoque la mort des cellules (Saum et Müller, 2007). Ces mêmes résultats ont été prouvés par Rabhi (2011) qui a montré que des concentrations en NaCl de 0,5 M entraînent une diminution significative de la croissance de certaines souches de *Pseudomonas* fluorescents, voire même une inhibition. Par contre, ces résultats sont contradictoires avec ceux de Deshwal et Kumar (2013) qui ont montré que certaines souches de *Pseudomonas* ont une tolérance au sel pour des teneurs ne dépassant pas 0,2 M.

Plusieurs études mettent en évidence l'effet bénéfique et très attrayant des *Bacillus* comme inoculants potentiels dans l'agriculture car ils produisent des spores très résistantes qui peuvent survivre pendant de longues périodes dans le sol sous stress salin (Nelson, 2004).

La production d'EPS par les quatre souches bactériennes halotolérantes (*Brevibacterium iodinum* RS16, *Micrococcus yunnanensis* RS222, *Bacillus aryabhatai* S341, *Bacillus licheniformis* RS656) a été évaluée en termes de masse sèche. Il a été observé que la teneur en EPS des souches étudiées augmentait avec la concentration de NaCl (Hong et al., 2017). Plusieurs chercheurs (Zhang et al., 2013; Wang et al., 2016) ont indiqué que la production de ces molécules extracellulaires est une stratégie de survie adoptée par ces bactéries pour tolérer des niveaux élevés de sel en maintenant un mini-assemblage pour conserver le niveau d'eau autour de les cellules.

### 2.1. Stress hydrique et teneur relative en eau (TRE) des plantes bactérisées

Les résultats révèlent que l'effet du déficit hydrique sur les caractéristiques du poids frais et sec des parties aériennes et racinaires des plantes inoculées est net. Concernant le poids frais des plants d'orge, les témoins ont présenté un poids frais moins élevé que les autres souches. Alors que les plants inoculés par la souche *P. brassicacearum* (CR2) ont présenté la valeur la plus élevée par rapport aux autres souches des deux genres *Pseudomonas*(EPR3) et *Bacillus* (OS1 et OS4).

L'inoculation par les quatre souches apparentées aux deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* a marqué sensiblement les mêmes valeurs du poids sec avec celles des témoins.

L'effet de la sécheresse peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou variété, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et/ou pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilats. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine par réduction de la surface foliaire et du nombre de talles, enroulement des feuilles et/ou meilleur développement du système racinaire. La diminution du potentiel hydrique du sol en conditions de sécheresse provoque une perte importante de la turgescence au niveau de la plante (Slama et al., 2005).

Dans ce même contexte, un déficit hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un déficit hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Slama et al., 2005).

A l'image des résultats obtenus, il se démontre que le régime hydrique appliqué, c'est-à-dire le stress de 10 jours avant la collecte des plantes a marqué des modifications importantes du statut hydrique des plantes d'orge inoculées avec les espèces appartenant aux deux genres bactériens. En effet, nos résultats indiquent que la teneur en eau est très hautement significative ( $p=0.000$ ); comparée aux témoins non stressés (T), le stress hydrique a induit une augmentation d'environ 87% de la teneur relative en eau des plantes d'orge. Les plantes d'orge inoculées par les

différentes bactéries ont un pouvoir de rétention d'eau et ont évité ainsi l'installation du stress dans leurs tissus.

L'inoculation des plantes sous stress hydrique a induit des réponses variables quant à la teneur relative en eau. Une augmentation de ce paramètre est remarquable chez les plantes d'orge inoculées par les souches *CR2*, *EPR3* et *OS1*. Une diminution de la teneur relative en eau est également observée notamment chez les plants d'orge inoculés par la souche *B. methylotrophicus* (*OS4*) qui manifeste une moindre rétention d'eau par rapport aux autres plantes inoculées par les autres souches. Des résultats de travaux ont conclu que l'inoculation de *Pisum sativum* avec *Pseudomonas fluorescens* a induit des racines plus longues, ce qui a entraîné une augmentation de l'absorption d'eau par le sol soumis à la sécheresse (Zahir et al. ,2008).

## **2.2 Effet du stress salin sur la croissance des plants d'orge inoculés par les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus***

Dans la présente étude, l'analyse des paramètres de croissance de l'orge révèle que le stress salin conduit à une augmentation considérable de la croissance de la plante et des poids frais et sec des racines. C'est ainsi qu'il a été observé qu'à la concentration saline de 100 mM, le poids frais de la partie aérienne et de la partie racinaire a augmenté avec les souches des deux genres *Pseudomonas* (*EPR3* et *CR2*) et *Bacillus* (*OS1* et *OS4*). Concernant le poids sec de la partie racinaire et de la partie aérienne des plantes d'orge inoculées par les souches des deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus*, les valeurs sont comparables à celles des témoins.

L'inoculation des graines d'orge par *Pseudomonas* et *Bacillus* a permis une augmentation des paramètres de croissance (poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire) sous l'effet du stress salin.

Les valeurs des poids secs et frais des plantes sous les conditions de concentrations de 100mM et celles du témoin sont comparables et celles de 200mM et se retrouvent ensemble dans un même groupe. Ce résultat montre que les racines et la partie aérienne sont de part et d'autre de l'axe pour l'analyse de l'ACP, que ça soit pour le poids frais ou le poids sec. Nous pouvons par conséquent conclure que le témoin et la concentration de 100mM est en faveur de la partie aérienne alors que la concentration 200mM est plutôt en faveur de la partie souterraine. Ce résultat nous amène à suggérer que le développement de la plante au delà de 100mM s'arrête et déclenche le développement racinaire c'est à dire la partie inoculée par les bactéries. Ces dernières vont accroître les racines au détriment de la partie aérienne pour sauver la plante du stress.

A la concentration de 200 mM de NaCl, pour les plants bactérisés, le poids frais de la partie aérienne a diminué, par contre le poids frais de la partie racinaire a marqué une augmentation, cela

indique que les racines ont poussé et ont du s'éloigner dans le sol pour rechercher des conditions plus au moins favorables.

Selon Kadri *et al.* (2009), une irrigation avec une eau salée provoque une réduction de la matière sèche aérienne. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus dans notre étude pour le cas du stress salin appliqué aux plantes d'orge inoculées par les espèces des deux genres bactériens.

La production de biomasse, exprimée en termes de poids frais et sec des 2 parties aérienne et racinaire, est largement affectée par le degré de salinité du milieu, spécialement à 200 mM de NaCl. Une inhibition de l'absorption du potassium et du calcium et de leur transport vers les parties aériennes seraient la cause principale de cette chute (Zhu 2003 ; Munns *et al.*, 2006). Zaman-Allah *et al.* (2009), ajoutent que les espèces qui maintiennent une croissance racinaire relativement importante sous forte contrainte saline, sont plus tolérantes.

Selon Fraser *et al.* (1990), la croissance de la partie aérienne et racinaire, ainsi que le nombre de feuilles et de racines, sont négativement affectés par la salinité, une réduction du nombre et de la longueur de ces deux parties est alors observée. Ceci serait le résultat d'une atteinte au niveau cellulaire. Le nombre de divisions étant ralenti et totalement inhibé à la concentration de 200 mM de NaCl, conduit à une sorte de lignification du système racinaire permettant à la plante une entrée en vie ralentie en attendant que les conditions redeviennent favorables. Les études menées par Fahad *et al.* (2015) sur le blé et l'orge, attribuent ce phénomène de réduction de la longueur de la partie aérienne à une synthèse importante au niveau racinaire, de certains régulateurs de croissance notamment l'acide abscissique et une réduction des cytokinines.

De par leurs propriétés intrinsèques, les *Bacillus* possèdent plusieurs mécanismes ayant des effets bénéfiques sur les plantes. L'application des espèces du genre *Paenibacillus* sur des graines ou des racines provoque une modification de la composition de la rhizosphère qui conduit à augmenter la croissance et le rendement de différentes cultures (Vessey et Buss, 2002).

Dans une étude, les souches de *Bacillus* ont augmenté le poids sec des racines et des pousses (Canbolat *et al.*, 2006). Les inoculants de *Pseudomonas* ont considérablement augmenté le poids sec des racines chez le blé de printemps (Walley et Germida, 1997), tandis que *Bacillus megaterium* augmentait le rendement en grains de riz et d'orge (Khan *et al.*, 2003).

### **2.3 Adaptation des plantes d'orge bactérisés par accumulation de proline et de sucres réducteurs**

Le stress hydrique appliqué a provoqué une augmentation des teneurs en proline. La teneur de la proline la plus élevée dans les conditions de stress hydrique été marquée chez la souche *B. methylophilicus(OS4)*, tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P.*

*brassicacearum* (CR2). Dans le cas du stress salin, la teneur de la proline la plus élevée était le plus marquée chez les plantes inoculées par la souche *P. brassicacearum* (EPR3) à une concentration 200 mM de NaCl, tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (CR2) à une concentration 100 mM de NaCl. En absence de stress salin, la proline est accumulée d'une façon équitable au sein des traitements non stressés (témoins). A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les bactéries des deux genres bactériens utilisés dans cette étude, se comportent de la même manière vis-à-vis du stress hydrique ou salin et qu'il n'y a pas de distinction quant à l'accumulation de la proline chez la plante pour les deux cas.

Il est établi que l'accumulation de la proline constitue aussi un véritable mécanisme de tolérance à la sécheresse (Slama et al. ,2004). La proline est considérée comme l'une des stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement (Belkhodja et Benkabli, 2000).

L'accumulation de la proline constitue ainsi un véritable mécanisme de tolérance à la sécheresse (Slama et Bensalem ,2004). La proline est un acide aminé qui joue un rôle important en tant que soluté osmorégulateur chez les plantes exposées à des niveaux élevés de sel ou de sécheresse. Les plantes surproduisent souvent la proline en réponse à ces stress abiotiques. Les rôles possibles suggérés pour la proline sont: l'osmorégulation, la protection des membranes et des enzymes cellulaires et la conservation de l'énergie et des groupes aminés pour la croissance post-stress (Gleeson et al. ,2003).

De même, les résultats d'autres travaux révèlent que le poivre inoculé avec *Bacillus licheniformis* K11 producteur d'ACC désaminase a atténué le stress dû à la sécheresse (Hui et Kim, 2013 ). Ces derniers résultats sont très concordants avec ceux obtenus dans cette étude pour le cas des deux types de stress appliqués à la plantes d'orge inoculées par les espèces des deux genres bactériens.

Les résultats obtenus révèlent que le stress hydrique a marqué une augmentation de la teneur en sucres solubles chez les plantes et inoculées par les bactéries et stressées. En effet la teneur en sucres la plus élevée était marquée chez la souche *B. methylotrophicus*(OS4), tandis que la valeur minimale été marquée chez la souche *P. brassicacearum* (CR2). Pour le stress salin, la teneur en sucres la plus élevée était marquée chez la souche *B. methylotrophicus* (OS4) à une concentration 100 mM de NaCl, tandis que la valeur minimale est marquée chez la souche *P. brassicacearum* (CR2) à une concentration 100 mM de NaCl.

L'augmentation des sucres solubles est due selon Munns et al. (2006), à la dégradation des réserves amylopectines, par leur conversion rapide en saccharose suite à une inhibition de la synthèse

de l'amidon. Ces sucres qui s'accumulent en réponse au stress peuvent fonctionner comme des osmolytes pour maintenir la turgescence des cellules, stabiliser les membranes et les enzymes déshydratées et protéger les différentes structures biologiques des dommages du stress (Soliman ,2008).

Les sucres solubles jouent un rôle central dans la structure, le métabolisme et le fonctionnement des plantes. Ils sont de plus impliqués dans de nombreux mécanismes de réponse aux stress, biotiques ou abiotiques, où ils agissent non seulement en tant que métabolites, mais aussi en tant que signaux capables d'activer des voies de signalisation aboutissant à des modifications d'expression génétique (Ramel ,2009).

Effectivement, sous l'impact d'une pression osmotique du milieu, les bactéries accumulent des solutés compatibles (sucres ou acides aminés) pour surmonter le stress, comme exemple, *P. fluorescens* MSP-393 qui est capable de produire divers osmolytes tels que l'alanine, la glycine et l'acide glutamique (Paul et Nair, 2008).

On conclue que l'inoculation des plants d'orge par les souches *B. cereus* (OS1), *B. methylotrophicus* (OS4), *P. brassicacearum* (EPR3) et *P. brassicacearum* (CR2) a conféré une résistance au stress abiotique (salinité et sécheresse) et amélioré les paramètres morphologiques (poids frais et poids sec) et biochimiques (accumulation de proline et de sucres solubles). Nos résultats montrent que sous stress hydrique la souche *P. brassicacearum* (CR2) présente la valeur la plus élevée du poids frais et une augmentation de la teneur relative en eau , cette souche a permis aux plantes le poids frais de la partie racinaire le plus élevé à une concentration 200 mM de NaCl ;par contre, pour les paramètres biochimiques cette souche a présenté la valeur minimale d'accumulation de proline et de sucres réducteurs dans les deux cas de stress ; donc c'est la souche la plus résistante aux stress appliqués. Contrairement, la souche *P. brassicacearum* (EPR3)qui a marqué la valeur la plus élevée de proline à une concentration de 200 mM, a permis une amélioration du poids frais de la partie aérienne à une concentration 100 mM de NaCl et une augmentation de la teneur relative en eau sous stress hydrique.

Concernant les souches de *Bacillus*, *B. methylotrophicus* (OS4) a marqué le poids frais et la teneur relative en eau les plus faibles sous stress hydrique, mais sous des conditions de salinité, elle a marqué le poids frais de la partie aérienne le plus élevé à une concentration 100 mM de NaCl et un développement racinaire sous conditions de salinité à 100 mM et 200mM. C'est la souche OS4 qui a marqué la plus grande accumulation de proline sous stress hydrique, ainsi que de sucres réducteurs sous les deux stress, donc c'est la souche la plus sensible aux stress appliqués. Par contre chez l'orge inoculé par la souche *B. cereus* (OS1) une augmentation de poids frais et de la

teneur relative en eau sous stress hydrique a été notée. Parallèlement, sous conditions de salinité la souche OS1 a marqué une augmentation du poids frais de la partie aérienne à la concentration 100 mM de NaCl et celle du poids frais du système racinaire à la concentration 200 mM. Cette dernière souche a permis une augmentation satisfaisante d'accumulation de proline et de sucres réducteurs chez l'orge dans les deux cas de stress testés.

# **Conclusion**

### Conclusion

Ce travail se proposait d'étudier la résistance au stress abiotique (sécheresse et salinité) chez l'orge en interaction avec des bactéries PGPR.

Les résultats dégagés de l'étude *in vitro* permettent une compréhension de l'effet du NaCl sur la croissance des souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas*. Les souches utilisées sont tolérantes aux faibles concentrations de NaCl. Les résultats montrent aussi, qu'à des concentrations fortes de NaCl (1M), les souches ne peuvent pas résister et présentent une croissance moins importante sur le milieu de culture.

Le stress hydrique appliqué aux plants d'orge inoculés par les souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas* a induit une augmentation du poids frais et sec de la partie racinaire et de la partie aérienne et la teneur relative en eau est hautement significative ( $P= 0.000$ ). Ce dernier paramètre est plus élevé chez les plants d'orge inoculés par les souches *CR2*, *EPR3* et *OS1*, par contre, chez les plantes inoculées par la souche *B.methylophilus OS4*, nous avons remarqué une diminution du pouvoir de rétention d'eau.

Les réponses morphologiques et physiologiques des plants d'orge inoculés par les souches de *Bacillus* et *Pseudomonas* vis-à-vis du stress hydrique contribuent efficacement au mécanisme de tolérance de l'espèce à la sécheresse. Les résultats obtenus doivent être confirmés à des stades plus avancés en plein champ pour élucider les mécanismes d'adaptation de l'espèce à la sécheresse en prenant en compte des conditions climatiques réelles.

L'étude de la salinité des plants d'orge inoculés par les souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas* nous a permis d'évaluer l'effet que joue la salinité sur les plantes. L'inoculation par ces souches nous a permis d'observer leur effet bénéfique par leur adaptation à la résistance au stress salin. D'une manière générale, nous avons constaté une amélioration du poids frais des plants d'orge inoculés par les souches de *Bacillus* et de *Pseudomonas*, cette amélioration est remarquable chez la partie aérienne à une concentration de 100 mM de NaCl, contrairement à la partie racinaire qui a vu une augmentation de sa valeur à une concentration 200 mM de NaCl.

Une accumulation importante de proline et de sucres solubles est observée chez les plants d'orge inoculés par la souche *B.methylophilus (OS4)* pour le stress hydrique. Pour le stress salin la valeur la plus élevée a été notée chez l'orge bactérisé par la souche *P.brassicacearum (EPR3)* pour la proline et la souche *B.methylophilus (OS4)* pour les sucres. D'une façon générale, le stress hydrique et le stress salin appliqués ont montré que l'inoculation par ces souches a permis une augmentation de la teneur en proline et en sucres solubles, des molécules lui permettant de résister aux conditions adverses.

## Conclusion

---

Les résultats expérimentaux sur la croissance des plants d'orge en interaction avec des bactéries PGPR obtenus en conditions de stress hydrique et salin montrent que l'inoculation des graines d'orge par *Bacillus* et *Pseudomonas* confère une amélioration significative des paramètres de croissance (poids frais et sec de la partie aérienne et la partie racinaire) et biochimiques (accumulation de proline et de sucres solubles). Ces résultats révèlent que la souche *P. brassicacearum* (CR2) se discrimine comme la souche la plus résistante, tandis que la souche *B. methylotrophicus* (OS4) est la plus sensible aux stress appliqués.

L'inoculation microbienne visant à atténuer les stress chez les plantes pourrait constituer une option plus rentable, respectueuse de l'environnement et disponible dans un délai plus court. Sur la base des résultats obtenus, des questions subsistent et de nouvelles perspectives s'ouvrent afin de compléter les connaissances sur l'implication des rhizobactéries comme inoculants dans la composante microbienne d'un sol salin et leur exploitation comme agents de biofertilisation et de biocontrôle s'impose comme une alternative aux produits chimiques (fertilisants ou pesticides).

Il est souhaitable de continuer cette étude en utilisant des paramètres plus approfondis pour évaluer le pouvoir des souches microbiennes à permettre une adaptation des plantes au stress hydrique et salin.

Enfin, Le passage à des essais sur champ est une obligation pour la confirmation de données reçues *in vitro* et en serre.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques

- Ahmad M. et Kibret M., 2014.** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective *J. King Saud Univer. Science*, 26: 1-20.
- Ahmad, M., Zahir Z. A., Nazli F., Akram F., Arshad M. et Khalid M., 2013.** Effectiveness of halo-tolerant, auxin producing *Pseudomonas* and *Rhizobium* strains to improve osmotic stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Braz. J. Microbiol.*, 44: 1341- 1348.
- Akbarimoghaddam H., Galavi M., Ghanbari A., Panjehkeh N., 2011.** Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia J. Sci.* 9 (1), 43–50.
- Andrea M.S., Boyd A.M., Henrik S., Jorg F., Kenneth NT., et Terry JM., 2008.** Diversity of *Bacillus*-like organisms isolated from deep-sea hypersaline anoxic sediments. *BioMed. Central* 4:8.
- Ashraf M., 1994.** Breeding for salinity tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 13: 17-42.
- Ashraf M. et Foolad M. R., 2007.** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, 59: 206- 216.
- Ashraf M., 2004.** Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199, 361–376.
- Ashraf M., Athar H.R., Harris P.J.C. et Kwon T.R., 2008.** Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron.* 97: 45-110.
- Ashraf M., Hasnain S. et Berge O., 2006.** Effect of exo-polysaccharides producing bacterial inoculation on growth of roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown in a salt-affected soil. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 3 : 43-51.
- 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. *Biol Fertil Soils*, 40: 157- 162.
- Bano A., Fatima M., 2009.** Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol. Fertility Soils*. 45: 405–413.
- Beebe S., Ramirez J., Jarvis A., Rao I.M., Mosquera G., Bueno J.M. et Blair M.W., 2011.** “Genetic Improvement of Common Beans and the Challenges of Climate Change.” In *Crop Adaptation to Climate Change*, edited by Shyam S. Yadav, Robert J. Redden, Jerry L. Hatfield, Hermann Lotze-Campen, and Anthony E. Hall, 356–69. Oxford, UK : Wiley-Blackwell.
- Belkhodja M. et Benkabli M., 2000.** Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egyptian Journal of Agricultural Research*. 78, (1) :185-195.
- Belkhodja, M., Bidai, Y. 2004.** Réponse des graines d’*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *J.Sécheresse*. 15 : 331-5

## Références bibliographiques

---

- Belimov A.A., Dodd I.C., Hontzeas N., Theobald J.C., Safronova V.I., Davies W.J., 2009.** Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylatedeaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signaling. *New Phytol.* 181: 413–423.
- Bellinger Y., Bensaoud A. et Larher P., 1989.** Physiological accumulation : a trait of use to breeding for stress tolerance.
- Benhamou N., Gagné DL. et Quéré Dehbi L., 2000.** Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Phytopath.* 90: 45–56.
- Bernard T., Pocard J. A., Perroud B. et Le Rudulier D., 1986.** Variations in the response of salt-stressed *Rhizobium* strains to betaines. *Arch. Microbiol.*, 143: 359- 364.
- Bezzate S., Aymerich S., Chambert R., Czarnes S., Berge O. et Heulin T., 2000.** Disruption of the *Bacillus polymyxa* levansucrase gene impairs its ability to aggregate soil in the wheat rhizosphere. *Environ. Microbiol.* 2:333-342
- Bhatnagar-Mathur P., Vadez V., Sharma K.K., 2008.** Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep.* 27: 411–424.
- Bohnert H. J. et Shen B., 1999.** Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae*, 78: 237- 260.
- Bottini R., Cassán F. et Piccoli P., 2004.** Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65: 497–503.
- Canbolat M., Bilen S., Cakmakci R., Fiahin F. et Aydın A., 2006.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biol. Fertil. Soils* 42: 350-357.
- Cattelan A.J., Hartel P.G. et Fuhrmann J.J., 1999.** Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63: 1670-1680.
- Cavaglieri I., Orlando J., Rodriguez M.I., Chulze S. et Etcheverry M., 2005.** Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* *in vitro* and at the Maize root level. *Res. Microbiol.* 156:748–754.
- Cherif H., 2014-** *Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec Bacillus sp. et Pantoea agglomerans isolées de sols arides.* Mem., Microbiol. Univ. Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie, 177 p.
- Choluj D., Karwowska R., Jasinska M., Haber G., 2004.** Growth and dry matter partitioning in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L.) under moderate drought. *J.Plant Soil Environ.* 50 : 265–272.

## Références bibliographiques

---

- Chunyang C. et Kaiyun W., 2001.** Differences in drought responses of three contrasting eucalyptus microtheca F. Muell. Population. Univ. of Helsinki, Finland. *Forest Ecology and Management*, 179:377-385.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., et Ait Barka E., 2005.** Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4951-4959
- Costacurta A., et Vanderleyden J., 1995.** Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 21:1-18.
- Creus CM., Sueldo RJ., Barassi CA., 1989.** Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian J. of Botany*, 82:273-281)
- Csonka L.N.** Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Rev. Microbiol.*, 53: 121- 147.
- Csonka, L. N. et Hanson A. D., 1991.** Prokaryotic osmoregulation : genetics and physiology. *Rev. Microbiol. Ann.*, 45: 569- 606.
- Del Castillo L.D. et Layzell D.B., 1995.** Drought Stress, Permeability to O<sub>2</sub> Diffusion, and the Respiratory Kinetics of Soybean Root Nodules. *Plant Physiology*, 107 (4): 1187-94.
- De Salamone I. E. G., Hynes R. K. et Nelson LM., 2001.** Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can J. Microbiol.*, 47:404-411.
- Deshwal VK., Kumar P., 2013.** Effect of salinity on growth and PGPR activity of *Pseudomonads*. *J. of Academia Industrial Research*, 2: 353 – 356.
- Diaw D., Fall-Ndiaye M. A., Youssoufa Ali O., Sare Idy C. et Diop T. A., 2018.** Effet de la salinité sur la densité des isolats de *Pseudomonas* spp fluorescents de rhizosphère de plants de tomate, d'aubergine et d'oignon au Sénégal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12(4): 1914-1919
- Dimkpa C., Tanjawaenad I., et Asch F., 2009.** Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x. p. 1-13
- Dodd I.C., Perez-Alfocea F., 2012.** Microbial amelioration of crop salinity stress. *J. Exp. Bot.* 63 (9) : 3415-3428.
- Duong M.H., 2000.** Perspectives Sur Le Changement Climatique. *Nature Sciences Sociétés*, 8 (4) : 5-14.
- Durand J.L., 2007.** Les Effets Du Déficit Hydrique Sur La Plante : Aspects Physiologiques. *Acte de Journées de l'APFP*, p.27-28.
- Durand L. M. C. et Knusden G. R., 2002.** Sampling microbes from the rhizosphere and phyllosphere. *Manual of environmental microbiology. ASM Press, Washington* p.p. 516- 526.

## Références bibliographiques

---

- Egamberdieva D., 2009.** Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. *Acta Physiol Plant*, 31: 861- 864.
- Egamberdieva D., Kucharova Z., 2009.** Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol Fert Soil*, 45: 561–573.
- Fahad S., Hussain S., Bano A., Saud S., Hassan S., Shan D., Khan F. A., Khan F., Chen Y., Wu C., Tabassum M. A., Chun M. X., Afzal M., Jan A., Jan M. T. et Huang J., 2015.** Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22: 4907- 4921.
- Flowers T. J. et Colmer T. D., 2015.** Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.*, 115: 327- 331.
- Fraser T. E., Silk K. W. et Rost T. L., 1990.** Effect of low water potential on cortical cell length in growing region of maize roots. *Plant Physiol.*, 93: 648- 651.
- Fukaki H., Okushima Y. et Tasaka M., 2007.** Auxin-mediated lateral root formation in higher plants. *Int. Rev. Cytol.*, 256: 111–137.
- Galinski E. A. et Trüper H. G., 1994.** Microbial behavior in salt-stressed ecosystems. *FEMS microbiol. Rev.*, 15: 95- 108.
- Gleeson D., Lelu-Walter M. A., Parkinson M., 2003.** Influence of exogenous L-proline on embryogenic cultures of larch (*Larix leptoeuropaea* Dengler), sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong. Carr.) and oak (*Quercus robur* L.) subjected to cold and salt stress. *Ann. For. Sci.*, 61: 125–128.
- Glick B. R., 1995.** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109– 117.
- Glick B.R., 2007.** Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 26: 227–242.
- Glick B. R, Todorovic B., Czarny J., Cheng Z., Duan J. et McConkey B., 2007.** Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 26: 227–242.
- Gray E. J. et Smith D.L., 2005.** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signalling processes. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 395- 412
- Grover M., Ali Sk. Z., Sandhya V., Rasul A., Venkateswarlu B., 2011.** Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27: 1231–1240.
- Gupta A., Gopal M. et Tilak K.V., 2000.** Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian J. Exp. Biol.*, 38:856–862.

## Références bibliographiques

---

- Hallman, J., Quadt-Hallman A., Mahaffee W.F. et Kloepper J.W., 1997.** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, 43: 895-914.
- Hamilton III E. W. et Heckathorn S. A., 2001.** Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine. *Plant Physiol.*, 126: 1266- 1274
- Hare P.D. et Cress W.A. ,1997.** Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21: 79–102.
- Hare P.D., Cress W.A. et Van Staden J., 1998.** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.* 21:535-553.
- Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A. Da , Chet I. et Lorito M. ,2004.** Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1):43-56
- Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J. K. et Bohnert H. J., 2000.** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 51: 463- 499.
- Haynes R.J. et Swift R.S., 1990.** Stability of soil aggregates in relation to organic constituents and soil water content. *J. Soil Sci.*, 41: 73–83.
- Höfte M., et Altier N., 2010.** Fluorescent *Pseudomonads* as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Res. Microbiol.*, 161: 464-471
- Holt J. G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. et Williams S.T., 1994.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9<sup>th</sup> Ed. *Williams &Wilkins*, Baltimore, MS, USA.
- Hong B.H., Joe M. M., Selvakumar G., Kim K.Y., Choi J.H. et Sa T.M. ,2017.** Influence of salinity variations on exocellular polysaccharide production, biofilm formation and flocculation in halotolerant bacteria. *J. Environ. Biol.*, 38(4):657-664
- Hsiao A., 2000.** Effect of water deficit on morphological and physiological characterizes in Rice (*Oryza sativa*). *J. Agric.*, 3: 93–97.
- Hu Y., Schmidhalter U., 2002.** Limitation of salt stress to plant growth. *Plant Toxicology*. Marcel Dekker Inc., New York, p.p. 91–224.
- Hui L.J., Kim S.D., 2013.** Induction of drought stress resistance by multifunctional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in Pepper. *J. Plant Pathol.*, 29: 201–208.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Al-Juburi H.J., Somasundaram R., Vam R.P., 2009.** Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.*, 11: 100–105.

## Références bibliographiques

---

- Jones M.M., Osmond B. et Turner N.C., 1980.** Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Edit. Aus. J. Plant Physiol.* 7:193-205.
- Kadri K., Maalam S., Cheikh M.H., Benabdallah A., Rahmoune C. & Ben Naceur M., 2009.** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques accessions Tunisiennes d'orge (*Hordeum vulgare L.*). *Science and Technologie*, 29: 72-79.
- Kamara A.Y., Menkir A., Badu-Apraku B., Ibikunle O., 2003.** The influence of drought stress on growth, yield and yield components of selected maize genotypes. *J. Agric. Sci.*, 141: p.43.
- Kameli A., Losel D., 1995.** Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J.plant physiol.* 145:363—366.
- Kandowanko N. Y., Suryatmana G., Nurlaeny N. et Simanungkalit R. D. M., 2009.** Proline and abscisic acid content in droughted corn plant inoculated with *Azospirillum sp.* and arbuscular mycorrhizae fungi. *J. Biosci.*, 16: 15- 20.
- Kardol P., Company C.E., Souza L. R., Norby J., Weltzin J.F. et Classen A.T., 2010.** Climate Change Effects on Plant Biomass Alter Dominance Patterns and Community Evenness in an Experimental Old-Field Ecosystem: Plant Communities Under Climate Change. *Global Change Biology*, 16, (10): 2676–87.
- Kasim W.A., Osman M.E., Omar M.N., Abd El-Daim I.A., Bejai S., Meijer J., 2013.** Control of drought stress in wheat using plant growth promoting bacteria. *J. Plant Growth Regul.* 32: 122–130.
- Kempf B. et Bremer E., 1998.** Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.*, 170: 319- 330.
- Kets E. P. W., Galinski E. A., De Wit M., De Bont J. A. M. et Heipieper H. J., 1996.** Mannitol, a novel bacterial compatible solute in *Pseudomonas putida* S12. *J. Bacteriol.* 178: 6665- 6670.
- Khan M.R., Talukdar N.C. et Thakuria D., 2003.** Detection of *Azospirillum* and PSB in rice rhizosphere soil by protein and antibiotic resistance profile and their effect on grain yield of rice. *Indian J. Biotechnol.*, 2: 246-250.
- Kloepper JW. et Beauchamp C. J., 1992.** A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 38 : 1219–1232.
- Kloepper J. W., Ryu C.M. et Zhang S., 2004.** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology.*, 94 :1259–1266.50.
- Konnerup D., Moir-Barnetson L., Pedersen O., Veneklaas E. J. et Colmer T. D., 2015.** Contrasting submergence tolerance in two species of stem-succulent halophytes is not determined by differences in stem internal oxygen dynamics. *Ann. Bot.*, 115: 409- 418.

## Références bibliographiques

---

- Krimi Z., Alim Dj., Djellout H., Tafifet L., Mohamed-Mahmoud F. et Raio A., 2016.** Bacterial endophytes of weeds are effective biocontrol agents of *Agrobacterium* spp., *Pectobacterium* spp., and promote growth of tomato plants. *Phyt. Mediterranea*, 55, (2): 184–196.
- Krista P., 2003.** How and when does water stresses impact plant growth and development. The department of land resources and environmental sciences. Water quality and irrigation management. Montana State University Bozeman. *American society of agronomy*, Corp Science Society of America.
- Lafitte H.R., Yongsheng G., Yan S., Lil Z.K., 2007.** Whole plant responses, key processes, and adaptation to drought stress: the case of rice. *J. Exp. Bot.*, 58:169–175.
- Larcher W., 2003.** physiological plant ecology, 4<sup>th</sup> edn. *Springer*.
- Le Rudulier D., 2005.** Osmoregulation in rhizobia: The key role of compatible solutes. *Grain Leg.*, 42: 18 - 19.
- Llusià J., et Peñuelas J., 2000.** Seasonal Patterns of Terpene Content and Emission from Seven Mediterranean Woody Species in Field Conditions. *American J. of Bot.*, 87 (1) : 133–40.
- Lugtenberg B. et Kamilova F., 2009.** Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, 63: 541-556.
- Ma J. F., 2005.** Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. *Crit. Rev. Plant Science*, 24: 267-281
- Manchanda G., Garg N., 2008.** Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol. Plant.*, 30: 595–618.
- Mayak S., Tirosh T. et Glick B.R., 2004.** Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.*, 42: 565–572.
- Mefti A., Abdelguerfi A. et Chebouti A., 2000.** Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.). *Field Crops Research.*, 66: 165-174.
- Meyer J. M. et Abdallah M.A., 1978.** The fluorescent pigments of fluorescent *Pseudomonas*: Biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.*, 107: 319- 328.
- Munns R., 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 239-250.
- Munns R. et Tester M., 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biol.*, 59: 651-681.
- Munns R., James R.A. et Lauchli A., 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.*, 57: 1025-1043.

## Références bibliographiques

---

- Nadeem S. M., Zahir Z. A., Naveed M. et Arshad M., 2009.** Rhizobacteria containing ACC deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. *Can. J. Microbiol.*, 55: 1302–1309.
- Nadeem S. M, Zahir Z. A., Naveed M., Asghar H. N. et Arshad M., 2010.** Rhizobacteria capable of producing ACC-deaminase may mitigate the salt stress in wheat. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 74: 533–542.
- Nascimento F. X., Rossi M. J., Soares C. R. F. S., McConkey B. J. et Glick B. R., 2014.** New insights into 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase phylogeny, evolution and ecological significance. *PLoS One*, 9: 99-168.
- Nelson L.M., 2004.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. *Online Crop Management* , 10.1094/CM-2004-0301-05-RV.
- Newton A.C., Torrance L., Holden N., Toth I.K., Cooke D.E.L., Blok V. et Gilroy E.M., 2012.** Climate Change and Defense against Pathogens in Plants. *In Advances in Applied Microbiol.*, 81:89–132. Elsevier.
- Nia S.H., Zarea M.J., Rejali F., Varma A., 2012.** Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, 11: 113–121.
- Nicotra A.B., Atkin O.K., Bonser S.P., Davidson A.M., Finnegan E.J., Mathesius U., Poot P., 2010.** Plant Phenotypic Plasticity in a Changing Climate. *Trends in Plan. Sci.*, 15 (12): 684–92.
- Noiraud N., Delort S. et Lemoine R., 2000.** The sucrose transporter of celery. Identification and expression during salt stress. *Plant Physiol.*, 122:1447-1456.
- Norby R.J., DeLucia E.H., Gielen B., Calfapietra C., Giardina C.P., King J.S. et Ledford J., 2005.** Forest Response to Elevated CO<sub>2</sub> Is Conserved across a Broad Range of Productivity. *Proceedings of the Natl. Acad. of Sci.*, 102 (50): 18052–56.
- O'Sullivan D. J. et O'Gara F., 1992.** Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.*, 56: 662- 676.
- Palleroni N. J., 2009.** The genus *Pseudomonas*. p.p: 231-242. *In: Practical handbook of microbiology.* Goldman, E. et L. H Green (Eds.). *CRC Press*, Taylor & Francis Group, USA.
- Paul D. et Nair S., 2008.** Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *J. Basic. Microbiol.*, 48(5):378–384.
- Pocard J. A., Bernard T. et Le Rudulier D., 1991.** Translocation and metabolism of glycine betaine in nodulated alfalfa plants subjected to salt stress. *Physiol. Plant.*, 81: 95- 102

## Références bibliographiques

---

- Pocard J. A., Smith L. T., Smith G. M. et Le Rudulier D., 1994.** A prominent role of glucosylglycerol in the adaptation of *Pseudomonas mendocina* SKB70 to osmotic stress. *J. Bacteriol.*, 176: 6877- 688.
- Powell P. E, Cline G. R., et Szaniszló P. J., 1980.** Occurrence of hydroxamate siderophore iron chelators in soils. *Nature*, 287: 833-834
- Qurashi A. et Sabri A., 2012.** Biofilm formation in moderately halophilic bacteria is influenced by varying salinity levels. *J. Basic Microbiol.*, 52: 566-572.
- Raaijmakers J.M., Vlami M. et De Souza J.T., 2002.** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81: 537-547.
- Rabhi N. E. H., 2011-** *Isolement de Pseudomonas spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels.* Mem., Génie microbiolo., Univ. FERHAT ABBAS SETIF, Algérie, 130 p.
- Rahdari P., Hoseini S.M., 2012.** Drought stress, a review. *Int. J. Agron. Plant Prod.* 3: 443–446.
- Rahdari P., Hoseini S.M. et Tavakoli S., 2012.** The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) leaves. *J. Med. Plants Res.*, 6: 1539–1547.
- Rajput L., Imran A., Mubeen F. et Hafeez F.y., 2013.** Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus Rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*triticum aestivum* l.) cultivated in saline soil. *Pak. J. Bot.*, 45(6): 1955-1962.
- Ramadoss D., Lakkineni V.K., Bose P., Ali S., Annapurna K., 2013.** Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *Springer Plus* 2 (6) : 1–7.
- Ramel F. ,2009.** Implication des sucres solubles dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif chez *Arabidopsis thaliana*.
- Rampino P., Pataleo S., Gerardi C., Perotta C., 2006.** Drought stress responses in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell Environ.*, 29: 2143–2152.
- Rehman S., Harris PJC. et Ashraf M., 2005.** Stress environments and their impact on crop production. In: Ashraf M, Harris PJC (eds) *Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches.* Haworth Press, New York, pp 3–18
- Rhodes D. et Hanson A.D., 1993.** Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Ann. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.*, 44: 357-384

## Références bibliographiques

---

- Riefler M., Novak O., Strnad M. et Schmülling T., 2006.** Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant. Cell.*, 18:40–54
- Saharan BS. et Nehra V., 2011.** Plant Growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sci. Med. Res.*, 21.
- Sakamoto A. et Murata N., 2002.** The role of glycine betaine in the protection of plants from stress : clues from transgenic plants. *Plant Cell Environ.*, 25: 163- 171.
- Saleem M., Arshad M., Hussain S. et Bhatti A. S., 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Indian Microbiol. Biotechnol.*, 34 : 635–648.
- Samarah N.H., 2005.** Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agron.Sustain. Dev.* 25, 145–149.
- Saum SH., Müller V., 2007.** Salinity-dependant switching of osmolyte strategies in a moderately halophilic bacterium: Glutamate induces proline biosynthesis in *Halobacillus halophilus*. *J. Bacteriol.*, 189: 6968-6975.
- Schwyn B. et Neilands J. B., 1987.** Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Ann. Biochem.*, 160: 47-56.
- Sharma A. et Johri B. N., 2003.** Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent Pseudomonas strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiata L. Wilzeck*). *Microbiol. Res.*, 158: 77-81.
- Sharma S. B., Sayyed R. Z., Trivedi M. H. et Gobi T. A., 2013.** Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus*, 2: 587.
- Shrivastava P., Kumar R.,2014.** Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. of Biol. Sci.*, 22: 123–131
- Singh K.N., Chatrath R., 2001.** Salinity tolerance. In: Reynolds M.P., Monasterio J.I.O., McNab A. (Eds.), Application of Physiology in Wheat Breeding. CIMMYT, Mexico, DF, pp. 101–110.
- Singh R.P. et Jha P.B. ,2016.** A Halotolerant Bacterium *Bacillus licheniformis* HSW-16 Augments Induced Systemic Tolerance to Salt Stress in Wheat Plant (*Triticum aestivum*). *Front. Plant Sci.*, 16.
- Singh T.N., Paleg L.G.et Aspinall D., 1973.** Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.* 26 :45-56.

## Références bibliographiques

---

- Slama A, Ben Salem M, Zid E., 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Forum des sciences biologiques, Association tunisienne des sciences biologiques.
- Soltani A., Hajji M. et Grignon C.,1990.** Recherche de facteurs limitant la nutrition minérale de l'orge en milieu salé. *Agronomy*.10 :857-866. *Elsevier/INRA*.
- Somers E, Vanderleyden J. et Srinivasan M., 2004.** Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol.* 304:205–240.
- Spaepen S., Vanderleyden J. et Remans R., 2007.** Indole- 3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.*, 31: 425–448.
- Steinauer K., Tilman D., Wragg P.D., Cesarz S., Cowles J.M., Pritsch K., Reich P.B., Weisser W.W. et Eisenhauer N., 2015.** Plant Diversity Effects on Soil Microbial Functions and Enzymes Are Stronger than Warming in a Grassland Experiment. *Ecology* 96 (1): 99–112.
- Sujatha N. et Ammani K., 2013.** Siderophore production by the isolates of fluorescent *Pseudomonads*. *Int. J. Cur. Res. Rev.* 5: 1-7
- Sumita S. et Chandrasekhar C. N., 2014.** Effect of PGPR on growth promotion of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Asian J. of Plan. Sci. and Resear.*, 4(5):62-67.
- Tewari S. et Arora N. K. ,2014.** Multifunctional Exopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa* PF23 Involved in Plant Growth Stimulation, Biocontrol and Stress Amelioration in Sunflower Under Saline Conditions. *Curr Microbiol* DOI 10.1007/s00284-014-0612-x
- Toby K. E., Palmer T.M., Ives A.R., Bruno J.F. et Bronstein J.L., 2010.** Mutualisms in a Changing World: An Evolutionary Perspective : Mutualism Breakdown. *Ecology Letters*, 13, (12): 1459–74.
- Van der Heijden M.G. A., Bardgett R. D. et Van Straalen N. M., 2008.** The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*.11: 296–310.
- Vessey J.K., 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255 : 571–586.
- Vessey JK. et Buss TJ., 2002.** *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes. Controlled-environment studies. *Can. J. Plant Sci.* 2: 282–290.
- Vinebrooke Rolf D. , Cottingham K.L. , Norberg J., Scheffer M. , Dodson S.I. , Maberly S. C. et Sommer U. , 2004.** Impacts of multiple stressors on biodiversity and ecosystem function: the role of species co-tolerance. *OIKOS*.,104: 451-457.

## Références bibliographiques

---

- Vivas A., Biro B., Campos E., Barea J. M. et Azcón R., 2003.** Symbiotic efficiency of autochthonous arbuscular mycorrhizal fungus (*G. mossae*) and *Brevibacillus* sp. Isolated from cadmium polluted soil under increasing cadmium levels. *Environ. Pollut.*, 126 : 179-189.
- Vurukonda S. K.P., Vardharajula S, Shrivastava M. et SkZ A., 2016.** Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Resear.*, 184:13–24
- Walley F.L. et Germida J.J., 1997.** Response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT4. *Biol. Fertil. Soils*, 24: 365-371.
- Wang W., Liu W., Wang L., Yang T. et Li R., 2016.** Characteristics and distribution research on extracellular polymer substance extracted from sewage sludge. *J. Environ. Biol.*, 37: 305-9.
- Whipps John M. , 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. of Experim. Bot.*, 52: 487–511.
- Yang J., Kloepper J.W. et Ryu C.M., 2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.*, 14, 1–4.
- Yao L., Wu Z., Zheng Y., Kaleem I. et Li C., 2010.** Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur. J. Soil Biol.*, 46: 49–54.
- Yaxley J. R., Ross J. J., Sherriff L. J. et Reid J. B., 2001.** Gibberellin biosynthesis mutations and root development in pea. *Plant Physiol.*, 125: 627–633
- Yuwono T., Handayani D. et Soedarsono J., 2005.** The role of osmotolerant rhizobacteria in rice growth under different drought conditions. *Aust. J. Agr. Res.*, 56: 715-721.
- Zahir Z. A., M. Arshad et W. T. Frankenberger Jr., 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. *Adv. Agron.*, 81: 97–168.
- Zahir Z. A., Ghani U., Naveed M., Nadeem S. M. et Asghar H. N., 2009.** Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch. Microbiol.*, 191: 415–424.
- Zahir Z. A., Munir A., Asghar H.N., Shahroona B. et Arshad M., 2008.** Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*P. sativum*) under drought conditions. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18 : 958–963.
- Zaman-Allah M., Sifi B., L’Taief B. et El Aouni M., 2009.** Paramètres agronomiques liés à la tolérance au sel chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13, (1) : 113-119.
- Zettam M. R. ,2013.** Contribution à l'étude de la biodiversité des bacillus Extremophiles isolés de la source thermale de Hammam Debagh -Guelma- (griffon b) -Screening d'activités

## Références bibliographiques

---

*antimicrobiennes*. Mèm. , Biologie Moléculaire et Cellulaire ,Univ. Aboubekr Belkaw Tlemcen, Algérie ,69 p.

**Zhang S.H., Zhang X.H., Lv L., Wang Q. et Jiang Q. ,2013.**Formation of aerobic granular sludge under adverse conditions :Low DO and high ammonia. *J.environ.Biol.*, 34: 409-414.

**Zhu J. K., 2003.** Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 6: 441-445.

**Zryd J.P., 2004.** L'eau et les végétaux. *La biologie du stress*. UNIL : Université de Lausanne. Boiphore CH-1015 Lausanne-Suisse.

# **Annexes**

## Annexes

**Annexe 1** : La croissance des quatre souches sur milieu LPGA avec les différentes concentrations de NaCl

Souches	Témoin	100mM (5,8 g/l)	200mM (11,6g/l)	0.5 M (29,3g/l)	0.8M (46,88g/l)	1M (58,6g/l)
<b>OS1 (répétition n°1)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>OS1 (répétition n°2)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>OS1 (répétition n°3)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>OS1 (répétition n°4)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>OS4 (répétition n°1)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>OS4 (répétition n°2)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>OS4 (répétition n°3)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>OS4 (répétition n°4)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>CR2 (répétition n°1)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>CR2 (répétition n°2)</b>	+	+	+	+	+	+/-
<b>CR2 (répétition n°3)</b>	+	+/-	+	+	+	+/-
<b>CR2 (répétition n°4)</b>	+	+/-	+	+	+	+/-
<b>EPR3 (répétition n°1)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>EPR3 (répétition n°2)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>EPR3 (répétition n°3)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-
<b>EPR3 (répétition n°4)</b>	+	+	+/-	+	+	+/-

**+** : croissance importante / **+/-** : croissance moins importante

**Annexe 2 : Effet de quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* sur le poids frais et sec en (g) des plants d'orge pour le traitement hydrique**

Traitement	Poids frais (Pf)	Poids sec (Ps)	E	W%
<b>Témoin T1</b>	<b>0,40</b>	<b>0,07</b>	<b>0,33</b>	<b>83</b>
T2	0,39	0,06	0,33	85
T3	0,30	0,05	0,25	83
T4	0,52	0,07	0,45	87
T5	0,37	0,05	0,32	86
T6	0,45	0,06	0,39	87
T7	0,50	0,06	0,44	88
T8	0,51	0,07	0,44	86
T9	0,39	0,06	0,33	85
T10	0,26	0,05	0,21	81
T11	0,51	0,07	0,44	86
T12	0,32	0,06	0,26	81
T13	0,33	0,06	0,27	82
T14	0,36	0,07	0,29	81
T15	0,42	0,07	0,35	83
<b>SoucheEPR3 E1</b>	<b>0,36</b>	<b>0,05</b>	<b>0,31</b>	<b>86,11</b>
E2	0,47	0,05	0,42	89,36
E3	0,38	0,05	0,33	86,84
E4	0,55	0,06	0,49	89,09
E5	0,63	0,08	0,55	87,30
E6	0,46	0,06	0,40	86,96
E7	0,34	0,04	0,30	88,24
E8	0,61	0,07	0,54	88,52
E9	0,37	0,05	0,32	86,49
E10	0,25	0,05	0,20	80
E11	0,27	0,04	0,23	85,19
E12	0,44	0,06	0,38	86,36
E13	0,27	0,04	0,23	85,19
E14	0,38	0,06	0,32	84,21
E15	0,50	0,06	0,44	88
<b>Souche CR2 C1</b>	<b>0,56</b>	<b>0,07</b>	<b>0,49</b>	<b>87,50</b>
C2	0,55	0,07	0,48	87,27
C3	0,37	0,05	0,32	86,49
C4	0,69	0,07	0,62	89,86
C5	0,61	0,07	0,54	88,52
C6	0,52	0,06	0,46	88,46
C7	0,47	0,06	0,41	87,23
C8	0,32	0,04	0,28	87,50
C9	0,61	0,07	0,54	88,52
C10	0,40	0,07	0,33	82,50
C11	0,50	0,07	0,43	86
C12	0,30	0,05	0,25	83,33
C13	0,48	0,06	0,42	87,50
C14	0,28	0,05	0,23	82,14
C15	0,39	0,06	0,14	77,78
<b>Souche OS4 1</b>	<b>0,18</b>	<b>0,04</b>	<b>0,14</b>	<b>77,78</b>

2	0,43	0,07	0,36	83,72
3	0,35	0,07	0,28	80
4	0,41	0,07	0,34	82,93
5	0,34	0,07	0,27	79,41
6	0,36	0,06	0,30	83,33
7	0,31	0,07	0,24	77,42
8	0,32	0,07	0,25	78,26
9	0,23	0,05	0,18	76,47
10	0,34	0,08	0,26	78,79
11	0,33	0,07	0,26	78,26
12	0,23	0,05	0,18	78,26
13	0,26	0,05	0,21	80,77
14	0,30	0,07	0,23	76,67
15	0,25	0,05	0,20	80
Souche OS1	0,38	0,04	0,34	89,47
2	0,49	0,06	0,43	87,76
3	0,42	0,05	0,37	88,10
4	0,48	0,06	0,42	87,67
5	0,73	0,09	0,64	85,71
6	0,42	0,06	0,36	83,33
7	0,42	0,07	0,35	89,47
8	0,57	0,06	0,51	86,36
9	0,57	0,06	0,51	89,47
10	0,38	0,06	0,32	84,21
11	0,55	0,06	0,49	89,09
12	0,41	0,06	0,35	85,37
13	0,20	0,06	0,14	70
14	0,36	0,05	0,31	86,11
15	0,53	0,06	0,47	88,68

**Annexe 3 :** Effet de quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* sur le poids frais et sec en (g) de la partie racinaire et la partie aérienne pour le stress salin

<b>Traitement</b>	<b>Poids frais (Pf)</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec (Ps)</b>		<b>Total</b>
<b>Témoin</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>T1</b>	<b>0,06</b>	<b>0,26</b>	<b>0,32</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>T2</b>	<b>0,04</b>	<b>0,18</b>	<b>0,22</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>T3</b>	<b>0,05</b>	<b>0,23</b>	<b>0,28</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>T4</b>	<b>0,03</b>	<b>0,14</b>	<b>0,17</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>
<b>T5</b>	<b>0,04</b>	<b>0,25</b>	<b>0,29</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>T6</b>	<b>0,06</b>	<b>0,41</b>	<b>0,47</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>	<b>0,08</b>
<b>T7</b>	<b>0,04</b>	<b>0,14</b>	<b>0,18</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>T8</b>	<b>0,04</b>	<b>0,19</b>	<b>0,23</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>T9</b>	<b>0,04</b>	<b>0,15</b>	<b>0,19</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>T10</b>	<b>0,03</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>
<b>Traitement</b>	<b>Poids frais (Pf)</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec (Ps)</b>		<b>Total</b>
<b>Souche EPR3 (100mM)</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>E1</b>	<b>0,06</b>	<b>0,22</b>	<b>0,28</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>E2</b>	<b>0,08</b>	<b>0,25</b>	<b>0,33</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,06</b>
<b>E3</b>	<b>0,05</b>	<b>0,24</b>	<b>0,29</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>E4</b>	<b>0,07</b>	<b>0,33</b>	<b>0,40</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,06</b>
<b>E5</b>	<b>0,06</b>	<b>0,28</b>	<b>0,34</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>E6</b>	<b>0,06</b>	<b>0,28</b>	<b>0,34</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>E7</b>	<b>0,05</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>E8</b>	<b>0,05</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>E9</b>	<b>0,05</b>	<b>0,29</b>	<b>0,34</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>
<b>E10</b>	<b>0,06</b>	<b>0,23</b>	<b>0,29</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>Traitement</b>	<b>Poids frais</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec</b>		<b>Total</b>
<b>Souche EPR3 (200mM)</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>E1</b>	<b>0,08</b>	<b>0,14</b>	<b>0,22</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>E2</b>	<b>0,07</b>	<b>0,21</b>	<b>0,28</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>E3</b>	<b>0,09</b>	<b>0,11</b>	<b>0,20</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
<b>E4</b>	<b>0,06</b>	<b>0,10</b>	<b>0,16</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>
<b>E5</b>	<b>0,04</b>	<b>0,11</b>	<b>0,15</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>
<b>E6</b>	<b>0,06</b>	<b>0,15</b>	<b>0,21</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>E7</b>	<b>0,08</b>	<b>0,16</b>	<b>0,24</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>E8</b>	<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	<b>0,19</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>
<b>E9</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>	<b>0,15</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>E10</b>	<b>0,08</b>	<b>0,05</b>	<b>0,13</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>

Traitement	Poids frais (Pf)		Total	Poids sec (Ps)		Total
Souche CR2 (100mM)	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
C1	0,10	0,17	0,27	0,03	0,02	0,05
C2	0,07	0,15	0,22	0,02	0,02	0,04
C3	0,07	0,20	0,27	0,02	0,02	0,04
C4	0,10	0,19	0,29	0,02	0,03	0,05
C5	0,07	0,22	0,29	0,02	0,03	0,05
C6	0,10	0,25	0,35	0,02	0,03	0,05
C7	0,08	0,25	0,33	0,02	0,03	0,05
C8	0,07	0,19	0,26	0,02	0,02	0,04
C9	0,08	0,26	0,34	0,03	0,03	0,06
C10	0,07	0,23	0,30	0,02	0,03	0,05
Traitement	Poids frais (Pf)		Total	Poids sec (Ps)		Total
Souche CR2 (200mM)	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
C1	0,14	0,19	0,33	0,03	0,02	0,05
C2	0,30	0,17	0,47	0,03	0,03	0,07
C3	0,09	0,07	0,16	0,02	0,02	0,03
C4	0,08	0,15	0,23	0,02	0,01	0,04
C5	0,13	0,16	0,29	0,03	0,03	0,05
C6	0,11	0,10	0,21	0,03	0,02	0,05
C7	0,11	0,15	0,26	0,03	0,02	0,05
C8	0,08	0,13	0,21	0,02	0,03	0,04
C9	0,07	0,11	0,18	0,02	0,02	0,04
C10	0,09	0,05	0,14	0,03	0,03	0,03
Traitement	Poids frais (Pf)		Total	Poids sec (Ps)		Total
Souche OS4 (100mM)	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
O1	0,09	0,24	0,33	0,03	0,03	0,06
O2	0,09	0,34	0,43	0,02	0,02	0,04
O3	0,08	0,30	0,38	0,03	0,04	0,07
O4	0,07	0,29	0,36	0,03	0,04	0,07
O5	0,07	0,21	0,28	0,02	0,03	0,05
O6	0,06	0,36	0,42	0,03	0,05	0,08
O7	0,05	0,23	0,28	0,02	0,03	0,05
O8	0,06	0,26	0,32	0,02	0,03	0,05
O9	0,08	0,30	0,38	0,02	0,05	0,07
O10	0,06	0,23	0,29	0,02	0,03	0,05

<b>Traitement</b>	<b>Poids frais (Pf)</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec (Ps)</b>		<b>Total</b>
<b>Souche OS4 (200mM)</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>O1</b>	<b>0,09</b>	<b>0,17</b>	<b>0,26</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>O2</b>	<b>0,13</b>	<b>0,13</b>	<b>0,26</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	<b>0,06</b>
<b>O3</b>	<b>0,07</b>	<b>0,15</b>	<b>0,22</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O4</b>	<b>0,08</b>	<b>0,14</b>	<b>0,22</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O5</b>	<b>0,06</b>	<b>0,12</b>	<b>0,18</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O6</b>	<b>0,05</b>	<b>0,11</b>	<b>0,16</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O7</b>	<b>0,06</b>	<b>0,08</b>	<b>0,14</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O8</b>	<b>0,07</b>	<b>0,14</b>	<b>0,21</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>O9</b>	<b>0,06</b>	<b>0,09</b>	<b>0,15</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O10</b>	<b>0,02</b>	<b>0,14</b>	<b>0,16</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>
<b>Traitement</b>	<b>Poids frais (Pf)</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec (Ps)</b>		<b>Total</b>
<b>Souche OS1 (100mM)</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>O1</b>	<b>0,07</b>	<b>0,25</b>	<b>0,32</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>	<b>0,07</b>
<b>O2</b>	<b>0,05</b>	<b>0,20</b>	<b>0,25</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>	<b>0,07</b>
<b>O3</b>	<b>0,08</b>	<b>0,24</b>	<b>0,32</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>O4</b>	<b>0,06</b>	<b>0,29</b>	<b>0,35</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,06</b>
<b>O5</b>	<b>0,07</b>	<b>0,28</b>	<b>0,35</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,08</b>
<b>O6</b>	<b>0,07</b>	<b>0,21</b>	<b>0,28</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,06</b>
<b>O7</b>	<b>0,06</b>	<b>0,26</b>	<b>0,32</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>
<b>O8</b>	<b>0,05</b>	<b>0,24</b>	<b>0,29</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>O9</b>	<b>0,03</b>	<b>0,28</b>	<b>0,31</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,08</b>
<b>O10</b>	<b>0,05</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
<b>Traitement</b>	<b>Poids frais (Pf)</b>		<b>Total</b>	<b>Poids sec (Ps)</b>		<b>Total</b>
<b>Souche OS1 (200mM)</b>	Partie racinaire	Partie aérienne		Partie racinaire	Partie aérienne	
<b>O1</b>	<b>0,12</b>	<b>0,12</b>	<b>0,24</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	<b>0,06</b>
<b>O2</b>	<b>0,10</b>	<b>0,16</b>	<b>0,26</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O3</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,25</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>
<b>O4</b>	<b>0,08</b>	<b>0,15</b>	<b>0,23</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>O5</b>	<b>0,07</b>	<b>0,14</b>	<b>0,21</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O6</b>	<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	<b>0,19</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
<b>O7</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>	<b>0,15</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>
<b>O8</b>	<b>0,07</b>	<b>0,10</b>	<b>0,17</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O9</b>	<b>0,11</b>	<b>0,19</b>	<b>0,30</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>
<b>O10</b>	<b>0,09</b>	<b>0,07</b>	<b>0,14</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>

**Annexe 4 :** Teneur en proline des quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* pour le stress hydrique

Traitements	Moyennes	Teneur en proline (mg/MF)
CR2	0,636	0,395
T EDS	0,652	0,404
OS1	0,696	0,432
EPR3	0,933	0,579
OS4	1,059	0,656

**Annexe 5 :** Teneur en proline des quatre souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* pour le stress salin

Traitements	Moyennes	Teneur en proline (mg/MF)
T EDS	0,652	0,404
CR2 C1	0,869	0,539
OS1 C2	0,984	0,588
OS4 C1	1,016	0,63
OS1 C1	1,084	0,672
EPR3 C1	2,126	1,318
OS4 C2	2,776	1,721
CR2 C2	2,80	1,735
EPR3 C2	2,838	1,76

**Annexe 6 :** Teneur en sucres des extraits des plantes bactérisées par les souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* pour le traitement en stress hydrique

Traitements	Moyennes	Teneur en sucres (mg/MF)
T EDS	0,643	1,07
CR2	0,826	1,37
OS1	0,834	1,38
EPR3	0,921	1,53
OS4	0,965	1,60

**Annexe 7 : Teneur en sucres des extraits de plantes inoculées par les souches de *Pseudomonas* et *Bacillus* à différentes concentrations de NaCl**

Traitements	Moyennes	Teneur en sucres (mg/MF)
T EDS	0,652	1,07
CR2 C1	0,795	1,32
CR2 C2	0,964	1,60
EPR3 C2	1,055	1,75
OS4 C2	1,096	1,82
OS1 C1	1,160	1,92
OS1 C2	1,196	1,98
EPR3 C1	1,346	2,23
OS4 C1	1,354	2,24

**Annexe 8**

**Compositions du milieu de culture**

**Milieu LPGA (Extrait de levure- Petone bacteriologique- Glucose- Agar) (Schaad, 2001)**

Extrait de levure 5g

Bactopeptone 5g

Glucose 10g

Agar 17g

Pour un litre d'eau distillée. Ajuster le pH à 7- 7.2

Autoclavé 20 min à 120 C.