



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر

ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE – EL HARRACH- ALGER

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de doctorat 3^{ème} cycle en sciences agronomiques

Option : Ressources génétiques et améliorations des productions végétales

Application des PGPR dans la phytostimulation et l'atténuation des stress abiotiques (Salin/Allumique) chez une culture de maïs. Cas de : Pseudomonas et Bacillus

Présenté par : M. Zerrouk Izzeddine Zakarya

Soutenu le : 04/01/ 2017

Devant le jury :

Président :

M. Ounane S.M.

Professeur (E.N.S.A. El Harrach)

Directeur de thèse :

M. Benchabane M.

Professeur (U.S.D Blida)

Co-directeur de thèse :

M. Khelifi L.

Professeur (E.N.S.A El Harrach)

Examineurs :

M. Mefti M.

M.C.A (E.N.S.A. El Harrach)

M. Mahdid M.

M.C.A (E.N.S Kouba)

Dédicaces

À mes très chers parents. Ils ont toujours été à mes côtés, pour me protéger, me soutenir, m'encourager. Vos bénédictions ont été pour moi le meilleur soutien durant ce long parcours.
Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à votre égard.

À mes frères : **SAMI, HAYTHEME, YOUSRI ET DOUNIA.**

À mes chères tantes : **TOMA, SALIHA et OUMLKHIR**, qui ne cessaient de me soutenir moralement et matériellement.

À mon cher oncle : **DJAMEL.**

À ma grande mère : **ZOHRA**

À mes chers amis : **BILAL, MOUNIR, OUSSAMA, YUCEF, DJAFAAR ABDERAHMANE, THAMEUR, SABRI et SALEH.** Vous êtes mes chers frères.

Que du bonheur dans votre vie.

À mes camarades **DAHIA et AMEL** et tout le personnel, doctorants et ingénieurs du département de Productions et Améliorations Végétales

Remerciements

En premier lieu, je remercie DIEU le tout Puissant pour m'avoir accordé le courage, la force et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

C'est à mon directeur de thèse, **Mr Benchabane**, à qui je dois le respect et la gratitude pour m'avoir guidé afin de mener à bien cette étude. Ses encouragements et ses remarques pertinentes et ses suggestions ont sans cesse permis l'amélioration de la qualité de ce document.

Je tiens à exprimer ma grande reconnaissance à **Mr Khelifi** de m'avoir accueilli dans son service, pour ses conseils et pour ses encouragements.

Ma gratitude va à **Mr Ounane**, pour ses conseils, ses encouragements et sa disponibilité au cours de toutes les étapes de réalisation de cette thèse.

J'exprime ma plus profonde reconnaissance à **Mme Khelifi** pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la rédaction de cette thèse.

Mes sincères remerciements vont aussi à **Mr Mefti**, Maitre de conférences à l'ENSA El Harrach d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Mes sincères remerciements vont aussi à **Mr Mahdid**, Maitre de conférences à l'ENS Kouba d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Mes remerciements vont également pour **F. Baluska, K. Yokawa et J. Ludwig-Müller**, qui ont accepté de m'accueillir dans leur laboratoire et pour leur soutien. L'accueil et l'aide qu'ils m'ont fournis durant mon séjour en Allemagne je ne l'oublierai jamais.

ZAKI

Liste des abréviations

°C : degré Celsius

μ : micro

μg : microgramme

μl : microlitre

μM : micromole

A : coefficient standard égale à 0.75

ABA : Acide Abscissique

ACC : Acide 1-aminocyclopropane-1-Carboxylique

ACN : Aconitase

AIA : Acide Indole 3-Acétique

AIP : Phosphure d'aluminium

AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi

ASB : Albumine de Sérum Bovin

ATC : Acide TriCarboxylique

ATP : Adénosine TriPhosphate

B. : *Bacillus*

BSP : Bactéries à potentiel de Solubilisation du Phosphate

Bt04 : *Bacillus toyonensis 04*

C.F.U. : Colony-Forming Unit

cm : centimètre

cm² : centimètre carré

cv : cultivar

DAPG : 2,4-DiAcétylPhloroGlucinol

E.N.S.A. : Ecole Nationale Supérieure Agronomique

ETP : EvapoTranspiration Potentielle

FAO : Food and Agriculture Organization

Fig. : Figure

g : gramme

GC-MS : Chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse

h : heure

ha : hectare

HCN : Acide cyanhydrique

HS : Hautement Significatif

HT0 : témoin de cv 12097

HT1 : cv 12097 traitée avec *Pf002*

HT1T2 : cv 12097 traitée avec *Pf002* et *Bt04*

HT2 : cv 12097 traitée avec *Bt04*

ICDH-NADP : IsoCitrato DeHydrogenase-NADP

ICL : IsoCitrato Lyase

j.a.l. : jours après la levée

kg : kilogramme

l : litre

La_{max} : largeur maximale de la feuille ;

Lo : longueur de la feuille ;

LRGB : Laboratoire de Ressources Génétiques et de Biotechnologie

m : mètre

M : million

m/z : rapport masse/valence

MADRP : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche

min : minute

ml : millilitre

mm : millimètre

mM : millimolle

MPa : Méga Pascal

N : normale

ng : nanogramme

nm : nanomètre

P : la probabilité d'obtenir la même valeur du test si l'hypothèse nulle était vraie

P. : *Pseudomonas*

Pf002 : *Pseudomonas fluorescens* 002

PFBBr : Bromure de PentaFluoroBenzyle

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria

pH : potentiel hydrogène

PT0 : témoin de la population DZ

PT1 : population DZ traitée avec *Pf002*

PT1T2 : population DZ traitée avec *Pf002* et *Bt04*

PT2 : : population DZ traitée avec *Bt04*

RCP : Régulateurs de Croissance des Plantes

tpm : tours par minute

S : surface foliaire ;

sp. : espèce

spp. : toutes les espèce du genre

T : tonne

Tab : Table

THS : Très Hautement Significatif

Trp : L-tryptophane

t-test : test de Student

Liste des figures

Figure 1 : Dispositif expérimental (2013-2014)	25
Figure 2 : Dispositif expérimental (2014-2015)	26
Figure 3 : Portion de racine mettant en évidence la coiffe racinaire	32
Figure 4 : Longueurs moyennes des racines des plantes DZ (10 j.a.l) en fonction du traitement bactérien	37
Figure 5 : Vigueurs moyennes des tiges des plantes DZ (10 j.a.l et 30 j.a.l) en fonction du traitement bactérien	38
Figure 6 : Hauteurs moyennes des tiges des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien	39
Figure 7 : Biomasses racinaires moyennes fraîches des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien	40
Figure 8 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien	42
Figure 9 : Biomasses aériennes fraîches moyennes des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien	43
Figure 10 : Biomasses aériennes sèches moyennes des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien	44
Figure 11 : AIA total présente dans le culot et le milieu de la bactérie <i>Pf002</i> avec et sans addition du Trp	47
Figure 12 : AIA totale présente dans le culot et le milieu de la bactérie <i>Bt04</i> avec et sans addition du Trp	48
Figure 13 : AIA synthétisé à partir du Trp dans le culot et le milieu de la bactérie <i>Pf002</i> ...	48
Figure 14 : AIA synthétisé à partir du Trp dans le culot et le milieu de la bactérie <i>Bt04</i>	49
Figure 15 : Effet de la décapitation sur la croissance racinaire des variété DZ (A) et cv. Clement (B)	50

- Figure 16** : Longueurs moyennes des racines principales des plantes DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002* cinq jours après la levée..51
- Figure 17** : Nombre moyen de racines séminales des plantes DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002* cinq jours après la levée52
- Figure 18** : Longueurs moyennes des racines séminales des plantes DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002* cinq jours après la levée ..53
- Figure 19** : Nombre moyen de racines latérales des plantes DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002* cinq jours après la levée54
- Figure 20** : Biomasses racinaires sèches moyennes des plantes DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002* cinq jours après la levée55
- Figure 21** : Effet de l'application de *Pseudomonas fluorescens 002* sur la croissance et la tolérance au sel et à l'Al du maïs cv. Clemente59
- Figure 22** : Effet de l'application de *Pseudomonas fluorescens 002* sur la croissance et la tolérance au sel et à l'Al du maïs DZ60
- Figure 23** : Longueurs moyennes des racines principales chez les plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée ...61
- Figure 24** : Longueurs moyennes des racines principales chez les plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée61
- Figure 25** : Nombre moyen de racines séminales chez les plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée63
- Figure 26** : Nombre moyen de racines séminales chez les plants DZ stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée63
- Figure 27** : Longueurs moyennes des racines séminales chez les plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée64
- Figure 28** : Longueurs moyennes des racines séminales chez les plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée65
- Figure 29** : Nombre moyen de racines latérales chez les plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée66

Figure 30 : Nombre moyen de racines latérales chez les plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par <i>Pf002</i> , cinq jours après la levée	66
Figure 31 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par <i>Pf002</i> , cinq jours après la levée	67
Figure 32 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par <i>Pf002</i> , cinq jours après la levée	68
Figure 33 : Dégradation moyenne de l'ACC dans le culot et dans le milieu par <i>Pf002</i>	69
Figure 34 : Dégradation moyenne de l'ACC dans le culot et dans le milieu par <i>Bt04</i>	70
Figure 35 : ACC synthétisée par les bactéries <i>Pf002</i> et <i>Bt04</i> après 24h d'incubation	70
Figure 36 : Tolérance de la bactérie <i>Pf002</i> au sel	71

Liste des tables

Table 1 : Exemples de phytohormones et d'enzyme stimulateurs de croissances produites par les PGPR	12
Table 2 : Effets améliorateurs de quelques souches de <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> sur les plantes cultivées dans des conditions de stress salin	19
Table 3 : les moyennes de la hauteur des tiges, les biomasses sèche et fraîche des racines et de la partie aérienne chez la variété cv 12097	41
Table 4 : les moyennes de nombre final de feuilles, surface foliaire (à la floraison mâle), date de floraison mâle et femelle chez DZ et cv 12097.....	41
Table 5 : les moyennes des taux de chlorophylle, glucides, phénols et protéines chez DZ et cv 12097	41

Résumé

Titre : Application des PGPR dans la phytostimulation et l'atténuation des stress abiotiques (Salin/allumique) chez une culture de maïs. Cas de : *Pseudomonas* et *Bacillus*

L'objectif de l'étude menée dans ce manuscrit est de mettre en évidence les effets phytostimulateurs de deux souches rhizobactériennes *Pseudomonas fluorescens* 002 et *Bacillus toyonensis* 04 appliquées individuellement ou en combinaison, en interaction avec deux génotypes de maïs : *Zea mays* var. DZ et var. cv 12097. Cette étude vise aussi à étudier la capacité de la souche *Pseudomonas fluorescens* 002 d'induire une résistance vis-à-vis du stress salin et la toxicité allumique chez les génotypes de maïs : var. DZ et var. cv. Clemente.

La bactérisation des plants de maïs, dès les premiers stades juvéniles, a induit des effets de phytostimulation. En conditions de stress (salin et allumique), l'inoculation bactérienne a induit des effets de résistance chez les plants, se traduisant par la modification dans l'architecture racinaire. Les effets d'induction ont montré des améliorations sur l'ensemble des paramètres étudiés, particulièrement les biomasses racinaires fraîches et sèches (augmentations allant jusqu'à 114% et 121% respectivement), et en teneur en glucides (variant de 49% à 116%). La bactérisation a entraîné également une précocité de floraison chez les génotypes étudiées (dépassant les 2 jours).

Nos résultats révèlent que les deux souches de PGPR sont productrices de la phytohormone AIA et de l'enzyme ACC deaminase. Ce genre de métabolites peut s'impliquer non seulement dans la stimulation de la croissance, mais aussi dans la tolérance des conditions de stress salin et de toxicité allumique. Des gains sont enregistrés en présence de 150 mM de NaCl arrivant jusqu'à 84% (longueur des racines séminale) et 280% (nombre de racines latérales). En présence de 90 μ M de AlCl₃, les améliorations dues à la bactérisation sont nettement meilleures, à titre d'exemples 356% de plus en longueur de racines séminales et 105% de plus en biomasse racinaire sèche.

Globalement, ces résultats soulignent les potentialités des PGPR, qui sont responsables de phytostimulation et d'induction de la résistance des plants vis-à-vis de stress abiotiques et les possibilités de leur exploitation dans des pratiques agronomiques.

Mots clés : PGPR, Maïs, Phytostimulation, Stress Salin, Stress Allumique

Abstract

Title: Application of PGPR in the phytostimulation and the mitigation of the abiotic stress (salt/aluminum) with the maize crop. Cases of: *Pseudomonas* and *Bacillus*.

The objective of our study carried out in this manuscript is to demonstrate the phytostimulatory effects of two rhizobacterial strains *Pseudomonas fluorescens* 002 and *Bacillus toyonensis* 04 applied individually or in combination, in interaction with two cultivars of maize: *Zea mays* var. DZ and var. cv 12097. This study also aims to study the ability of the strain *Pseudomonas fluorescens* 002 to induce resistance to salt stress and aluminum toxicity in maize cultivars: var. DZ and var. cv. Clemente.

The bacterization of the maize plants, from the early juvenile stages, induced phytostimulation effects. Under stress conditions (salt and aluminum), bacterial inoculation induced resistance effects in plants resulting in a modification in root architecture. Induction effects showed improvements in all parameters studied, particularly fresh and dry root weights (increases of up to 114% and 121% respectively), and carbohydrate content (ranging from 49% to 116%). The bacteria also caused early flowering stage in the varieties studied (exceeding 2 days).

Our results reveal that both PGPR strains are producing phytohormone IAA and the enzyme ACC deaminase. This kind of metabolites can be involved not only in stimulating growth but also in the tolerance of salt and aluminum stress. benefits were recorded in the presence of 150 mM NaCl up to 84% (seminal root length) and 280% (number of lateral roots). In the presence of 90 μ M of AlCl₃, the improvements due to bacterization are better, as examples 356% more in length of seminal roots and 105% more in dry root biomass.

Overall, these results underline the potential of PGPR, which are responsible for phytostimulation and induction of plant resistance against abiotic stress, and the possibility of application in the agronomical practices.

Keywords: PGPR, Maize, Phytostimulation, Salt stress, Aluminum Stress.

المخلص

العنوان: استعمال البكتيريا المحفزة للنمو النباتي في التنشيط النباتي و التخفيف من الاجهاد الملحي و الألوميني عند الذرة. حالة: *Bacillus* و *Pseudomonas*.

الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على مفعول سلالتين من البكتيريا المحفزة للنمو النباتي *Pseudomonas fluorescens* 002 و *Bacillus toyonensis* 04 مستعملة منفردة أو مجتمعة، وتفاعلها مع صنفين من الذرة : *Zea mays* var. DZ و var. cv 12097. تهدف هذه الدراسة أيضا إلى دراسة قدرة السلالة *Pseudomonas fluorescens* 002 على تفعيل المقاومة النباتية ضد الاجهاد الملحي و الألومينيومي لدى الصنفين: var. DZ و var. cv Clemente.

المعالجة البكتيرية لنبات الذرة، منذ المراحل الأولى، أظهرت أثارا إيجابية على النمو. تحت ظروف الإجهاد (الملح والألومنيوم)، المعالجة البكتيرية أثرت إجابا في تدعيم و تنشيط المقاومة النباتية الطبيعية، و انتج ذلك تغييرات بنيوية على مستوى المجموع الجذري، بالإضافة إلى تحسينات في كل العوامل المدروسة وبالأخص الكتل الحيوية الطازجة والجافة للجذور (زيادات تصل إلى 114% و 121% على التوالي)، ومحتوى الكربوهيدرات (تتراوح ما بين 49% إلى 116%). المعالجة البكتيرية أدت أيضا إلى تكبير في وقت الازهار لدى الأصناف المدروسة (أكثر من يومين).

النتائج المحصلة عليها كشفت أن السلالتين البكتيريتين منتجتين للهرمون النباتي AIA و للانزيم ACC deaminase. هذه الأنواع من المركبات لا تتدخل فقط في عملية تحفيز النمو و لكن أيضا في مقاومة الأوساط الملحية و التسمم الألوميني، وسجلت مكاسب تحت تركيز mM150 كلوريد الصوديوم تصل إلى 84% (طول الجذور الأصلية) و 280% (عدد الجذور الجانبية). مع تركيز 90 µM من $AlCl_3$ ، التحسينات الناتجة عن البكترة كانت جيدة مثل 356% في طول الجذور الأصلية و 105% في الكتلة الحيوية للجذر الجاف.

عموما، تبرز هذه النتائج إمكانات البكتيريا المحفزة للنمو النباتي، التي تعتبر مسؤولة عن تحفيز النمو النباتي وتحريض المقاومة النباتية ضد الاجهادات اللاحيوية و إمكانات استغلال هذه البكتيريا في المعاملات الزراعية و الفلاحية.

الكلمات الرئيسية: البكتيريا المحفزة للنمو النباتي ، الذرة ،تحفيز النمو النباتي، الجهاد الملحي، الاجهاد الألوميني.

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Partie I : Rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante	4
I. Les PGPR	4
1. PGPR symbiotiques	4
2. PGPR non symbiotiques	5
2.1. Les <i>Pseudomonas</i>	5
2.2. Les <i>Bacillus</i>	6
II. Effets bénéfiques des PGPR	7
1. Phytostimulation	7
1.1. Fixation de l'azote atmosphérique	7
1.2. Solubilisation du phosphore	8
1.3. Production des sidérophores	9
1.4. Régulateurs de croissance des plantes	10
2. Phytoprotection	13
Partie II : Le stress salin et le stress allumique	14
I. Stress salin	14
1. Salinité des sols	14
2. Stress salin chez les plantes	14
2.1. Effets du stress osmotique	15
2.1.1. Mouvement des stomates	15
2.1.2. Photosynthèse	15
2.1.3. Croissance et architecture	16
2.2. Effets du stress ionique	16
2.2.1. Toxicité causée par le sodium	17
2.2.2. Toxicité causée par le chlore	17
3. Utilisation des PGPR dans l'atténuation du stress salin	17
3.1. Production de phytohormones	18
3.2. Osmolytes	18
3.3. ACC deaminase	18
II. Stress allumique	20
1. Sols acides dans le monde	20
2. Acidification	20
3. Toxicité en aluminium	21
3.1. Effets indirects de l'aluminium	21
3.2. Effets directs de l'aluminium	21
4. Comportement des <i>Pseudomonas f.</i> en présence d'aluminium	21

5.Interaction synergique des PGPR et des plantes dans les sols contaminés par les métaux lourds	22
---	----

Matériels et méthodes

Partie I : Promotion de la croissance dans les conditions normales.....	23
I.Essai de phytostimulation en pots	23
1.Matériel biologique	23
1.1.Souches bactériennes	23
1.2.Matériel végétal	23
2.Le sol	23
3.Conditions d'expérimentation	23
4.Dispositifs expérimentaux	24
5.Préparation des inocula bactériens	24
6.Prélèvements et paramètres mesurés	26
6.1.Prélèvements	26
6.2.Paramètres agro-morphologiques	27
6.2.1.Longueur racinaire	27
6.2.2.Vigueur et hauteur des tiges	27
6.2.3.Biomasse racinaire et aérienne	28
6.2.4.Nombre de feuilles et la surface foliaire	28
6.2.5.Date de floraison mâle et femelle	28
6.3.Paramètres physiologiques et biochimiques	29
6.3.1. Dosage de chlorophylles	29
6.3.2. Dosage de glucides	29
6.3.3. Dosage des phénols	29
6.3.4. Dosage de protéines	30
6.4.Détermination de l'Acide Indole Acétique (AIA) synthétisée par les bactéries	30
7.Analyses statistiques	31
II.Essai de décapitation racinaire	31
1.Matériel biologique	31
2.Conditions d'expérimentation	32
3.Préparation de l'inoculum bactérien	33
4.Paramètres mesurés	33
4.1.Longueur de la racine principale	33
4.2.Nombre et longueur de racines séminales	33
4.3.Nombre de racines latérales	33
4.4.Biomasse racinaire sèche	33
5.Analyses statistiques	33
Partie II : Promotion de la croissance dans des conditions de stress	34
1.Matériel biologique	34
1.1.Souche bactérienne	34

1.2..Matériel végétal	34
2.Préparation de l'inoculum bactérien	34
3.Applications de stress salin et allumique	34
4.Conditions d'expérimentation	34
5.Paramètres mesurés	35
5.1.Chez les plants maïs	35
5.2.Activités bactériennes	35
5.2.1.Dosage d'AminoCyclopropane-1-Carboxylate deaminase (ACC deaminase)	35
5.2.2.Colonisation rhizosphérique	36
6.Analyses statistiques	36

Résultats et discussions

Partie I : Promotion de la croissance dans les conditions naturelles	37
I.Essai de phytostimulation en pots	37
1.Paramètres agro-morphologiques	37
1.1.Longueur racinaire	37
1.2.Vigueur des tiges	37
1.3.Hauteur des tiges	38
1.4.Biomasse racinaire	39
1.4.1.Biomasse fraîche	39
1.4.2.Biomasse sèche	40
1.5.Biomasse aérienne	42
1.5.1.Biomasse fraîche	42
1.5.2.Biomasse sèche	43
1.6.Nombre des feuilles	44
1.7.Surface foliaire	44
1.8.Date de floraison mâle	45
1.9.Date de floraison femelle	45
2.Paramètres physiologiques et biochimiques	45
2.1.Dosage de chlorophylles	45
2.2.Dosage de glucides	46
2.3.Dosage de phénols	46
2.4.Dosage de protéines	46
3.Détermination de l'Acide Indole Acétique (AIA) endogène et la synthèse à partir du Tryptophane	47
II.Essai de décapitation racinaire	49
1.Longueur de la racine principale	51
2.Nombre de racines séminales	51
3.Longueur des racines séminales	52
4.Nombre de racines latérales	53
5.Biomasse sèche	54
III.Discussion	55

Partie II : Promotion de la croissance dans des conditions de stress	59
1.Longueur de la racine principale	61
2.Nombre de racines séminales	62
3.Longueur des racines séminales	64
4.Nombre de racines latérales	65
5.Biomasse sèche	67
6.Dosage d'AminoCyclopropane-1-Carboxylate deaminase (ACC deaminase)	68
7.Colonisation rhizosphérique	71
8.Discussion	72
Discussion générale	76
Conclusion	78
Références bibliographiques	81
Annexe 1	
Annexe 2	
Annexe 3	

Introduction

Les rapports de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) indiquent que d'ici 2050 il sera nécessaire de doubler la production agricole mondiale actuelle pour nourrir les neuf milliards d'êtres humains. Pour arriver à cet objectif, l'agriculture est devenue fortement dépendante de l'utilisation d'engrais et de pesticides chimiques, ainsi le recours à l'irrigation pour obtenir des rendements plus élevés. Par conséquent la production de fertilisants azotés, phosphatés et potassiques s'est considérablement accrue (FAO, 2016). Cette dépendance est associée à des problèmes, telles que la rupture des équilibres biologiques, notamment les activités agropédologiques (Paul, 2014), les risques de pollutions (eau, air, ...) (Zhang et al., 2012), les risques de santé (Davis et al., 2012) et l'augmentation de la salinisation et l'acidification des sols. Par conséquent, la production agricole et la gestion de sa protection vis-à-vis des parasites et de maladies exige des interventions rapides avec moins d'intrants chimiques.

Outre les stress biotiques, la salinisation est reconnue comme la principale menace pour les ressources agricoles dans de nombreux pays, qui a déjà, touché près d'un milliard d'hectares dans le monde entier (FAO, 2008). Les principaux facteurs augmentant la salinité, au taux de 10 % par an, sont : les hautes températures, les faibles précipitations, l'irrigation des terres cultivées avec de l'eau salée, les mauvaises pratiques agronomiques, et les fortes transpirations des plantes (Shrivastava et Kumar, 2014). La salinité du sol provoque le stress des plantes de deux façons : rendre l'absorption de l'eau par les racines plus difficile, et provoquer une toxicité par l'accumulation de concentrations élevées de sels dans la plante (Munns et Tester, 2008).

Parmi les stress abiotiques, la toxicité aluminique, conséquence de l'acidification des sols et de la pollution industrielle ainsi que l'intensification des cultures, est parmi les contraintes les plus répandues. L'aluminium a l'effet le plus limitant sur la productivité des cultures dans les sols acides. En dehors des zones tropicales, l'acidification des sols ne cesse de s'élargir en conséquence de la pollution de l'air, des activités industrielles, des gaz d'échappement automobiles (Smith, 2012), en plus de la forte utilisation des intrants chimiques à base d'aluminium (phosphore d'aluminium AIP). Devant de telles situations, où l'abus d'intrants chimiques, est devenu une pratique routinière, le recours à l'utilisation de bioressources comme alternative est de plus en plus sollicité. Dans ce contexte, les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont considérés comme des outils potentiels pour fournir des avantages substantiels à l'agriculture (Kloepper et Schorth, 1978 ; Sivasakthi et al., 2014). Les PGPR sont des bactéries rhizosphériques compétentes qui colonisent fortement les racines des

plantes et qui sont bénéfiques pour leur croissance. Les genres les plus étudiés de ce groupe de bactéries sont surtout : *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. L'utilisation de ces microorganismes phytobénéfiques en tant qu'inoculant pour les grandes cultures est de plus en plus importante. Cette pratique, est justifiée par le caractère ubiquiste de ces microorganismes à large spectre d'hôtes, permettant de diminuer l'utilisation des produits phytosanitaires et de fertilisants. Le recours aux PGPR est également l'une des stratégies qui ont été envisagées pour atténuer les effets de stress salin et de la toxicité aluminique des sols (Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Hayat et al., 2010). Il est à souligner que ces PGPR exercent leurs activités phytobénéfiques au niveau de la rhizosphère des plantes. La rhizosphère, le volume du sol entourant les racines, influencé chimiquement, physiquement et biologiquement par la racine de la plante (Hiltner, 1904 in Hartmann et al., 2008), est un habitat très favorable pour la reproduction des microorganismes, qui exercent un impact potentiel sur la santé de la plante et la fertilité du sol (Antoun et al., 1998).

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

Le maïs, la première production de céréale devant le riz et le blé, plante modérément sensibles au sel et à l'aluminium, deuxième plante modèle après l'arabette (*Arabidopsis thaliana*), est largement utilisée dans les travaux de recherche et d'expérimentation pour étudier les interactions plantes-microorganismes (Zörb et al., 2004 ; Fu et al., 2010). Le maïs est cultivé pour l'alimentation humaine et animale mais aussi pour de nombreuses utilisations dans l'industrie textile, pharmaceutique et dans la production de plastique biodégradable et de biocarburants. En ce qui concerne sa consommation humaine au Mexique ou en Afrique du sud

par exemple, les chiffres peuvent atteindre 50 à plus de 100 kg/an/ par personne (Anzala, 2006). En plus, le maïs est une matière première particulièrement appréciée pour nourrir les animaux, d'ailleurs 70% de la consommation mondiale (un milliard de T) concernent la consommation animale (700 millions de T) (FAO, 2016). L'Algérie est un pays dépendant du marché extérieur du maïs (moins de 1% des besoins sont recouvertes par la production locale). La faible production nationale du maïs, 2572 tonnes produites contre 4 millions de tonnes importées, est due essentiellement aux faibles superficies consacrées à cette culture (983 ha) et au manque de maîtrise des techniques de production (MADRP, 2014).

L'objectif de notre travail s'inscrit dans l'étude des interactions plantes-PGPR et leur comportement vis-à-vis des changements climatiques globaux, notons ici particulièrement la salinité des sols et la toxicité en aluminium. Notre étude se présente en deux parties : la première partie concerne la phytostimulation des plantes du maïs en conditions normales, et la deuxième s'intéresse à l'atténuation des effets des stress salin et aluminique. Dans la première, deux essais indépendants sur deux années successives ont été menés lors desquels les paramètres morphologiques de croissance ainsi que quelques paramètres physiologiques (chlorophylles, glucides, protéines et phénols) ont été mesurés chez la plante de maïs, en plus de l'activité AIA chez les bactéries. Les géotypes de maïs étudiés sont : DZ, une population locale du sud algérien, et le cv 12097, un hybride espagnol. Les deux bactéries étudiées dans cette partie du travail sont : *Pseudomonas fluorescens* 002 (*Pf002*) et *Bacillus toyonensis* 04 (*Bt04*) ; deux souches bactériennes isolées au niveau de la rhizosphère du palmier dattier du sud algérien. Un autre objectif recherché dans cette partie était la détermination du rôle de la coiffe racinaire dans le bon fonctionnement de l'interaction plante-PGPR. Pour cela un essai de décapitation racinaire est mené où nous avons inoculé des racines décapitées des deux géotypes, DZ et cv. Clemente (un hybride commercial de la compagnie Monsanto), par la bactérie *Pf002* pour mesurer par la suite quelques paramètres de croissance des racines. Après avoir confirmé les effets bénéfiques des deux souches pour la croissance des plantes de maïs, nous avons effectué des essais pour suivre le comportement des racines inoculés ou non en conditions de stress salin ou de toxicité en aluminium. Dans cette partie du travail nous avons étudié l'interaction de la souche *Pf002* et les deux géotypes de maïs DZ et cv. Clemente. Chez les racines des maïs, les paramètres de croissance sont mesurés, tandis que chez la bactérie nous avons déterminé la synthèse de l'enzyme ACC deaminase et de l'éthylène (ACC). Nous avons essayé également d'évaluer la capacité de *Pf002* de coloniser les racines de maïs et sa vivacité dans des conditions de stress salin et dans des conditions ordinaires.

Synthèse bibliographique

Partie I : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

I. Les PGPR

La rhizosphère qui représente la mince couche de sol entourant les racines des plantes et le sol occupé par les racines supporte les grands groupes actifs de bactéries. Les photosynthétats, qui ne sont pas utilisés par la plante, sont alors utilisés par les microorganismes du sol pour leur croissance. Ils vont les décomposer et les minéraliser. Les produits de cette minéralisation seront ainsi directement assimilables par la plante (Loreau, 2000). Ces nutriments peuvent également être stockés dans la biomasse microbienne du sol. Kloepper et Schroth (1978) ont attribué la notion de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Ces éléments sont connus pour avoir colonisé rapidement la rhizosphère et réprimé les pathogènes des sols à la surface de la racine (Rangarajan et al., 2003). Ces organismes peuvent aussi être bénéficiques à la plante en stimulant sa croissance (Bloemberg et Lugtenberg, 2001).

Les genres de PGPR comprennent : *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Allorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Frankia*, etc. L'utilisation directe des microorganismes pour favoriser la croissance des plantes et pour contrôler les ravageurs des plantes continue d'être une zone d'expansion rapide de la recherche. Il est également crucial pour les inocula microbiens d'être utilisés comme biofertilisants, agents de biocontrôle, phytostimulateurs (Brock et al., 2000 ; Lugtenberg et al., 2001). Deux formes de PGPR sont rencontrées dans la nature : les PGPR symbiotiques et les PGPR non symbiotiques.

1. PGPR symbiotiques

La plante est la principale force structurante des communautés microbiennes. On estime qu'environ 20 000 espèces de plantes (sur environ 300 000) seraient entièrement dépendantes d'organismes microbiens pour leur croissance et leur survie (Van Der Heijden et al 2008). Les microorganismes symbiotiques sont dits mutualistes quant ils ont un effet bénéfique sur la nutrition et/ou la santé des plantes avec lesquelles ils interagissent. De tels microorganismes fournissent à la plante des éléments limitants pour sa croissance et qu'elle prélève en quantité insuffisante par rapport à ses besoins ou qu'elle n'aurait pas pu acquérir seule. C'est le cas, par

exemple, dans la symbiose plante-Rhizobium conduisant à la formation de nodules racinaires dans lesquels s'établissent les rhizobia afin de fixer l'azote atmosphérique au profit des plantes.

La productivité végétale est donc plus importante dans le cas d'associations avec des mutualistes que ce soient des bactéries ou des champignons. Parmi les symbiotes, les bactéries fixatrices d'azote, tel que les *Rhizobia*, sont responsables de 20 à 80 % de l'azote acquis par les légumineuses annuellement (Denison et Kiers 2004a).

2. PGPR non symbiotiques

Certaines espèces microbiennes comme les bactéries *Pseudomonas*, *Bacillus*, sont des microorganismes libres, non symbiotiques à la base, mais qui ont aussi la capacité de s'associer avec une plante et de s'établir dans les racines. Ils vont alors s'assurer une source de nutriments et vont être bénéfiques pour la plante hôte. Elles ont des effets bénéfiques sur le développement et la croissance végétative, le contrôle des pathogènes et la dégradation des composés toxiques pour la plante (Doornbos et al, 2012).

2.1. Les *Pseudomonas*

Pseudomonas sp. sont des bactéries omniprésentes dans les sols agricoles et ont beaucoup de traits qui les rendent bien adaptées comme PGPR. Les souches les plus efficaces de *Pseudomonas* sont les Fluorescent *Pseudomonas spp.* Ces dernières aident dans le maintien de la santé du sol et elles sont métaboliquement et fonctionnellement très diversifiées (Lata et al., 2002).

Les *Pseudomonas* sont des PGPR importantes utilisées comme biofertilisants et sont en mesure d'améliorer le rendement des cultures par des mécanismes directs et indirects (Walsh et al., 2001). En effet, elles produisent une variété de substances biologiquement actives parmi lesquels, des composés favorisant la croissance qui représentent un vif intérêt (Rodriguez Sr, 2006). Ces souches sont capables de solubiliser le phosphore dans le sol et d'augmenter sa disponibilité pour les plantes (Sundara et al., 2002). Certaines souches de *Pseudomonas* produisent des sidérophores avec une affinité élevée pour l'absorption du fer. Ces produits microbiens peuvent améliorer la croissance des plantes en augmentant la solubilité du fer dans leur rhizosphère, et elles sont également en mesure d'atténuer les effets défavorables des agents pathogènes.

Reddy et al. (2007) ont isolé trente souches de *P. fluorescens* au niveau de la rhizosphère du riz et les ont testés pour leur activité antifongique contre *Magnaporthe grisea*, *Dreschelaria oryzae*, *Rhizoctonia solani* et *Sarocladium oryzae* ; des champignons connus d'attaquer les

cultures de riz. Une de ces souches a réussi à inhiber efficacement la croissance mycélienne dans tous ces champignons (62-85%). Les composés antifongiques ont été extraits avec un volume égal d'acétate d'éthyle. A 5%, les composés antifongiques ont complètement inhibé les agents pathogènes. Egamberdieva (2010) a analysé les PGPR pour leurs effets stimulant la croissance sur deux cultivars de blé. Les essais ont été menés dans des pots en utilisant un sol calcaire. Les résultats ont montré que les souches bactériennes *Pseudomonas sp.* et *P. fluorescens* étaient capables de coloniser la rhizosphère des deux cultivars de blé et de stimuler de manière significative la longueur des tiges et des racines et le poids sec de blé. Des travaux de Ramette et al. (2006) sur quelques isolas de *Pseudomonas* ont révélé que ces derniers avaient une capacité élevée de production d'AIA, de solubilisation phosphatique et de production de sidérophores.

2.2. Les *Bacillus*

Bacillus est le genre le plus abondant dans la rhizosphère, naturellement présentes dans le voisinage immédiat des racines des plantes. L'activité PGPR de certaines de ces souches a été connue depuis de nombreuses années, ce qui a entraîné une connaissance approfondie des mécanismes impliqués. Il y a un certain nombre de métabolites libérées par ces souches, qui affectent fortement l'environnement en augmentant la disponibilité des éléments nutritifs des plantes (Charest et al., 2005).

Les espèces de *Bacillus* utilisées comme biofertilisants ont probablement des effets directs sur la croissance des plantes grâce à la synthèse des hormones de croissance (Amer et Utkhede, 2007). Les souches de *Bacillus* solubilisatrices de phosphate stimulent la croissance des plantes grâce à une meilleure absorption de N, P, K et Fe. Les biofertilisants phosphoriques pourraient aider à accroître la disponibilité de phosphates accumulés dans le sol et favoriser la croissance des plantes en augmentant l'efficacité de la fixation biologique de l'azote et la disponibilité du fer et le zinc à travers la production des substances de croissance (Sivasakthi et al., 2014). *Bacillus megaterium* est très cohérent dans l'amélioration de différents paramètres de croissance des racines (la performance d'enracinement, la longueur des racines ainsi que la teneur en matière sèche) dans la menthe (Kaymak et al., 2008). *B. megaterium var. phosphaticum* et la souche solubilisatrice de P, lorsqu'elles sont inoculées dans des sols pauvres en nutriments augmentent la disponibilité des minéraux, l'absorption et la croissance des plantes de poivre et de concombre, ce qui suggère leur utilisation potentielle comme engrais (Han et al., 2006 ; Supanjani et al., 2006).

La stimulation de la croissance et la lutte contre les maladies par *Pseudomonas* et *Bacillus* sont des processus interdépendants complexes impliquant des mécanismes directs et indirects qui incluent la synthèse de certaines hormones (auxines, cytokinines, gibbérellines), l'ACC deaminase, la production de sidérophores, le HCN et des composés volatiles. D'autres incluent la solubilisation minérale (phosphore par exemple), la concurrence et la résistance systémique induite (Kaymak, 2010).

II. Effets bénéfiques des PGPR

Les effets bénéfiques de ces rhizobactéries ont été attribués à leur aptitude à produire divers composés comprenant les phytohormones, les acides organiques, les antibiotiques, les sidérophores, la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation du phosphate et d'autres mécanismes non identifiés (Glick et al., 1995). De ce fait on distingue des effets directs (Phyostimulation) et indirects (Phytoprotection) des PGPR.

1. Phyostimulation

1.1. Fixation de l'azote atmosphérique

L'azote est l'élément nutritif le plus important et sa carence affecte gravement les rendements des cultures. La plupart des sols dans le monde sont pauvres en azote et les applications d'engrais azotés sont essentielles pour atteindre un rendement maximal. Bien que 78% de l'atmosphère est constituée de diazote, mais qui ne peut pas être utilisé par la plupart des organismes et ainsi la disponibilité de l'azote sous une forme appropriée pour l'assimilation est souvent un facteur limitant majeur pour la croissance des cultures. La production d'engrais azotés chimiques non seulement épuise les ressources énergétiques non renouvelables, mais pose également des risques humains et environnementaux, en plus d'être très coûteuse. L'urée est la source la moins chère et la plus facilement disponible d'azote, mais malheureusement moins de 50% des quantités appliquées sont utilisées par les plantes. Cette faible efficacité d'utilisation est principalement causée par la volatilisation de NH_3 , la dénitrification et les pertes de lessivage.

La fixation biologique de l'azote est une source importante d'azote pour les plantes dans le cadre de pratiques agricoles respectueuses de l'environnement. Elle contribue pour 65 % de l'azote total actuellement utilisé dans la production agricole et sera un facteur important pour l'agriculture du futur. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote comprennent les cyanobactéries et les genres : *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*,

Allorhizobium, *Mesorhizobium* et *Frankia* (Paul et Clark, 1996 ; Brock et al., 2000). Les symbioses sont les systèmes majeurs de la fixation de l' N_2 en jouant un rôle significatif dans l'amélioration de la fertilité et en maximisant la productivité des sols pauvres en azote.

Les bactéries vivantes librement (non symbiotiques) ainsi que des souches de rhizobia peuvent favoriser la croissance des céréales en contribuant à l'économie de l'azote grâce à leur capacité à fixer l' N_2 (Zahir et al., 2003). Kennedy et Islam (2001) ont également expliqué le rôle possible des mécanismes des bactéries non symbiotiques sur la croissance des cultures du point de vue fixation biologique de l'azote. Fournir aux plantes des éléments nutritifs essentiels, comme le NH_4-N par le biais de la fixation de l'azote atmosphérique ou aider la plante à l'absorption des éléments nutritifs sont également considérées comme stimulation de la croissance végétale directe. Les genres les plus importants des bactéries ; non-symbiotiques ; fixatrices d'azote sont : *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Kelbsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodobacter* et *Serratia*.

1.2. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est l'un des principaux éléments nutritifs ; deuxième après l'azote ; dans l'exigence pour les plantes. La plupart du phosphore dans le sol se présente sous la forme de phosphates insolubles et ne peuvent être utilisés par les plantes. Les bactéries à potentiel de solubilisation du phosphate (BSP) pourraient jouer un rôle important dans la fourniture de phosphate aux plantes d'une façon conviviale et durable. Ces microorganismes peuvent convertir les composés phosphatés insolubles en formes solubles et les rendre disponibles aux plantes cultivées. Diverses espèces bactériennes des genres : *Bacillus*, *Rhizobium* et *Pseudomonas* se sont avérés être des bactéries les plus puissantes en solubilisation du phosphate (Banerjee et al., 2006).

Les effets bénéfiques des BSP sur la croissance des plantes varient significativement en fonction des conditions environnementales, des souches bactériennes, du végétale et des conditions du sol (Şahin et al., 2004). La capacité de solubilisation du phosphate dépend également de la nature de la source d'azote utilisée dans le milieu, avec une plus grande solubilisation en présence de sels d'ammonium que lorsque le nitrate est utilisé comme source d'azote. Ceci a été attribué à l'extrusion de protons pour compenser l'absorption de l'ammonium, conduisant à une diminution de pH extra-cellulaire (Roos, 1984). L'abaissement du pH du sol

par la production microbienne d'acides organiques tels que (le lactate, le citrate, ...) ainsi que l'extrusion de protons sont les principaux mécanismes de minéralisation de la forme organique du phosphore (Khan et al., 2009). La libération de phosphore à partir de formes insolubles et adsorbées est également un aspect important des BSP concernant la disponibilité du phosphore dans les sols. Ces microorganismes transforment le phosphore du sol en formes qui peuvent facilement être utilisées par les cultures et ils assimilent le phosphore soluble, et le rendent disponible en empêchant son adsorption (Khan et Joergensen, 2009). Les BSP améliorent également la disponibilité du phosphore aux cultures par la solubilisation de ses formes précipitées (Chen et al., 2006). Fe-P, Al-P et Ca-P sont les principales formes de précipité dans les sols acides et alcalins, qui peuvent être solubilisées en impliquant des anions organiques et protons associés. La forme complexe de phosphore adsorbé peut être libérée par des ions métalliques chélateurs par des réactions d'échange de ligands (Bünemann et al., 2004).

1.3. Production des sidérophores

Le fer est un élément essentiel de la croissance pour tous les organismes vivants. La rareté du fer biodisponible dans les habitats du sol et sur les surfaces végétales provoque une concurrence entre les organismes vivants (**Whipps, 2001**). Dans des conditions de limitation en fer, les PGPR produisent des composés de faibles masses moléculaires appelés sidérophores pour acquérir compétitivement le fer. Les sidérophores sont petits, à haute affinité des composés chélateurs de fer sécrétés par des microorganismes tels que les bactéries, les champignons et le végétaux (Miller et al., 2009). Les microorganismes libèrent des sidérophores afin de capter les fer des phases minérales par la formation des complexes Fe^{3+} solubles qui peuvent être absorbés par des mécanismes de transport actif (Miethke et Maraheil, 2007). Les sidérophores sont parmi les liants les plus forts à Fe_{3+} connus (Raymond et al., 2003).

La répartition des isolats produisant les sidérophores selon l'analyse de restriction de l'ADN ribosomique amplifié, a révélé que la plupart des isolats appartiennent à des bactéries Gram-négatif correspondant aux genres *Pseudomonas* et *Enterobacter* et ceux qui appartiennent à des bactéries Gram-positif correspondent aux genres *Bacillus* et *Rhodococcus* (Tian et al., 2009).

Bien que, divers sidérophores bactériens diffèrent dans leur capacité à séquestrer le fer en général, ils privent les champignons pathogènes de cet élément essentiel puisque les sidérophores fongiques ont une affinité plus faible. Certaines souches de PGPR vont plus loin en tirant le fer de sidérophores hétérologues produits par les microorganismes cohabitants. Les

Pseudomonas sp ont la capacité d'utiliser des sidérophores produits par diverses espèces de bactéries et de champignons. *Pseudomonas putida* peut utiliser les sidérophores hétérologues produits par les microorganismes de la rhizosphère pour améliorer le niveau de fer à sa disposition dans l'habitat naturel (Loper et Henkels, 1999). Les isolats des bactéries telluriques dont *Azotobacter vinelandii* et *Bacillus cereus* produisent des sidérophores et ils peuvent être utilisés comme PGPR efficaces pour augmenter le rendement des récoltes (Husen, 2003).

1.4. Régulateurs de croissance des plantes

Les PGPR synthétisent et exportent des phytohormones également appelées Régulateurs de Croissance des Plantes (RCP) qui peuvent être synthétisées dans des organes définis de la plante et peuvent être déplacés vers d'autres sites où celles-ci jouent des rôles biochimiques, physiologiques et morphologiques dans la croissance et le développement des plantes (Hayat et al., 2010). Les RCP sont des substances de nature organiques qui favorisent les processus physiologiques des plantes même à de faibles concentrations et aussi participent à l'élaboration des tissus où elles sont produites. Parmi les RCP, les gibbérellines, les cytokinines, les auxines, l'acide abscissique et l'éthylène sont les bien documentés (Hayat et al., 2012).

L'auxine active la plus commune chez les plantes est l'acide indole-3-acétique (AIA). Cette hormone régule de nombreux aspects de la croissance et du développement dans tout le cycle de la plante de la division et l'élongation cellulaire et la différenciation à l'initiation de la racine, la dominance apicale, la floraison, la maturation des fruits, la sénescence et la stimulation de la croissance des plantes (Guilfoyle et al., 1998). En plus de la production dans les tissus végétaux, la synthèse d'AIA est très répandue chez les bactéries associées aux plantes et fournit aux bactéries un mécanisme pour influencer la croissance des plantes (Patten et Glick, 2002). Les interactions entre les bactéries productrices d'AIA et les plantes conduisent à des résultats différents du côté de la plante, variant de la pathogenèse à la phytostimulation. Les isolats produisant l'AIA ont un effet stimulant sur la croissance des plantes. Lorsque la culture de patate douce estensemencée avec ces isolats, les résultats obtenus montrent une augmentation de manière significative de la croissance des plantes due à une meilleure absorption de N, P, K, Ca et Mg (Farzana et Radizah, 2005). Certains microorganismes produisent des auxines, en présence d'un précurseur approprié, tel que le L - tryptophane. Dans une étude réalisée par Sivasakthi et al. (2014) la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* était capable de produire de l'AIA à partir du Trp. Karnwal (2009) a obtenu 30 *Pseudomonas* isolées de différentes rhizosphères de plantes, ces souches ont été caractérisées sur la base de tests

biochimiques et de la capacité de promouvoir la croissance des plantes. *P. fluorescens* et *aeruginosa* ont montré la meilleure activité favorisant la croissance des plantes. Ces isolats ont été testés pour leur capacité à produire de l'acide indole acétique en culture pure, en absence et en présence de L-tryptophane à 50, 100, 200 et 500 µg/ml. Pour les deux souches, la production d'AIA a augmenté avec l'augmentation de la concentration du tryptophane, en outre *P. aeruginosa* a été moins efficace dans la production d'AIA que *P. fluorescens*.

L'éthylène est un régulateur de croissance végétale synthétisé par presque toutes les espèces de bactéries (Primrose, 1979). Il agit comme une hormone de maturation, favorise la formation de racines adventives et des poils racinaires, stimule la germination des graines brise la dormance, favorise la croissance et le développement des plantes (Pierik et al, 2006). Toutefois, si la concentration d'éthylène reste élevée après la germination, l'élongation des racines et des tiges sera inhibée (Abeles et al, 1992). Le précurseur direct de l'éthylène dans la voie de biosynthèse végétale ; l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) ; est exsudé par les racines des plantes ainsi que d'autres acides aminés. Les rhizobactéries qui possèdent l'enzyme ACC déaminase peuvent dégrader l'ACC et l'utiliser comme source de carbone. Dans ces conditions, la réabsorption de l'éthylène par les racines est empêchée et le niveau de l'ACC dans les racines est réduit. En conséquence, la production d'éthylène par les racines est abaissée, libérant l'inhibition de la croissance des racines. Les PGPR avec des caractéristiques de l'ACC-déaminase améliorent la croissance et le rendement des cultures et peuvent être considérés comme des engrais bio (Shaharoon et al., 2006).

Les cytokinines sont également des importantes phytohormones habituellement présentes en petites quantités dans les plantes (Vessey, 2003). Ceux-ci améliorent la division cellulaire (Frankenberger et Arshad 1995), et sont également impliqués dans la photosynthèse et la différenciation des chloroplastes. Elles sont également connues pour induire l'ouverture des stomates, la suppression de la dominance apicale induite par l'auxine et l'inhibition de la sénescence des organes végétaux, en particulier dans les feuilles (Crozier et al., 2000). Plus de 30 composés du groupe de cytokinine sont rapportés qui sont produites par les PGPR.

Les PGPR produisent également largement les gibbérellines (Tab 1). Plus de 89 gibbérellines sont connus, dont la plupart sont principalement responsables de la montaison (Dobbelaere et al., 2003). Elles affectent également les processus de reproduction dans une large gamme de plantes (Crozier et al., 2000). Les PGPR comme *Azospirillum* et *Pseudomonas spp.* produisent des cytokinines et des gibbérellines (Dobbelaere et al., 2003).

Table 1 : Exemples de phytohormones et d'enzyme stimulateurs de croissances produites par les PGPR (Kaymak, 2010)

Phytohormones	PGPR	Références
Gibbérellines	<i>Acetobacter diazotrophicus</i> <i>Herbospirillum seropedicae</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus cereus MJ-1</i> <i>Bacillus macroides CJ-29</i> <i>Bacillus pumilus CJ-69</i>	Bastian et al. (1998) Gutierrez-Manero et al. (2001) Joo et al. (2004)
AIA	<i>Agrobacterium sp.</i> <i>Alcaligenes piechaudii</i> <i>Comamonas acidovorans</i> <i>Azospirillum brasilense</i> <i>Aeromonas veronii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter sp.</i> <i>Comamonas acidovorans RC41</i> <i>Paenibacillus polymyxa RC05</i> <i>Bacillus RC23</i> <i>Bacillus simplex RC19</i> <i>Bacillus RC03</i> <i>Bacillus megaterium RC01</i>	Barazani et Friedman (1999) Kaushik et al. (2000) Mehnaz et al. (2001) Mirza et al. (2001) Erturk et al. (2008)
Cytokinine	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Timmusk et al. (1999) de Salamone et al. (2001) Bent et al. (2001)
ACC deaminase	<i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas cepacia</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pseudomonas brassicacearum Am3</i> <i>Variovorax paradoxus 5C-2</i> <i>Pseudomonas putida Biovar B</i> <i>Pseudomonas putida N21</i> <i>Pseudomonas aeruginosa N39</i> <i>Serratia proteamaculans M35</i>	Mayak et al. (1999) Cattelan et al. (1999) Saleh et Glick (2001) Belimov et al. (2007) Belimov et al. (2009) Rodriguez et al. (2008) Zahir et al. (2009)

2. Phytoprotection

Les PGPR aident indirectement la croissance des plantes par la suppression des micro-organismes délétères qui inhibent la croissance des plantes, ou des pathogènes des racines par antibiose, parasitisme, compétition pour les nutriments et l'espace à proximité des racines des plantes, et/ou l'activation des réactions de défense de la plante hôte (Podile et Kishore, 2007). Les *Bacillus subtilis* sont les PGPR les plus utilisées en raison de leur capacité de produire des antibiotiques et de réduire la nuisibilité de la maladie (Kokalis-Burelle et al., 2006). Les *Pseudomonas* sont également connues d'avoir la capacité de supprimer les pathogènes telluriques en produisant des métabolites antifongiques et en séquestrant le fer dans la rhizosphère par la libération de sidérophores chélatrices du fer, le rendant indisponible pour les autres organismes (Dwivedi et Johri, 2003). La suppression des micro-organismes nuisibles par les PGPR repose principalement sur le parasitisme, la compétition pour les nutriments disponibles, la production d'enzymes ou de toxines et l'induction de la résistance en activant la réponse de défense des plantes contre les pathogènes (Podile et Kishore, 2007).

Certains PGPR dégradent la paroi cellulaire des champignons pathogènes par la production d'enzymes hydrolytiques (chitinase, β -1,3-glucanase). Les travaux de Manjula et al. (2004) mettent en évidence que les chitinases purifiées de *Bacillus subtilis* AF 1 sont fortement antifongiques. La souche productrice de β -1,3-glucanase, *Pseudomonas cepacia* empêche la prolifération rhizosphériques de nombreux champignons phytopathogènes tels que *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* et *Pythium ultimum* (Fridlender et al., 1993). Suite aux travaux précédant, Tanaka et Watanabe (1995) rapportent que l'action synergique des deux enzymes hydrolytiques ; chitinase et β -1,3-glucanase ; est plus efficace dans l'inhibition des champignons pathogènes par rapport à l'effet de chacune seule.

Partie II : Les stress salin et allumique

I. Stress salin

1. Salinité des sols

Dans le monde, il y a plus de 800 millions d'hectares de terre touchée par la salinité ; un équivalent de 6% de la superficie totale du monde (FAO, 2008). Cette salinité est due à des causes naturelles ou à l'accumulation de sels dans les zones arides et semi-arides. Les chlorures de sodium, de calcium, de magnésium, sont les principaux sels libérés par l'altération des roches mères. Le chlorure de sodium est le sel le plus soluble et abondamment libéré (Munns et Tester, 2008).

À part les causes naturelles de salinité des sols, l'agriculture moderne, en raison de défrichage ou de l'irrigation, conduit à l'augmentation de la salinité des terres. L'irrigation combinée à un mauvais drainage est la cause la plus grave, parce qu'elle conduit à des pertes de terres agricoles productives. La raison de cette salinisation est que l'eau s'évapore mais les sels restent et s'accumulent dans le sol (Zhu, 2007).

Le sol salin est caractérisé par une forte concentration de sels solubles. Un sol classifié salin a une concentration de sels équivalente à environ 40 mM NaCl et génère une pression osmotique d'environ 0,2 MPa (George et Brown, 2008).

2. Stress salin chez les plantes

Chez la plante, la tolérance au sel est la capacité des plantes à croître et à compléter leur cycle de vie sur un substrat qui contient de fortes concentrations de sel soluble. Les plantes qui peuvent survivre sur des concentrations élevées de sel dans la rhizosphère et poussent bien sont appelés halophytes (par ex : la luzerne peut survivre sur des concentrations supérieures à 300 mM NaCl), tandis que les plantes glycophytes sont les plantes que l'on ne rencontre pas naturellement sur un substrat salin, ne pouvant tolérer qu'une faible quantité de sels dans le milieu de croissance (par ex : les arbres fruitiers tels que les agrumes et avocatiers sont sensibles à quelques mM NaCl ; le riz ne peut pas terminer son cycle de vie à 100 mM NaCl *in vitro* ou 200 mM NaCl en terre) (Parida et Das, 2004).

Le stress salin s'applique sur la plante sous deux types de contraintes. Tout d'abord, le sel exerce un effet osmotique dès que les racines sont en contact avec le sel jusqu'à un niveau seuil de concentration en sel. Ce niveau seuil est d'environ 40 mM de NaCl pour la plupart des

plantes, ou moins pour les plantes sensibles comme le riz et l'Arabidopsis. Dans un deuxième temps, le sel s'accumule à des concentrations toxiques dans les feuilles et entraîne un stress ionique (Munns et Tester, 2008).

2.1. Effets du stress osmotique

Munns (2005) définit le stress osmotique comme étant une circonstance défavorable, qui dérange ou est susceptible de perturber le fonctionnement physiologique normal de la plante et qui affecte la croissance immédiatement, causée par le sel à l'extérieur des racines. L'eau circule dans la plante du sol vers les feuilles où elle passe à l'état gazeux au niveau des parois cellulaires des cellules du mésophylle avant de s'échapper dans l'air ambiant en traversant l'épiderme, principalement par les stomates. Cette circulation dépend du gradient de potentiel hydrique. Le stress salin exerce une contrainte primaire immédiatement et non spécifique par une baisse de potentiel hydrique du sol.

Le potentiel hydrique est une mesure de l'avidité en eau d'un compartiment biologique ou chimique. Toute substance en solution aqueuse exerce sur les molécules d'eau une force d'attraction. Plus la solution est concentrée plus cette force est forte et moins les molécules d'eau peuvent la quitter. Le potentiel hydrique représente donc le potentiel de l'eau à quitter un compartiment donné : plus il est élevé dans un compartiment, plus l'eau a tendance à le quitter et, inversement, l'eau a tendance à rentrer dans les compartiments ayant un faible potentiel hydrique.

2.1.1. Mouvement des stomates

Le stress osmotique perturbe la biosynthèse de l'acide abscissique (ABA) conduisant à un changement rapide de la conductance stomatique. La diminution de l'ouverture stomatique de la plante lors du stress osmotique est la réponse la plus dramatique. Le stress osmotique déclenche la production de l'ABA dans les racines, qui est ensuite transporté vers les feuilles causant la fermeture des stomates (Fricke et al., 2004).

2.1.2. Photosynthèse

Le stress osmotique non seulement perturbe les balances ioniques et éléments nutritifs des plantes mais également affecte le transport d'électrons photosynthétiques et les activités des enzymes pour la fixation du carbone (Zhang et al., 2011). Une diminution du taux de photosynthèse chez les plantes qui se développent sur milieu de stress osmotique est observée.

Elle est due à plusieurs facteurs : la déshydratation des membranes cellulaires qui réduisent leur perméabilité au CO₂, la réduction de l'offre de CO₂ en raison de la fermeture des stomates, ou les changements de l'activité enzymatique induite par des changements dans la structure cytoplasmique (Parida et Das, 2004).

2.1.3. Croissance et architecture

Face au stress osmotique, une diminution soudaine du potentiel hydrique du sol provoque la perte d'eau des cellules foliaires, entraînant une perte transitoire du volume de la cellule par plasmolyse. Elle réduit immédiatement non seulement l'expansion des cellules dans l'apex racinaire et dans les jeunes feuilles mais également provoque la fermeture des stomates. Bien qu'après quelques heures, les cellules retrouvent leur volume initial, les taux d'allongement des cellules sont réduits. En conséquence, après plusieurs jours, les dimensions des cellules changent : les cellules sont plus petites et épaisses (Munns et Tester, 2008).

Le développement du système racinaire est également affecté mais il est moins inhibé que la croissance des parties aériennes. En revanche, la croissance de la zone apicale de la racine principale est maintenue pour permettre à la plante d'explorer le sol et de rechercher de nouvelles sources en eau mais aussi pour augmenter le volume de stockage des ions toxiques dans la vacuole en cas de stress salin (Sharp et al., 2004). Plusieurs études chez le maïs et la tomate ont suggéré que la forte accumulation d'ABA observée dans la racine en réponse au stress salin serait à l'origine du maintien de la croissance de la zone apicale (Albacete et al., 2008 ; Lovelli et al., 2011).

2.2. Effets du stress ionique

Le stress ionique se développe au fil du temps et est dû à une combinaison de l'accumulation d'ions dans la partie aérienne et une incapacité à tolérer les ions qui se sont accumulés dans les tissus végétaux (Munns et Tester, 2008). Le stress ionique est spécifique du stress salin. Il a moins d'effet par rapport au stress osmotique, en particulier à faible concentration en sel. Il accélère la sénescence et la maturité des feuilles.

Dans le cas du stress causé par le NaCl, le stress ionique est dû à la toxicité des ions Na⁺ et Cl⁻ accumulés en excès dans la plante qui perturbe l'homéostasie des ions cytosoliques de l'organisme et affecte l'activité de certaines enzymes.

2.2.1. Toxicité causée par le sodium

Une cause importante d'endommagement qui perturbe la synthèse des protéines est le haut niveau de la concentration de Na^+ . Cet ion peut dérégler les processus métaboliques en entrant en compétition avec K^+ , pour sa fixation sur des enzymes et des protéines importantes. Plus de 50 enzymes sont activées par K^+ mais Na^+ ne peut pas assurer la même fonction. Par ailleurs, K^+ est vital pour la synthèse de certaines protéines, pour l'osmorégulation, pour le maintien de la turgescence des cellules, pour la stimulation de la photosynthèse, la fixation des ARNt aux ribosomes ou encore la régulation de la voie d'assimilation de l'azote (Tester et Davenport, 2003).

En situation d'excès de Na^+ , la plante peut entraîner une déficience nutritionnelle en limitant l'absorption et l'accumulation d'autres éléments nutritifs comme K^+ , Ca^{2+} ou Mn^{2+} . Il a été montré que Na^+ interfère avec des transporteurs localisés sur la membrane plasmique des cellules racinaires (Horie et al., 2011).

2.2.2. Toxicité causée par le chlore

Le chlore est un micronutriment essentiel pour les plantes supérieures. Il est surtout présent sous forme d'anion Cl^- . Le chlorure est un soluté majeur dans la vacuole et est impliqué à la fois dans la turgescence et l'osmorégulation cellulaire (Kawakami et al., 2009). Dans le cytoplasme, le chlorure peut réguler les activités d'enzymes clés. En outre, Cl^- agit également comme contre anion, et est impliqué dans la stabilisation du potentiel de membrane, la régulation des gradients de pH intracellulaire. Cl^- devient toxique pour les plantes en cas d'accumulation à des concentrations élevées dans le cytoplasme entraînant des déséquilibres de charge électrique (Teakle et Tyerman, 2010).

3. Utilisation des PGPR dans l'atténuation du stress salin

Une gamme de rhizobactéries tolérantes au sel (par exemple : *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, et *Bacillus*) a jusqu'à présent montré des interactions bénéfiques avec les plantes soumises à des contraintes environnementales (Egamberdieva et al., 2011 ; Adesemoye et al., 2008). Des rapports antérieurs affirment que la salinité affecte négativement l'activité bactérienne du sol, mais les bactéries tolérantes au sel peuvent survivre et proliférer dans le sol et la rhizosphère dans un environnement hostile. Diby et al. (2005) ont observé que la population tolérante au sel de *P. pseudoalcaligenes* MSP-538 n'a pas changé considérablement avec l'augmentation de la salinité dans le sol.

Il existe de nombreux rapports sur l'amélioration de la croissance des plantes, le développement et l'absorption des nutriments par les inocula des bactéries tolérantes au sel. Un aperçu des effets d'amélioration de *Pseudomonas* et *Bacillus* sur diverses plantes mentionnées dans la littérature est présenté dans la table.

Les PGPR peuvent utiliser divers mécanismes pour stimuler la croissance et le développement des plantes, pour protéger les plantes contre les maladies transmises par le sol et d'augmenter la tolérance de la plante au stress.

3.1. Production de phytohormones

Le stress salin inhibe la production d'auxines, gibbérellines et zéatine dans les racines et les feuilles des plantes (Pérez-Alfocea et al., 2010), mais pas celle des PGPR tolérantes. Les bactéries colonisatrices des racines produisent des auxines supplémentaires dans la rhizosphère dans des conditions de stress, ce qui pourrait aider à maintenir la croissance des racines, et pourrait également contribuer à maintenir la croissance des feuilles (Albacete et al., 2008). Dans une étude d'Egamberdieva (2009), l'inoculation individuelle du blé par les bactéries productrices d'auxine *P. aureantiaca* TSAU22, *P. extremorientalis* TSAU6, et *P. extremorientalis* TSAU20 a considérablement augmenté la croissance des racines et des plantules jusqu'à 40 % et celle des tiges à 52 % en présence de 100 mM NaCl par rapport aux plantes témoins. Arkhipova et al. (2007) ont également observé une augmentation de la croissance des racines et des tiges ainsi que celles des concentrations de cytokinines dans les plantes traitées avec la souche productrices de cytokinine *B. subtilis*.

3.2. Osmolytes

Les plantes peuvent se protéger contre le stress salin en accumulant des solutés compatibles tels que les sucres et les acides aminés pour s'ajuster osmotiquement (Evelin et al., 2009). Plusieurs souches de PGPR, telles que *Arthrobacter* et *Bacillus* augmentent la synthèse de la proline dans les plantes stressées, ce qui contribue à maintenir l'état de l'eau cellulaire, aidant ainsi les plantes à faire face au stress salin (Sziderics et al., 2007).

3.3. ACC deaminase

La production d'éthylène dans des plantes est très dépendante des niveaux endogènes de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC). L'ACC deaminase est une enzyme présente dans de nombreuses bactéries rhizosphériques. Ces bactéries peuvent prendre l'ACC à partir de la

racine de la plante et de le convertir en a-ketobutyrate et de l'ammoniac. Il en résulte une diminution des niveaux d'ACC et donc des taux d'éthylène dans la plante, et une diminution de stress des plantes (Pliego et al. 2011).

Dans une autre étude, *P. fluorescens* TDK1, souche productrice d'ACC deaminase, améliore les paramètres de croissance et la résistance au stress salin des plantes d'arachide par rapport aux plantes inoculées avec des souches de *Pseudomonas* dépourvues d'activité ACC désaminase (Saravanakumar et Samiyappan, 2007). Des résultats similaires ont été observés par Kausar et Shahzad (2006), qui rapportent que les souches *P. fluorescens* contenant de l'ACC deaminase stimulent la croissance des racines du maïs dans des conditions de stress salin.

Table 2 : Effets améliorateurs de quelques souches de *Pseudomonas* et *Bacillus* sur les plantes cultivées dans des conditions de stress salin (Egamberdieva et al., 2014)

PGPR	La culture	Effets de l'inoculation	Références
<i>P. fluorescen</i>	Arachide	Croissances des plantes, rendement	Saravana kumar et Samiyappan (2007)
	Maïs	Elongation racinaire, poids frais	Kausar et Shahzad (2006)
	Blé	Croissance, rendement en grain	Abbaspoor et al. (2009)
<i>P. pseudoalcaligene</i>	Riz	Biomasse aérienne	Jha et al. (2010)
<i>P. alcaligenes,</i> <i>P. chlororaphis</i>	Cotton	Longueur des tiges et racines, Poids sec	Egamberdieva et Jabborova (2013)
<i>P. extremorientalis,</i> <i>P. chlororaphis</i>	Haricot	Longueur des tiges et racines, Poids sec	Egamberdieva (2011)
<i>Pseudomonas sp.</i>	Pois	Croissance, rendement	Arshad et al. (2008)
	Blé	Croissance, Réduction de l'absorption des ions toxique	Hasnain et Sabri (1996)
<i>B. megaterium</i>	Maïs	Longueur racinaire, Teneur relative en eau	Maruland et al. (2010)
<i>B. pumilus</i>	Riz	Biomasse aérienne	Jha et al. (2010)

II. Stress allumique

La toxicité en aluminium est parmi les plus répandues des contraintes dans les plantes. L'aluminium limite la productivité des cultures dans les sols acides dans les régions tropicales et subtropicales principalement. En dehors des zones tropicales, une disponibilité accrue d'aluminium a été observée à la suite de l'acidification progressive du sol due à la pollution de l'air provenant des stations électriques de puissance, des activités industrielles, d'échappement des automobiles et de l'utilisation intensive de certains engrais (Smith, 2012).

1. Sols acides dans le monde

L'acidité du sol est définie par un pH à l'eau de l'horizon de surface inférieur à 5.5 (Von Uexküll et Mutttert, 1995). Les sols acides occupent approximativement 30% (3950 millions ha) des terres émergées non couvertes de glace du monde. Généralement, ce phénomène se produit dans les zones à forte pluviométrie, supérieure à l'ETP, de l'ordre de 1500 mm. 77% des sols acides (2646 millions ha) supportent des forêts et des régions boisées et approximativement 18% (711 millions ha) sont couverts par une végétation de savane, de prairie ou de steppe. Seulement 4.5% (17 millions ha) des sols acides sont en zone arable et employés pour des cultures (FAO, 2008).

2. Acidification

L'acidification est un phénomène naturel qui intervient partout où les précipitations sont supérieures à l'évaporation (Bolan et al., 2003). Elle est favorisée par des causes naturelles (le substrat géologique), par des méthodes de production agricoles (la fertilisation ammoniacale et l'usage intensif des légumineuses) et par des causes artificielles.

En système naturel, les entrées du système sont les acides dissous dans les eaux de pluie (CO_2 , NO_x , SO_x). Les sorties sont les lixiviats cations-anions (cations : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ; anions : HCO_3^- , SO_4^{2-} , NO_3^-). Dans un système naturel (non modifié ou exploité par l'Homme) les plantes transfèrent de l'acidité (H^+) au sol ; cependant, à long terme, le bilan final peut être neutre car à la mort des plantes l'alcalinité accumulée dans la plante (principalement les anions organiques R-COO^-) est restituée au milieu. En système cultivé, les engrais dont l'action est généralement faible ou nulle (sels neutres) et les amendements (matière organique, carbonates et hydroxydes de Ca^{2+} et Mg^{2+}) s'ajoutent aux entrées du système. Les sorties sont augmentées par l'exportation de la matière organique des plantes par les récoltes (cations minéraux et anions organiques). Plus l'exportation est importante, plus l'acidification est forte.

3. Toxicité en aluminium

La toxicité de l'Al en solution est mesurée par l'activité chimique de l'ion Al^{3+} . Celle-ci est quasi nulle au-dessus du pH 5.5 et croît fortement du pH 5.0 à pH 4.1, dans la gamme 1-150 μM . L'activité Al^{3+} culmine dans la solution du sol à pH 4.1 et à la surface de la membrane plasmique entre pH 4.1 et 4.8 (Kinraide, 2003).

3.1. Effets indirects de l'aluminium

Comme effets négatifs de la toxicité en aluminium sur la croissance des plantes on peut citer :

- Al immobilise le phosphore dans le sol et dans la plante avec pour résultat des symptômes d'insuffisance en phosphore (Marschner, 1995) ;
- Une limitation dans l'absorption du calcium et du magnésium (Kinraide, 2003) ;
- L'utilisation des engrais azotés à base d'ammonium accélère la baisse du pH et augmente la déficience en Mo (Molybdène) et la toxicité en aluminium et magnésium (Malhi et al, 1998) ;
- Ralentissement de l'activité microbienne dans les sols avec un pH en-dessous de 4.6 (Marschner, 1995).

3.2. Effets directs de l'aluminium

La racine est le premier cite et le plus touché d'une toxicité en aluminium dans la plante. L'aluminium induit de nombreux effets toxiques sur les différents compartiments cellulaires de la racine. La paroi et la membrane plasmique sont rigidifiées, les systèmes de transport d'ions de la membrane plasmique sont altérés, ainsi que la signalisation cellulaire, le cytosquelette, et l'ADN du noyau des cellules de la racine. Ces altérations provoquent dans les racines une rapide diminution de la croissance, un arrêt de la division cellulaire et des déformations caractéristiques. Par son action sur les racines, l'aluminium augmente aussi la sensibilité au stress hydrique, la déficience en azote, phosphore, calcium et magnésium et conduit à une diminution de la croissance des végétaux (Kochian et al., 2005).

4. Comportement des *Pseudomonas f.* en présence d'aluminium

Ce microorganisme du sol, avec une habitude nutritionnelle très polyvalente, un potentiel biotechnologique énorme, il est utilisé dans de nombreux procédés industriels. Comme Al perturbe l'homéostasie Fe, *Pf* doit élaborer des voies alternatives pour faire face à ce dilemme. Ces mécanismes moléculaires conférant la tolérance à Al contribueront à ouvrir la voie à l'application de *Pseudomonas fluorescens* dans la décontamination de ce métal toxique (Lemire et al., 2010). Comme acides organiques impliqués dans la mobilisation des métaux en général et, en particulier l'aluminium, l'acide tricarboxylique (ATC) et le citrate sont d'excellent candidat pour sonder l'interaction entre Al et *Pf* Les adaptations métaboliques visant à

contourner l'homéostasie Fe dysfonctionnel évoquée par Al sont également discutés (Lemire et al., 2010). Le cycle de Krebs et la formation d'ATP sont fortement dépendants du fer. L'exposition de *Pf* Al conduit à la perte de l'intégrité de la grappe de Fe-S. La perturbation de cette portion mène à une ACN (Aconitase) inefficace, une enzyme qui catalyse l'isomérisation réversible du citrate en isocitrate à travers un intermédiaire cis-aconitate. Cette situation oblige l'organisme à concevoir des voies alternatives pour la dégradation du citrate, quand l'ATC est la seule source de carbone. Comme le citrate lyase n'est pas évidente dans ces cultures, le microbe est contraint d'utiliser le cycle de Krebs malgré un ACN sévèrement diminuée. Pour aider à résoudre ce dilemme, *Pf* radicalement régule à la hausse les deux enzymes en aval, à savoir l'isocitrate lyase (ICL) et l'isocitrate dehydrogenase-NADP (ICDH-NADP) qui agissent sur l'isocitrate. Alors que l'activité d'ICL a été augmenté 6-8 fois, l'ICDH-NADP a augmenté deux fois. Cet arrangement permet de faciliter la dégradation du citrate même si l'ACN n'est capable d'isomériser que très peu le citrate (Mailloux et al., 2006).

5. Interaction synergique des PGPR et des plantes dans les sols contaminés par les métaux lourds

A partir de la dernière décennie, la recherche sur l'écologie des microorganismes dans la rhizosphère se concentrait sur la désintoxication microbiologique et la décontamination des sols touchés par les métaux lourds. Le fait que les PGPR favorisent la croissance des plantes est bien documenté, et plus récemment, les PGPR ont été utilisés avec succès pour réduire le stress des plantes dans les sols contaminés par des métaux (Babalola, 2010).

Les microorganismes qui sont associés aux racines établissent une relation synergique avec les racines des plantes ce qui améliore l'absorption des nutriments et la performance des plantes, ainsi que la qualité des sols (Yang et al., 2009). Les PGPR en générale, facilitent la croissance des plantes à travers plusieurs mécanismes, cependant, de nombreuses bactéries du sol ne semblent pas du tout influencer sur la croissance des plantes, mais un changement dans les conditions du sol pourrait inverser cette tendance (Glick, 1995). Ces rhizobactéries peuvent être potentiellement utilisées pour améliorer les activités de phytoextraction en altérant la solubilité, la disponibilité ainsi que le transport de métaux lourds et des nutriments, en réduisant le pH du sol et la libération des chélateurs (Ma et al., 2011). Parmi les métabolites produits par les PGPR, les sidérophores jouent un rôle significatif dans la mobilisation et l'accumulation des métaux.

Matériels et Méthodes

Partie I : Promotion de la croissance dans les conditions naturelles

I. Essai de phytostimulation en pots

Pour suivre le comportement des plantes de maïs vis-à-vis de l'inoculation par les PGPR au cours de la croissance, nous avons mené deux essais (en pots) indépendants sur 2 années successives.

1. Matériel biologique

1.1. Souches bactériennes

Les essais de phytostimulation sont réalisés avec l'application de deux souches bactériennes : *Pseudomonas fluorescens* 002 (Pf002) et *Bacillus toyonensis* 04 (Bt04). Les deux souches sont isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier de la région de Ghardaïa (sud algérien) (Toua et al., 2013) et sont issues du laboratoire de phytopathologie du département des Biotechnologies de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Blida 1).

1.2. Matériel végétal

Deux géotypes de maïs sont testés : une population algérienne locale (DZ), récoltée du sud algérien et expérimenté au niveau du laboratoire de recherche LRGB (Laboratoire de Ressources Génétiques et de Biotechnologie d'El Harrach) et l'hybride espagnol *Zea mays* cv 12097.

2. Le sol

Le sol utilisé dans notre expérimentation est prélevé de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Le sol a subi un séchage et un tamisage (un tamis de 5mm de maille) pour éliminer les débris végétaux et les éléments grossiers.

3. Conditions d'expérimentation

Les essais sont réalisés sur deux années (premier essai consacré au prélèvement des plantes 70 j.a.l. et le second pour les plants 10 et 30 j.a.l.) au niveau de la station expérimentale de l'ENSA sous serre en plastique exposée plein sud. Le semis est réalisé dans des pots marron en plastique de 14l dont le fond est recouvert par une couche de gravier (1cm de diamètre) pour assurer le bon drainage. Ensuite les pots sont remplis par un substrat désinfecté (1/3 sol, 1/3 terreau et 1/3 sable grossier). Le semis est réalisé à raison de trois graines par pot (plantes 70

j.a.l.) et quatre graines par pot pour les plants de 10 et 30 (j.a.l.). Les irrigations durant tout l'essai étaient des irrigations d'appoints ; en fonction des exigences des plantes et du stade du développement. Les mauvaises herbes n'étaient pas trop remarquées et elles étaient éliminées manuellement. Après la levée, nous avons effectué un démariage en gardant les plants les plus rigoureux.

4. Dispositifs expérimentaux

Les essais sont conduits selon un dispositif en trois blocs aléatoires complets. Chaque traitement est représenté par huit plants par pot, soit 24 plants au total pour chaque traitement.

Lors de la première année, nous avons étudié les effets individuels et en interaction de deux inocula bactériens sur les deux génotypes de maïs (chaque variété est étudiée indépendamment de l'autre) (Fig. 1), le facteur étudié concerne l'effet de la bactérisation, représenté par trois niveaux d'applications individuelle et combinée

- **Pf002** : Bactérisation avec la souche *Pseudomonas fluorescens 002*
- **Bt04** : Bactérisation avec la souche *Bacillus toyonensis04*
- **Pf002*Bt04** : Bactérisation avec la combinaison des deux souches (*Pf002* + *Bt04*)

En deuxième année, nos travaux ont visé les effets individuels et en interaction des deux bactéries précédents mais uniquement sur une variété de maïs (DZ) (Fig. 2).

5. Préparation des inocula bactériens

A partir des cultures lyophilisées, les souches bactériennes sont purifiées avec plusieurs repiquages sur un milieu King-B à 30°C pendant 24h (King et al., 1954). A l'aide d'une pipette en verre stérile, la crème bactérienne âgée de 36h est raclée délicatement et mise en suspension dans 200 ml de l'eau distillée stérile, une bonne homogénéisation est pratiquée. Pour déterminer la concentration de cette suspension, l'absorption est mesurée à une longueur d'onde de 600 nm (Vijayan et al., 2006). Cette suspension est ajustée par l'eau distillée stérile à une concentration de 10^8 cfu/ml et une quantité de 50ml est appliquée par souche bactérienne.

Avant le semis et l'application des rhizobactéries, le substrat était arrosé (24h avant) afin d'assurer son humidification. La bactérisation est réalisée directement dans le sol, le jour même du semis.

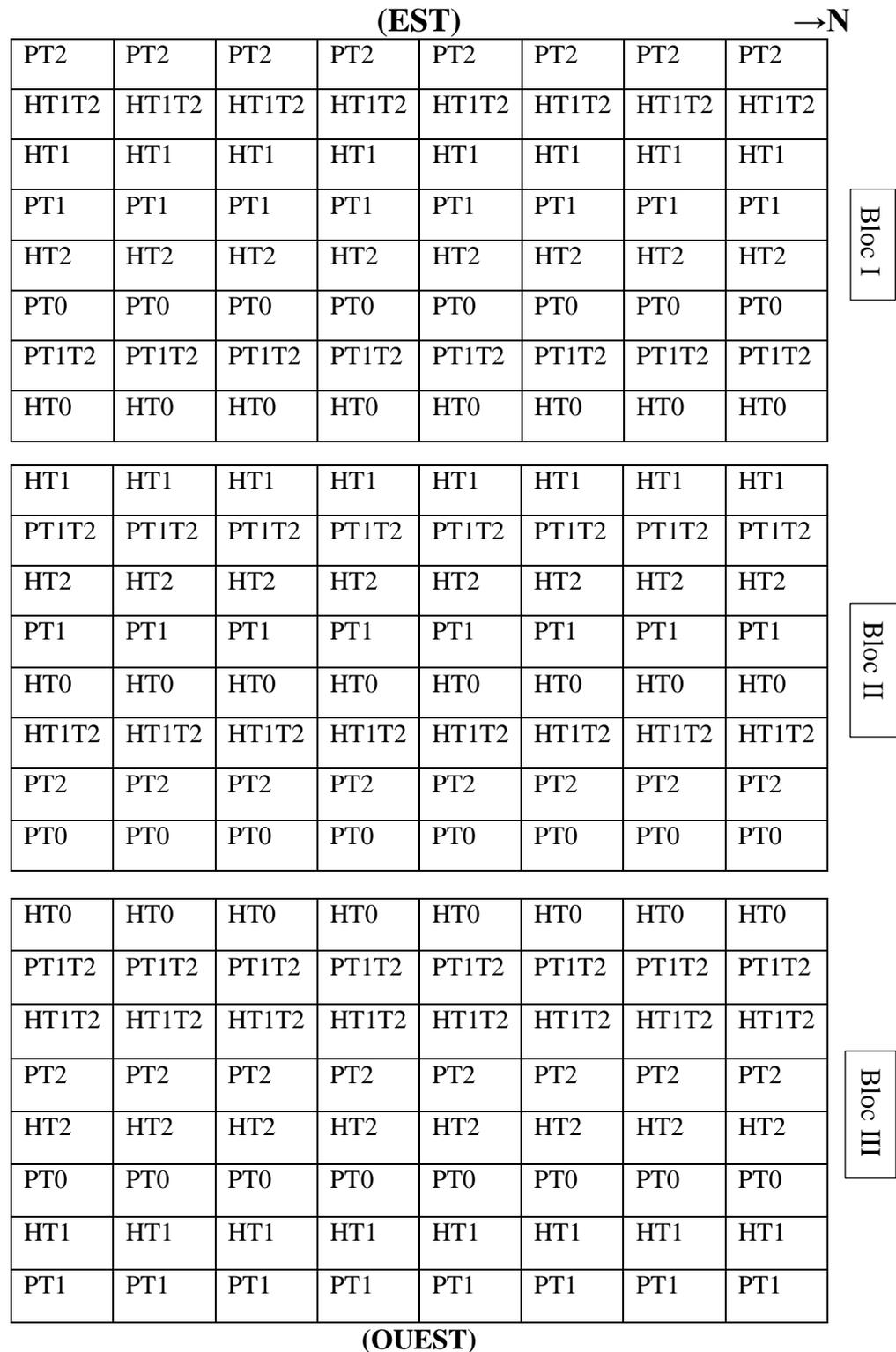


Figure 1 : Dispositif expérimental (2013-2014)

PT1 : population DZ traitée avec *Pf002*

PT1T2 : population DZ traitée avec *Pf002* et *Bt04*

HT1 : cv 12097 traitée avec *Pf002*

HT1T2 : cv 12097 traitée avec *Pf002* et *Bt04*

PT2 : population DZ traitée avec *Bt04*

PT0 : témoin de la population DZ

HT2 : cv 12097 traitée avec *Bt04*

HT0 : témoin de cv 12097

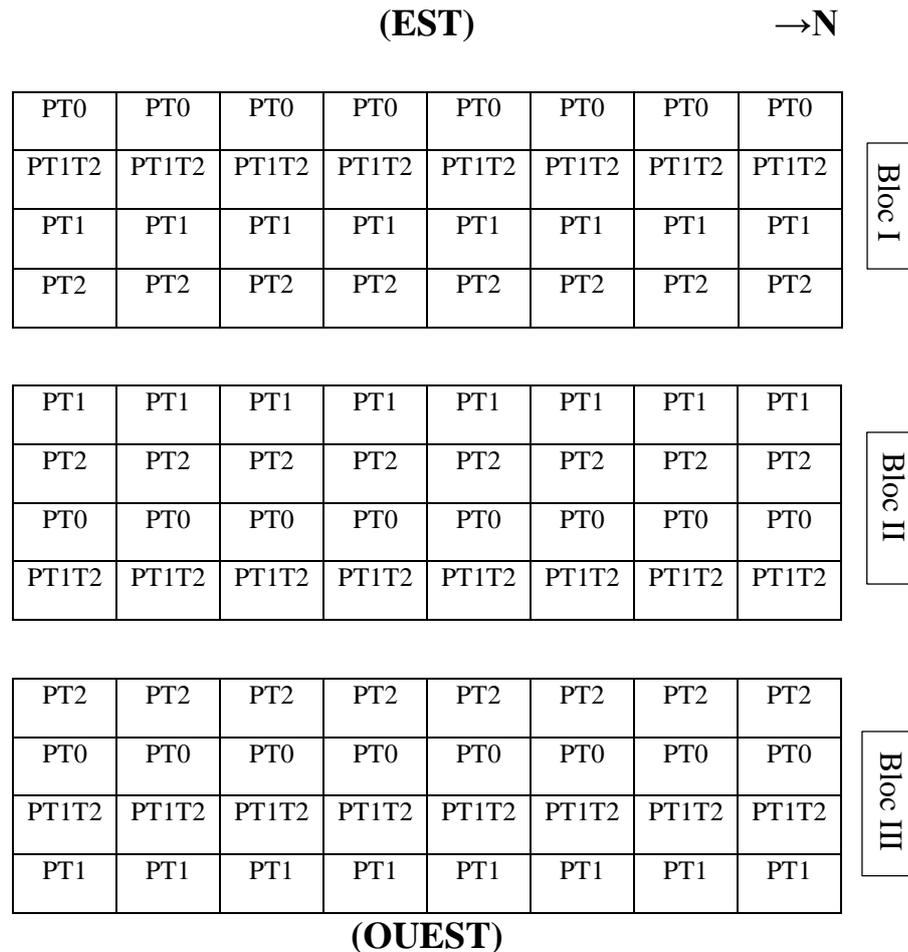


Figure 2 : Dispositif expérimental (2014-2015)

PT1 : population DZ traitée avec *Pf002*

PT2 : population DZ traitée avec *Bt04*

PT1T2 : population DZ traitée avec *Pf002* et *Bt04*

PT0 : témoin de la population DZ

6. Prélèvements et paramètres mesurés

6.1. Prélèvements

Les prélèvements et les mensurations ont été effectués selon les stades de développement du maïs, comme il a été indiqué précédemment. Au total trois prélèvements séparés sont réalisés, à raison de quatre répétitions, pour chaque traitement, par bloc et pour chaque essai.

10 jours après la levée : Des jeunes plantules de 10 jours post-levées ont été prélevées pour examiner la capacité des deux bactéries à promouvoir la croissance des plantes en stade juvénile. Les racines sont retirées délicatement des pots ; lavées soigneusement plusieurs fois avec de l'eau. Par la suite nous avons coupé juste au-dessus des racines d'enracinement pour séparer

la partie aérienne des racines. Les racines prélevées à ce stade sont les seules à nous permettre de mesurer la longueur racinaire ; aux stades plus développés les racines forment des chignons à la base des pots ce qui rend difficile la mesure de la longueur.

30 jours après la levée : 30 jours après la levée, les plantes arrivent à former des feuilles bien développées et des tiges rigoureuses et; d'après la littérature (Paliwal, 2000) ; c'est à ce stade que les plantes de maïs sont en mi- végétation. Pareille au précédent, nous avons retiré les racines du substrat puis séparé les deux parties de la plante. Pour faciliter l'opération, les pots étaient irrigués la veille du prélèvement pour rendre facile de retirer les racines des pots.

70 jours après la levée : À la formation de l'inflorescence femelle (premier épi) ; où nous avons constaté la fin du stade végétatif ; nous avons procédé au dernier échantillonnage de la même manière que pour 30 j.a.l. Lors de ce dernier échantillonnage nous avons marqué la date d'inflorescence mâle et femelle et la surface finale des feuilles.

6.2. Paramètres agro-morphologiques

6.2.1. Longueur racinaire

Une fois les racines sont séparées de la partie aérienne de chaque plant échantillonné, elles sont lavées pour éliminer le substrat adhérent et étalées soigneusement. La longueur du système racinaire est déterminé à l'aide d'un mètre ruban à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à l'extrémité de chevelu racinaire.

6.2.2. Vigueur et hauteur des tiges

Pour déterminer la vigueur des plantes nous avons mesuré le tour de chaque tige à l'aisselle de la deuxième feuille.

Toute la partie aérienne est mesurée pour déterminer la hauteur des tiges mais avec des différences de repérage entre les plantes prélevées. Chez les plantes de 70 j.a.l. nous avons mesuré la hauteur du collet jusqu'à l'aisselle de la panicule, alors que chez les plants de 10 et 30 j.a.l. le repère était le point d'initiation de la dernière feuille formée.

6.2.3. Biomasse racinaire et aérienne

Après dépotage, la partie racinaire de chaque plant est nettoyée du sol adhérent, rincée dans l'eau et séchée de l'eau du rinçage. Elle est passée à la balance pour estimer le poids frais des racines. Par la suite, elle est séchée dans une étuve à 50°C pendant 4 jours et pesée une autre fois pour déterminer la biomasse racinaire sèche.

De la même manière que pour la biomasse racinaire, toute la partie aérienne est prise en considération afin de déterminer la biomasse aérienne ; y compris la panicule dans le cas des plantes 70 j.a.l.

6.2.4. Nombre de feuilles et la surface foliaire

Nous avons compté le nombre total des feuilles dès la levée jusqu'à l'apparition de la panicule. Même les premières feuilles mortes sont prises en considération pour déterminer le nombre total des feuilles.

Plusieurs méthodes existent dans la littérature pour calculer la surface foliaire des feuilles de maïs (Keating et Wafula, 1992 ; Birch et al., 1998 ; Stewart et Dwyer, 1999). Dans notre essai nous avons utilisé la méthode de Stewart et Dwyer (1999) pour mesurer la surface foliaire de la feuille de l'épi :

$$S = Lo * La_{max} * A \text{ où :}$$

S : Surface foliaire ;

Lo : Longueur de la feuille ;

La_{max} : Largeur maximale de la feuille ;

A : coefficient standard égale à 0.75.

6.2.5. Date de floraison mâle et femelle

Nous avons compté le nombre de jours dès la levée jusqu'à : l'apparition de la panicule (pour la floraison mâle), et la sortie des poils des jeunes épis (pour la floraison femelle).

6.3. Paramètres physiologiques et biochimiques

6.3.1. Dosage de chlorophylles

L'estimation du taux de chlorophylle est faite selon la méthode de Witham *et al.* (1971). Mille milligramme du tissu de la gaine (feuille de plante 30 j.a.l.) est broyé dans un mortier en présence de l'acétone 80 % comme solvant, puis nous avons centrifugé le mélange et stocké le surnageant dans des tubes propres. Le culot est re-extrait jusqu'à ce que sa couleur devienne blanche. Le volume final est complété à 100 ml avec de l'acétone puis les échantillons sont passés au spectrophotomètre à 663 et 645 nm (longueur d'onde).

$$\text{Chlorophylle totale (mg)} = [20.2 \times A_{(645)} + 8.02 \times A_{(663)}] \times [V/1000W]$$

$A_{(645)}$: Absorbance à une longueur d'onde 645, $A_{(663)}$: Absorbance à une longueur d'onde 663

V : Volume de la solution extraite

W : Masse de matière fraîche

6.3.2. Dosage de glucides

Un échantillon de 100 mg de feuille (30 j.a.l.) est hydrolysé au bain-marie pendant trois heures avec l'addition de cinq ml d'HCL 2,5 N puis il est laissé se refroidir à la température ambiante. La solution est neutralisée avec du carbonate de sodium solide jusqu'à ce que l'effervescence cesse. Puis nous avons complété le volume à 100 ml avec de l'eau distillée et centrifugé pour cinq mn. 0.5 ml du surnageant est ajouté à quatre ml de réactif de l'antrone et le mélange est mis dans un bain-marie pendant huit mn. Après un refroidissement, la lecture spectrophotométrique est faite à 630 nm (longueur d'onde). À partir de la courbe étalon du glucose, les quantités de glucides présentes dans les tubes est calculée (Hedge et Hofreiter, 1962).

6.3.3. Dosage de phénols

Mille (1000) mg des tissus de feuilles (30 j.a.l.) sont broyés en présence de 10 volumes d'éthanol 80% et centrifugés à 10000 tpm pendant 20 mn. Le culot est réextrait avec cinq fois le volume d'éthanol 80% puis centrifugé. Le surnagent est évaporé et le résidu est dilué dans cinq ml d'eau distillée. Par la suite, 0.2 ml est prélevé et complété à trois ml avec de l'eau distillée. Après avoir ajouté 0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu, le mélange est maintenu en

bain d'eau bouillante pour une mn. Après refroidissement les densités optiques sont lues à 650 nm de longueur d'onde. A partir de la courbe étalon du catéchol (à 650 nm) les quantités de phénols présentes dans les tubes sont calculées (Malick et Singh, 1980).

6.3.4. Dosage de protéines

La concentration des protéines est déterminée en suivant la méthode de Lowry et al. (1951). Dans un mortier nous avons broyé 1000 mg d'échantillon de feuille (30 j.a.l.) en présence du tampon de phosphate (pH 7.2) puis centrifugé (4000 tpm) pour sédimenter les résidus. 0.1ml du surnageant est pris dans un tube à essai et complété à un ml. Cinq ml du réactif du cuivre alcalin est ajouté à tous les tubes. Après 10 mn, 0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté, puis nous avons incubé les échantillons dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 mn. La densité optique était lue à 660 nm (longueur d'onde) et à l'aide de la courbe étalon de ASB (Albumine de Sérum Bovin), la concentration en protéines est calculée.

6.4.Détermination de l'Acide Indole Acétique (AIA) synthétisée par les bactéries

Les bactéries sont cultivées pour la détermination d'AIA endogène et le potentiel de synthèse d'AIA à partir du tryptophane selon Tsavkelova et al. (2007), modifié par Zerrouk et al. (2016). Les bactéries sont cultivées 24h dans un milieu liquide. A partir de ces inocula bactériens, 10% sont transférés dans des flacons de 50 ml à 20 ml du même milieu, additionnés avec 0,5 et 1,0 mM/l de L-tryptophane (Trp) en plus d'un milieu témoin sans tryptophane. La culture est réalisée dans l'obscurité à 28 ° C sur un agitateur (140 tpm) pendant 24 h. Aussi un milieu 'zéro' avec la concentration la plus élevée de tryptophane est préparé. Le surnageant est divisé en trois échantillons comme répétitions. Le culot est repris dans un ml et également divisé en trois échantillons comme répétitions. L'échantillon sans addition de tryptophane indique l'AIA endogène de la bactérie.

Pour la détermination de l'AIA secrété dans le milieu, le surnageant de chaque culture est extrait pendant deux heures sous agitation continue après l'addition d'un µg de d5-IAA (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA) comme un standard pour chaque échantillon. Le culot bactérien est remis en suspension dans 1ml de méthanol contenant 5% d'acide acétique et un µg de d5-AIA est ajouté pour chaque échantillon. Les échantillons sont extraits sous agitation continue.

L'analyse de Chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse (GC-MS) est réalisée selon Campanella et al. (2008) dans un spectromètre ion-piège de masse avec ionisation

par impact électronique à 70 eV Varian 2100 Saturn. Le spectromètre est relié à un chromatographe en phase gazeuse Varian CP-3900 équipé d'un auto-échantillonneur de CP-8400 (Varian, Darmstadt, Germany). Pour l'analyse, un μl d'échantillon méthylé est injecté dans le mode splitless (séparateur d'ouverture au 1/100 après une minute) sur une colonne Phenomenex ZB-5 (Aschaffenburg, Germany), la température d'injecteur était 250°C, et le programme des températures était 60°C pour une minute, suivi par des augmentations de 25°C/mn jusqu'à arriver à 180°C, 5°C/mn jusqu'à 250°C, 25°C/mn jusqu'à atteindre 280°C, puis cinq minutes à une température de 280°C. Les niveaux d'hormones sont calculés par les principes de la dilution isotopique (Cohen et al., 1986).

De toutes les valeurs, la valeur zéro (milieu King-b + 1 mM Trp) est soustraite. Dans le cas du milieu témoin, aucune AIA n'était détectée. Les valeurs pour l'AIA endogène (synthétisées dans le milieu ou dans le culot bactérien) sont directement calculées comme décrit ci-dessus à partir d'une culture de 20 ml. Les valeurs pour la synthèse du tryptophane sont calculées en soustrayant les valeurs pour les AIA endogène des valeurs avec incubation Trp.

7. Analyses statistiques

Les résultats des paramètres agro-morphologiques, physiologiques et biochimiques obtenus ont fait l'objet d'une analyse de variance à deux critères de classification avec une comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls. Les résultats de l'AIA obtenus sont analysés par le t-test de Student. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SPSS version 20.0.

II. Essai de décapitation racinaire

Afin de savoir si la coiffe racinaire est le seul site ou non de l'interaction entre la racine et le microorganisme après inoculation, nous avons procédé à un test de décapitation des racines (la coiffe) pour mesurer par la suite quelques paramètres morphologiques de croissance.

1. Matériel biologique

Une seule souche bactérienne: *Pseudomonas fluorescens* 002 (Pf002) déjà citée (page 23), est testé sur deux génotypes de maïs : la population algérienne local (DZ) et *Zea mays* cv. Clement (KWS SAAT AG Einbeck, Germany).

2. Conditions d'expérimentation

La méthode suivie était celle du Yokoa et al. (2016). Les graines de maïs sont stérilisées en surface avec un mélange de Triton X-100 et de l'hypochlorite de sodium à 12% pendant 30 mn. Après plusieurs lavages à l'eau distillée stérile, 20 graines par traitement sont placées dans des papiers filtre humidifié, puis ces derniers sont enroulés et mis ; verticalement dans une tasse contenant de l'eau distillée ; en incubation à 25 °C pour la germination. Après deux jours les graines ont germé et les racines avaient une longueur de deux cm approximativement. 12 jeunes plantules sont sélectionnées pour la décapitation. À l'aide d'un rasoir laser et sous une loupe, nous avons coupé l'extrémité racinaire qui correspond à la zone de coiffe (un mm approximativement) sans toucher à la zone méristématique juste au-dessus (Fig. 3)

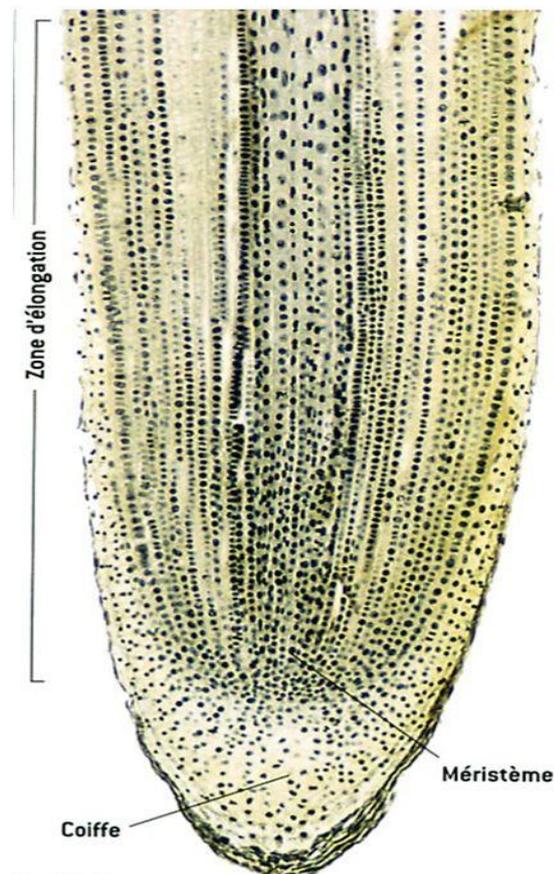


Figure 3 : Portion de racine mettant en évidence
la coiffe racinaire

3. Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries sont cultivées dans un milieu King-b liquide et incubées pendant 24h à 28°C en agitation à 120 tpm. Après nous avons procédé à la centrifugation à 4000 tpm pendant 20 mn, le culot de cellules est récolté et remis en suspension avec le milieu King-b pour parvenir à une densité optique de 1.000 (lecture spectrophotométrique à 630 nm de longueur d'onde).

Les jeunes racines décapitées étaient mises en suspension bactérienne pendant deux heures, le milieu King-b est utilisé pour le témoin. Par la suite les plantules sont déplacées dans de nouveaux papiers filtre humidifiés toujours avec de l'eau distillée et mises en incubation à 25°C pendant cinq jours.

4. Paramètres mesurés

4.1. Longueur de la racine principale

Toute la partie qui s'étale du point d'initiation de la racine dans la graine jusqu'à la coiffe est mesurée.

4.2. Nombre et longueur de racines séminales

Nous avons compté les racines séminales sortant du point du collet et entourant la racine principale. La longueur moyenne de toutes les racines séminales d'un même système racinaire était mesurée pour déterminer la longueur des racines séminales.

4.3. Nombre de racines latérales

Le nombre de racines latérales présentes sur la racine principale uniquement est calculé pour ce paramètre.

4.4. La biomasse racinaire sèche

Les racines ont été séchées à 50 °C pendant cinq jours, puis ont été pesées pour déterminer la biomasse racinaire sèche.

5. Analyses statistiques

Tous les paramètres mesurés ont fait l'objet d'une analyse par le test de Student. Le logiciel utilisé est SPSS version 20.0.

Partie II : Promotion de la croissance dans des conditions de stress

1. Matériel biologique

1.1. Souche bactérienne

Après des essais sur deux années successives, la souche *Pf002* a montré un grand potentiel de phytostimulation des plantes de maïs. De ce fait elle était sélectionnée pour mener des essais sur le maïs en conditions de stress salin et de toxicité en aluminium.

1.2. Matériel végétal

Deux génotypes sont étudiés, la population algérienne locale (DZ) et l'hybride, *Zea mays* cv. Clement. Les graines de maïs sont stérilisées en surface avec un mélange de Triton X-100 et de l'hypochlorite de sodium à 12% pendant 30 mn. Suivi de plusieurs lavages à l'eau distillée stérile. Les graines sont ensuite inoculées avec la suspension de cellules de bactéries pendant deux heures. Les témoins sont traités avec une solution du milieu King-B pendant deux heures.

2. Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries sont cultivées dans le milieu King-B liquide et incubées pendant 24h à 28°C en agitation à 120 tpm. Après nous avons procédé à la centrifugation à 4000 tpm pendant 20 mn, le culot de cellules est récolté et remis en suspension avec le milieu King-b pour parvenir à une densité optique de 1.000 (lecture spectrophotométrique à 630 nm de longueur d'onde).

3. Application des stress salin et allumique

Le stress salin est appliqué avec une solution de concentration de 150 mM NaCl. 8.766 g de NaCl était dissout dans un litre de solution 0.5 mM $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. La solution de stress aluminique appliqué est préparée en ajoutant 90 μM AlCl_3 à un litre de solution 0.5 mM CaCl_2 avec un pH de l'ordre de 4.2.

4. Conditions d'expérimentation

Deux essais indépendants sont menés. 20 graines de maïs par traitement bactérien sont placées dans un papier filtre humidifié, puis ce dernier est enroulés et mis ; verticalement dans une tasse contenant de l'eau distillée ; en incubation à 25 °C pour la germination. Après deux jours les semences ont germé et les racines avaient une longueur de deux cm approximativement. 12 jeunes plantules étaient déplacées dans un nouveau papier filtre ;

humidifié par des solutions de NaCl ou AlCl₃ ou de l'eau distillée (pour les témoins) préparées au préalable ; puis remises en incubation à 25°C pour cinq jours.

5. Paramètres mesurés

5.1. Chez les plants maïs

La longueur de la racine principale, le nombre de racines séminales, La longueur des racines séminales, le nombre de racines latérales et la biomasse racinaire sèche sont mesurés de la même manière que dans l'essai de décapitation racinaire (page 33).

5.2. Activités bactériennes

5.2.1. Dosage d'AminoCyclopropane-1-Carboxylate deaminase (ACC deaminase)

L'ACC deaminase est déterminée selon Li et al. (2011) comme décrit par Zerrouk et al. (2016). Les bactéries sont maintenues dans cinq ml de milieu (King-B) liquide et incubées 24h à 28°C. Après centrifugation à 8000 rpm pendant cinq mn, le culot cellulaire est retiré et lavé deux fois avec un ml de milieu liquide, puis mis en suspension dans deux ml de solution ACC ou de solution témoin. Deux solutions d'ACC sont préparées (0,50 et 1,0 mM/l), plus un témoin sans addition d'ACC. Pour l'échantillon zéro, les deux concentrations d'ACC différentes ont été placées dans un milieu de King et extraites sans incubation. Un échantillon de deux ml de milieu ACC sans inoculation a été incubé en parallèle afin de déterminer le changement d'ACC dans le milieu King-b seul. L'ACC est déterminée par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), selon la méthode de Knaust et Ludwig-Müller (2013). Le programme de température GC-MS est fixé à sept mn à 150°C, puis une montée en température à 300 °C, à une vitesse de 15 °C/mn. ACC-bis-PFB est analysée dans la μ SIS mode (voir Détermination de AIA) en utilisant les ions diagnostiques du fragment à m/z 280 pour l'endogène et m/z 284 pour l'ACC deutéré et les niveaux déterminés conformément aux principes de dilution isotopique (Cohen et al., 1986). L'ACC désaminase est déterminé en soustrayant la valeur zéro (sans incubation) des valeurs d'ACC après incubation. La valeur obtenue à partir des bactéries et du milieu sans ACC (ACC endogène) a été soustraite de cette valeur finale. L'incubation du milieu King-b additionné avec l'ACC, sans bactéries, a montré qu'aucune quantité importante d'ACC n'est dégradée.

5.2.2. Colonisation rhizosphérique

Dans le but de comparer le pouvoir colonisateur de la souche *Pf002* dans les conditions ordinaires et de stress salin, une vérification de l'installation des bactéries au niveau de la rhizosphère est effectuée (cinq jours après la germination). Pour cela, des fragments de racines (1 cm²) sont prélevés des plants des deux milieux, suivis de plusieurs rinçages avec de l'eau distillée stérile et séchés séparément sur un papier hygiénique stérile. Chaque fragment de racine est déposé aseptiquement sur une boîte de Pétri contenant le milieu King-b et les observations sont effectuées après 24h d'incubation.

La procédure du dénombrement était comme suite :

- Au moment du prélèvement, 1 cm² de racine est mis dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile.
- Après homogénéisation par vortex, des ensemencements sont effectués sur un milieu King-b
- Après 24h à 30°C, le dénombrement des colonies est effectué et les résultats sont exprimés en cfu/cm² de racine.

6. Analyses statistiques

Tous les paramètres mesurés ont fait l'objet d'une analyse par le test de Student. Le logiciel utilisé est SPSS version 20.0.

Résultats et Discussion

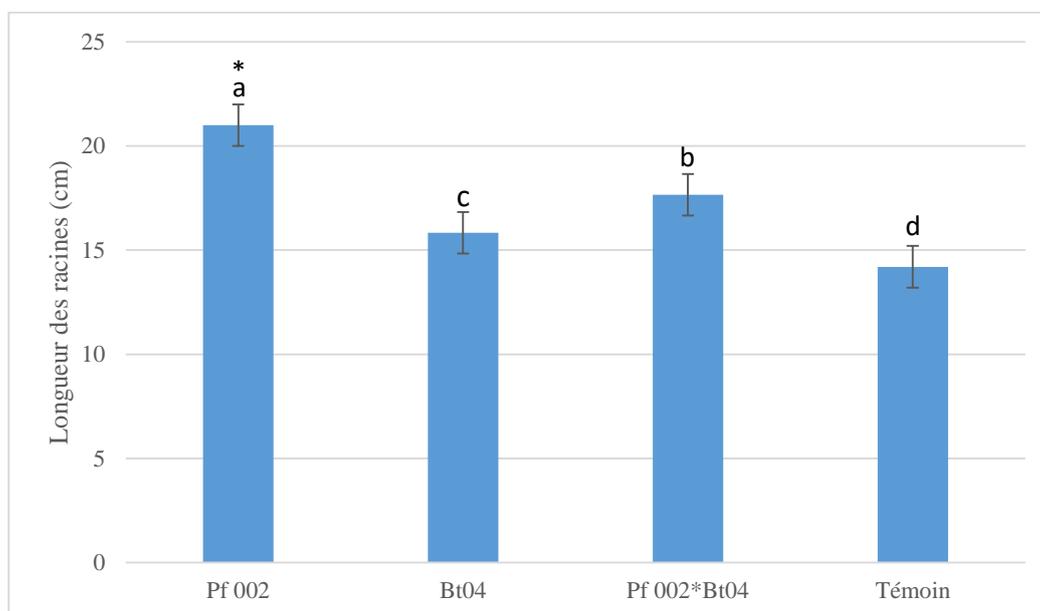
Partie I : Promotion de la croissance dans les conditions naturelles

I. Essai de phytostimulation en pots

1. Paramètres agro-morphologiques

1.1. Longueur racinaire

L'estimation de la longueur des racines a révélé un effet fiable de la phytostimulation des deux souches bactériennes étudiées. L'analyse de la variance a montré qu'il existe un effet significatif des souches PGPR (Annexe I, Tab 1) qui ont toutes stimulé la longueur racinaire des plants de maïs par rapport à leurs témoins. Le test de Newman-Keuls (Fig. 4) fait ressortir l'existence de quatre groupes homogènes vis-à-vis du traitement bactérien. La longueur racinaire moyenne la plus importante est 21 cm enregistrée pour la souche *Pf002* (Fig. 4).



* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

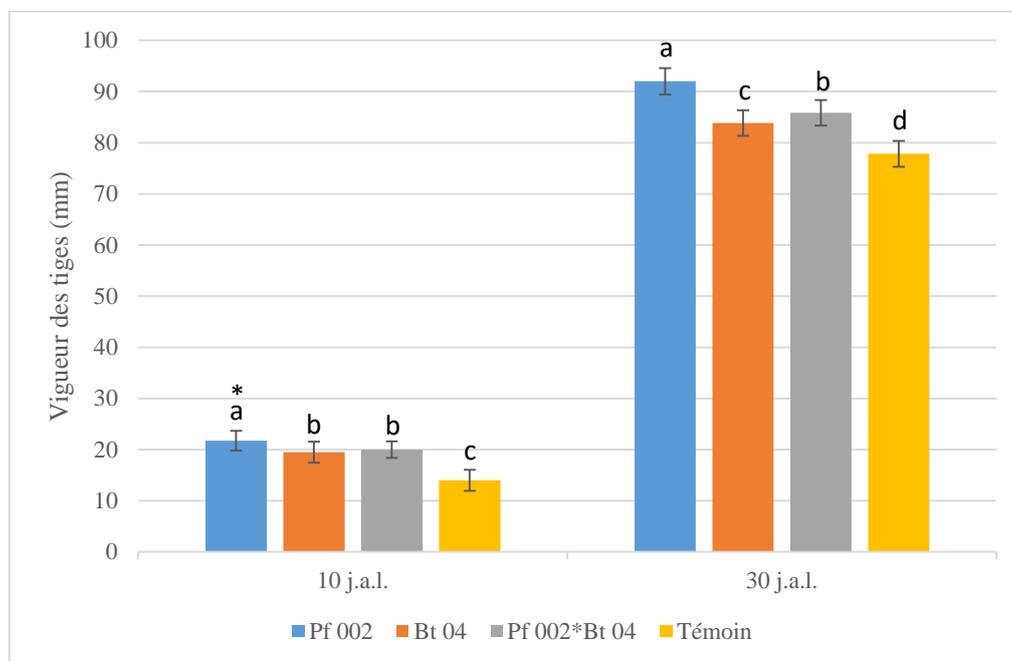
Figure 4 : Longueurs moyennes des racines des plantes DZ (10 j.a.l) en fonction du traitement bactérien

1.2. Vigueur des tiges

L'analyse de la variance des vigueurs de tiges mesurées a révélé des effets significatifs des traitements bactériens pour les deux prélèvements réalisés (10 et 30 j.a.l.) (Annexe I, Tab 2,3).

Le test de Newman-Keuls (par rapport aux souches bactériennes) regroupe les vigueurs des plantes en trois et groupes respectivement 10 et 30 j.a.l. (Fig. 5). *Pf002* a marqué les plus hautes

valeurs : 55 et 18% de plus par rapport au témoin non inoculé respectivement pour les plantes 10 et 30 j.a.l. (Fig. 5). Ce qui est remarquable aussi c'est que la co-inoculation de *Pf002* et *Bt04* a donné des résultats meilleurs que ceux des racines traitées par *Bt04* où les améliorations étaient 43 et 9% respectivement pour les plants 10 et 30 j.a.l. par rapport aux témoins (Fig. 5).



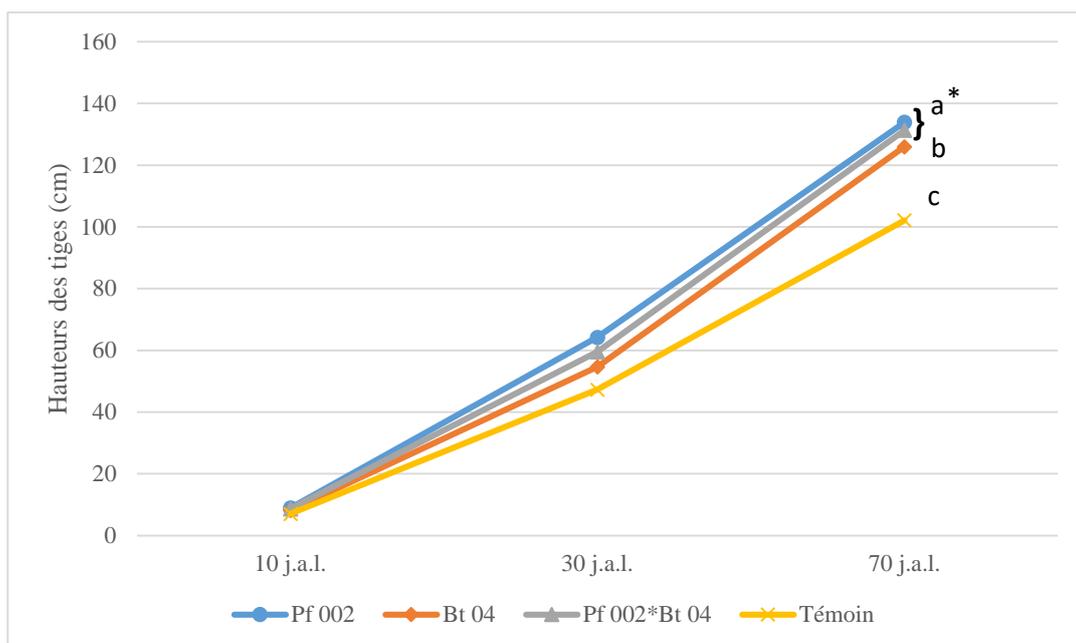
* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

Figure 5 : Vigueurs moyennes des tiges des plantes DZ (10 j.a.l et 30 j.a.l) en fonction du traitement bactérien

1.3.Hauteur des tiges

L'estimation de la hauteur des tiges dans chaque période a révélé un effet fiable de phytostimulation dû à la bactérisation. L'analyse de la variance a montré l'existence d'une différence significative lors de la bactérisation par les souches de PGPR pour les deux variétés du maïs durant tout le cycle étudié (Annexe I, Tab 4,5,6,7). A la fin du stade végétatif (70 j.a.l.), le test de Newman-Keuls regroupe les moyennes des hauteurs de tige (des deux génotypes) en trois classes vis-à-vis du traitement bactérien (Fig. 6, Tab 3).

Chez la variété DZ, les améliorations les plus importantes en fonction des périodes sont 28, 36 et 31% respectivement pour 10,30 et 70 j.a.l., enregistrées lors de la bactérisation par la souche *Pf002* (Fig. 6). Les augmentations dans les hauteurs de tiges de la variété cv. 12097 causées par la co-inoculation de *Pf002* et *Bt04* (13%) sont proches de celles causées par *Pf002* (14%) (Tab 3).



* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

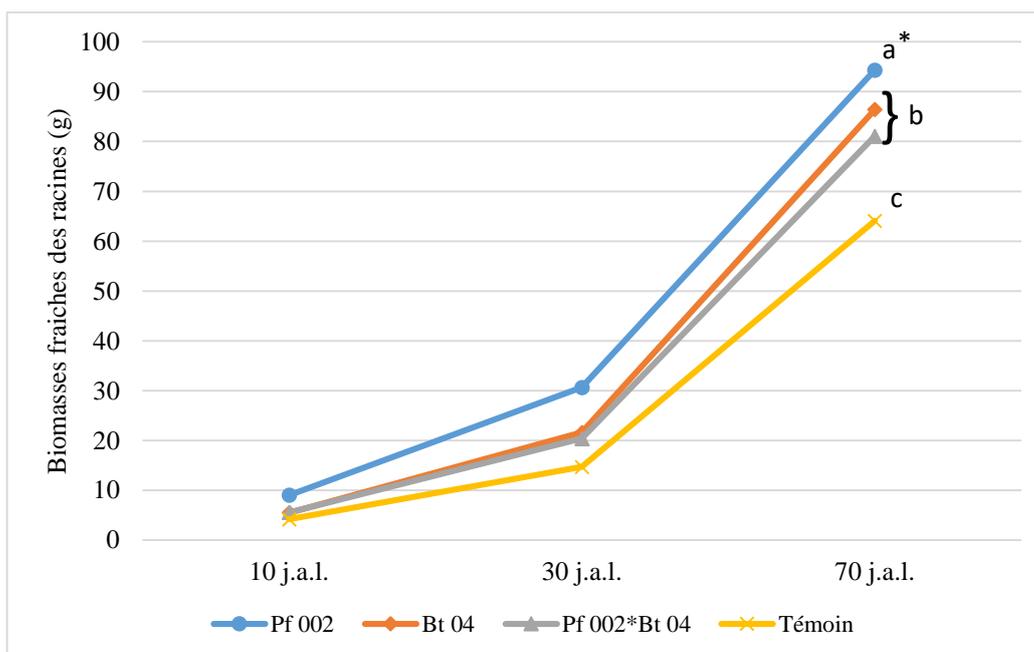
Figure 6 : Hauteurs moyennes des tiges des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien

1.4. Biomasse racinaire

1.4.1. Biomasse fraîche

L'estimation des biomasses fraîches de la partie racinaire nous a permis de constater un effet de phytostimulation homogène des traitements bactériens appliqués sur les différentes périodes et les génotypes de maïs étudiés.

L'ANOVA a révélé un effet significatif de la bactérisation par les PGPR sur les deux génotypes de maïs (Annexe I, Tab 8,9,10,11) dont la souche *Pf002* donne les valeurs les plus meilleures à l'exemple de 114% d'amélioration chez les plants (DZ) 10 jours après la levée (Fig. 7), et 32% de plus (70 j.a.l.) par rapport au témoin chez les plantes cv. 12097 (Tab 3). Le test de Newman-Keuls fait ressortir l'existence de 3 groupes homogènes à la fin de la végétation (70 j.a.l) (Fig. 7, Tab 3).



* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

Figure 7 : Biomasses racinaires moyennes fraîches des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien

1.4.2. Biomasse sèche

D'après les résultats obtenus, nous avons noté un effet homogène pour toutes les périodes de prélèvement et pour les deux génotypes étudiés.

Selon l'ANOVA, la bactérisation des plants de maïs aboutit à des biomasses sèche des racines supérieures à celles des témoins non bactérisés (Annexe I, Tab 12,13,14,15). Le test de Newman-Keuls pour ce paramètre confirme que la souche *Pf002* maintient son effet phytobénéfique durant tout le cycle de végétation du maïs (classé comme étant le meilleur traitement bactérien) (Fig. 8, Tab 3), à l'exemple de racines issues des plantes 70 j.a.l. ou nous avons noté 112 et 78% de plus en biomasse racinaire sèche par rapport au témoin non bactérisé respectivement pour les génotypes DZ et cv. 12097 (Fig. 8, Tab 3).

Table 3 : les moyennes de la hauteur des tiges, les biomasses sèche et fraîche des racines et de la partie aérienne chez la variété cv 12097

Traitements	Hauteur de la tige (cm)	Biomasse racinaire fraîche (g)	Biomasse racinaire sèche (g)	Biomasse aérienne fraîche (g)	Biomasse aérienne sèche (g)
<i>Pf002</i>	126,25 ± 3,07 a	147,5 ± 13,63 a	92,33 ± 9,75 a	281,66 ± 22,49 a	160,91 ± 12,51 a
<i>Bd04</i>	121,75 ± 3,36 c	130,75 ± 11,45 b	80,83 ± 8,92 b	260,83 ± 24,66 a	153,0 ± 11,25 a
<i>Pf002*Bd04</i>	124,41 ± 3,47 a	123,58 ± 10,21 b	80,75 ± 8,48 b	259,5 ± 28,93 a	156,16 ± 10,5 a
<i>Témoin</i>	110,25 ± 3,13 b	111,66 ± 11,43 c	51,66 ± 8,88 c	234,66 ± 25,75 b	138,66 ± 9,77 b

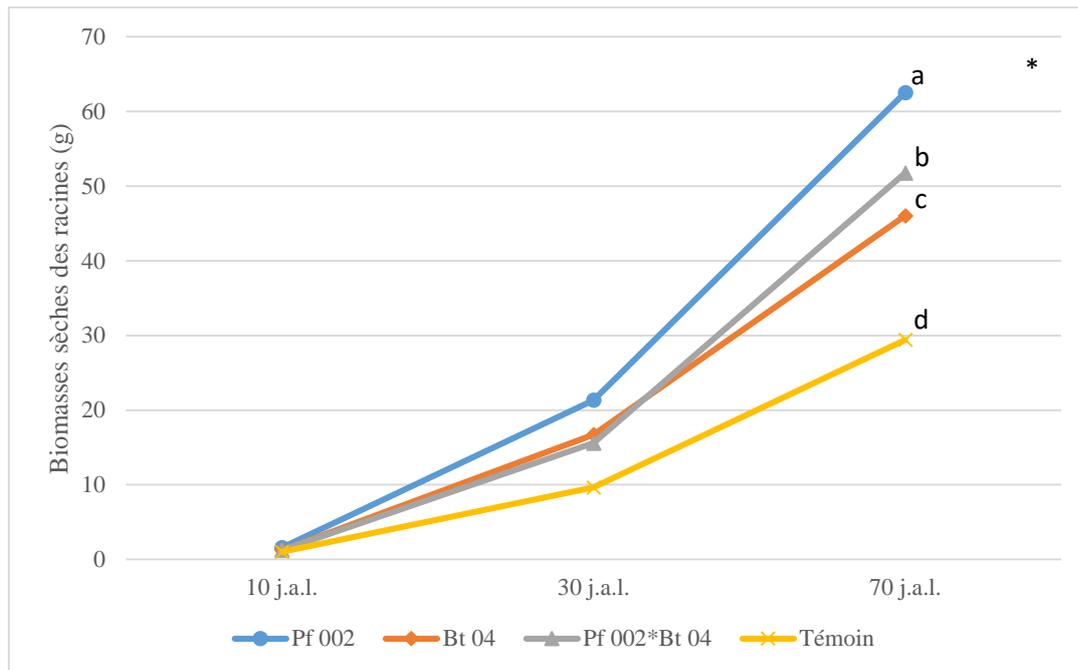
Table 4 : les moyennes de nombre final de feuilles et surface foliaire (à la floraison mâle), date de floraison mâle et femelle chez DZ et cv 12097

Traitements	Nombre final de feuilles		Surface foliaire (cm ²)		Date de floraison mâle (j.a.l.)		Date de floraison femelle (j.a.l.)	
	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097
<i>Pf002</i>	13,08 ± 0,79	13,33 ± 0,65 a	120,6 ± 5,86 b	126,48 ± 4,55 b	61,33 ± 1,37 b	50,58 ± 2,23 b	68,33 ± 0,88 b	61,33 ± 1,55 b
<i>Bd04</i>	14,41 ± 0,79	13,08 ± 0,9 a	136,4 ± 6,57 a	133,55 ± 6,77 a	59 ± 1,53 a	49,33 ± 1,77 a	65,91 ± 1,08 a	59,83 ± 1,19 a
<i>Pf002*Bd04</i>	13 ± 0,85	13,25 ± 0,96 a	132,2 ± 5,71 a	128,5 ± 6,13 b	60 ± 1,41 b	50,25 ± 2,63 b	66,91 ± 1,16 b	60,91 ± 1,97 b
<i>Témoin</i>	12,91 ± 0,99	12,16 ± 0,38 b	116,39 ± 6,16 c	118,59 ± 7,45 c	61,16 ± 1,11 b	51,75 ± ,86 c	68,41 ± 0,79 c	62 ± 1,12 c

Table 5 : les moyennes des taux de chlorophylle, glucides, phénols et protéines chez DZ et cv 12097

Traitements	Chlorophylle (mg)		Glucides (mg)		Phénols (mg)		Protéines (mg)	
	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097	DZ	cv 12097
<i>Pf002</i>	6,1 ± 0,23 a	6,5 ± 0,47 a	30,56 ± 1,7 a	28,44 ± 2 a	58,4 ± 2,03 a	59,3 ± 1,54 a	138,6 ± 1,47 a	137,6 ± 1,5 a
<i>Bd04</i>	5,1 ± 0,49 b	5,4 ± 0,41 b	20,31 ± 1,33 c	18,13 ± 1,35 c	58,7 ± 2,31 a	59,6 ± 1,78 a	136,4 ± 2,22 b	135,7 ± 1,55 b
<i>Pf002*Bd04</i>	5,2 ± 0,3 b	5,8 ± 0,39 b	24,51 ± 1,89 b	23,03 ± 1,31 b	58,2 ± 2,44 a	58,7 ± 1,52 a	127,1 ± 1,51 c	124,8 ± 1,45 c
<i>Témoin</i>	4,6 ± 0,36 c	4,7 ± 0,48 c	15,84 ± 1,19 d	13,17 ± 0,78 d	44,1 ± 3,04 b	45,7 ± 1,66 b	95,5 ± 1,44 d	97,9 ± 2,10 d

a, b, c et d : les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls ± l'écart types.



* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

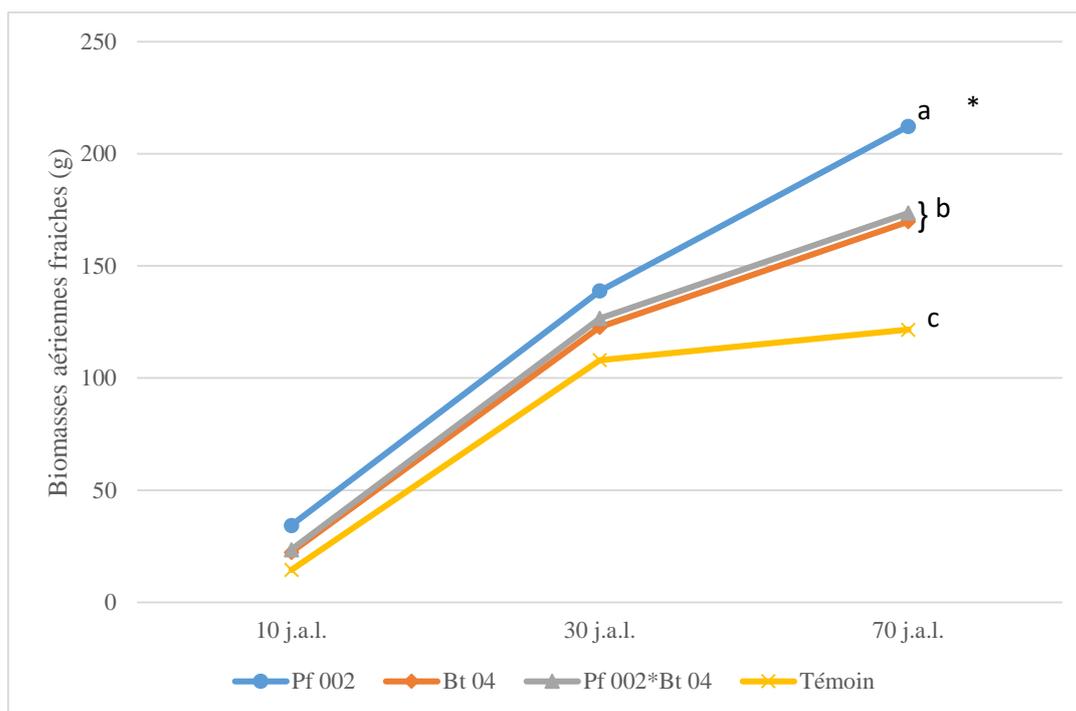
Figure 8 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plante DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien

1.5. Biomasse aérienne

1.5.1. Biomasse fraîche

Nous avons enregistré chez les plants de maïs un effet de phytostimulation homogène de la bactérisation pour les biomasses fraîches de la partie aérienne.

L'application des souches bactériennes montre, selon l'ANOVA, un effet significatif sur ce paramètre (Annexe I, Tab 16,17,18,19), tous les représentants végétaux bactérisés présentent une biomasse supérieure à leurs témoins correspondants (Fig. 9, Tab 3), le plus souvent avec dominance de la souche *Pf002* (34, 138 et 212g respectivement 10, 30 et 70 j.a.l alors qu'elles sont 14, 108 et 121g chez le témoins de la variété DZ). Le test de Newman-Keuls permet de classer les moyennes des biomasses aériennes fraîches des deux variétés, vis-à-vis du traitement bactérien, en trois et deux groupes respectivement pour var DZ et var cv. 12097 (Fig. 9, Tab 3).



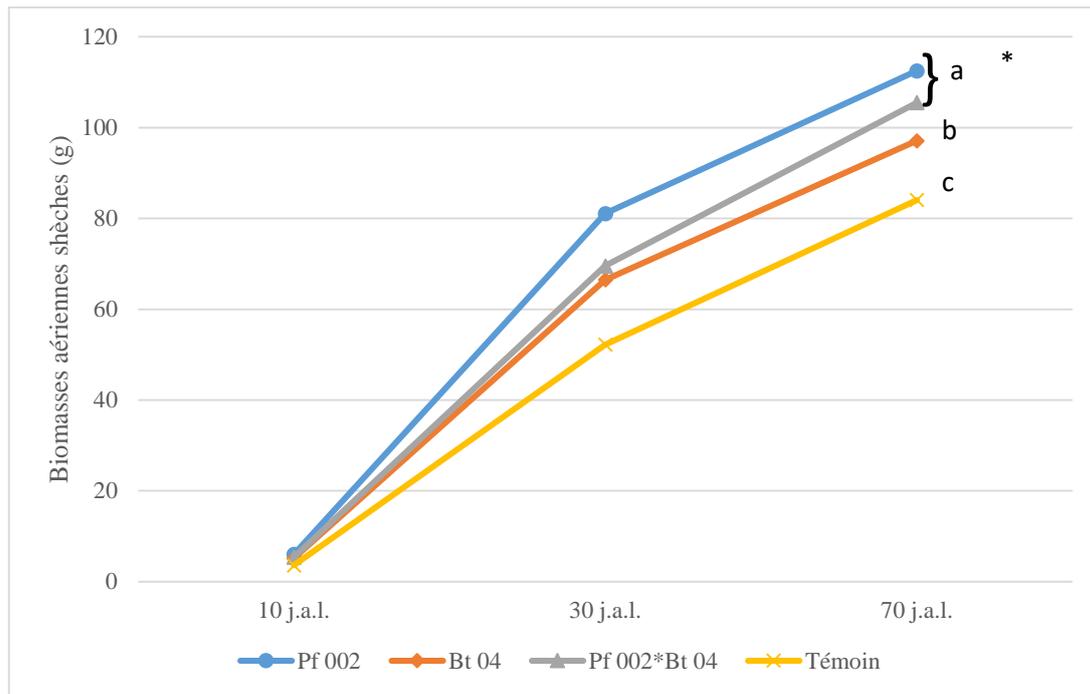
* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

Figure 9 : Biomasses aériennes fraîches moyennes des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien

1.5.2. Biomasse sèche

Les résultats obtenus en biomasse sèche de la partie aérienne ont montré un effet de phytostimulation homogène durant tout le cycle de végétation des plants de maïs.

L'analyse de la variance montre de l'inoculation par les souches bactériennes augmente significativement la biomasse sèche de la partie aérienne par rapport au témoin non inoculé pour toutes les périodes des prélèvements (Annexe I, Tab 20,21,22,23). Le test de Newman-Keuls regroupe les moyennes de la biomasse aérienne sèche, à la fin de la végétation (70 j.a.l.), des deux variétés DZ en trois et deux groupes respectivement pour DZ et cv.12097 (Fig. 10, Tab 3). La souche *Pf002* s'avère plus dominante aux trois périodes de prélèvement avec des améliorations de 67, 55 et 34% pour les plantes 10, 30 et 70 j.a.l. par rapport à leurs témoins respectifs chez la variété DZ (Fig. 10). Les augmentations enregistrées chez les plantes cv. 12097 sont inférieures à celles enregistrées avec la variété DZ, 16 % par rapport au témoin non inoculé est l'amélioration en biomasse aérienne sèche due à la bactérisation par la souche *Pf002* (Tab 3).



* : les lettres représentent les groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls

Figure 10 : Biomasses aériennes sèches moyennes des plantes DZ (10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l.) en fonction du traitement bactérien

1.6. Nombre des feuilles

Selon l'ANOVA, la bactérisation des plants de maïs (DZ) n'a révélé aucun effet stimulateur pour le nombre total des feuilles (Annexe I, Tab 24), malgré que la moyenne enregistrée après la bactérisation par *Bt04* (14.41 feuilles/plantes) est supérieure à celle enregistrée chez le témoin (12.91 feuilles/plantes) (Tab 4). Cependant chez la variété cv.12097, l'inoculation bactérienne a significativement influencé ce paramètre (Annexe I, Tab 25). Les moyennes des nombres finales des feuilles sont classées en deux groupes selon le test de Newman-Keuls (Tab 4) où le traitement par la souche *Pf002* a donné les augmentations les plus importantes (13.33 feuilles/plantes) par rapport aux témoins non inoculés (12.16 feuilles/plantes) (Tab 4).

1.7. Surface foliaire

La mesure de la surface foliaire des plants de maïs nous a permis de constater un effet de phytostimulation important de la bactérisation.

L'ANOVA a montré un effet significatif de l'inoculation sur ce paramètre pour les deux variétés de maïs (Annexe I, Tab 26,27). Les moyennes des surfaces foliaires sont classées en trois

groupes pour chaque variété étudiée selon le test de Newman-Keuls (Tab 4). Toutes les plantes bactérisées présentent une surface foliaire supérieure à celle des témoins correspondants surtout celles traitées par *Bt04* (17 et 13% par rapport aux témoins respectivement pour DZ et cv.12097) (Tab 4).

1.8.Date de floraison mâle

Nous avons remarqué une différence vis-à-vis du nombre de jours pour arriver à la floraison mâle. L'analyse de la variance montre un effet significatif des traitements bactériens sur la floraison mâle (Annexe I, Tab 28,29). Le test de Newman-Keuls nous a permis de classer les moyennes du nombre de jours (de la levée à la floraison mâle), vis-à-vis du traitement bactérien, en deux groupes (Var DZ) et en trois groupes (Var cv. 12097) (Tab 4), où nous constaté que la floraison des plantes bactérisées avec *Bt04* est la plus précoce. Les plantes inoculées par *Bt04* ont fleuri deux jours avant leurs témoins non inoculés chez les deux variétés (Tab 4).

1.9.Date de floraison femelle

L'ANOVA a révélé des effets significatifs de la sur la date de floraison femelle (Annexe I, Tab 30, 31). Selon le test de Newman-Keuls, les moyennes du nombre de jours (de la levée à la floraison femelle) sont classées en trois groupes pour les deux variétés de maïs (Tab 4). La floraison femelle la plus précoce (deux jours) est enregistrée chez les plantes bactérisées avec la souche *Bt04* (Tab 4).

2. Paramètres physiologiques et biochimiques

2.1.Dosage de chlorophylles

Les analyses sont faites 30 j.a.l. sur les deux variétés étudiées. L'analyse de la variance de la teneur en chlorophylles totales a révélé des différences significatives dues à la bactérisation (Annexe I, Tab 32,33). Le test de Newman-Keuls fait ressortir trois groupes homogènes pour chaque variété vis-à-vis du traitement bactérien (Tab 5). Les plus hautes valeurs de chlorophylle sont présentées par les plants bactérisés par *Pf002* (6.1 et 6.5mg respectivement pour DZ et cv. 12097), et les valeurs les plus faibles sont enregistrées chez les témoins non inoculés (4.6 et 4.7mg respectivement pour DZ et cv. 12097) (Tab 5).

2.2. Dosage de glucides

Des effets notables sont obtenus en termes d'amélioration de la teneur en de glucides chez les feuilles de maïs (Tab 5). L'analyse de la variance montre que l'impact des souches utilisé était significatif et homogène chez les deux variétés de maïs (Annexe I, Tab 34,35). Le classement des moyennes par le test de Newman-Keuls a montré que chaque traitement affecte différemment ce paramètre dans les tissus des deux variétés (Tab 5). Des teneurs en glucides aussi importantes sont obtenues par l'utilisation de la souche *Pf002* où nous avons enregistré des améliorations de 93 et 116% par rapport aux témoins non inoculés respectivement chez DZ et cv. 12097 (Tab 5).

2.3. Dosage de phénols

D'après l'ANOVA, la bactérisation des plants de maïs avec les souches *Pf002* et *Bt04* au niveau racinaire montre une augmentation significative en phénol des feuilles (Annexe I, Tab 38,39). Le test de Newman-Keuls a permis de classer les moyennes vis-à-vis du traitement bactérien en deux groupes homogènes (Tab 5).

La quantification des gains en phénol par rapport aux témoins non inoculés révèle des taux relativement importants, à l'exemple de la souche *Bt04* où les résultats obtenus sont 58.7 et 59.6mg respectivement pour la population DZ et l'hybride cv 12097 contre 44.1 et 45.7mg chez les plants témoins (Tab 5).

2.4. Dosage de protéines

Le dosage des protéines totales des feuilles de maïs nous a permis de constater un effet de phytostimulation important de la bactérisation. Selon l'ANOVA, les augmentations des valeurs de protéines issues sont significatives (Annexe I, Tab 38,39). Le test de Newman-Keuls montre l'existence de quatre groupes homogènes chez les 2 variétés étudiées (Tab 5).

L'application des PGPR induit des gains appréciables et relativement élevés en protéines totales. Les meilleures performances sont enregistrées chez les plants bactérisés avec *Pf002* (à l'exemple de la variété DZ : 138.6 mg par rapport à 95.5 mg chez le témoin) (Tab 5). Il est à noter également que les améliorations dues à l'inoculation avec la souche *Bt04* sont remarquables. Les résultats obtenus révèlent enregistrés 42 et 38% d'augmentations des teneurs en protéines totales chez les plants DZ et cv.12097 respectivement (Tab 5).

3. Détermination de l'Acide Indole Acétique (AIA) endogène et la synthèse à partir du Tryptophane

La synthèse d'AIA endogène et à partir du Trp chez les souches *Pf002* et *Bt04* est déterminée. Trois concentrations de Trp (0.1, 0.5 et 1mM) plus la concentration zéro (pour marquer l'AIA endogène des PGPR) sont utilisées. Le test de Student montre des différences significatives de ce paramètre entre les culots bactériens et leurs milieux de culture respectifs (Annexe II, Tab 1). Les résultats obtenus révèlent que chez les deux souches étudiées, la sécrétion de l'AIA dans le milieu de culture est largement supérieure à sa synthèse dans les culots bactériens (Fig. 11,12). Il est à noter également que la synthèse de cette hormone chez la *Pf002* est très importante par rapport à la souche *Bt04* (Fig. 11,12). Les résultats de cette analyse montrent que *Pf002* synthétise l'AIA à partir du Trp, et cette synthèse augmente avec l'augmentation de la concentration du Trp (302 ng en présence de 0.1 mM de Trp jusqu'à 631 ng d'AIA avec 1mM). Dans le culot les quantités étaient négligeables ; 9 ng comme meilleur résultat pour la concentration 1mM (Fig. 13). Les quantités de l'AIA endogènes chez la souche *Pf002* (dans le milieu de culture) issues de cette analyse (391ng) sont appréciables et supérieures même aux quantités enregistrées en présence du 1Mm Trp chez *Bt04* (89ng) (Fig. 11,12). Des valeurs beaucoup plus faibles sont enregistrées pour la bactérie *Bt04*. 16 ng, 17 ng et 81 ng d'AIA synthétisées respectivement à partir de 0.1, 0.5 et 1mM de Trp dans le milieu de culture. Cependant dans le culot bactérien seulement en présence de 1mM de Trp que la bactérie a pu produire 9 ng d'AIA (Fig. 14).

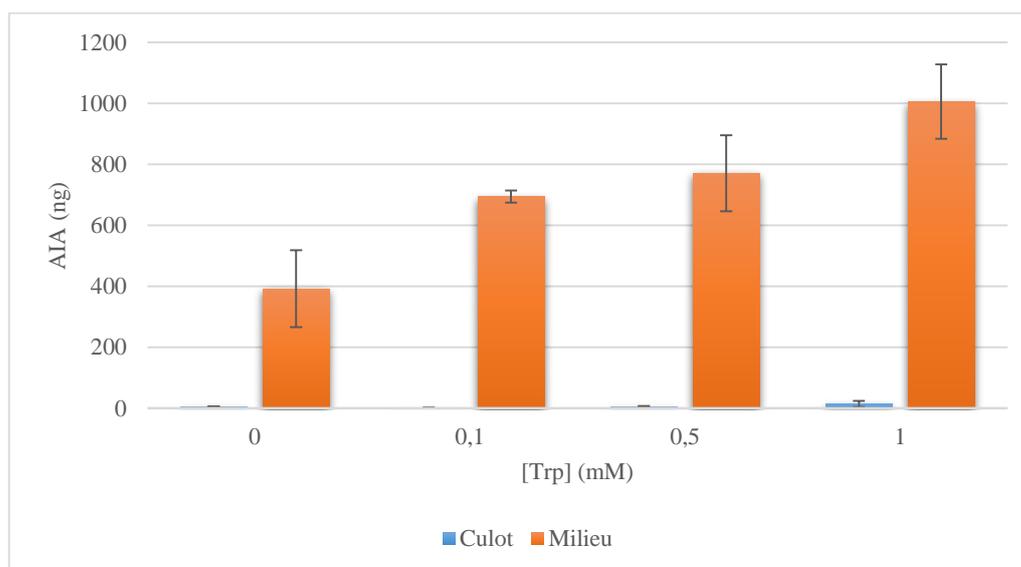


Figure 11 : AIA total présente dans le culot et dans le milieu de la bactérie *Pf002* avec et sans addition du Trp

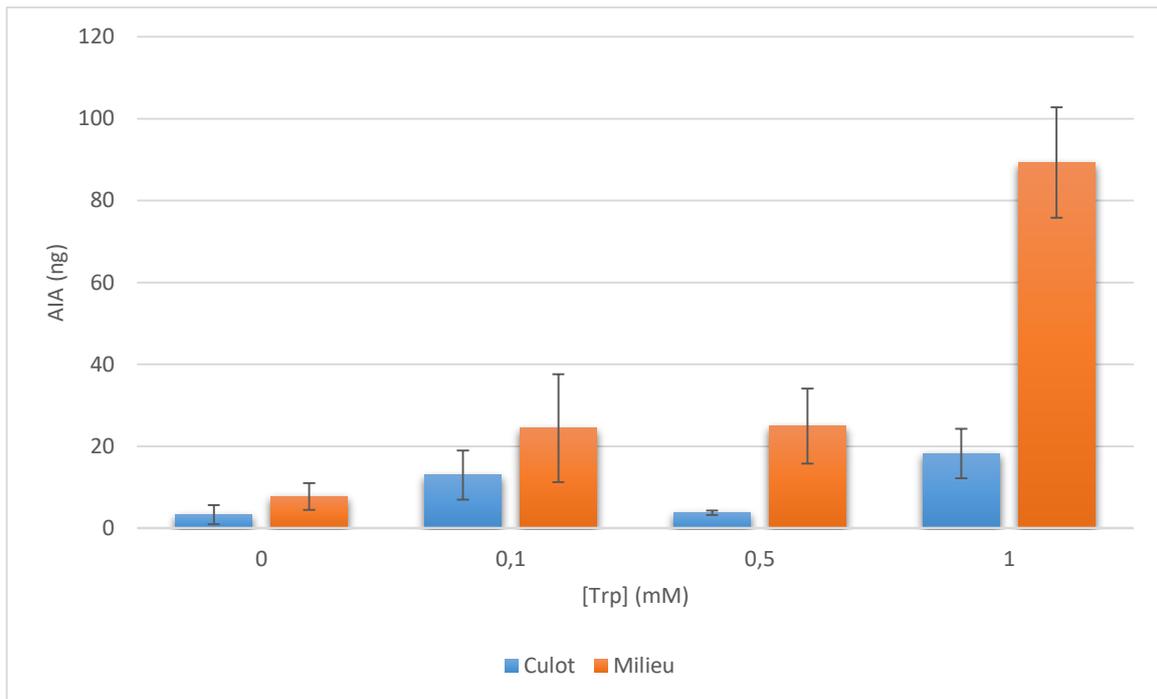


Figure 12 : AIA totale présente dans le culot et le milieu de la bactérie *Bt04* avec et sans addition du Trp

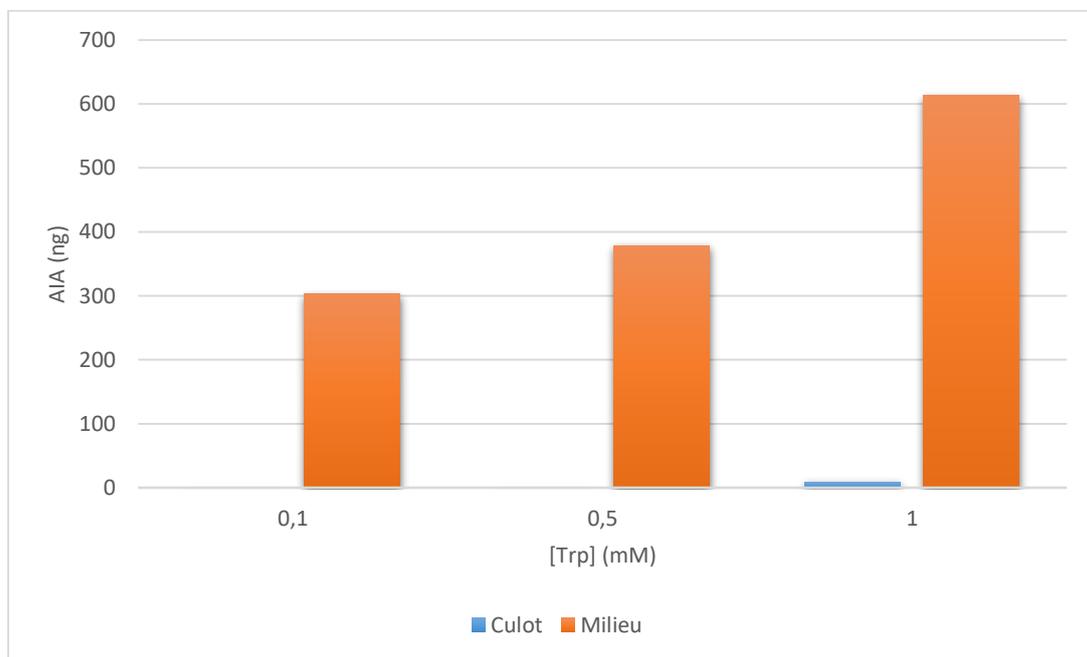


Figure 13 : AIA synthétisé à partir du Trp dans le culot et le milieu de la bactérie *Pf002*

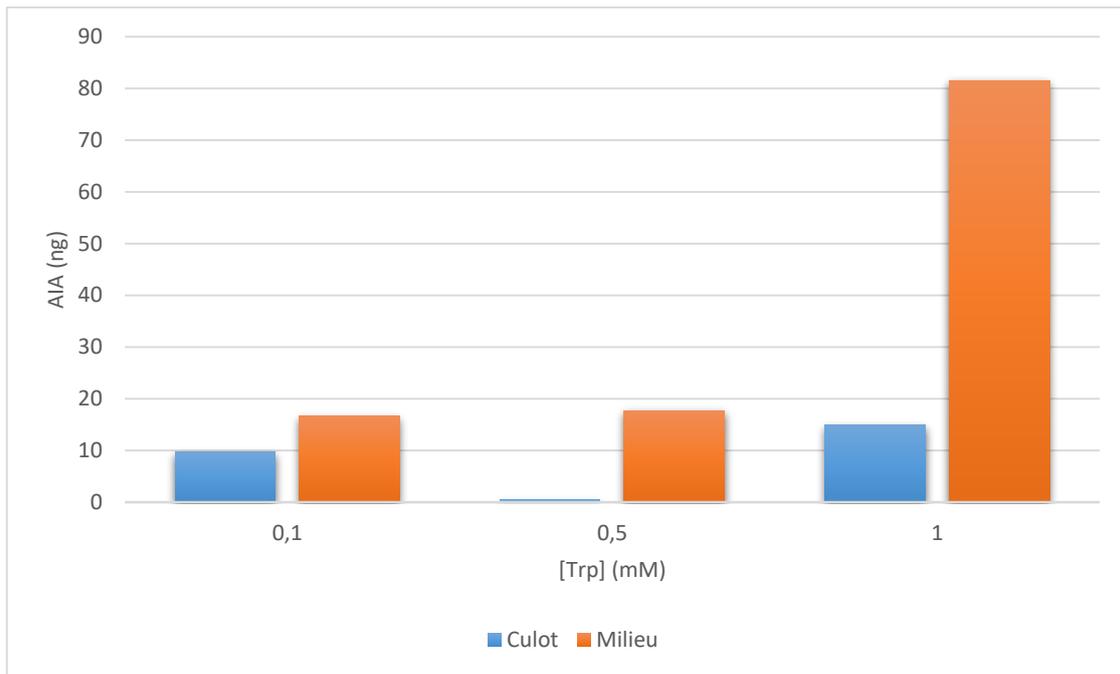


Figure 14 : AIA synthétisé à partir du Trp dans le culot et le milieu de la bactérie *Bt04*

II. Essai de décapitation racinaire

Les données enregistrées après cet essai confirment que la coiffe racinaire est l'une des principales régions où les bactéries étudiées s'attachent et exercent l'activité phytostimulatrice pour la plante. Aucune différence n'est enregistrée entre les racines décapitées non inoculées, ce qui confirme que nous avons réalisé une décapitation de la coiffe racinaire sans endommager la zone méristématique (Fig. 15).

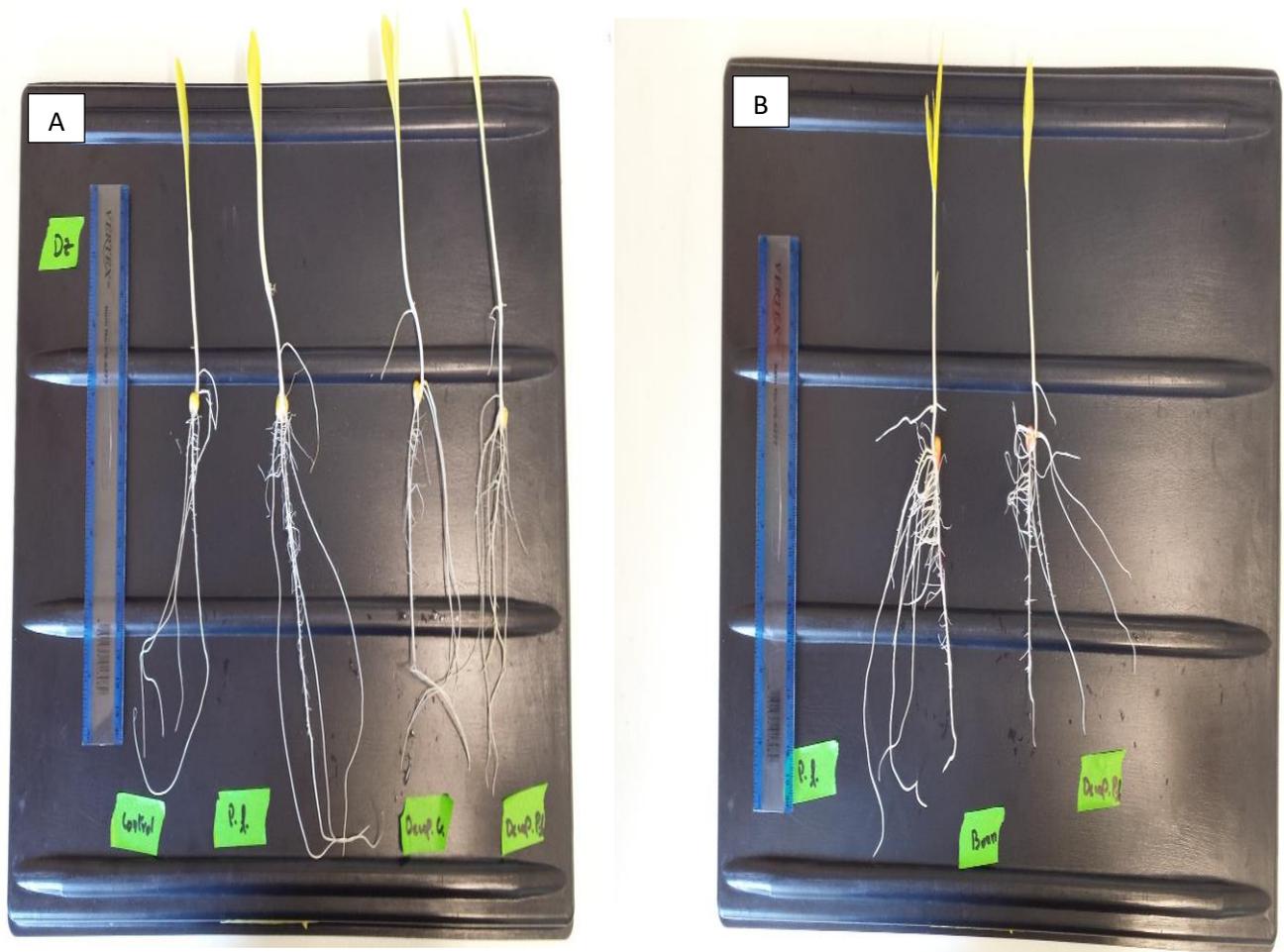


Figure 15 : Effet de la décapitation racinaire et de l'inoculation par *Pf002* sur la croissance racinaire des variétés DZ (A) et cv. Clement (B). Control : racine non inoculé, ni décapitée. P.f. : racine inoculée avec *Pf002*, non décapitée. Decap. Cr : Racine non inoculée, décapitée. Decap. Pf : racine inoculée avec *Pf002*, décapitée

1. Longueur de la racine principale

La décapitation de la coiffe racinaire (avant la bactérisation avec la souche *Pf002*) nous a permis de constater une diminution de la phytostimulation chez les racines décapitées (Fig. 15). Le test de Student pour les racines inoculées montre que les différences entre les moyennes des longueurs racinaires étaient significatives chez les deux variétés étudiées (Annexe II, Tab 2,3), la décapitation a diminué la longueur racinaire chez les deux variétés étudiées ; 17% et 12% respectivement pour DZ et cv. Clemente (Fig. 16).

Cependant, aucun effet significatif de la décapitation n'est enregistré pour ce paramètre chez les racines non inoculées. Les longueurs moyennes des racines (décapitées ou non-décapitées) sont les mêmes pour chaque variété (15 et 17cm respectivement pour DZ et cv. Clemente) (Fig. 16).

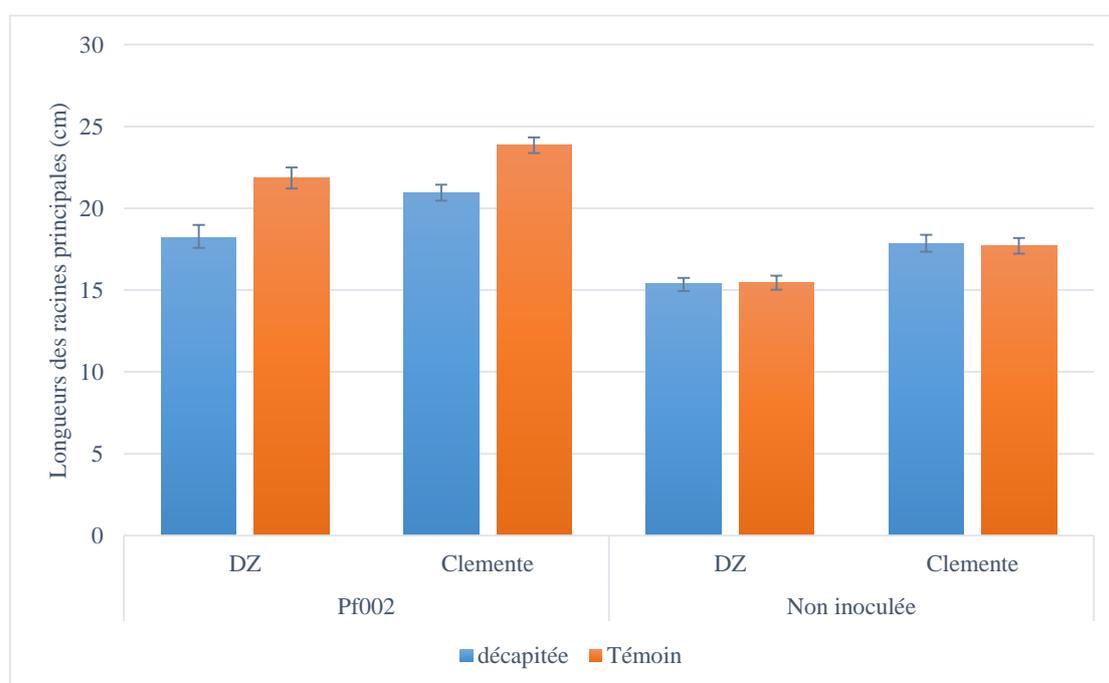


Figure 16 : Longueurs moyennes des racines principales des plants DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

2. Nombre de racines séminales

Selon t-test, la décapitation racinaire n'a révélé aucun effet significatif sur le nombre de racines séminales chez les deux variétés de maïs (Annexe II, Tab 2,3). Les moyennes de ce paramètre chez les racines décapitées et leurs témoins respectifs sont statistiquement égales (Fig. 17).

Néanmoins, compte-tenu de la bactérisation seulement, nous avons enregistré des légères augmentations du nombre de racines séminale dans les plants bactérisés par rapport à leurs témoins ; 8 et 7% chez DZ et cv. Clemente respectivement (Fig. 17).

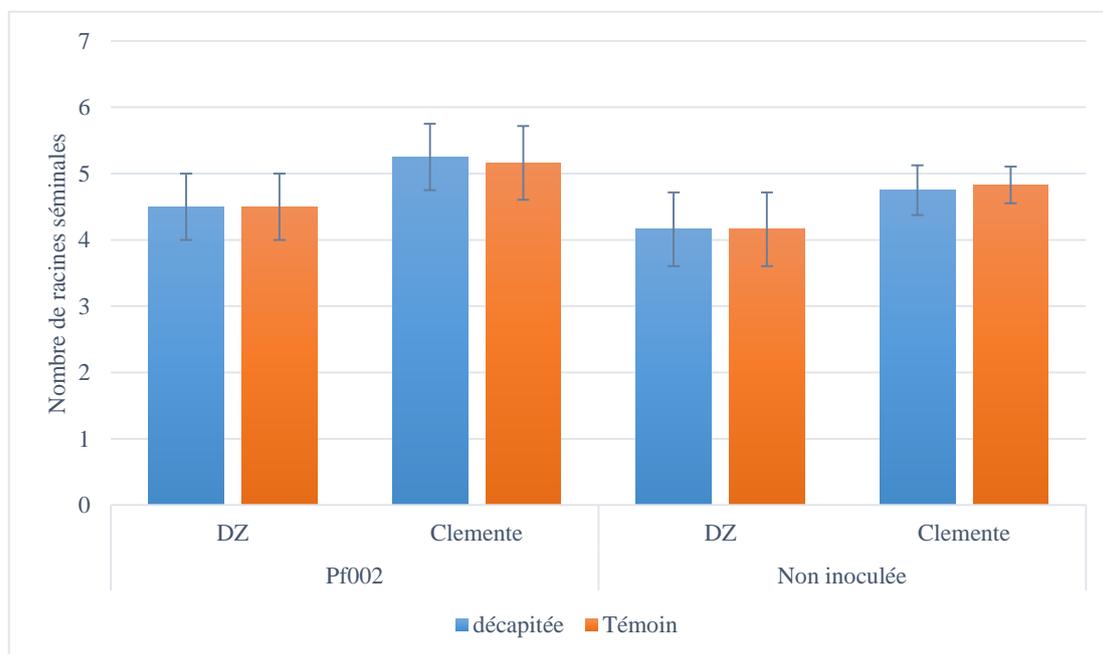


Figure 17 : Nombre moyen de racines séminales des plants DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

3. Longueur des racines séminales

Les mesures de la longueur des racines séminales montrent que la décapitation inhibe la stimulation de la croissance des plants de maïs par les PGPR.

Le t-test pour les racines inoculées révèle des différences significatives entre les moyennes des longueurs des racines séminales pour les deux variétés. Tandis que chez les racines non inoculées les moyennes étaient statistiquement égales (Annexe II, Tab 2,3). L'inhibition de la croissance racinaire était remarquable chez cv. Clemente ; 13.31 et 10.2cm sont les longueurs moyennes de racines séminales respectivement pour les témoins et les racines décapitées (l'équivalent de 23% diminution) (Fig. 18). Chez les plants de la variété DZ, nous avons enregistré 10 % de diminution pour ce paramètre.

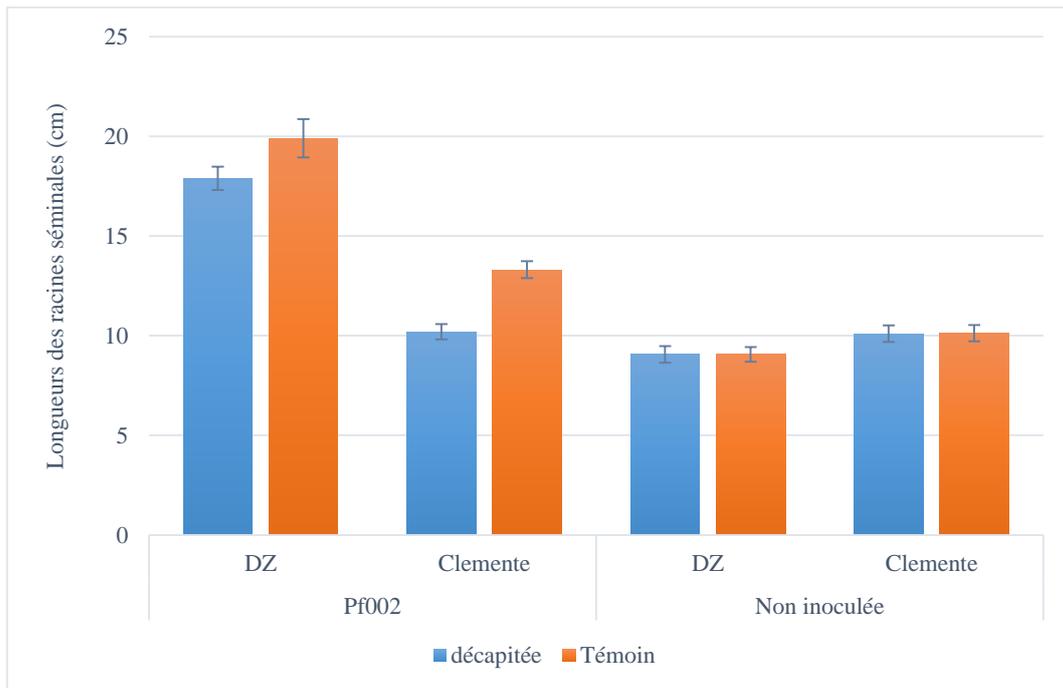


Figure 18 : Longueurs moyennes des racines séminales des plants DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

4. Nombre de racines latérales

Nous avons enregistré chez les racines de maïs un effet négatif (se traduisant par une diminution dans le nombre de racines latérales) de la décapitation sur la stimulation de la croissance induite par la PGPR (Fig. 15).

La comparaison des valeurs par le test de Student prouve que la décapitation provoque des diminutions significatives du nombre de racines latérales chez les deux variétés ; traitées avec *Pf002* (Annexe II, Tab 2,3). Des pertes importantes remarquables sont notées, 29% de diminution en nombre de racines latérales chez la variété DZ, et encore plus chez cv. Clemente où nous avons observé des diminutions de l'ordre de 33% (Fig. 19). Il est à noter également que le t-test n'a révélé aucune différence significative de la décapitation chez les racines non inoculées (Annexe II, Tab 2,3).

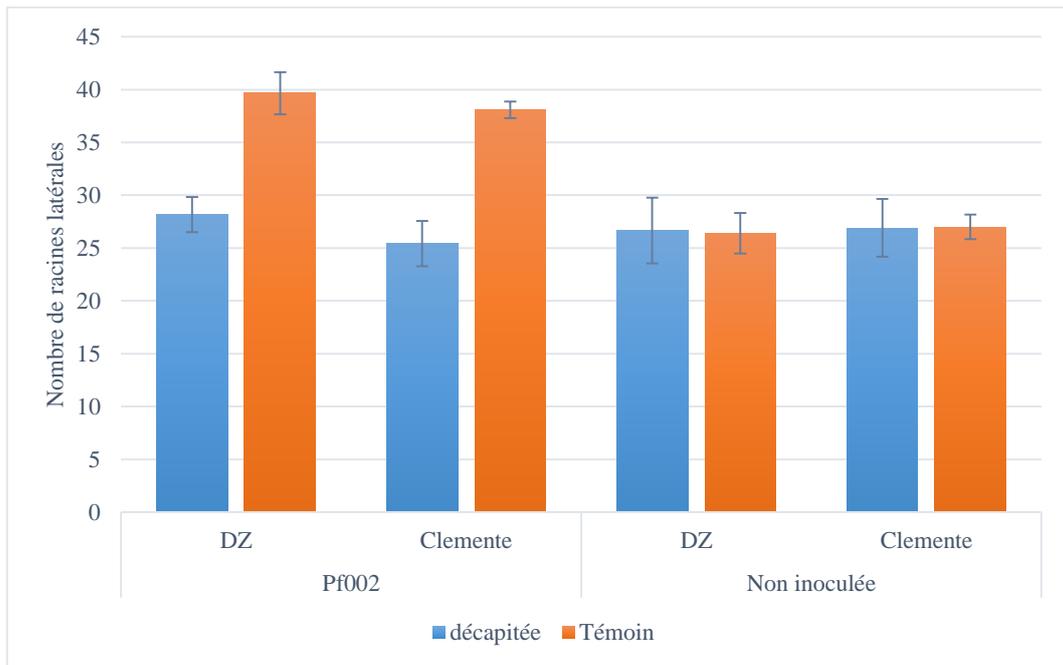


Figure 19 : Nombre moyen de racines latérales des plants DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

5. Biomasse sèche

Les résultats obtenus en biomasse racinaire sèche ont montré des inhibitions de la phytostimulation causées par la décapitation de la coiffe racinaire chez les plants bactérisés (Fig. 20). Le test de Student révèle que la décapitation influence significativement la croissance des racines inoculées (Annexe II, Tab 2,3). Une diminution en biomasse était attendue vue les inhibitions enregistrées au niveau des paramètres précédents. Les racines décapitées des variétés DZ et cv. Clemente avaient 33 et 23% moins de biomasse sèche, par rapport au témoin non décapités (Fig. 20).

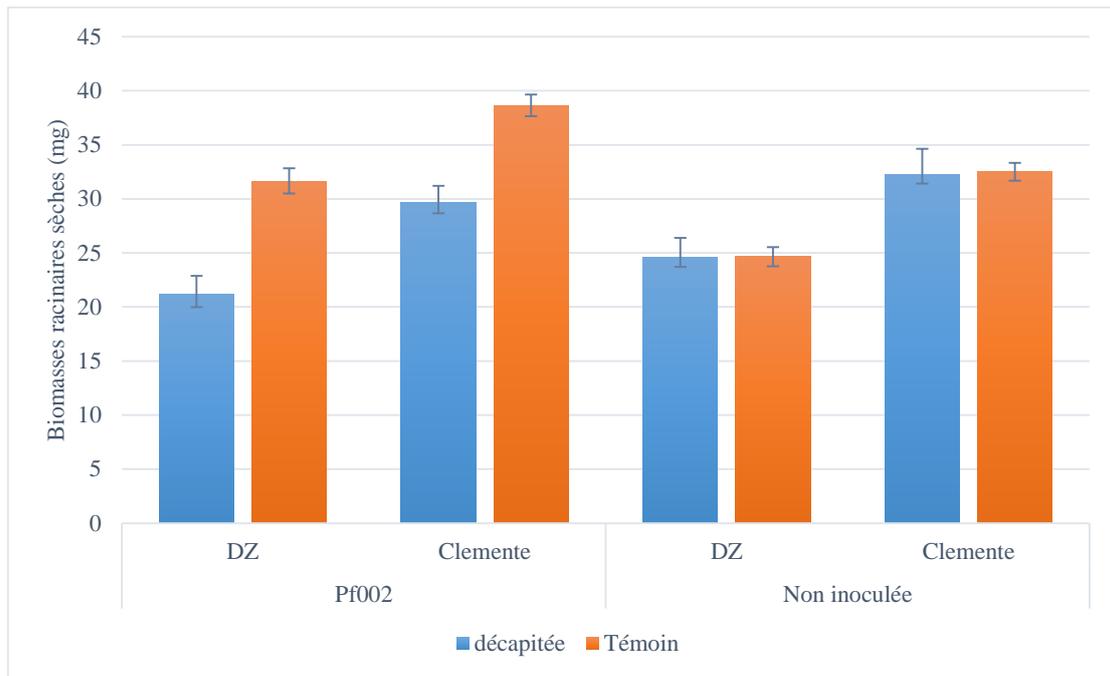


Figure 20 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plants DZ et cv. Clemente décapitées et non décapitées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

III. Discussion

Les résultats obtenus lors de mesures des paramètres morphologiques sont similaires à ceux de Kumar et al. (2007) et Pal (1998). L'inoculation par des espèces du genre *Bacillus* a montré une réponse positive du rendement du riz (Tiwari et al., 1989), du sorgho et l'orge (Belimov et al., 1995 ; Çakmakçı et al., 2001 ; Ozturk et al., 2003). Les semences du blé traitées par des PGPR ont donné des améliorations optimistes du rendement du champ de blé en raison de la haute capacité de l'assimilation des nutriments des racines. De la même manière le traitement des semences de blé par *Bacillus sp* favorise plus le développement racinaire (Gouzou et al., 1993) et améliore la structure du sol (Bethlenfalvay et al., 1997) et renforce la croissance de la plante (Ryder et al., 1999).

L'élargissement du système racinaire ne conduit pas seulement à une meilleure nutrition minérale, il peut aussi améliorer l'absorption de l'eau, qui à son tour pourrait être bénéfique aux cultures cultivées dans des sols déficitaires en eau. Dans des expériences sur le terrain, le régime hydrique des plantes de sorgho a été amélioré par inoculation par *Azospirillum* comme le démontre leur potentiel plus élevé en eau de feuilles et une plus grande conductance et transpiration stomatique. L'humidité totale du sol inoculé était de 15 % plus élevée que celle

du sol non-inoculé comme elle pouvait être produite par des couches plus profondes par rapport au témoin (Sarig et al., 1988 ; Fallik et al., 1994).

Les hormones végétales sont des messagers chimiques qui affectent la capacité d'une plante à répondre à son environnement. Les hormones sont des composés organiques qui sont efficaces à de très faibles concentrations ; ils sont généralement synthétisés dans une partie de la plante et sont transportés vers un autre site. Parce que les hormones végétales peuvent stimuler ou inhiber la croissance des plantes, certains botanistes les classent comme des Régulateurs de Croissance des Plantes (RCP). Les PGPR ont la capacité de synthétiser les RCP (Hayat et al., 2011), qui interagissent avec des tissus spécifiques pour déclencher des réponses biochimiques, physiologiques et morphologiques de croissance et de développement tel que la maturité des fruits, élongation racinaire ou même certaines réponses aux stress biotiques et abiotiques. Ces RCP sont regroupées en 5 grandes classes : les Auxines, les Gibbérellines, l'Ethylène, les Cytokinines et l'Acide Abscissique.

Nos résultats révèlent que les deux souches bactériennes étudiées sont capables de produire l'AIA à partir du Trp mais à des degrés différents. *Pf002* en plus de son potentiel de synthétiser l'AIA à partir du Trp avec des quantités importantes, elle est capable aussi de le produire cette même en absence du Trp (AIA endogène) ce qui prouve l'effet direct de cette bactérie à promouvoir la croissance des plantes de maïs.

L'auxine la plus active et la plus commune chez les plantes est l'acide indole 3-acétique (AIA), qui régleme les nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes pendant tout le cycle des cellules végétales de la division, l'élongation, la différenciation cellulaire jusqu'à l'initiation racinaire, la dominance apicale, la floraison, la maturation des fruits, la sénescence et la stimulation de la croissance des plantes. La régulation de ces processus par l'auxine implique des changements induits par l'auxine dans l'expression des gènes (Guilfoyle et al., 1998).

Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire l'AIA. Les interactions entre les bactéries productrices d'AIA et les plantes conduisent à divers résultats variant de la pathogénèse à la phytostimulation. Certains microorganismes produisent des auxines en présence d'un précurseur approprié tel que la L – tryptophane (Trp). Le tryptophane augmente la production de l'AIA de *Bacillus amyloliquefaciens*. Beyeler et al. (1999) expliquent que la souche *CHA0* de *P. fluorescens* produit de petites quantités d'AIA par l'oxydase de la chaîne latérale du tryptophane et par les voies du tryptophane transaminase. Un plasmide recombiné

(PME 3468) exprimant la voie du Trp monooxygénase a été introduite dans la souche *CHA0* ; ce qui a entraîné une élévation dans la synthèse d'AIA in vitro, en particulier après l'addition de L – tryptophane. Khakipour et al. (2008) ont évalué le potentiel de productivité de l'auxine dans les souches de *Pseudomonas* étudiées par chromatographie en utilisant l'HPLC. Effectivement, plusieurs types d'auxines ont été détectés l'acide indole-3-acétique (AIA), l'acide indole-3-pyruvique, l'acide indole-3-butyrique et l'acide indole lactique. Karnwal (2009) a isolé 30 *Pseudomonas* et les a caractérisés sur la base des tests biochimiques et l'activité de promouvoir la croissance des plantes. *P. fluorescens* et *P. aeruginosa* ont montré les meilleures activités de promotion de la croissance des plants. Ces isolats ont été testés pour leur capacité à produire de l'acide indole acétique en culture pure, en l'absence et en présence de L-tryptophane à 50, 100, 200 et 500 ng/ml. Pour les deux souches la production d'AIA augmente avec l'augmentation de la concentration du Trp, et *P. aeruginosa* était moins efficace à produire l'AIA que *P. fluorescens*.

Okon (1993) indique que la production des phytohormones de type auxines affecte directement la morphologie des racines et le développement de la plante entière.

Tanimoto (2005) confirme que la formation des racines latérales chez les plante est un effet typique de l'auxine. Loper et Schroth (1986) ont montré que l'effet délétère de certains *Pseudomonas fluorescens* pourrait être associé à l'intensité de la synthèse d'AIA in vitro. L'importance relative des *Pseudomonas* semble dépendre du stade de développement de la plante qui influence la composition des exsudats racinaires (Rovira et Davey, 1971). Brown (1974) dit que les différences enregistrées entre les plantes traitées avec les bactéries ou les substances de croissance et les plantes témoins, ne sont significatives que sur les jeunes plantes ; elles disparaissent en cours de culture.

L'amélioration de l'alimentation minérale de la plante en phosphore a été la première hypothèse proposée pour expliquer l'effet bénéfique enregistré à la suite de la bactérisation de plantes (Gerretsen, 1948). Les espèces, *Bacillus megaterium var phosphaticum* et *Pseudomonas spp fluorescens*, augmenteraient la concentration en phosphore soluble soit par minéralisation des phosphates organiques, grâce à des phosphatases, soit par solubilisation des phosphates inorganiques, sous l'effet d'acides (Vassilev et al., 2006 ; Krasilnikov, 1961). Ce mode d'action a fait l'objet de nombreuses controverses. Lifshitz et al. (1987) ont mis en évidence qu'une souche de *Pseudomonas putida (G12-2)* stimule la croissance du colza en absence de microorganisme pathogène. Cette souche améliore le prélèvement de phosphore marqué (³²P) par les plantes. Il existe une corrélation positive entre la longueur des racines et leur teneur en

³²P. Les auteurs associent donc l'effet bénéfique de la souche *G12-2* à une meilleure alimentation de la plante en phosphore.

Les sidérophores microbiens et en particulier ceux des *Pseudomonas fluorescents* peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer (Crowley et al, 1987). Ainsi le fer chélaté par les sidérophores peut être utilisé par les graminées. Powell et al (1982) ont par exemple mis en évidence, grâce à l'utilisation de ⁵⁵Fe, que l'avoine peut assimiler le fer lié aux sidérophores. De même, Duss et al (1986) ont observé que la tomate n'absorbe le fer de façon efficace que si elle est cultivée en présence de bactéries. Cependant les sidérophores n'améliorent pas tous l'alimentation en fer des plantes.

Métaboliquement, les feuilles des plantes sont les parties les plus actives dans lesquelles le carbone atmosphérique est fixé comme squelette de carbone dont une partie est ensuite modifiée par l'introduction de N du sol, ainsi la croissance et des activités métaboliques sont assurées et maintenues (Griffith, 1975). Les travaux de Sangeetha et al. (2013) montrent que l'inoculation par *Pseudomonas sp* du maïs augmente le taux de chlorophylles dans les feuilles. Suite à cette amélioration en chlorophylle, les teneurs des feuilles en protéines et glucides et même en phénols étaient plus élevées pour les plantes traitées par *Pseudomonas sp* ou *Bacillus sp* combinés ou non avec des AMF par rapport aux témoins ce qui confirme nos résultats qui montrent que *Pf002* et *Bt04* modifient le métabolisme de la plante d'une façon positive.

Dans l'autre partie de ce travail, nous avons essayé d'évaluer le rôle de la coiffe racinaire comme un point d'appui pour les bactéries pour une meilleure colonisation des racines et donc une meilleure promotion de la croissance de la plante. Nos résultats révèlent qu'en absence de la coiffe, l'efficacité de *Pf002* était trop faible voire même nulle. Beaucoup de travaux ont été menés afin d'évaluer la colonisation des racines par les PGPR après inoculation des graines (Loper et al., 1984). Ils ont observé que les populations rhizobactériennes de segments de racines adjacentes de semences étaient plus importantes que celles qui sont près du sommet. Benizri et al. (1997) ont mené des travaux sur la colonisation des racines de maïs par 2 souches de *Pseudomonas*, ils ont trouvé que les trois parties de la racine (apex, zone d'élongation, zone de poiles absorbantes et zone mature) étaient colonisées de la même façon. En revanche, après inoculation des sols, Campbell et al. (1990) ont observé plus de bactéries sur la zone de la coiffe et la zone de l'allongement des racines. Ces zones sont connues pour libérer des composés, comme les exsudats, qui peuvent soutenir l'activité bactérienne importante.

Partie II : Promotion de la croissance dans des conditions de stress

La bactérie *Pf002* a été testée pour sa capacité de faciliter la croissance des plantes en condition de stress salin et de toxicité en Al. Le traitement bactérien était appliqué au stade graine, tandis que des semences traitées par le milieu King-b ont servi comme témoin. *Pf002* améliore la croissance des deux cultivars du maïs sous les conditions de stress salin ou toxicité d'Al, ainsi que dans les conditions du témoin (Fig. 21, Fig. 22).

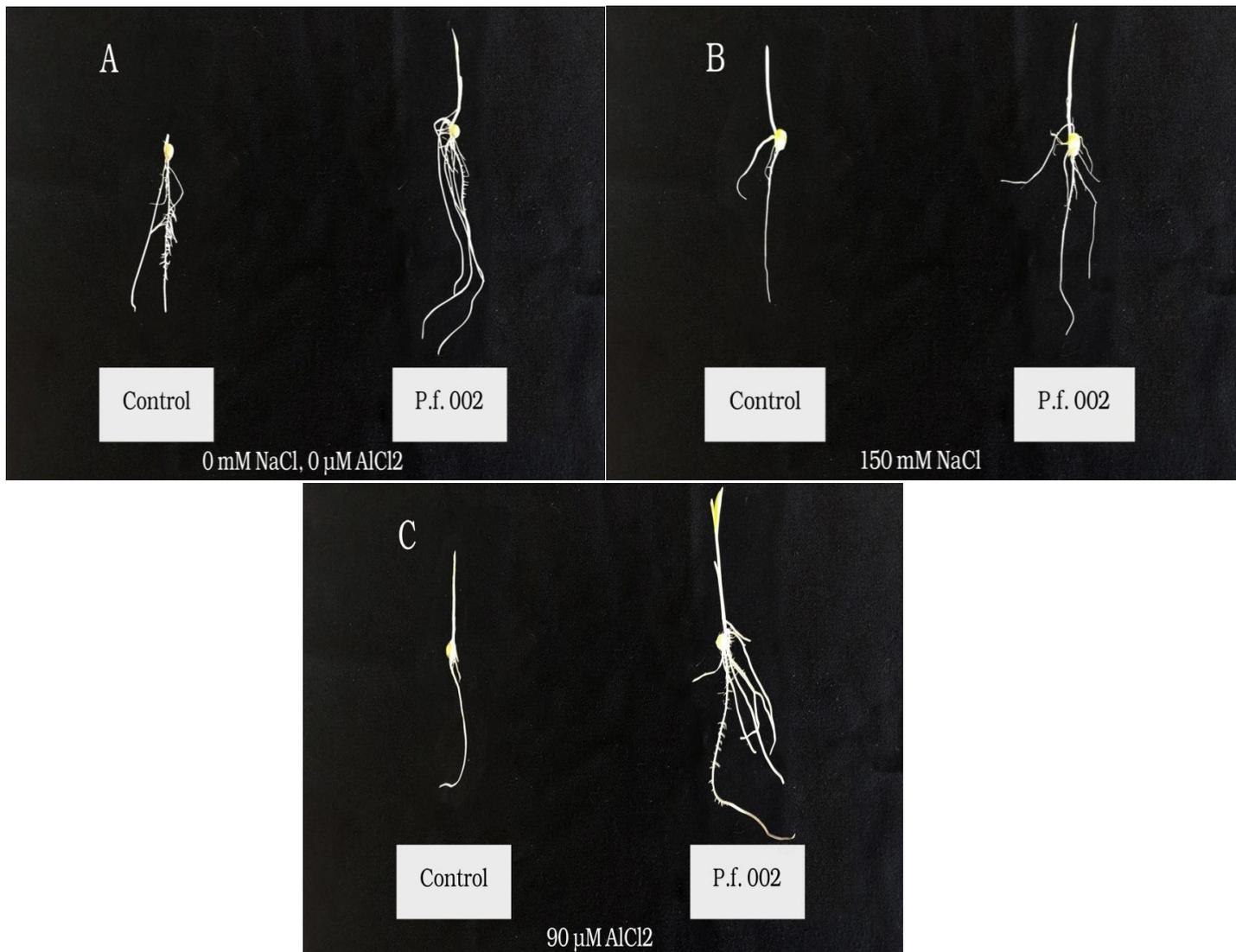


Figure 21 : Effet de l'application de *Pseudomonas fluorescens 002* sur la croissance et la tolérance au sel et à l'Al du maïs cv. Clemente. (A) racines traitées ou non avec *Pf002* sans NaCl ni AlCl₃. (B) racines traitées ou non avec *Pf002* en présence de 150 mM de NaCl. (C) racines traitées ou non avec *Pf002* en présence de 90 µM de AlCl₃. Après la germination, les racines de deux cm de longueur étaient exposées à : l'eau distillée, 150 mM de NaCl ou 90 µM de AlCl₃ respectivement pour (A), (B) et (C). Cinq jours après, les racines ont été photographiées.

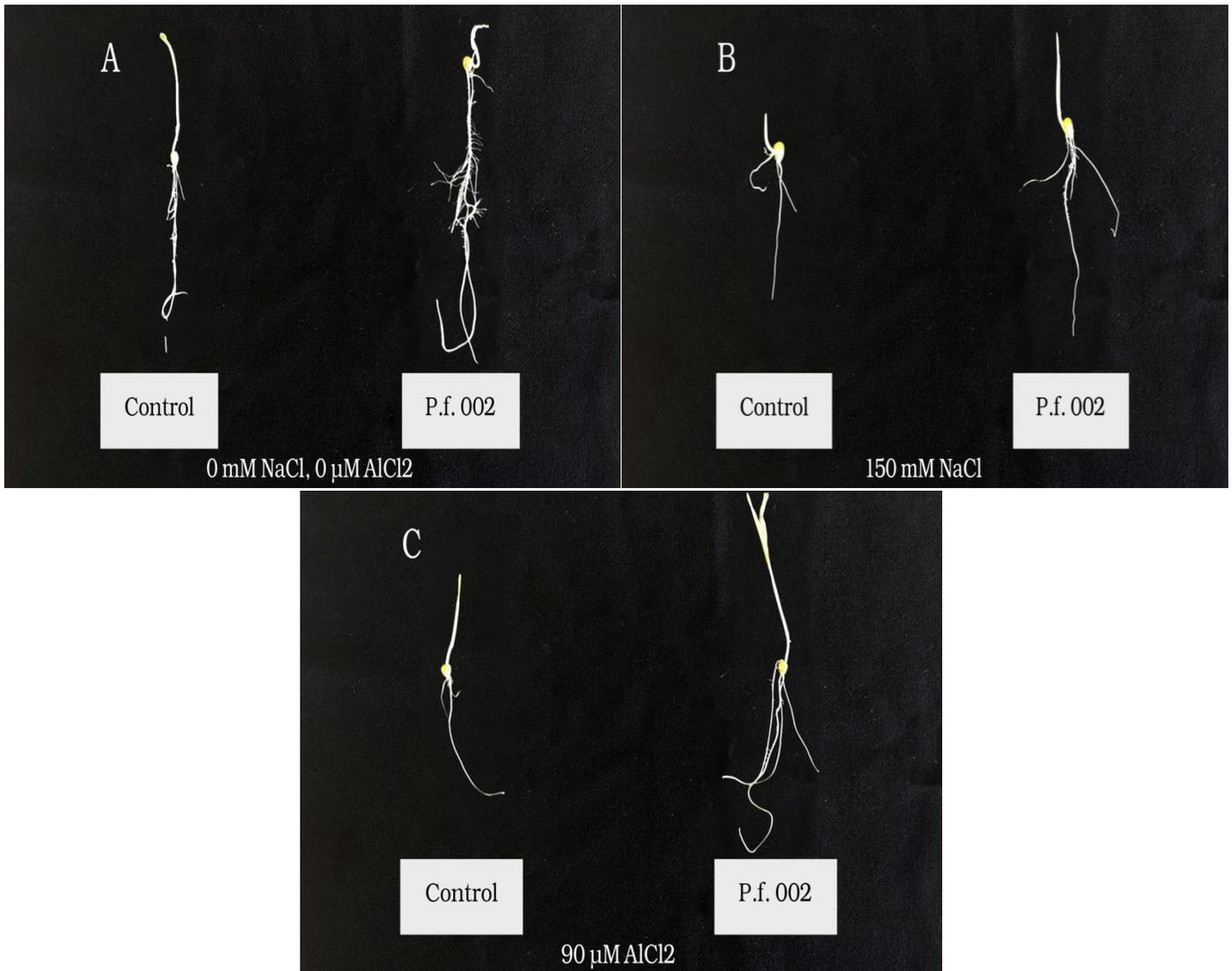


Figure 22 : Effet de l'application de *Pseudomonas fluorescens* 002 sur la croissance et la tolérance au sel et à l'Al du maïs DZ. (A) racines traitées ou non avec *Pf002* sans NaCl ni AlCl₃. (B) racines traitées ou non avec *Pf002* en présence de 150 mM de NaCl. (C) racines traitées ou non avec *Pf002* en présence de 90 μM de AlCl₃. Après la germination, les racines de deux cm de longueur étaient exposées à : l'eau distillée, 150 mM de NaCl ou 90 μM de AlCl₃ respectivement pour (A), (B) et (C). Cinq jours après, les racines ont été photographiées.

1. Longueur de la racine principale

L'estimation de la longueur des racines a révélé un effet fiable de la phytostimulation et d'atténuation de stress abiotiques de la souche bactérienne étudiée.

La comparaison des moyennes par le t-test (sans bactérie vs *Pf002*) dans les trois milieux (sans stress, 150 mM NaCl et 90 μ M AlCl₃) montre que la souche *Pf002* stimule significativement la longueur racinaire des plants de maïs par rapport à leurs témoins respectifs (Annexe II, Tab 4,5).

Sans l'application de stress, les augmentations des longueurs racinaires dues à la bactérisation par *Pf002* sont 33 et 41% chez les plants cv. Clemente et DZ respectivement (Fig. 23,24). En conditions de stress salin, l'inoculation bactérienne provoque des améliorations de 13 et 35% respectivement pour cv. Clemente et DZ. Les augmentations enregistrées chez les racines soumises à la toxicité aluminique sont inférieures à celles enregistrées précédemment, 17 et 18% de plus en longueurs racinaires par rapport aux témoins non inoculés (Fig. 23,24).

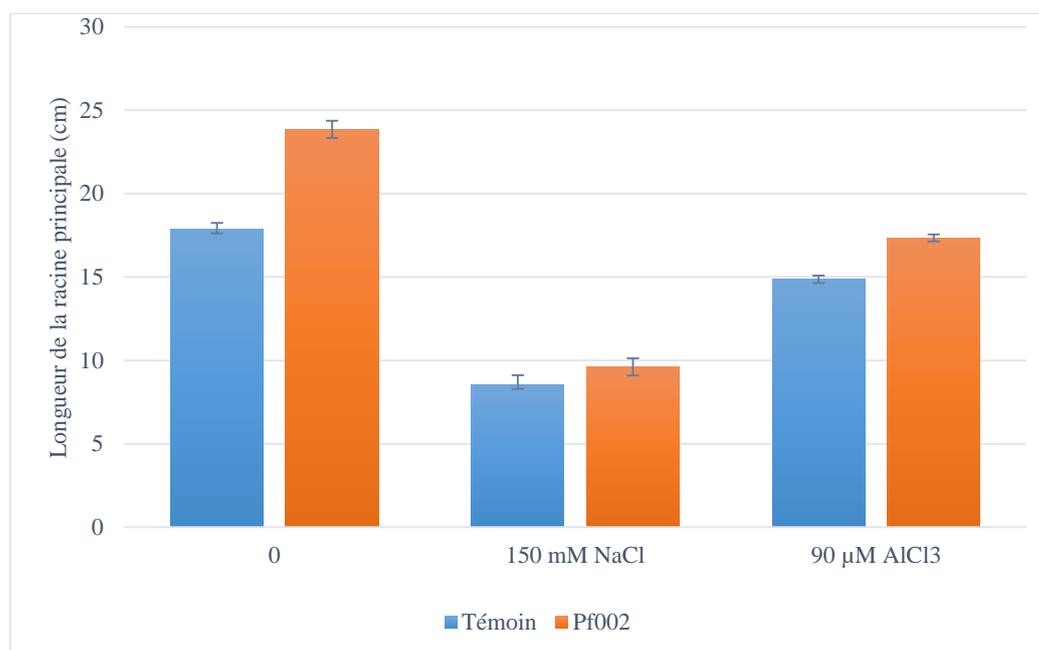


Figure 23 : Longueurs moyennes des racines principales des plants cv. Clemente stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

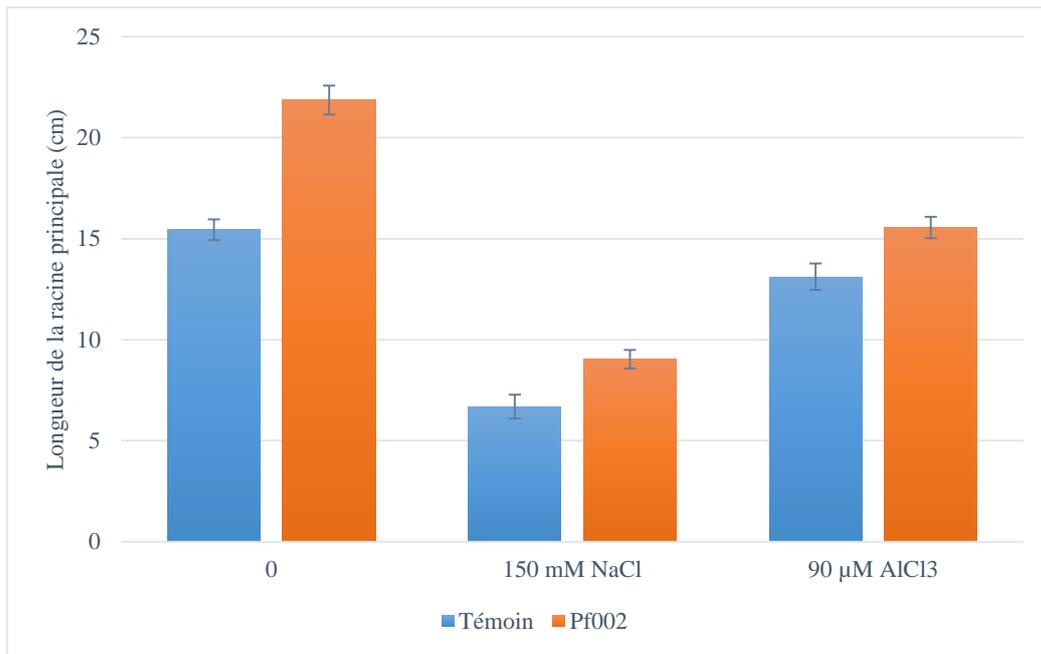


Figure 24 : Longueurs moyennes des racines principales des plants DZ, stressés et non stressés, inoculés et non inoculés par *Pf002*, cinq jours après la levée

2. Nombre de racines séminales

La bactérisation par la souche *Pf002* au niveau racinaire montre des effets significatifs d'atténuation de stress se traduisant par des augmentations du nombre de racines séminales (Fig. 25, 26). Le test de Student révèle des différences significatives entre les racines inoculées et leurs témoins respectifs dans les conditions de sel/Al (Annexe II, Tab 4,5). Cependant des augmentations marginales mais non significatives (7 et 8% respectivement pour cv. Clemente et DZ) sont enregistrées entre les racines non stressées (Annexe II, Tab 4,5).

L'apport de la souche rhizobactérienne montre des gains de phytostimulation importants dans les deux conditions de stress étudiées. Les plants DZ soumises à 150mM NaCl avaient 31% en plus de racines séminales (Fig. 25, 26). Des résultats marquants sont obtenus dans les conditions de toxicité aluminique, l'application de *Pf002* permet un meilleur développement des racines séminales. 36 et 73% sont les augmentations notées pour ce paramètre chez les plants des deux variétés cv. Clemente et DZ respectivement (Fig. 25, 26).

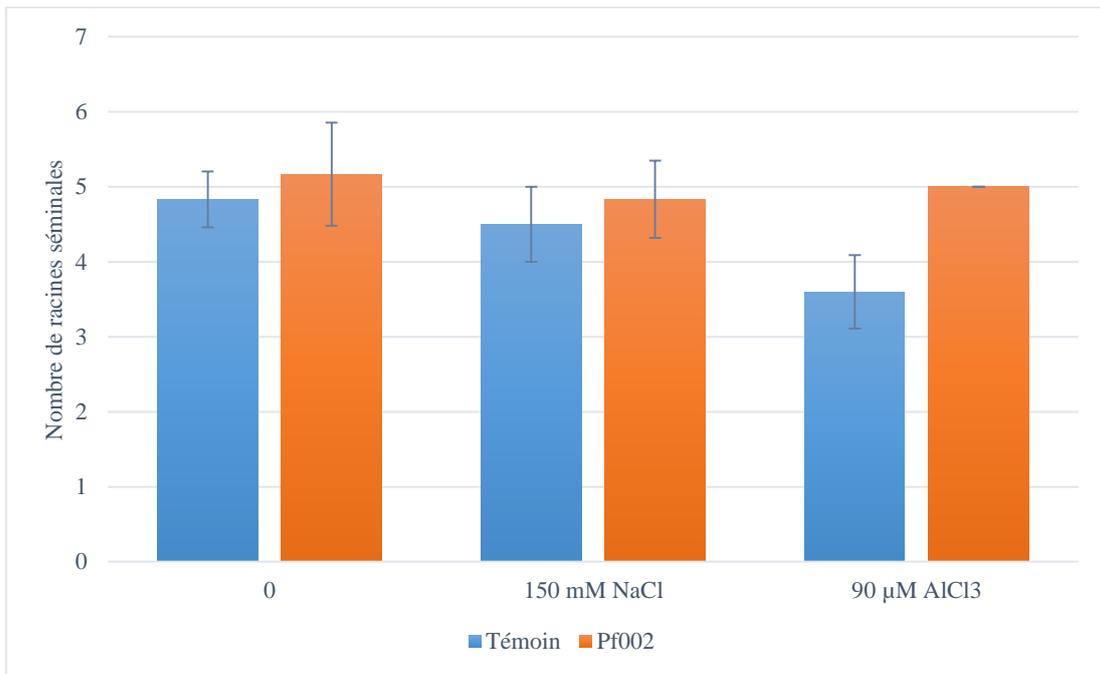


Figure 25 : Nombre moyen de racines séminales des plants cv. Clemente, stressés et non stressés, inoculés et non inoculés par *Pf002*, cinq jours après la levée

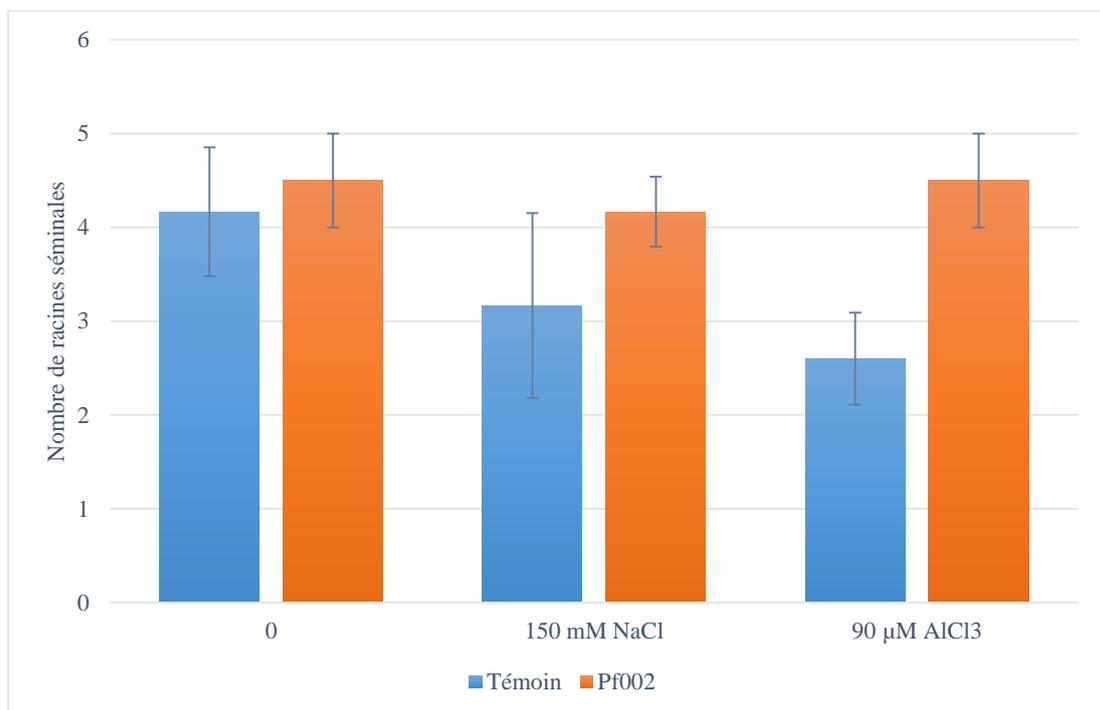


Figure 26 : Nombre moyen de racines séminales des plants DZ, stressés et non stressés, inoculés et non inoculés par *Pf002*, cinq jours après la levée

3. Longueur des racines séminales

Les racines de maïs bactérisées avec *Pf002* ont présenté des augmentations en longueur de racine séminales avec des pourcentages variés entre les témoins et les plants stressés. La performance la plus marquante est enregistrée en conditions de toxicité aluminique (Fig. 27,28). La comparaison des moyennes chez les racines cultivées en conditions ordinaire, de stress salin et en présence de toxicité d'Al a révélé que le traitement bactérien a induit des améliorations significatives en longueur des racines séminales (Annexe II, Tab 4,5).

Après cinq jours d'application de stress salin, une diminution en croissance de racines séminales est constatée, avec préservation de l'effet de *Pseudomonas* appliquée. Les longueurs moyennes chez les plants bactérisés soumises au stress salin sont supérieures à celle des témoins non bactérisés (125 et 63% d'augmentation pour cv. Clemente et DZ respectivement) (Fig. 27,28). Un maximum de gain en longueur de racine séminale est constaté chez les plants soumis à la toxicité aluminique. Les racines inoculées avaient une longueur moyenne de 10.78cm comparée à 2.43cm du témoin, ce qui représente 341% d'augmentation pour cv. Clemente. Des résultats similaires sont obtenus avec la variété DZ, où nous avons enregistré 208% de plus en longueur (Fig. 27,28).

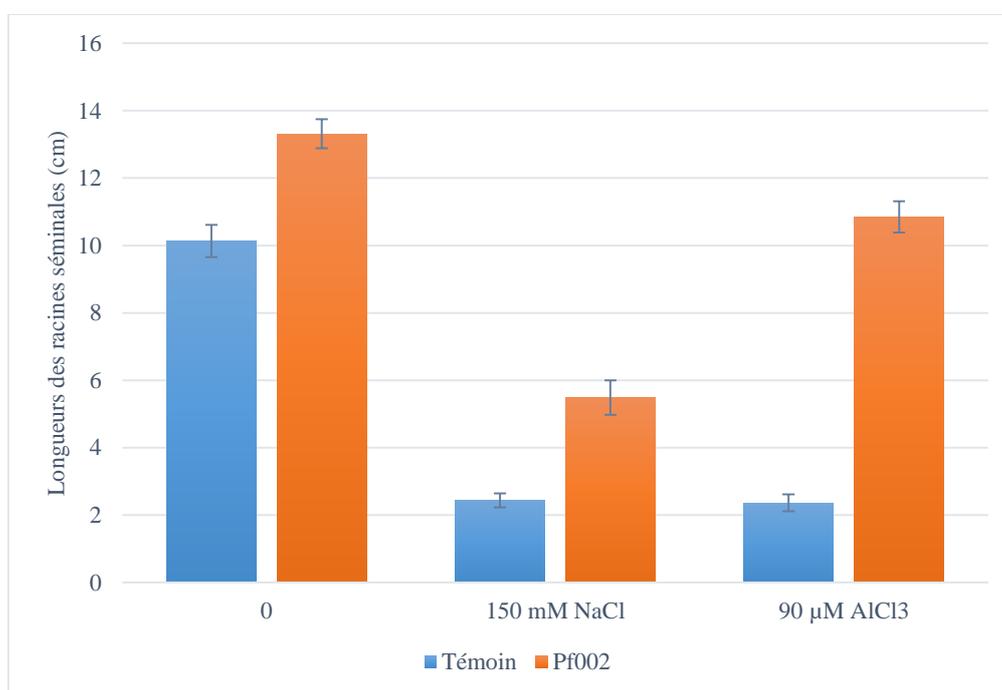


Figure 27 : Longueurs moyennes des racines séminales des plants cv. Clemente, stressés et non stressés, inoculés et non inoculés par *Pf002*, cinq jours après la levée

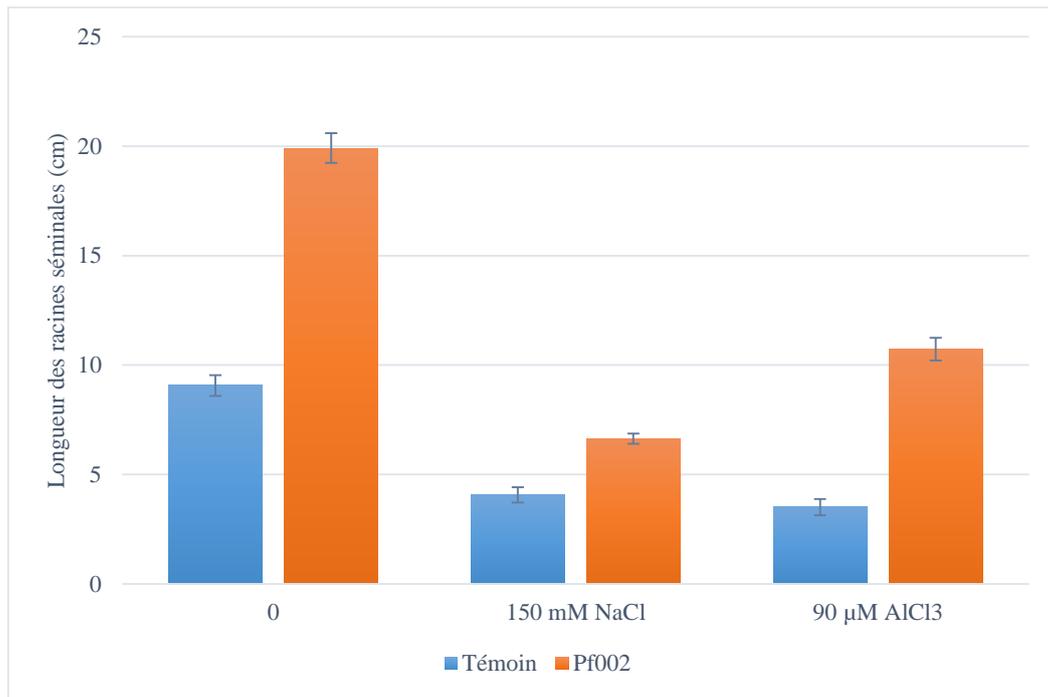


Figure 28 : Longueurs moyennes des racines séminales des plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

4. Nombre de racines latérales

L'application de *Pseudomonas fluorescens 002* induit des gains appréciables et relativement élevés en nombre de racines latérales notamment chez la variété DZ sous stress salin où nous avons enregistré 280% d'augmentation par rapport au témoin (Fig. 30). Selon le t-test les différences issues de la bactérisation sont significatives (Annexe II, Tab 4,5).

Comparativement aux témoins des augmentations marquantes sont après cinq jours d'exposition à 150 mM, les plus importants sont notées chez les racines DZ avec un taux de 280% (Fig. 29). Des résultats importants sont obtenus avec les plants cv. Clemente où le nombre de racines latérales chez les plants inoculés est nettement supérieur par rapport aux témoins (118% d'augmentation) (Fig. 30).

Selon notre étude de, des gains notables sont obtenus chez les plants bactérisés avec *Pf002* dans les conditions de stress aluminique (Fig. 21,22). Les améliorations dans le nombre de racines latérale sont 146 et 116% respectivement pour cv. Clemente et DZ (Fig. 29,30).

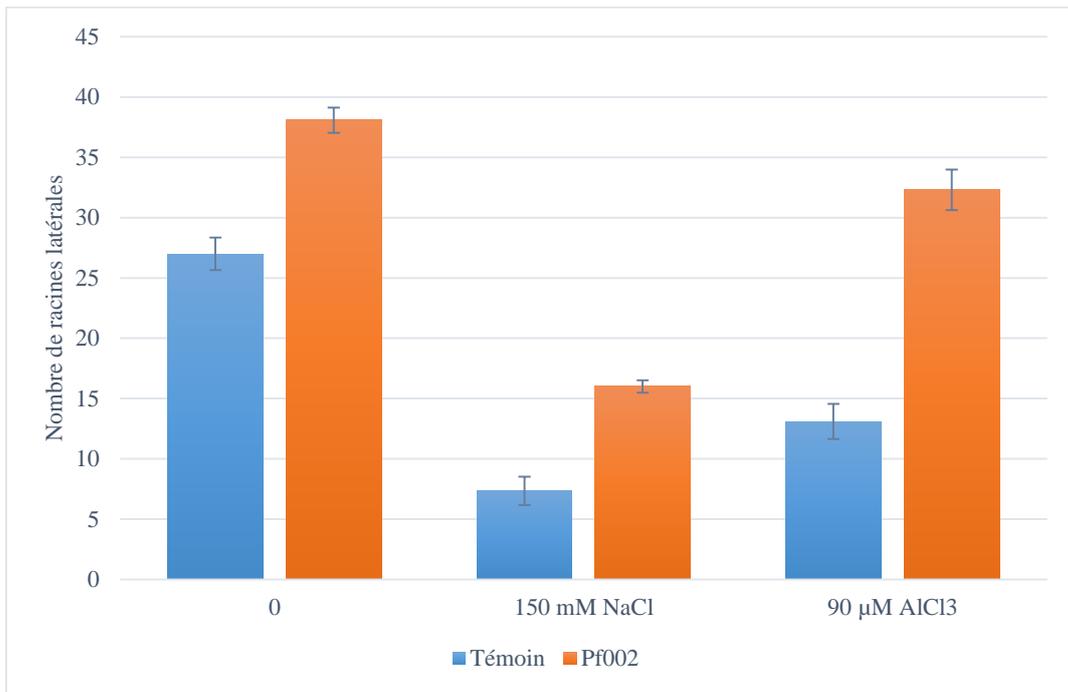


Figure 29 : Nombre moyen de racines latérales des plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

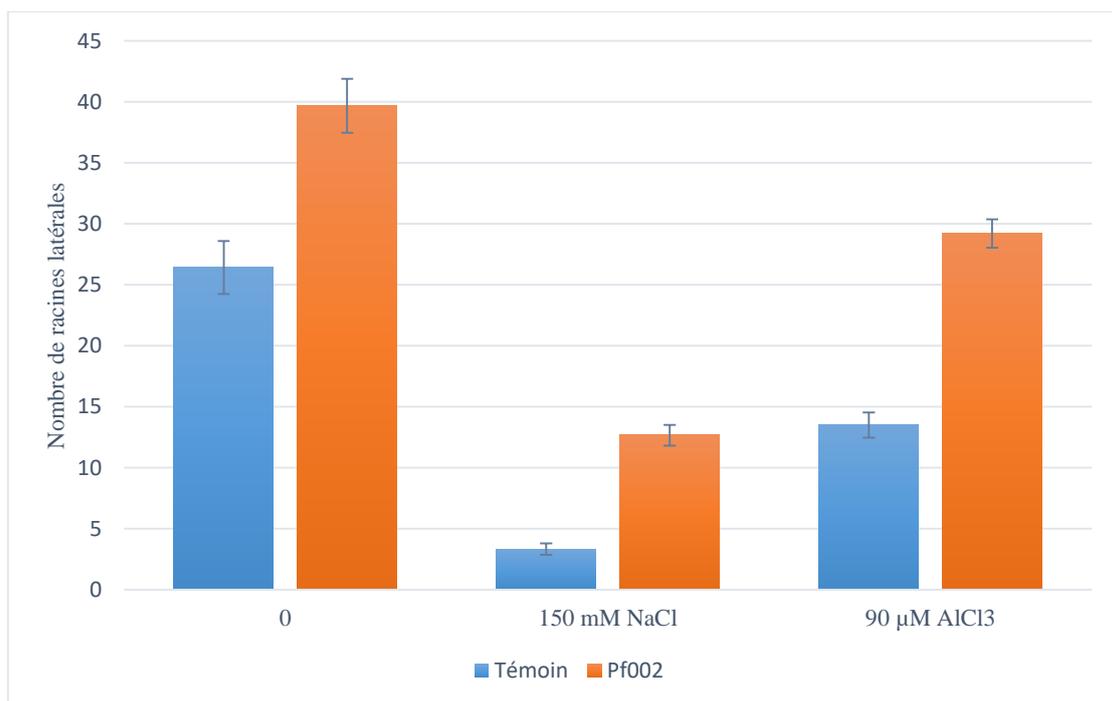


Figure 30 : Nombre moyen de racines latérales des plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

5. Biomasse sèche

L'estimation de la biomasse sèche des racines a révélé un effet fiable d'atténuation de stress salin et aluminique de la souche bactérienne étudiée. La comparaison des moyennes par le t-test (sans bactérie vs *Pf002*) dans les trois milieux (sans stress, 150 mM NaCl et 90 μ M AlCl₃) montre que la souche *Pf002* augmente significativement la biomasse racinaire des plants de maïs par rapport à leurs témoins respectifs (Annexe II, Tab 4,5).

Sans l'application de stress, les augmentations de biomasse sèche dues à la bactérisation avec *Pf002* sont 19 et 29% chez les plants cv. Clemente et DZ respectivement (Fig. 31,32). En conditions de stress salin, l'inoculation bactérienne provoque des améliorations de 38 et 63% respectivement pour cv. Clemente et DZ. Les performances les plus importantes sont enregistrées chez les racines soumises à la toxicité aluminique, 110 et 60% de plus en biomasse racinaires par rapport aux témoins non inoculés respectivement pour cv. Clemente et DZ (Fig. 31,32).

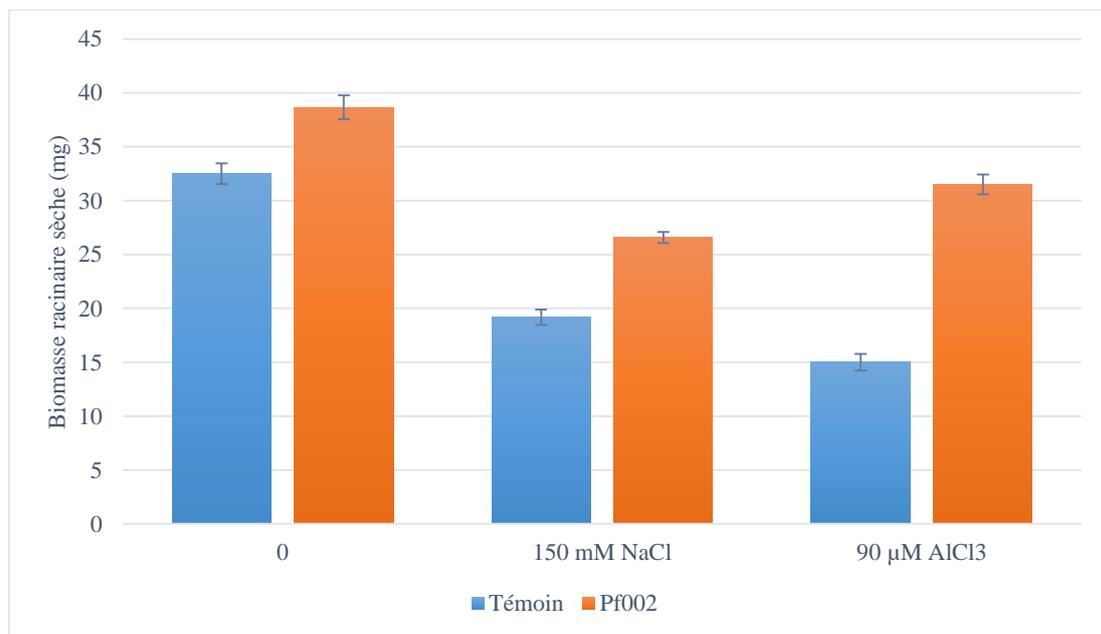


Figure 31 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plants cv. Clemente, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

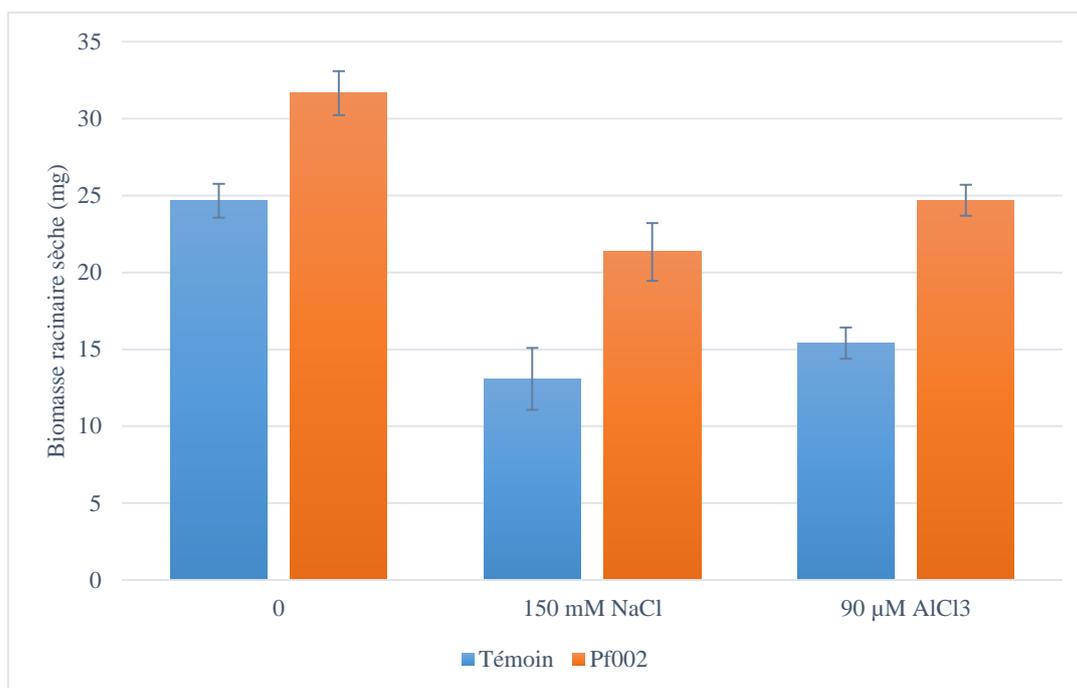


Figure 32 : Biomasses racinaires sèches moyennes des plants DZ, stressées et non stressées, inoculées et non inoculées par *Pf002*, cinq jours après la levée

6. Dosage d'AminoCyclopropane-1-Carboxylate deaminase (ACC deaminase)

L'activité ACC deaminase des bactéries *Pf002* et *Bt04* est mesuré par la dégradation de l'ACC dans le milieu de culture et dans le culot bactérien en utilisant trois concentrations d'ACC (0.1, 0.5 et 1mM). Pour s'assurer que la dégradation d'ACC dans le milieu est due uniquement aux activités bactériennes, nous avons comparé la dégradation d'un mM d'ACC dans le milieu King-b après 0h et après 24h. Les résultats montrent que les constituants du milieu King-b ne dégradent pas l'ACC (8666 et 9535 ng d'ACC présente dans le milieu après 0 et 24h respectivement) et donc les dégradations d'ACC issues lors de cet essai sont dues aux PGPR testées.

Les résultats obtenus révèlent que l'activité ACC deaminase chez les deux souches est très importante, et cette activité dans le culot bactérien est significativement supérieure que dans le milieu de culture (Annexe II, Tab 6).

La dégradation d'ACC par *Pf002* est passée de 1983 ng (avec l'addition de 0.1 mM d'ACC) à 6582 ng (avec 1mM d'ACC) dans le culot bactérien, tandis que dans le milieu nous n'avons enregistré que 479 ng (meilleur résultat) en présence d'un mM d'ACC (Fig. 33). L'intensité de cette dégradation chez *Bt04* était plus importante, à l'exemple du milieu avec la concentration

1mM d'ACC, les dégradations étaient 7429 ng et 293 ng respectivement dans le culot et dans le milieu (Fig. 34).

Un autre résultat intéressant était issu de cette expérience ; c'est la production de petites quantités d'ACC par les bactéries. Après 24h d'incubation, 40 et 10ng d'ACC sont produites dans le culot bactérien de *Pf002* et *Bt04* respectivement (Fig. 35).

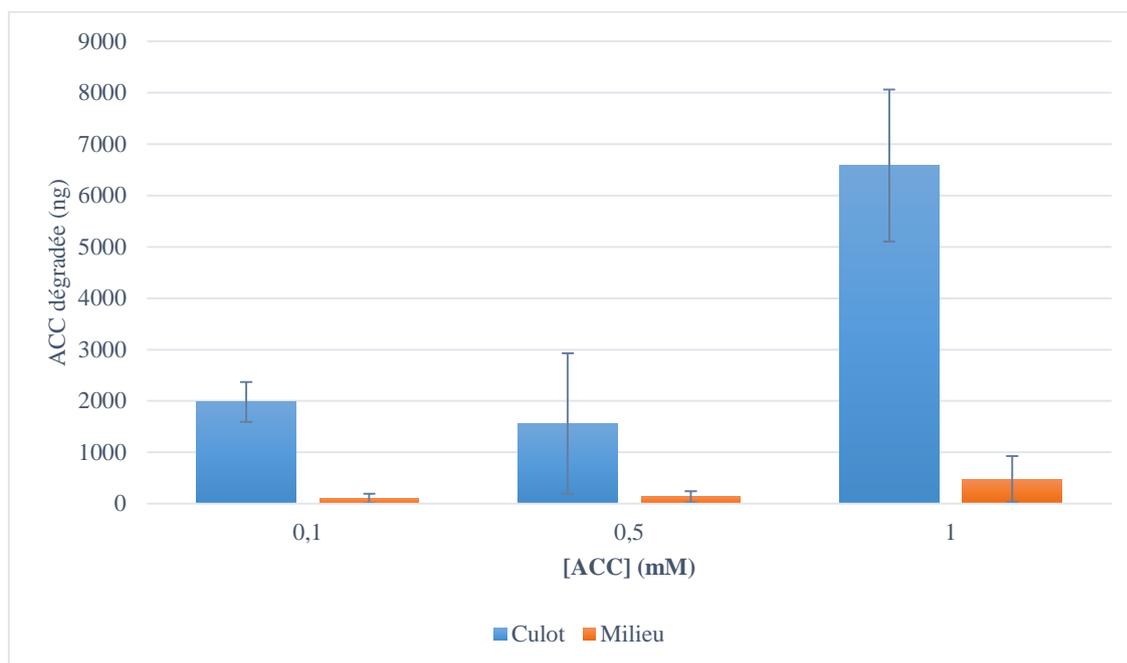


Figure 33 : Dégradation moyenne de l'ACC dans le culot et dans le milieu par *Pf002*

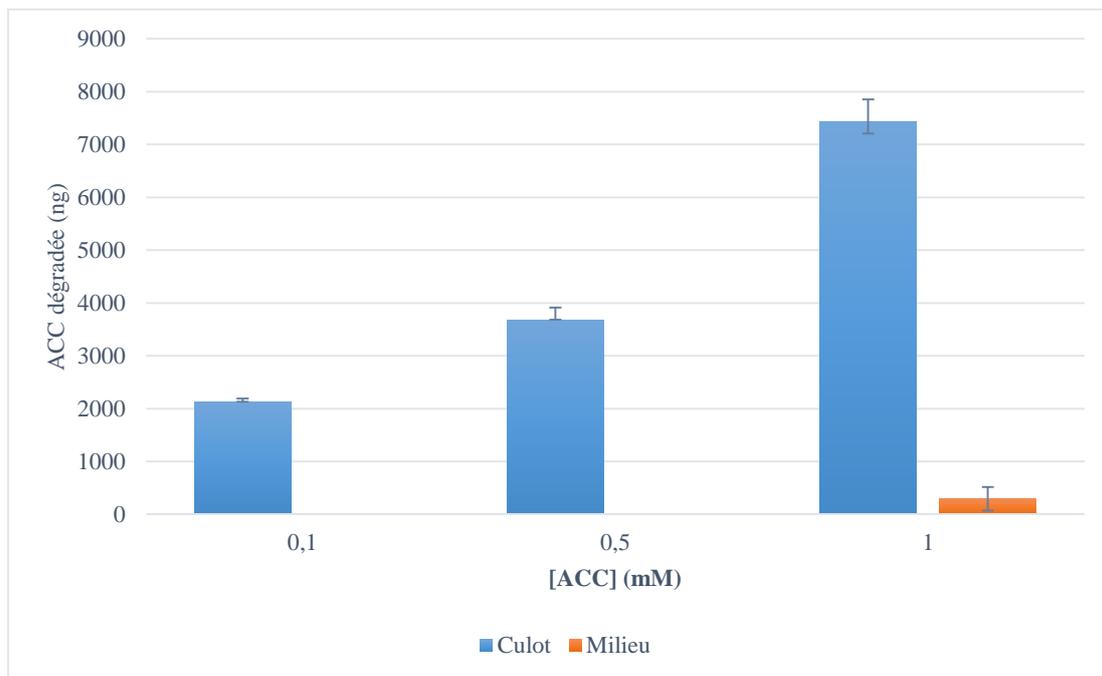


Figure 34 : Dégradation moyenne de l'ACC dans le culot et dans le milieu par *Bt04*

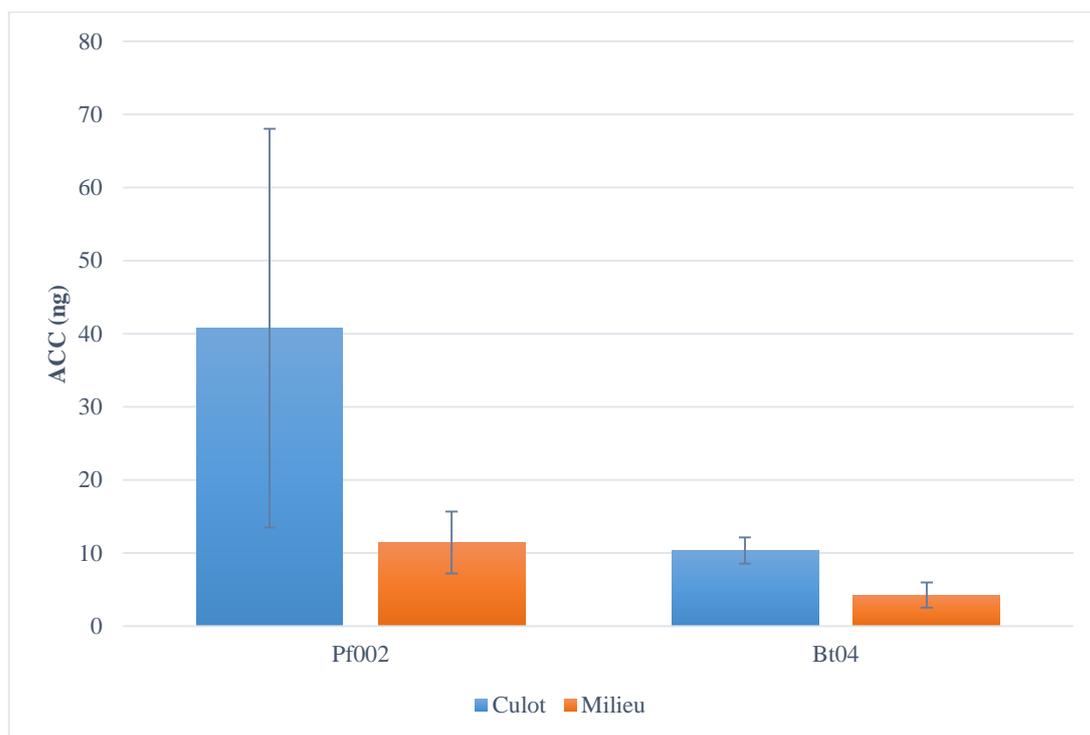


Figure 35 : ACC synthétisée par les bactéries *Pf002* et *Bt04* après 24h d'incubation

7. Colonisation rhizosphérique

L'essai de la vérification de la survie de la souche *Pf002* a montré après 24h une culture bactérienne fluorescente verte autour des fragments racinaires, ce qui confirme la présence de la souche appliquée (Fig. 36A).

Afin d'estimer la dynamique des *Pseudomonas fluorescens 002* dans des conditions de stress abiotiques (salin), leur concentration est obtenu en dénombrant les colonies bactériennes apparues après 24h de culture, qui sont fluorescentes de couleur blanchâtre à crème (Fig. 36 B,C). Les résultats issus de cet essai montrent que la survie de la souche *Pf002* n'est pas influencée par les conditions de stress salin (Fig. 36 B,C). Après 24h d'incubation, le nombre de CFU issus des racines stressées et des racines non stressées était élevé (> 300). Ce résultat est parfaitement en accord avec les travaux qui suggèrent que les populations des souches de *Pseudomonas* ne changent pas avec l'augmentation de la salinité dans le milieu (Diby et al., 2005).

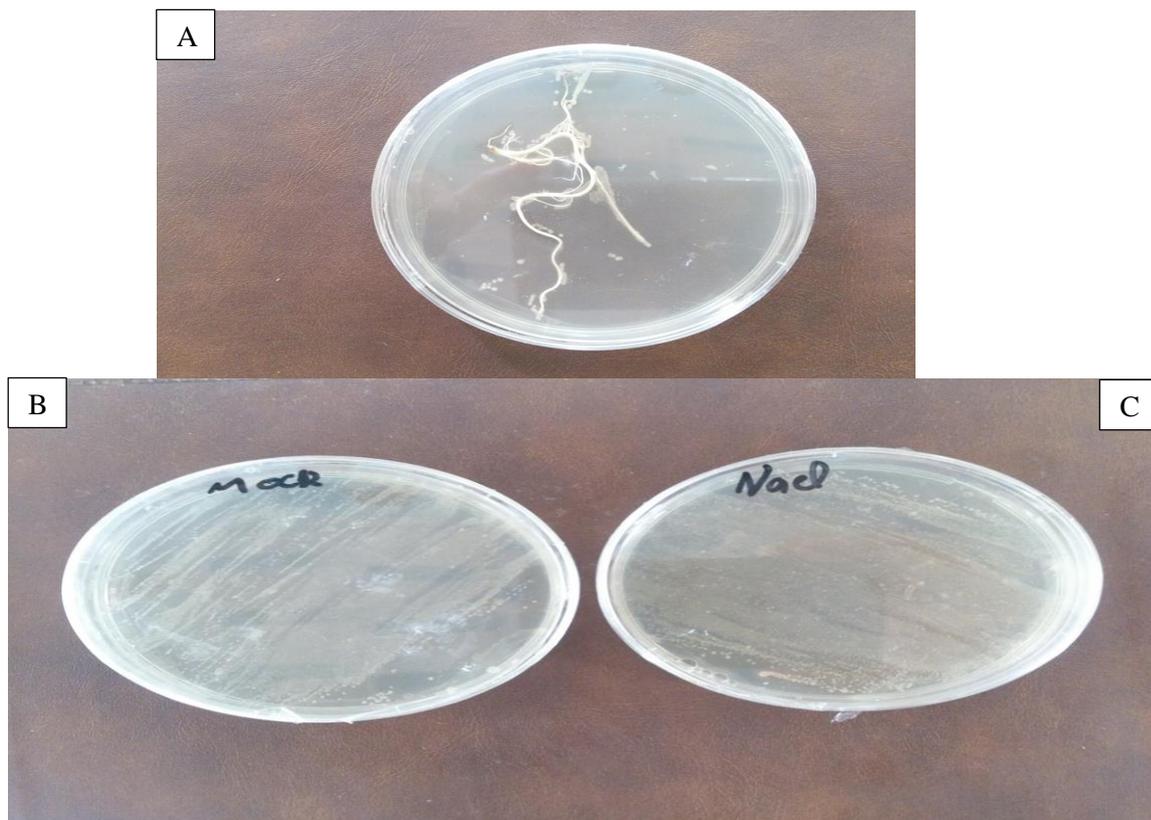


Figure 36 : Tolérance de la bactérie *Pf002* au sel. A : CFU formés, après 24h d'incubation, autours d'une portion de racine mise sous stress salin (150 mM) pendant 7jours. B : CFU formés après 24h d'incubation de 0.1 ml de solution issue de 1 cm² de racine cultivée dans de l'eau distillée. C : CFU formés après 24h d'incubation de 0.1 ml de solution issue de 1 cm² de racine cultivée dans 150 mM de NaCl.

8. Discussion

Dans cette partie de notre étude, nous avons testé le potentiel de *Pseudomonas fluorescens* 002 ; basé sur les caractères précités ; à réduire les effets nocifs du stress salin appliqué sur les plants du maïs. La salinité affecte la croissance de la plante en imposant des contraintes biotiques et ioniques (Shabala et Cuin, 2008). Celui-ci entraîne une augmentation du niveau du sodium dans la solution du sol conduisant à un mouvement inverse de l'eau ; hors des cellules végétales ; et par conséquent une réduction de la pression de turgescence des cellules (Yeo et al., 1991).

Dans la présente étude, des améliorations significatives en longueur racinaires, longueur des racines séminales, nombre de racines latérales et biomasse sèche ont été enregistrées dus à l'inoculation avec *Pf002*. El Zemrany et al. (2007) montrent que l'augmentation en biomasse des racines de maïs inoculées par *Azospirillum lipoferum CRT1* est due à la longueur supérieure des racines et au nombre plus élevé de radicelles, ce qui entraîne une ramification beaucoup plus importante. Par conséquent, les racines avaient une surface plus large pour interagir avec les particules du sol, l'eau et les microorganismes et réciproquement produit plus d'exsudats que le témoin (Groleau-Renaud et al., 1998). Cette hypothèse a été confirmée par Boruah et al. (2003) qui montrent que les racines de *Phaseolus vulgaris* inoculées par des souches de *Pseudomonas* avaient plus de racines latérales, une longueur racinaire plus importante et une plus grande biomasse racinaire. En conditions de sel, les PGPR agissent de manières différentes pour stimuler la croissance de la plante. L'un des mécanismes c'est la correction du déséquilibre nutritionnel causé par les niveaux trop élevés du sodium dans la solution du sol. L'augmentation du taux de sodium dans le sol provoque plus d'absorption de cet élément et diminue celle du potassium et du calcium par la plante (Pervaiz et al., 2002; Kohler et al., 2009). L'étude de Nadeem et al. (2009) a démontré que l'inoculation du maïs avec *Pseudomonas* peut permettre le maintien d'un ratio élevé de K-Na chez les plantes, en raison de l'absorption abaissée du sodium et de l'absorption accrue du potassium. Sous stress salin, *Bacillus subtilis* réduit l'absorption totale du sodium dans les tissus végétaux par la régulation de la haute affinité des transporteurs qui contrôlent la capture du sodium (Zhang et al., 2008).

Pf002 et *Bt04* ont une activité d'ACC déaminase très importante, ainsi que de petites quantités d'éthylène, ce qui nous a permis de les classer avec les PGPR productrices d'ACC déaminase. Le mécanisme de diminution du niveau d'éthylène dans la plante est un peu compliqué. Un modèle a été proposé par Glick et al. (1998) par lequel les PGPR pouvaient

diminuer le taux d'éthylène dans la plante. Les PGPR se lient à la surface de la plante (semences ou racines le plus souvent).

Les *Pseudomonas* peuvent améliorer la tolérance des plantes au stress salin par la production de l'ACC déaminase, qui peut cliver le précurseur de l'éthylène dans la plante ; le ACC ; et ainsi abaisser le niveau de l'éthylène dans la plante en voie de développement ou stressée. Pour beaucoup de plantes, il faut une augmentation d'éthylène pour casser la dormance des graines, mais, suivant la germination, un niveau élevé soutenu d'éthylène peut inhiber l'élongation des racines (Penrose et al., 2001). Cette hormone agit comme une hormone de maturité, favorise la formation de racines adventives et des poils absorbants, stimule la germination, rompt la dormance des graines ; favorise la croissance végétale, le développement et la sénescence. Pierik et al. (2006) ont proposé un modèle explicatif des effets contradictoires du stress d'éthylène lorsque la plante est soumise à des contraintes et que l'éthylène est synthétisé en deux pics. Le premier pic est généralement de petite taille et se produit dans les quelques heures suivant l'apparition des contraintes, il déclenche une réponse protectrice par la plante tel que la résistance acquise (van Loon et Glick, 2004). Le second pic est grand, il se produit habituellement dans les 1-3 jours qui suivent l'initiation du stress, et provoque des processus tels que la sénescence, la chlorose, l'abscission, et inhibe la survie de la plante. Une diminution sélective dans le second pic, mais pas le premier semblerait être avantageuse pour la croissance des plantes et peut être réalisée à l'aide de PGPR ayant l'enzyme ACC désaminase (Govindasamy et al., 2008).

Mais une question se pose quant à comment l'ACC déaminase bactérienne peut sélectivement baisser les niveaux de l'éthylène nocive mais n'affecte pas le petit pic d'éthylène qui est pensé pour activer certaines réactions de défense des plantes ?

L'ACC déaminase est généralement présente dans les bactéries à un niveau bas jusqu'à ce qu'elle soit induite, et l'induction de l'activité enzymatique est un processus relativement lent et complexe. Immédiatement après un stress environnemental, la réserve d'ACC dans la plante est faible tout comme le niveau de l'ACC déaminase dans les bactéries associées. À la suite de l'induction relativement rapide d'un faible niveau d'ACC oxydase dans la plante, il est probable qu'il y ait augmenté le flux à travers cette enzyme entraînant le premier petit pic d'éthylène, qui est d'une ampleur suffisante pour induire une réponse protectrice/défensive dans la plante. Avec le temps, l'ACC déaminase bactérienne est induite (par des quantités croissantes d'ACC qui ont suivi de l'induction de la ACC synthase dans la plante), de sorte que l'amplitude du second pic, délétère, d'éthylène diminue significativement (Fig. 37). Le second pic d'éthylène peut être

réduit considérablement, mais il est jamais complètement aboli, puisque l'ACC oxydase a une affinité beaucoup plus élevée de l'ACC que ne le fait ACC déaminase. Ainsi, lorsque l'ACC déaminase des bactéries productrices sont présentes, les concentrations d'éthylène sont finalement dépend du rapport ACC oxydase /ACC désaminase (Glick et al., 1998).

L'autre partie de notre étude était la promotion de la croissance des racines du maïs par une souche *Pseudomonas* sous stress d'aluminium. Nous avons testé l'effet de la souche *Pf002* pour atténuer les dommages causés par la toxicité aluminique dans les racines de maïs. Nos résultats étaient très encourageants : une augmentation importante de la biomasse racinaire est enregistrée dans les racines exposées pendant 6 jours à 90 μM de solution AlCl_3 .

Il est bien connu que les racines sont les organes de la plante les plus sensibles à l'aluminium, et que l'aluminium provoque une inhibition rapide de l'élongation des racines et limite le développement des racines latérales, conduisant à un système racinaire rabougri (Clarkson, 1965 ; Munns, 1965). Différentes hypothèses sur les mécanismes de cette inhibition induite par l'aluminium ont été discutées. La toxicité en aluminium interfère avec le métabolisme du calcium (Rengel, 1992), et bloque la division cellulaire des racines (Clarkson, 1965). L'aluminium est connu pour empêcher les protéines/enzymes qui dépendent du fer à fonctionner de manière efficace en raison de leur état trivalent semblable, il peut facilement se substituer au fer en particulier dans des environnements où ce premier est facilement accessible (Pérez et al., 1999).

Les études sont moins avancées en ce qui concerne les impacts de l'inoculation par les PGPR comme un facteur bénéfique sur la toxicité aluminique. Néanmoins la production de sidérophores est l'un des mécanismes avec lesquels *Pseudomonas* peut aider la plante à survivre dans des conditions de toxicité aluminique. Les résultats enregistrés par Lemire et al. (2010) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* peut survivre sous stress en aluminium en orchestrant un équilibre métabolique pour contrer la toxicité de l'aluminium. Les travaux de Kumar et al. (2001) sur la possibilité d'améliorer la production de pois par inoculation de PGPR ont montré que, dans un milieu de culture synthétique, des souches de *Pseudomonas* produisent des sidérophores. Comme le résumant Loper et Buyer (1991), les études de Cody et Gross (1987a), Meyer et Abdalah (1978), et Teintze et al. (1981) ont également enregistré que les souches de *Pseudomonas* sont capables de produire des sidérophores.

L'autre partie de notre étude était la promotion de la croissance des racines du maïs par une souche *Pseudomonas* sous stress d'aluminium. Nous avons testé l'effet de la souche *Pf002* pour atténuer les dommages causés par la toxicité aluminique dans les racines de maïs. Nos résultats étaient très encourageants : une augmentation importante de la biomasse racinaire est enregistrée dans les racines exposées pendant 6 jours à 90 μM de solution AlCl_3 .

Il est bien connu que les racines sont les organes de la plante les plus sensibles à l'aluminium, et que l'aluminium provoque une inhibition rapide de l'élongation des racines et limite le développement des racines latérales, conduisant à un système racinaire rabougri (Clarkson, 1965 ; Munns, 1965). Différentes hypothèses sur les mécanismes de cette inhibition induite par l'aluminium ont été discutées. La toxicité en aluminium interfère avec le métabolisme du calcium (Rengel, 1992), et bloque la division cellulaire des racines (Clarkson, 1965). L'aluminium est connu pour empêcher les protéines/enzymes qui dépendent du fer à fonctionner de manière efficace en raison de leur état trivalent semblable, il peut facilement se substituer au fer en particulier dans des environnements où ce premier est facilement accessible (Pérez et al., 1999).

Les études sont moins avancées en ce qui concerne les impacts de l'inoculation par les PGPR comme un facteur bénéfique sur la toxicité aluminique. Néanmoins la production de sidérophores est l'un des mécanismes avec lesquels *Pseudomonas* peut aider la plante à survivre dans des conditions de toxicité aluminique. Les résultats enregistrés par Lemire et al. (2010) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* peut survivre sous stress en aluminium en orchestrant un équilibre métabolique pour contrer la toxicité de l'aluminium. Les travaux de Kumar et al. (2001) sur la possibilité d'améliorer la production de pois par inoculation de PGPR ont montré que, dans un milieu de culture synthétique, des souches de *Pseudomonas* produisent des sidérophores. Comme le résumait Loper et Buyer (1991), les études de Cody et Gross (1987a), Meyer et Abdalah (1978), et Teintze et al. (1981) ont également enregistré que les souches de *Pseudomonas* sont capables de produire des sidérophores.

Discussion générale

Nos expériences ont mis en évidence les potentialités de deux souches de *Pf002* et de *Bt04* dans la promotion de la croissance de plantes de maïs. Cette phytostimulation est morphologique et biochimique. Comme il a été démontré des effets, suite à la bactérisation, d'atténuation des stress salin et allumique.

Les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'éthylène (en faible dose), l'ACC deaminase, le DAPG sont les métabolites, impliqués dans les processus de phytostimulation et de résistance aux stress biotiques et abiotiques, les plus étudiés (Young et al., 1997 ; Dobbelaere et al., 2003 ; Grichko et Glick, 2001). De nombreuses études sur les PGPR ont démontré la grande richesse et variabilité de ces métabolites. Noel et al. (1996) prouvent que les cytokinines produites par les PGPR sont impliquées directement dans la croissance des plantes. Young et al. (1997) confirment l'hypothèse précédant, en triant les PGPR à base de la production des phytohormones ils ont remarqués une corrélation entre l'induction racinaire et la production de cytokinines par les bactéries. Les PGPR confèrent aux plantes une résistance au stress salin c'est la production de l'enzyme ACC deaminase, or la synthèse de cet enzyme est dépendante de l'AIA. L'AIA peut stimuler la prolifération des cellules végétales, l'élongation cellulaire ou induire la transcription de l'ACC deaminase (Grichko et Glick, 2001).

Étant donné que les poils absorbons sont des sites d'absorption des éléments nutritifs, il est probable qu'un des mécanismes par lequel les PGPR conduisent à une augmentation d'absorption des éléments nutritifs est la stimulation du développement des racines (Yang et al., 2009). Il a été également suggéré que les PGPR augmentent l'absorption des ions minéraux par la stimulation de la pompe à protons 'l'ATPase' (Mantelin et Touraine, 2004). Dans une autre étude, Dursun et al. (2008) rapportent que les applications des PGPR augmentent la teneur minérale des feuilles de plantes en particulier celles de N, K, P, Zn, Fe, Mn, Na, Ca et Mg.

Dans des conditions de stress salin, Rojas-Tapias et al. (2012) et Hamdia et al. (2004) rapportent que l'inoculation avec *Azotobacter chroococcum* augmente les concentrations du potasse, magnésium et calcium et diminue celle du sodium dans la plante. Autres études confirment ces résultats en trouvant que l'inoculation avec des exopolysaccharides produites par les bactéries pourrait restreindre l'afflux de sodium dans les racines (Ashraf et al., 2004 ; Kohler et al., 2006). L'aluminium interfère avec une variété de processus biologiques en raison de sa capacité à imiter de nombreux métaux essentiels tels que le fer, le calcium et le magnésium. La stabilisation d'ATP et la dynamique membranaire catalysées par le magnésium

sont connues pour être affectées par l'aluminium (Nayak, 2002). L'amélioration de la production de métabolites secondaires, en particulier des composés phénoliques et les flavonoïdes, peut-être la clé pour améliorer la tolérance du maïs à la toxicité en aluminium. Les plantes sécrètent des acides organiques comme le citrate, maltate et oxalate pour séquestrer l'aluminium dans un effort pour réduire au minimum l'influence négative de ce métal sur l'homéostasie du fer. Les travaux menés par Sangeetha et al. (2013) ont enregistré que *P. fluorescens* a une synthèse efficace de composés phénoliques et flavonoïdes. L'étude de Walker et al. (2011) a montré que l'interaction entre le maïs et les PGPR a provoqué une augmentation de la sécrétion racinaire de métabolites primaires (tel que le citrate et le maltate), et de métabolites secondaires (flavonoïdes, phénols,...). Les travaux menés pour étudier la capacité de colonisation racinaire par les PGPR sont marqués par une grande réussite notamment en conditions hors-sol (substrat artificiel) et conditions contrôlées (Gnotobiotique). Cependant en conditions proches des pratiques agricole, la réussite reste relative (Zahir et al., 2003). L'un des principaux facteurs qui rend les racines du maïs facilement colonisées par les *Pseudomonas* c'est la synthèse de certains métabolites et exsudats racinaires qui attirent les bactéries de ce genre. Les benzoxinoïdes ; en plus de leur rôle dans le mécanisme de défense contre les maladies et la synthèse des antibiotiques ; jouent un rôle d'attracteur des *Pseudomonas* (Neal et al., 2012). Le maïs est une céréale connue par la production des exsudats riches en sucres, acides aminés et glucides. Ces composantes sont facilement disponibles pour des différents microorganismes ce qui peut stimuler leur croissance (Baudoin et al., 2001), et spécialement les espèces du genre *Pseudomonas* (Pandy et al., 1998). La réussite de l'inoculation par *Pseudomonas* et *Bacillus* reste dépendante des bonnes formulations d'application et des bonnes conditions du milieu. Nous avons pu montrer que les deux méthodes d'inoculation (traitement direct des semences et apport de solution bactérienne après le semis) ont abouties aux résultats envisagés. Cependant, il est nécessaire de connaître quelles pratiques culturales appropriées pour assurer les effets bénéfiques des souches de PGPR phytostimulatrices. Dennert et al. (2015) ont mené des travaux sur l'efficacité des souches de *Pseudomonas* dans des parcelles gérées avec des pratiques différentes, telles que le labour, le non-labour, la fertilisation organique, la fertilisation minérale, la monoculture de blé ou la rotation des cultures. Les échantillons du sol des parcelles non-labourées et des celles fertilisées par des engrais organiques étaient plus riches en phénazines (des métabolites anti-fongiques) que les sols gérés par les autres pratiques. Cela indique qu'il est possible de promouvoir la santé des sols et assurer la pérennité des effets bénéfiques de microorganismes en adaptant les méthodes agricoles.

Conclusion

Les enjeux mondiaux actuels ont conduit parmi les choix l'adaptation du système plantes-microbes. En effet, ces préoccupations peuvent se résumer en une production alimentaire plus importante et de bonne qualité afin de répondre aux besoins croissants de la population mondiale, et cela en respectant l'environnement donc en optant pour une agriculture durable. Or, des systèmes d'agriculture durable incluent l'utilisation des microorganismes bénéfiques pour permettre la croissance et la santé des plantes.

L'application des souches rhizobactériennes de *Pseudomonas fluorescens* 002 et *Bacillus toyonensis* 04 sur trois variétés de maïs : DZ, cv 12097 et cv. Clemente nous a permis d'évaluer les activités de phytostimulation et d'atténuation de stress ; salin et aluminique ; de ces deux souches. Une différence significative a été enregistrée entre les plants bactérisés et leurs témoins respectifs. Des gains notables sont marqués en paramètres de croissance et physiologiques. Durant toutes les périodes étudiées et en fonction du type du substrat (sol désinfecté ou papier filtre), de la variété et de la souche bactérienne testée l'effet est différentiel. Les données enregistrées traduisent la complexité des phénomènes impliqués dans cette interaction plante-rhizobactéries et sol.

Le présent travail nous a permis de constater un effet positif de l'inoculation bactérienne quelle que soit la bactérie utilisée ou la modalité d'apport ou les conditions du milieu sur l'ensemble des paramètres étudiés (mise à part le nombre de feuilles)

Nous avons pu affirmer l'influence négative de la salinité et de la toxicité en aluminium sur le développement racinaire des plants du maïs (les différences sont significatives). Cependant, dans de telles conditions les meilleures performances ont concerné la longueur des racines séminales et le nombre de racines latérales. Les gains sont plus notables en conditions de stress où nous avons marqué des augmentations, pour la longueur des racines séminales, de l'ordre de 356% et 84% respectivement, en conditions de toxicité en aluminium et sous stress salin, par rapport à 31% sans application de stress. Ce bilan peut être justifié par l'efficacité des PGPR en conditions de stress, du moment que les PGPR font intervenir des mécanismes d'action liés au métabolisme secondaire dans la promotion de la croissance des plantes.

Des augmentations appréciables sont obtenues en biomasse fraîche et sèche des plantes, en synthèse de glucides, protéines et phénols ainsi que le taux de chlorophylle, résultant de la bactérisation par les deux souches étudiées. Cependant, les gains sont plus appréciables en sol, où les gains atteignent 47% par rapport à 41% en papier filtre (la longueur racinaire) et 53%

par rapport à 29% (biomasse racinaire sèche) respectivement, pour les essais en sol et en papier filtre. Ce constat peut traduire l'efficacité des rhizobactéries en conditions naturelles du sol, puisque ces rhizobactéries sont fortement liées aux caractéristiques agropédologiques du sol.

Cette étude permet de constater un comportement plus au moins hétérogène durant les périodes d'études, exemple ici des hauteurs moyennes des tiges où les améliorations étaient 28%, 36% et 31% pour 10 j.a.l., 30 j.a.l. et 70 j.a.l. respectivement. Ceci est le résultat de la complexité de l'interaction entre la plante hôte et les rhizobactéries, surtout après les stades juvéniles.

Les résultats obtenus révèlent que la bactérisation avec la souche *Pf002* est le meilleur traitement pour l'ensemble de paramètres mesurés sauf la surface foliaire, la date de floraison (mâle et femelle) et la teneur en phénols où *Bt04* était le meilleur traitement. Cependant, la combinaison des deux souches (*Pf002* et *Bt04*) a permis d'améliorer l'activité phytostimulatrice de la souche *Bt04*. A travers différents mécanismes et différentes interactions avec la plante hôte, les PGPR sont capables de coloniser les racines et occuper la rhizosphère adjacente, ce qui leur permettra d'interagir avec les exsudats racinaires, qui sont eux-mêmes une source de sélection des PGPR.

L'étude de la colonisation racinaire de la souche *Pf002* a révélé une colonisation importante qui n'est pas affectée par les conditions du stress salin du milieu. Ce constat permet d'affirmer la réussite de la bactérisation des plants du maïs. La résistance de cette souche à la salinité est, peut-être, due à des adaptations acquises dans l'habitat initiale ; la rhizosphère du palmier dattier ; où les fortes irrigations avec des eaux salées et les fortes températures provoquent une salinité assez importante.

Ce travail de thèse ouvre de nouvelles perspectives, qu'il serait intéressant de considérer dans le futur. La compréhension des voies de signalisation dans la plante est un critère indispensable pour garantir l'efficacité des effets phytobénéfiques recherchés.

Un aspect manquant de l'interaction rhizosphériques aurait été intéressant à prendre en compte, afin de compléter cette vision des interactions : l'ajout des analyses de composition des rhizodépôts produits par la plante. Cependant, de telles analyses sont complexes à mettre en œuvre car elles nécessitent de distinguer dans la rhizosphère les différents composants produits par les plantes et les microorganismes.

Des travaux présentés dans ce manuscrit de thèse reposent sur des expériences de confrontation entre *Pseudomonas* et *Bacillus* inoculés, alors que des populations indigènes de *Pseudomonas* et *Bacillus* peuvent être mises en évidence dans une même rhizosphère. Cela pose la question de la compatibilité entre ces deux genres de PGPR au niveau des populations indigènes de la rhizosphère. De tels travaux pourraient être réalisés par une approche de puce à ADN ciblant plusieurs espèces de ces deux genres.

Dans un contexte plus large, il est important de considérer la rhizosphère comme un environnement dynamique, siège de nombreux échanges de signaux provenant des plantes ou d'autres bactéries rhizosphériques. Dans le cadre de ces travaux de thèse, seules des interactions entre une céréale et deux souches de *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été prises en compte. Cette démarche a été entreprise afin de mettre en évidence les mécanismes directement impliqués dans l'adaptation des partenaires les uns aux autres. Cependant, il sera nécessaire de valider ces observations dans des systèmes plus complexes tels qu'en sol naturel (plein champ), afin de prendre en compte les interactions multipartites entre la plante, *Pseudomonas* et *Bacillus* et la communauté rhizosphérique totale. La présence de microorganismes pathogènes pourrait notamment déplacer l'équilibre défense/croissance du partenaire végétal, en faveur des réactions de défense. Il serait alors intéressant d'étudier dans quelle mesure la présence de *Pseudomonas* et/ou *Bacillus* contribuerait à déplacer à nouveau cet équilibre en faveur de la croissance de la plante.

Mieux comprendre le fonctionnement du système plantes-microorganismes permettrait de nouvelles perspectives d'innovations, dans les domaines agricole, alimentaire et environnemental, dont la pérennisation dépend de ces interactions.

Références bibliographiques

1. Abbasdokht, H., et Gholami, A. (2010). The effect of seed inoculation (*Pseudomonas putida*+ *Bacillus lentus*) and different levels of fertilizers on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *World Acad. Sci. Eng. Technol*, 68, 979-983.
2. Abeles, F. B., Morgan, P. W., et Saltveit Jr, M. E. (2012). Ethylene in plant biology. Academic press.
3. Adesemoye, A. O., Obini, M., et Ugoji, E. O. (2008). Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 423-426.
4. Ahmad, F., Ahmad, I., et Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
5. Albacete, A., Ghanem, M. E., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Martínez, V., ... et Pérez-Alfocea, F. (2008). Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany*, 59(15), 4119-4131.
6. Amer, G.A. et Utkhede, R.S. (2000). Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. *Revue canadienne de microbiologie*, 46(9), 809-816. <http://dx.doi.org/10.1139/w00-063>
7. Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., et Lalande, R. (1998). Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and soil*, 204(1), 57-67.
8. Anzala, F. J. (2006). *Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (Zea mays): étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs* (Doctoral dissertation, Université d'Angers). P 148.
9. Arkhipova, T. N., Prinsen, E., Veselov, S. U., Martinenko, E. V., Melentiev, A. I., et Kudoyarova, G. R. (2007). Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant and Soil*, 292(1-2), 305-315.
10. Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., et Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), 157-162.
11. Australian Government Office of the Gene Technology Regulator (2008). The Biology of *Zea mays* L. *ssp mays* (maize or corn). p 80

12. Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology letters*, 32(11), 1559-1570.
13. Bahme, J. B., & Schroth, M. N. (1987). Spatial-temporal colonization patterns of a rhizobacterium on underground organs of potato. *Phytopathology*, 77(7), 1093-1100.
14. Banerjee, M. R., Yesmin, L., et Vessey, J. K. (2006). Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. *Handbook of microbial biofertilizers. Food Products Press, Ney York*, 137-181.
15. Barazani, O. Z., et Friedman, J. (1999). Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria?. *Journal of Chemical Ecology*, 25(10), 2397-2406.
16. Bardgett, R. D., Bowman, W. D., Kaufmann, R., & Schmidt, S. K. (2005). A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(11), 634-641.
17. Bastián, F., Cohen, A., Piccoli, P., Luna, V., Bottini, R., et Baraldi, R. (1998). Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. *Plant growth regulation*, 24(1), 7-11.
18. Baudoin, E., Benizri, E., et Guckert, A. (2001). Metabolic fingerprint of microbial communities from distinct maize rhizosphere compartments. *European Journal of Soil Biology*, 37(2), 85-93.
19. Belimov, A. A., Dodd, I. C., Hontzeas, N., Theobald, J. C., Safronova, V. I., et Davies, W. J. (2009). Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytologist*, 181(2), 413-423.
20. Belimov, A. A., Dodd, I. C., Safronova, V. I., Hontzeas, N., et Davies, W. J. (2007). *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1485-1495.
21. Belimov, A. A., Hontzeas, N., Safronova, V. I., Demchinskaya, S. V., Piluzza, G., Bullitta, S., et Glick, B. R. (2005). Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry*, 37(2), 241-250.

22. Belimov, A. A., Kojemiakov, A. P., et Chubarliyeva, C. N. (1995). Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 173(1), 29-37.
23. Benizri, E., Schoeny, A., Picard, C., Courtade, A., et Guckert, A. (1997). External and internal root colonization of maize by two *Pseudomonas* strains: enumeration by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Current microbiology*, 34(5), 297-302.
24. Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C. P., et Enebak, S. (2001). Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(9), 793-800.
25. Bethlenfalvai, G. J., Andrade, G., et Azco'n-Aguilar, C. (1997). Plant and soil responses to mycorrhizal fungi and rhizobacteria in nodulated or nitrate-fertilized peas (*Pisum sativum* L.). *Biology and fertility of soils*, 24(2), 164-168.
26. Bever, J. D., Platt, T. G., et Morton, E. R. (2012). Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. *Annual review of microbiology*, 66, 265.
27. Bever, J. D., Richardson, S. C., Lawrence, B. M., Holmes, J., et Watson, M. (2009). Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. *Ecology letters*, 12(1), 13-21.
28. Beyeler, M., Keel, C., Michaux, P., et Haas, D. (1999). Enhanced production of indole-3-acetic acid by a genetically modified strain of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 affects root growth of cucumber, but does not improve protection of the plant against *Pythium* root rot. *FEMS microbiology ecology*, 28(3), 225-233.
29. Bezemer, T. M., Fountain, M. T., Barea, J. M., Christensen, S., Dekker, S. C., Duyts, H., ... et Mikola, J. (2010). Divergent composition but similar function of soil food webs of individual plants: plant species and community effects. *Ecology*, 91(10), 3027-3036.
30. Bienfait, H. F. (1989). Prevention of stress in iron metabolism of plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 38(2), 105-129.
31. Birch, C. J., Hammer, G. L., et Rickert, K. G. (1998). Temperature and photoperiod sensitivity of development in five cultivars of maize (*Zea mays* L.) from emergence to tassel initiation. *Field Crops Research*, 55(1), 93-107.
32. Bloemberg, G. V., et Lugtenberg, B. J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current opinion in plant biology*, 4(4), 343-350.

- 33.** Bochow, H., El-Sayed, S. F., Junge, H., Stavropoulou, A., et Schmiedeknecht, G. (2001). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. IV. Salt-stress tolerance induction by *Bacillus subtilis* FZB24 seed treatment in tropical vegetable field crops, and its mode of action/Die Verwendung von *Bacillus subtilis* zur biologischen Bekämpfung. IV. Induktion einer Salzstress-Toleranz durch Applikation von *Bacillus subtilis* FZB24 bei tropischem Feldgemüse und sein Wirkungsmechanismus. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 21-30.
- 34.** Bolan, N. S., Adriano, D. C., et Curtin, D. (2003). Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and bioavailability. *Advances in Agronomy*, 78, 215-272.
- 35.** Bolwerk, A., Lagopodi, A. L., Wijffjes, A. H., Lamers, G. E., Chin-A-Woeng, T. F., Lugtenberg, B. J., et Bloemberg, G. V. (2003). Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(11), 983-993.
- 36.** Boruah, H. D., Rabha, B. K., Saikia, N., et Kumar, B. D. (2003). Fluorescent *Pseudomonas* influences palisade mesophyll development and spatial root development in *Phaseolus vulgaris*. *Plant and soil*, 256(2), 291-301.
- 37.** Brencic, A., et Winans, S. C. (2005). Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69(1), 155-194.
- 38.** Brock, J. L., Albrecht, K. A., Tilbrook, J. C., et Hay, M. J. M. (2000). Morphology of white clover during development from seed to clonal populations in grazed pastures. *The Journal of Agricultural Science*, 135(02), 103-111.
- 39.** Brown, M. E. (1974). Seed and root bacterization. *Annual review of phytopathology*, 12(1), 181-197.
- 40.** Bünemann, E. K., Bossio, D. A., Smithson, P. C., Frossard, E., et Oberson, A. (2004). Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(6), 889-901.
- 41.** Boruah, H. D., Rabha, B. K., Saikia, N., et Kumar, B. D. (2003). Fluorescent *Pseudomonas* influences palisade mesophyll development and spatial root development in *Phaseolus vulgaris*. *Plant and soil*, 256(2), 291-301.

42. Burd, G. I., Dixon, D. G., et Glick, B. R. (2000). Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian journal of microbiology*, 46(3), 237-245.
43. Çakmakçı, R., Kantar, F., et Sahin, F. (2001). Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(5), 527-531.
44. Campanella, J. J., Smith, S. M., Leibu, D., Wexler, S., et Ludwig-Müller, J. (2008). The auxin conjugate hydrolase family of *Medicago truncatula* and their expression during the interaction with two symbionts. *Journal of Plant Growth Regulation*, 27(1), 26-38.
45. Campbell, R., Greaves, M. P., et Lynch, J. M. (1990). Anatomy and community structure of the rhizosphere. *The rhizosphere.*, 11-34.
46. Cattelan, A. J., Hartel, P. G., et Fuhrmann, J. J. (1999). Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6), 1670-1680.
47. Chabaud, M., Lichtenzveig, J., Ellwood, S., Pfaff, T., et Journet, E. P. (2006). Vernalization, crossings and testing for pollen viability. *The Medicago Truncatula Handbook*.
48. Charest, M. H., Beauchamp, C. J., et Antoun, H. (2005). Effects of the humic substances of de-inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS microbiology ecology*, 52(2), 219-227.
49. Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W. A., et Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied soil ecology*, 34(1), 33-41.
50. Clarkson, D. T. (1965). The effect of aluminium and some other trivalent metal cations on cell division in the root apices of *Allium cepa*. *Annals of Botany*, 29(2), 309-315.
51. Cohen, J. D., Baldi, B. G., et Slovin, J. P. (1986). 13C₆-[Benzene Ring]-indole-3-acetic acid a new internal standard for quantitative mass spectral analysis of indole-3-acetic acid in plants. *Plant Physiology*, 80(1), 14-19.
52. Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., ... et Moëgne-Loccoz, Y. (2013). Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*-*Pseudomonas*-*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(10), 4639-4649.

53. Crowley, D. E., Reid, C. P. P., et Szaniszló, P. J. (1987). Microbial siderophores as iron sources for plants. *Iron transport in microbes, plants and animals/edited by Gunther Winkelmann, Dick van der Helm, Joe B. Neilands. eds (VCH, Weinheim)*, 375-385
54. Crozier, A., Kamiya, Y., Bishop, G., & Yokota, T. (2000). Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants, BB Buchanan, W. Gruissem, and RL Jones, eds (Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists)*, 850-929.
55. Davis, A. S., Hill, J. D., Chase, C. A., Johanns, A. M., et Liebman, M. (2012). Increasing cropping system diversity balances productivity, profitability and environmental health. *PloS one*, 7(10), e47149.
56. Decaëns, T. (2010). Macroecological patterns in soil communities. *Global Ecology and Biogeography*, 19(3), 287-302.
57. Denison, R. F., et Kiers, E. T. (2004). Lifestyle alternatives for rhizobia: mutualism, parasitism, and forgoing symbiosis. *FEMS Microbiology Letters*, 237(2), 187-193.
58. DIBY, P., Anandaraj, M., Kumar, A., et Sarma, Y. R. (2005). Antagonistic mechanisms of fluorescent pseudomonads against *Phytophthora capsici* in black pepper (*Piper nigrum* L.).
59. Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Broek, A. V., et Vanderleyden, J. (1999). Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and soil*, 212(2), 153-162.
60. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., et Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(2), 107-149.
61. Doornbos, R. F., van Loon, L. C., et Bakker, P. A. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 227-243.
62. Dursun, A., Ekinici, M., et Dönmez, M. F. (2008). Effects of inoculation bacteria on chemical content, yield and growth in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*). *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 3197.
63. Duss, F., Mozafar, A., Oertli, J. J., et Jaeggi, W. (1986). Effect of bacteria on the iron uptake by axenically-cultured roots of Fe-efficient and Fe-inefficient tomatoes (*Lycopersicon esculentum* mill.). *Journal of plant nutrition*, 9(3-7), 587-598.

64. Zörb, C., Schmitt, S., Neeb, A., Karl, S., Linder, M., Schubert, S. (2004). The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Science*. 167, 91-100.
65. Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., Guo, B. (2010). Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *Agricultural Water Management*. 97, 1994–2000.
66. Dwivedi, D., et Johri, B. N. (2003). Antifungals from fluorescent pseudomonads: biosynthesis and regulation. *Current Science*, 85(12), 1693-1703.
67. Egamberdieva, D. (2010). Growth response of wheat cultivars to bacterial inoculation in calcareous soil. *Plant Soil Environ*, 56(12), 570-573.
68. Egamberdieva, D., et Kucharova, Z. (2009). Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and fertility of soils*, 45(6), 563-571.
69. Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., ... et Lugtenberg, B. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and fertility of soils*, 47(2), 197-205.
70. El Zemrany, H., Czarnes, S., Hallett, P. D., Alamercery, S., Bally, R., et Monrozier, L. J. (2007). Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1. *Plant and soil*, 291(1-2), 109-118.
71. Erturk, Y., Ercisli, S., Sekban, R., Haznedar, A., et Donmez, M. F. (2008). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of tea (*Camellia sinensis* var. *Sinensis*) cuttings. *Romanian Biotechnological Letters*, 13(3), 3747-3756.
72. Evelin, H., Kapoor, R., et Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of botany*, 104(7), 1263-1280.
73. Fallik, E., Sarig, S., et Okon, Y. (1994). Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. *Azospirillum/plant associations*, 77-85.
74. FAO, 2016. Situation alimentaire mondiale. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>

75. FAO, 2008. Land and plant nutrition management service.
www.fao.org/ag/agl/agll/spush
76. Farag, M. A., Zhang, H., et Ryu, C. M. (2013). Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles. *Journal of chemical ecology*, 39(7), 1007-1018.
77. Farzana, Y., et Radizah, O. (2005). Influence of rhizobacterial inoculation on growth of the sweet potato cultivar. *Online J. Biol. Sci*, 1(3), 176-179.
78. Farzana, Y., Radziah, O., Saad, S., et Kamaruzaman, S. (2009). Growth and storage root development of sweetpotato inoculated with rhizobacteria under glasshouse conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2), 1461-1466.
79. Dennert, F., Imperiali, N., Mavrodi, D., Mavrodi, O., van der Heijden, M., Mäder, P., Charles, R., Mascher, F., Keel, C., Maurhofer-Bringolf, M. (2015). In Rhizosphère 4. Maastricht, the Netherlands.
80. Frankenberger Jr, W. T., et Arshad, M. (1995). *Phytohormones in soils: microbial production and function*. Marcel Dekker, Inc., 509.
81. Fricke, W., Akhiyarova, G., Veselov, D., et Kudoyarova, G. (2004). Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. *Journal of Experimental Botany*, 55(399), 1115-1123.
82. Fridlender, M., Inbar, J., et Chet, I. (1993). Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1, 3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(9), 1211-1221.
83. García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., et Nelson, L. M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(5), 404-411.
84. George Jr, et Brown E. B. (2008). Research Databases. Bibliography on Salt Tolerance. *USDA-ARS. US Dep. Agric. Res. Serv. Riverside, CA*.
85. Gerretsen, F. C. (1948). The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. *Plant and Soil*, 1(1), 51-81.
86. Ghosh, S., Penterman, J. N., Little, R. D., Chavez, R., et Glick, B. R. (2003). Three newly isolated plant growth-promoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(3), 277-281.

- 87.** Gill, R. A., et Jackson, R. B. (2000). Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, *147*(1), 13-31.
- 88.** Glick, B. (1995). Genotyping of antifungal compounds producing PGPR *Pseudomonas*. *Canadian Journal of Microbiology*, *41*, 107-109.
- 89.** Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., et Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, *119*(3), 329-339.
- 90.** Glick, B. R., Jacobson, C. B., Schwarze, M. M., et Pasternak, J. J. (1994). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Canadian Journal of Microbiology*, *40*(11), 911-915.
- 91.** Glick, B. R., Karaturović, D. M., et Newell, P. C. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, *41*(6), 533-536.
- 92.** Glick, B. R., Penrose, D. M., et Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, *190*(1), 63-68.
- 93.** Gouzou, L., Burtin, G., Philippy, R., Bartoli, F., et Heulin, T. (1993). Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the wheat rhizosphere: preliminary examination. *Geoderma*, *56*(1), 479-491.
- 94.** Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Gaikwad, K., et Annapurna, K. (2008). Isolation and characterization of ACC deaminase gene from two plant growth-promoting rhizobacteria. *Current microbiology*, *57*(4), 312-317.
- 95.** Grichko, V. P., et Glick, B. R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*, *39*(1), 11-17.
- 96.** Groleau-Renaud, V., Plantureux, S., et Guckert, A. (1998). Influence of plant morphology on root exudation of maize subjected to mechanical impedance in hydroponic conditions. *Plant and Soil*, *201*(2), 231-239.
- 97.** Guilfoyle, T. J., Ulmasov, T., et Hagen, G. (1998). The ARF family of transcription factors and their role in plant hormone-responsive transcription. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, *54*(7), 619-627.
- 98.** Gutiérrez-Mañero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., R Tadeo, F., et Talon, M. (2001). The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and

- Bacillus licheniformis produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111(2), 206-211.
- 99.** Hamdia, M. A. E. S., Shaddad, M. A. K., et Doaa, M. M. (2004). Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of Azospirillum brasilense inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*, 44(2), 165-174.
- 100.** Han, H. S., et Lee, K. D. (2006). Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil and Environment*, 52(3), 130.
- 101.** Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., et Lorito, M. (2004). Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- 102.** Hartle, J. E., Prpic, V., Siddhanti, S. R., Spurney, R. F., et Quarles, L. D. (1996). Differential regulation of receptor-stimulated cyclic adenosine monophosphate production by polyvalent cations in MC3T3-E1 osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research*, 11(6), 789-799.
- 103.** Hartmann, A., Rothballer, M., et Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*, 312(1-2), 7-14.
- 104.** Hayat, R., Ahmed, I., et Sheirdil, R. A. (2012). An overview of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In *Crop Production for Agricultural Improvement* (pp. 557-579). Springer Netherlands.
- 105.** Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., et Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598.
- 106.** Hedge, J.E., Hofreiter, B.T. (1962) Carbohydrate chemistry 17. In: Whistler RL, Be Miller JN, Academic Press, New York
- 107.** Heller, R., Esnault, R., et Lance, C. (1993). Plant physiology. *I. Nutrition* (No. Ed. 5). Masson.
- 108.** Holland, J. N., DeAngelis, D. L., et Schultz, S. T. (2004). Evolutionary stability of mutualism: interspecific population regulation as an evolutionarily stable strategy. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1550), 1807-1814.
- 109.** Horie, T., Brodsky, D. E., Costa, A., Kaneko, T., Schiavo, F. L., Katsuhara, M., et Schroeder, J. I. (2011). K⁺ transport by the OshKT2; 4 transporter from rice with

- atypical Na⁺ transport properties and competition in permeation of K⁺ over Mg²⁺ and Ca²⁺ ions. *Plant Physiology*, 156(3), 1493-1507.
- 110.** Husen, E. (2013). Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 4(1).
- 111.** Johri, B. N. (2001). Technology development and demonstration of a new bacterial inoculant (GRP3) for improved legume production. *Uttar Pradesh Government, Project report*.
- 112.** Joo, G. J., Kim, Y. M., Lee, I. J., Song, K. S., et Rhee, I. K. (2004). Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. *Biotechnology letters*, 26(6), 487-491.
- 113.** Karnwal, A. (2009). Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of L-tryptophan and rice root exudates. *Journal of Plant Pathology*, 61-63.
- 114.** Kausar, R., et Shahzad, S. M. (2006). Effect of ACC-deaminase containing rhizobacteria on growth promotion of maize under salinity stress. *J Agric Soc Sci*, 2(4), 216-218.
- 115.** Kaushik, R., Saxena, A. K., et Tilak, K. V. B. R. (2000). Selection of Tn5:: lacZ mutants isogenic to wild type *Azospirillum brasilense* strains capable of growing at sub-optimal temperature. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(6), 567-570.
- 116.** Kawakami, K., Umena, Y., Kamiya, N., et Shen, J. R. (2009). Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(21), 8567-8572.
- 117.** Kaymak, H. C. (2010). Potential of PGPR in agricultural innovations. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 45-79). Springer Berlin Heidelberg.
- 118.** Kaymak, H. C., Yarali, F., Guvenc, I., et Donmez, M. F. (2008). The effect of inoculation with plant growth rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Mentha piperita* L.) cuttings. *African journal of Biotechnology*, 7(24).
- 119.** Keating, B. A., et Wafula, B. M. (1992). Modelling the fully expanded area of maize leaves. *Field Crops Research*, 29(2), 163-176.
- 120.** Kennedy, I. R., et Islam, N. (2001). The current and potential contribution of asymbiotic nitrogen fixation to nitrogen requirements on farms: a review. *Animal Production Science*, 41(3), 447-457.

- 121.** Khakipour, N., Khavazi, K., Mojallali, H., Pazira, E., et Asadirahmani, H. (2008). Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 4(6), 687-692.
- 122.** Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Naqvi, S. M. S., et Rasheed, M. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J Agric Biol Sci*, 1(1), 48-58.
- 123.** Khan, K. S., et Joergensen, R. G. (2009). Changes in microbial biomass and P fractions in biogenic household waste compost amended with inorganic P fertilizers. *Bioresource technology*, 100(1), 303-309.
- 124.** Khan, M. S., Zaidi, A., et Aamil, M. (2002). Biocontrol of fungal pathogens by the use of plant growth promoting rhizobacteria and nitrogen fixing microorganisms. *Ind J Bot Soc*, 81, 255-263.
- 125.** Kiddz, P. S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunsé, B., et Barcelo, J. (2001). The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 52(359), 1339-1352.
- 126.** King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
- 127.** Kinraide, T. B. (2003). The controlling influence of cell-surface electrical potential on the uptake and toxicity of selenate (SeO₄²⁻). *Physiologia Plantarum*, 117(1), 64-71.
- 128.** Kinraide, T. B., & Parker, D. R. (1989). Assessing the phytotoxicity of mononuclear hydroxy-aluminum. *Plant, Cell & Environment*, 12(5), 479-487.
- 129.** Klee, H. J., Hayford, M. B., Kretzmer, K. A., Barry, G. F., et Kishore, G. M. (1991). Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *The Plant Cell*, 3(11), 1187-1193.
- 130.** Kloepper, J. W., et Schroth, M. N. (1978, August). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria* (Vol. 2, pp. 879-882).
- 131.** Knaust, A., et Ludwig-Müller, J. (2013). The ethylene signaling pathway is needed to restrict root gall growth in Arabidopsis after infection with the obligate biotrophic protist *Plasmodiophora brassicae*. *Journal of plant growth regulation*, 32(1), 9-21.

- 132.** Kochian, L. V., Pineros, M. A., et Hoekenga, O. A. (2005). The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. In *Root Physiology: From Gene to Function* (pp. 175-195). Springer Netherlands.
- 133.** Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L., et Roldán, A. (2006). Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilization and promotion of biological fertility in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil Use and Management*, 22(3), 298-304.
- 134.** Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., et Roldán, A. (2009). Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2), 245-252.
- 135.** Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J. W., et Reddy, M. S. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology*, 31(1), 91-100.
- 136.** Krasilnikov, N. (1961). On the role of soil bacteria in plant nutrition. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 7(2), 128-144.
- 137.** Kumar, B. D., Berggren, I., et Mårtensson, A. M. (2001). Potential for improving pea production by co-inoculation with fluorescent *Pseudomonas* and *Rhizobium*. *Plant and Soil*, 229(1), 25-34.
- 138.** Kumar, B., Trivedi, P., et Pandey, A. (2007). *Pseudomonas corrugata*: A suitable bacterial inoculant for maize grown under rainfed conditions of Himalayan region. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(12), 3093-3100.
- 139.** Kuramae, E. E., Yergeau, E., Wong, L. C., Pijl, A. S., Veen, J. A., et Kowalchuk, G. A. (2012). Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(1), 12-24.
- 140.** Lajeunesse, D., Moreau, R., Hobbs, W., Qui, W., Lafond, J., et Guggino, S. E. (1998). Influence of Aluminum on the Regulation of PTH-and 1, 25 (OH) 2D3-Dependent Pathways in the Rat Osteosarcoma Cell Line ROS 17/2.8. *Journal of Bone and Mineral Research*, 13(6), 962-969.
- 141.** Landa, B. B., Mavrodi, D. M., Thomashow, L. S., et Weller, D. M. (2003). Interactions between strains of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology*, 93(8), 982-994.

- 142.** Lata, S. A., et Tilak, K. V. B. R. (2000). Biofertilizers to augment soil fertility and crop production. *Soil fertility and crop production. Science Publishers, Enfield*, 279-312.
- 143.** Lemanceau, P. (1992). Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. *Agronomie*, 12(6), 413-437.
- 144.** Lemire, J., Mailloux, R., Auger, C., Whalen, D., et Appanna, V. D. (2010). *Pseudomonas fluorescens* orchestrates a fine metabolic-balancing act to counter aluminium toxicity. *Environmental microbiology*, 12(6), 1384-1390.
- 145.** Li, K., et Ramakrishna, W. (2011). Effect of multiple metal resistant bacteria from contaminated lake sediments on metal accumulation and plant growth. *Journal of hazardous materials*, 189(1), 531-539.
- 146.** Li, Z., Chang, S., Lin, L., Li, Y., et An, Q. (2011). A colorimetric assay of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) based on ninhydrin reaction for rapid screening of bacteria containing ACC deaminase. *Letters in applied microbiology*, 53(2), 178-185.
- 147.** Liang, J. G., Tao, R. X., Hao, Z. N., Wang, L. P., et Zhang, X. (2013). Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. *African Journal of Biotechnology*, 10(36), 6920-6927.
- 148.** Lifshitz, R., Kloepper, J. W., Kozlowski, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E. M., et Zaleska, I. (1987). Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 33(5), 390-395.
- 149.** Loper, J.E., et Schroth, M.N. (1986). Importance of siderophores in microbial interactions in the rhizosphere. In *Iron, Siderophores, and Plant Diseases* (pp. 85-98). Springer US.
- 150.** Loper, J. E., et Buyer, J. S. (1991). Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 4(1), 5-13.
- 151.** Loper, J. E., et Henkels, M. D. (1999). Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5357-5363.
- 152.** Loper, J. E., Suslow, T. V., et Schroth, M. N. (1984). Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. *Phytopathology*, 74(12), 1454-1460.

- 153.** Loreau, M. (2000). Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, *91*(1), 3-17.
- 154.** Lovelli, S., Scopa, A., Perniola, M., Di Tommaso, T., et Sofo, A. (2012). Abscisic acid root and leaf concentration in relation to biomass partitioning in salinized tomato plants. *Journal of plant physiology*, *169*(3), 226-233.
- 155.** Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, *193*, 265–275
- 156.** Lugtenberg, B. J., Dekkers, L., et Bloemberg, G. V. (2001). Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual review of phytopathology*, *39*(1), 461-490.
- 157.** Lugtenberg, B., et Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, *63*, 541-556.
- 158.** Luo, Y. (2007). Terrestrial carbon-cycle feedback to climate warming. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 683-712.
- 159.** Lynch, J. M., et Whipps, J. M. (1991). Substrate flow in the rhizosphere. In *The rhizosphere and plant growth* (pp. 15-24). Springer Netherlands.
- 160.** Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M., et Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology advances*, *29*(2), 248-258.
- 161.** MADRP (2014). Données statistique de la céréaliculture en Algérie Série B.
- 162.** Mailloux, R. J., Hamel, R., et Appanna, V. D. (2006). Aluminum toxicity elicits a dysfunctional TCA cycle and succinate accumulation in hepatocytes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *20*(4), 198-208.
- 163.** Malhi, S. S., Nyborg, M., et Harapiak, J. T. (1998). Effects of long-term N fertilizer-induced acidification and liming on micronutrients in soil and in bromegrass hay. *Soil and Tillage Research*, *48*(1), 91-101.
- 164.** Malik, C. P., et Singh, M. B. (1980). Plant enzymology and histo-enzymology. Kalyani Publishers, New Delhi, p 286.
- 165.** Manjula, K., Kishore, G. K., et Podile, A. R. (2004). Whole cells of *Bacillus subtilis* AF 1 proved more effective than cell-free and chitinase-based formulations in biological control of citrus fruit rot and groundnut rust. *Canadian journal of microbiology*, *50*(9), 737-744.

- 166.** Mantelin, S., et Touraine, B. (2004). Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of experimental Botany*, 55(394), 27-34.
- 167.** Marschner, H. (1995). Functions of mineral nutrients: macronutrients. *Mineral nutrition of higher plants 2nd Edition*. Academic Press, NY, 299-312.
- 168.** Mayak, S., Tirosh, T., et Glick, B. R. (1999). Effect of wild-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *Journal of plant growth regulation*, 18(2), 49-53.
- 169.** Mayak, S., Tirosh, T., et Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(6), 565-572.
- 170.** Mehnaz, S., Mirza, M. S., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., Bano, A., et Malik, K. A. (2001). Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Canadian journal of microbiology*, 47(2), 110-117.
- 171.** Menzel, A. (2000). Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. *International Journal of Biometeorology*, 44(2), 76-81.
- 172.** Menzel, A., Jakobi, G., Ahas, R., Scheifinger, H., et Estrella, N. (2003). Variations of the climatological growing season (1951–2000) in Germany compared with other countries. *International Journal of Climatology*, 23(7), 793-812.
- 173.** Menzel, A., Sparks, T. H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., ... et Chmielewski, F. M. (2006). European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global change biology*, 12(10), 1969-1976.
- 174.** Miethke, M., et Marahiel, M. A. (2007). Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 413-451.
- 175.** Miller, M. J., Zhu, H., Xu, Y., Wu, C., Walz, A. J., Vergne, A., ... et Hu, J. (2009). Utilization of microbial iron assimilation processes for the development of new antibiotics and inspiration for the design of new anticancer agents. *Biomaterials*, 22(1), 61-75.
- 176.** Mirza, M. S., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., et Malik, K. A. (2001). Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant and Soil*, 237(1), 47-54.
- 177.** Morgan, J. A. W., Bending, G. D., et White, P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1729-1739.

- 178.** Morita, A., Yanagisawa, O., Takatsu, S., Maeda, S., et Hiradate, S. (2008). Mechanism for the detoxification of aluminum in roots of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Phytochemistry*, 69(1), 147-153.
- 179.** Mougel, C., Offre, P., Ranjard, L., Corberand, T., Gamalero, E., Robin, C., et Lemanceau, P. (2006). Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5. *New Phytologist*, 170(1), 165-175.
- 180.** Munns, D.N. (1965). Soil acidity and growth of legume. II. Reaction of aluminium and phosphate in solution and effects of aluminium, phosphate, calcium, and pH on *Medicago sativa* L. and *Trifolium subterraneum* in solution culture. *Australian Journal of Agricultural Researches*, 16, 743-755.
- 181.** Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- 182.** Munns, R., et Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- 183.** Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., et Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology advances*, 32(2), 429-448.
- 184.** 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. *Canadian journal of microbiology*, 55(11), 1302-1309.
- 185.** Nayak, P. (2002). Aluminum: impacts and disease. *Environmental research*, 89(2), 101-115.
- 186.** Naz, I., Rehim, A., Zafar-ul-Hye, M., Zahir, Z. A., Abid, M., Ali, M. A., et Hussain, M. (2013). Effectiveness of ACC-deaminase containing *Pseudomonas* strains to induce salinity tolerance in maize under fertilized and unfertilized field conditions. *Soil Environ*, 32, 167-172.
- 187.** Neal, A. L., Ahmad, S., Gordon-Weeks, R., et Ton, J. (2012). Benzoxazinoids in root exudates of maize attract *Pseudomonas putida* to the rhizosphere. *PLoS One*, 7(4), e35498.

- 188.** Nguyen, C. (2003). Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie*, 23(5-6), 375-396.
- 189.** Noel, T. C., Sheng, C., Yost, C. K., Pharis, R. P., et Hynes, M. F. (1996). Rhizobium leguminosarum as a plant growth-promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Canadian journal of microbiology*, 42(3), 279-283.
- 190.** Noordman, W. H., Reissbrodt, R., Bongers, R. S., Rademaker, J. L. W., Bockelmann, W., et Smit, G. (2006). Growth stimulation of *Brevibacterium* sp. by siderophores. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 637-646.
- 191.** Okon, Y. (1993). Azospirillum/plant associations. CRC Press.
- 192.** Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, A., et Rejali, F. (2010). Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *Afr J Agric Res*, 5(10), 1108-1116.
- 193.** Ozturk, A., Caglar, O., et Sahin, F. (2003). Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166(2), 262-266.
- 194.** Pal, S. S. (1998). Interactions of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant and soil*, 198(2), 169-177.
- 195.** Paliwal, R. L. (2000). Maize types. Tropical maize. Improvement and production, 39-43.
- 196.** Pandey, A., Sharma, E., et Palni, L. M. S. (1998). Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(3), 379-384.
- 197.** Parida, A. K., et Das, A. B. (2004). Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorous metabolism in a true mangrove *Bruguiera parviflora* grown under hydroponic culture. *Journal of plant physiology*, 161(8), 921-928.
- 198.** Patten, C. L., et Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 207-220.

- 199.** Patten, C. L., et Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3795-3801.
- 200.** Paul, D., et Nair, S. (2008). Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of basic microbiology*, 48(5), 378-384.
- 201.** Paul, E. A. (2014). Soil microbiology, ecology and biochemistry. Ed (4). Academic press.
- 202.** Paul, E. A., et Clark FE (1996). Soil microbiology and biochemistry. Academic press. Ed (2). p340.
- 203.** Penrose, D. M., Moffatt, B. A., & Glick, B. R. (2001). Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-containing bacteria on roots of canola seedlings. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 77-80.
- 204.** Pérez, G., Garbossa, G., Sasseti, B., Di Risio, C., et Nesse, A. (1999). Interference of aluminium on iron metabolism in erythroleukaemia K562 cells. *Journal of inorganic biochemistry*, 76(2), 105-112.
- 205.** Pérez-Alfocea, F., Albacete, A., Ghanem, M. E., et Dodd, I. C. (2010). Hormonal regulation of source–sink relations to maintain crop productivity under salinity: a case study of root-to-shoot signalling in tomato. *Functional Plant Biology*, 37(7), 592-603.
- 206.** Pervaiz, Z., Afzal, M., Xiaoe, Y., et Ancheng, L. (2002). Selection criteria for salt tolerance in wheat cultivars at seedling stage. *Asian Journal of Plant Sciences*, 1, 85-87.
- 207.** Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E. J., et Voesenek, L. A. (2006). The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends in plant science*, 11(4), 176-183.

- 208.** Pliego, C., Kamilova, F., et Lugtenberg, B. (2011). Plant growth-promoting bacteria: fundamentals and exploitation. In *Bacteria in agrobiolgy: Crop ecosystems* (pp. 295-343). Springer Berlin Heidelberg.
- 209.** Podile, A.R., et Kishore, G.K. (2007). Plant growth-promoting rhizobacteria. In *Plant-associated bacteria* (pp. 195-230). Springer Netherlands.
- 210.** Powell, P. E., Szaniszlo, P. J., Cline, G. R., et Reid, C. P. P. (1982). Hydroxamate siderophores in the iron nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition*, 5(4-7), 653-673.
- 211.** Primrose, S. B. (1979). Ethylene and agriculture: the role of the microbe. *Journal of Applied Bacteriology*, 46(1), 1-25.
- 212.** Quadt-Hallmann, A., Hallmann, J., et Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant-associated bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(3), 254-259.
- 213.** Quarles, L. D., Hartle, J. E., Middleton, J. P., Zhang, J., Arthur, J. M., et Raymond, J. R. (1994). Aluminum-Induced DNA synthesis in osteobalsts: Mediation by a G-protein coupled cation sensing mechanism. *Journal of cellular biochemistry*, 56(1), 106-117.
- 214.** Rajkumar, M., et Freitas, H. (2008). Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology*, 99(9), 3491-3498.
- 215.** Rajkumar, M., Nagendran, R., Lee, K. J., Lee, W. H., et Kim, S. Z. (2006). Influence of plant growth promoting bacteria and Cr 6+ on the growth of Indian mustard. *Chemosphere*, 62(5), 741-748.
- 216.** Ramette, A., Moënné-Locco, Y., et Défago, G. (2006). Genetic diversity and biocontrol potential of fluorescent pseudomonads producing phloroglucinols and hydrogen cyanide from Swiss soils naturally suppressive or conducive to *Thielaviopsis basicola*-mediated black root rot of tobacco. *FEMS microbiology ecology*, 55(3), 369-381.
- 217.** Rangarajan, S., Loganathan, P., Saleena, L. M., et Nair, S. (2001). Diversity of pseudomonads isolated from three different plant rhizospheres. *Journal of applied microbiology*, 91(4), 742-749.

- 218.** Rao, S. A., et McNeilly, T. (1999). Genetic basis of variation for salt tolerance in maize (*Zea mays* L). *Euphytica*, 108(3), 145-150.
- 219.** Raymond, K. N., Dertz, E. A., et Kim, S. S. (2003). Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(7), 3584-3588.
- 220.** Reddy, K. R. N., Choudary, K. A., et Reddy, M. S. (2007). Antifungal metabolites of *Pseudomonas fluorescens* isolated from rhizosphere of rice crop. *JOURNAL OF MYCOLOGY AND PLANT PATHOLOGY*, 37, 280-284.
- 221.** Rengel, Z. (1992). Disturbance of cell Ca²⁺ homeostasis as a primary trigger of Al toxicity syndrome. *Plant, Cell & Environment*, 15(8), 931-938.
- 222.** Renoux, J. R. (2013). Impacte agronomique des mesures de la PAC, cas de la monoculture de maïs. *Agronomie Environnement et Société*, 3(1), 74-84.
- 223.** Renoux, J. R. (2014). Le maïs : une plante pour l'intensification écologique. *France agricole* (Ed.).
- 224.** Rodriguez Sr, C. A. (2006). Horticultural crop biofertilization with arbuscular mycorrhizal fungi. In 18th World Congress of Soil Science. Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- 225.** Rodriguez, H., Vessely, S., Shah, S., et Glick, B. R. (2008). Effect of a nickel-tolerant ACC deaminase-producing *Pseudomonas* strain on growth of nontransformed and transgenic canola plants. *Current microbiology*, 57(2), 170-174.
- 226.** Rodríguez-Romero, A. S. (2004). Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated bananas. *Fruits*, 59(02), 83-90.
- 227.** Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., et Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264-272.

- 228.** Roos, W., et Luckner, M. (1984). Relationships between proton extrusion and fluxes of ammonium ions and organic acids in *Penicillium cyclopium*. *Microbiology*, 130(4), 1007-1014.
- 229.** Rovira A.D., et Davey C.B. (1971). Biology of the rhizosphere. In: The plant root and its environment (EW Carson, ed) Univ Press Virginia, Charlottesville, 153-204.
- 230.** Ryder, M. H., Yan, Z., Terrace, T. E., Rovira, A. D., Tang, W., et Correll, R. L. (1998). Use of strains of *Bacillus* isolated in China to suppress take-all and rhizoctonia root rot, and promote seedling growth of glasshouse-grown wheat in Australian soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(1), 19-29.
- 231.** Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., et Paré, P. W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3), 1017-1026.
- 232.** Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., Paré, P. W., et Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), 4927-4932.
- 233.** Şahin, F., Çakmakçı, R., et Kantar, F. (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265(1-2), 123-129.
- 234.** Saleh, S. S., et Glick, B. R. (2001). Involvement of *gacS* and *rpoS* in enhancement of the plant growth-promoting capabilities of *Enterobacter cloacae* CAL2 and UW4. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(8), 698-705.
- 235.** Sangeetha, J., Solomon, E. K., Natarajan, K., et Rajeshkannan, V. (2013). Efficacy of AMF and PGPR Inoculants on Maize (*Zea mays* L.) Plant Growth and Their Rhizosphere Soil Properties. In *Microbiological Research In Agroecosystem Management* (pp. 155-173). Springer India.
- 236.** Saravanakumar, D., et Samiyappan, R. (2007). ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. *Journal of Applied Microbiology*, 102(5), 1283-1292.

- 237.** Sarig, S., Blum, A., et Okon, Y. (1988). Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *The Journal of Agricultural Science*, 110(02), 271-277.
- 238.** Sayyed, R. Z., Chincholkar, S. B., Reddy, M. S., Gangurde, N. S., et Patel, P. R. (2013). Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. In *Bacteria in Agrobiolology: Disease Management* (pp. 449-471). Springer Berlin Heidelberg.
- 239.** Schulz, S., Giebler, J., Chatzinotas, A., Wick, L. Y., Fetzer, I., Welzl, G., ... et Schloter, M. (2012). Plant litter and soil type drive abundance, activity and community structure of alkB harbouring microbes in different soil compartments. *The ISME journal*, 6(9), 1763-1774.
- 240.** Schutter, M., Sandeno, J., et Dick, R. (2001). Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 34(6), 397-410.
- 241.** Shabala, S., et Cuin, T. A. (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 133(4), 651-669.
- 242.** Shaharoon, B., Arshad, M., Zahir, Z. A., et Khalid, A. (2006). Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2971-2975.
- 243.** Sharp, R. E., Poroyko, V., Hejlek, L. G., Spollen, W. G., Springer, G. K., Bohnert, H. J., et Nguyen, H. T. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany*, 55(407), 2343-2351.
- 244.** Sheng, X. F., et Xia, J. J. (2006). Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere*, 64(6), 1036-1042.
- 245.** Sheng, X. F., Xia, J. J., Jiang, C. Y., He, L. Y., et Qian, M. (2008). Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, 156(3), 1164-1170.

- 246.** 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 Journal of Biological Science*, 22, 123-131.
- 247.** Singh, G., Biswas, D. R., et Marwaha, T. S. (2010). Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.): a hydroponics study under phytotron growth chamber. *Journal of plant nutrition*, 33(8), 1236-1251.
- 248.** Sivasakthi, S., Usharani, G., et Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal Agricultural Research*, 9, 1265-1277.
- 249.** Smith, W. H. (2012). Air pollution and forests: interactions between air contaminants and forest ecosystems. Springer Science & Business Media.
- 250.** Stewart, D. W., et Dwyer, L. M. (1999). Mathematical characterization of leaf shape and area of maize hybrids. *Crop Science*, 39(2), 422-427.
- 251.** Sundara, B., Natarajan, V., et Hari, K. (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*, 77(1), 43-49.
- 252.** Supanjani, H. H., Jung, J. S., et Lee, K. D. (2006). Rock phosphate-potassium and rock-solubilising bacteria as alternative, sustainable fertilizers. *Agronomy for Sustainable Developmen*, 26, 233-240.
- 253.** Suzuki, H., Yokawa, K., Nakano, S., Yoshida, Y., Fabrissin, I., Okamoto, T., ... & Koshiha, T. (2016). Root cap-dependent gravitropic U-turn of maize root requires light-induced auxin biosynthesis via the YUC pathway in the root apex. *Journal of Experimental Botany*, 67(15), 4581-4591.
- 254.** Sziderics, A. H., Rasche, F., Trognitz, F., Sessitsch, A., et Wilhelm, E. (2007). Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Canadian journal of microbiology*, 53(11), 1195-1202.

255. Tak, H. I., Ahmad, F., et Babalola, O. O. (2013). Advances in the application of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 223, 33-52.
256. Tanaka, H., et Watanabe, T. (1995). Glucanases and chitinases of *Bacillus circulans* WL-12. *Journal of industrial microbiology*, 14(6), 478-483.
257. Tanimoto, E. (2005). Regulation of root growth by plant hormones—roles for auxin and gibberellin. *Critical reviews in plant sciences*, 24(4), 249-265.
258. Tank, N., et Saraf, M. (2003). Phosphate solubilization, exopolysaccharide production and indole acetic acid secretion by rhizobacteria isolated from *Trigonella foenum-graecum*. *Indian Journal of Microbiology*, 43(1), 37-40.
259. Teakle, N. L., et Tyerman, S. D. (2010). Mechanisms of Cl-transport contributing to salt tolerance. *Plant, Cell & Environment*, 33(4), 566-589.
260. Tester, M., et Davenport, R. (2003). Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of botany*, 91(5), 503-527.
261. Tian, F., Ding, Y., Zhu, H., Yao, L., et Du, B. (2009). Genetic diversity of siderophore-producing bacteria of tobacco rhizosphere. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(2), 276-284.
262. Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., et Tillberg, E. (1999). Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(13), 1847-1852.
263. Tiwari, V. N., Lehri, L. K., et Pathak, A. N. (1989). Effect of inoculating crops with phospho-microbes. *Experimental agriculture*, 25(01), 47-50.
264. Toua, Dalila, Benchabane, M., Bensaid, F., & Bakour, R. (2013). Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax. *African Journal of Microbiology Research*, 7(48), 5449-5458.
265. Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., et Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1), 69-76.

- 266.** Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., et Netrusov, A. I. (2005). Auxin production by bacteria associated with orchid roots. *Microbiology*, *74*(1), 46-53.
- 267.** Van Der Heijden, M. G., 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*(3), 296-310.
- 268.** van Loon, L. C., et Glick, B. R. (2004). Increased plant fitness by rhizobacteria. In *Molecular ecotoxicology of plants* (pp. 177-205). Springer Berlin Heidelberg.
- 269.** Vassilev, N., Vassileva, M., et Nikolaeva, I. (2006). Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied microbiology and biotechnology*, *71*(2), 137-144.
- 270.** Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*(2), 571-586.
- 271.** Vijayan, K. K., Singh, I. B., Jayaprakash, N. S., Alavandi, S. V., Pai, S. S., Preetha, R., ... & Santiago, T. C. (2006). A brackishwater isolate of *Pseudomonas* PS-102, a potential antagonistic bacterium against pathogenic vibrios in penaeid and non-penaeid rearing systems. *Aquaculture*, *251*(2), 192-200.
- 272.** Villegas, J., et Fortin, J. A. (2002). Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO₃-as nitrogen source. *Canadian journal of botany*, *80*(5), 571-576.
- 273.** Vivas, A., Biro, B., Ruiz-Lozano, J. M., Barea, J. M., et Azcon, R. (2006). Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity. *Chemosphere*, *62*(9), 1523-1533.
- 274.** Vogelsang, K. M., Reynolds, H. L., et Bever, J. D. (2006). Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytologist*, *172*(3), 554-562.
- 275.** Von Uexküll, H. R., et Mutert, E. (1995). Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and soil*, *171*(1), 1-15.

- 276.** Walker, V., Bertrand, C., Bellvert, F., Moëgne-Loccoz, Y., Bally, R., et Comte, G. (2011). Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. *New Phytologist*, *189*(2), 494-506.
- 277.** Walsh, U. F., Morrissey, J. P., et O'Gara, F. (2001). *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology*, *12*(3), 289-295.
- 278.** Walther, G. R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J., ... et Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, *416*(6879), 389-395.
- 279.** Wani, P. A., Khan, M. S., et Zaidi, A. (2007). Synergistic effects of the inoculation with nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria on the performance of field-grown chickpea. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *170*(2), 283-287.
- 280.** Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., et Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, *304*(5677), 1629-1633.
- 281.** Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany*, *52*(suppl 1), 487-511.
- 282.** Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, *82*(8), 1198-1227.
- 283.** Witham, F.H. Blaydes, D.F., et Devlin, R.M. (1971). Experiments in Plant Physiology. NY: Van Nosirand Reinhold. P 245
- 284.** Yang, J., Kloepper, J. W., et Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*, *14*(1), 1-4.
- 285.** Yeo, A. R., Izard, P., Boursier, P. J., et Flowers, T. J. (1991). Short-and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, *42*(7), 881-889.

- 286.** Young, C. S., Lethbridge, G., Shaw, L. J., et Burns, R. G. (1995). Survival of inoculated *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in non-planted and rhizosphere soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(8), 1017-1026.
- 287.** Young, S., Pharis, R.P, Reid, D., Reddy, M.S., Lifshitz, R., et Brown, G. (1997) PGPR: is there a relationship between plant growth regulators and the stimulation of plant growth or biological control activity? In: Keel C, Koller B, Defago G (eds) Second international workshop on plant growth promoting rhizobacteria. Bull Srop Interlaken, Switzerland, pp 102–103
- 288.** Yu, L., Nicolaisen, M., Larsen, J., et Ravnskov, S. (2012). Succession of root-associated fungi in *Pisum sativum* during a plant growth cycle as examined by 454 pyrosequencing. *Plant and soil*, 358(1-2), 225-233.
- 289.** Yu, X., Liu, X., Zhu, T. H., Liu, G. H., et Mao, C. (2012). Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *European Journal of Soil Biology*, 50, 112-117.
- 290.** Zahir, Z. A., Arshad, M., et Frankenberger, W. T. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168.
- 291.** 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. *Archives of microbiology*, 191(5), 415-424.
- 292.** Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B. R., et Musarrat, J. (2006). Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 64(6), 991-997.
- 293.** Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B. R., et Musarrat, J. (2006). Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 64(6), 991-997.

- 294.** Zamioudis, C., Mastranesti, P., Dhonukshe, P., Blilou, I., et Pieterse, C. M. (2013). Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas* spp. bacteria. *Plant Physiology*, *162*(1), 304-318.
- 295.** Zerrouk, I. Z., Benchabane, M., Khelifi, L., Yokawa, K., Ludwig-Müller, J., & Baluska, F. (2016). A *Pseudomonas* strain isolated from date-palm rhizospheres improves root growth and promotes root formation in maize exposed to salt and aluminum stress. *Journal of plant physiology*, *191*, 111-119.
- 296.** Zhang, H., Han, B., Wang, T., Chen, S., Li, H., Zhang, Y., et Dai, S. (2011). Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *Journal of proteome research*, *11*(1), 49-67.
- 297.** Zhang, H., Kim, M. S., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y., Grimson, M., ... et Paré, P. W. (2007). Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta*, *226*(4), 839-851.
- 298.** Zhang, H., Kim, M. S., Sun, Y., Dowd, S. E., Shi, H., et Paré, P. W. (2008). Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *21*(6), 737-744.
- 299.** Zhang, Q. C., Shamsi, I. H., Xu, D. T., Wang, G. H., Lin, X. Y., Jilani, G., ... et Chaudhry, A. N. (2012). Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure. *Applied Soil Ecology*, *57*, 1-8.
- 300.** Zhu, J. K. (2007). Plant salt stress. *eLS*.
- 301.** Ziska, L. H., et Bunce, J. A. (2006). Plant responses to rising atmospheric carbon dioxide. *Plant growth and climate change*, 17-47.

Annexe I**Table 1** : table d'analyse de la variance de la longueur racinaire de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	24,14	2	12,07	5,278	0,009770
Traitement	305,68	3	101,89	44,564	0,000000
Bloc*Traitement	38,61	6	6,44	2,815	0,023795
Erreur	82,31	36	2,29		

Table 2 : table d'analyse de la variance de la vigueur des tiges (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	6,12	2	3,06	0,821	0,447962
Traitement	404,06	3	134,69	36,117	0,000000
Bloc*Traitement	22,88	6	3,81	1,022	0,426650
Erreur	134,25	36	3,73		

Table 3 : table d'analyse de la variance de la vigueur des tiges (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	96,0	2	48,0	12,78	0,000064
Traitement	1235,1	3	411,7	109,58	0,000000
Bloc*Traitement	49,0	6	8,2	2,17	0,068475
Erreur	135,3	36	3,8		

Table 4 : table d'analyse de la variance de la hauteur des tiges (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	15,635	2	7,818	5,964	0,005791
Traitement	26,807	3	8,936	6,817	0,000935
Bloc*Traitement	6,240	6	1,040	0,793	0,581214
Erreur	47,188	36	1,311		

Table 5 : table d'analyse de la variance de la hauteur des tiges (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	40,0	2	20,0	0,477	0,624220
Traitement	1895,5	3	631,8	15,069	0,000002
Bloc*Traitement	104,6	6	17,4	0,416	0,863573
Erreur	1509,5	36	41,9		

Table 6 : table d'analyse de la variance de la hauteur des tiges (70 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	62,0	2	31,0	2,78	0,075178
Traitement	7573,7	3	2524,6	226,50	0,000000
Bloc*Traitement	36,0	6	6,0	0,54	0,775953
Erreur	401,3	36	11,1		

Table 7 : table d'analyse de la variance de la hauteur des tiges (70 j.a.l.) de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	41,3	2	20,6	2,35	0,109998
Traitement	1859,0	3	619,7	70,48	0,000000
Bloc*Traitement	111,9	6	18,6	2,12	0,074738
Erreur	316,5	36	8,8		

Table 8 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire fraiche (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	1,337	2	0,669	0,521	0,598612
Traitement	150,589	3	50,196	39,085	0,000000
Bloc*Traitement	9,516	6	1,586	1,235	0,311742
Erreur	46,234	36	1,284		

Table 9 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire fraiche (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	43,93	2	21,97	1,453	0,247253
Traitement	1567,20	3	522,40	34,556	0,000000
Bloc*Traitement	138,26	6	23,04	1,524	0,198250
Erreur	544,23	36	15,12		

Table 10 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire fraiche (70 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	45,8	2	22,9	0,304	0,739769
Traitement	5908,6	3	1969,5	26,146	0,000000
Bloc*Traitement	1085,9	6	181,0	2,403	0,046889
Erreur	2711,8	36	75,3		

Table 11 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire fraiche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	198,8	2	99,4	0,715	0,496004
Traitement	7342,4	3	2447,5	17,606	0,000000
Bloc*Traitement	868,2	6	144,7	1,041	0,415472
Erreur	5004,5	36	139,0		

Table 12 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire sèche (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	0,34116	2	0,17058	2,797	0,074308
Traitement	1,86336	3	0,62112	10,183	0,000054
Bloc*Traitement	0,59432	6	0,09905	1,624	0,168895
Erreur	2,19585	36	0,06100		

Table 13 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire sèche (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	18,9	2	9,5	0,263	0,770356
Traitement	6885,7	3	2295,2	63,700	0,000000
Bloc*Traitement	295,3	6	49,2	1,366	0,254763
Erreur	1297,1	36	36,0		

Table 14 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire sèche (70 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	18,9	2	9,5	0,263	0,770356
Traitement	6885,7	3	2295,2	63,700	0,000000
Bloc*Traitement	295,3	6	49,2	1,366	0,254763
Erreur	1297,1	36	36,0		

Table 15 : table d'analyse de la variance de la biomasse racinaire sèche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	136,2	2	68,1	0,966	0,390105
Traitement	10850,2	3	3616,7	51,337	0,000000
Bloc*Traitement	906,8	6	151,1	2,145	0,071776
Erreur	2536,3	36	70,5		

Table 16 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne fraîche (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	8,79	2	4,40	0,576	0,567250
Traitement	2413,73	3	804,58	105,422	0,000000
Bloc*Traitement	17,71	6	2,95	0,387	0,882653
Erreur	274,75	36	7,63		

Table 17 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne fraîche (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	32,2	2	16,1	0,29	0,747499
Traitement	5845,8	3	1948,6	35,55	0,000000
Bloc*Traitement	310,2	6	51,7	0,94	0,476837
Erreur	1973,5	36	54,8		

Table 18 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne fraîche (70 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	897	2	448	4,09	0,025170
Traitement	49777	3	16592	151,23	0,000000
Bloc*Traitement	320	6	53	0,49	0,814693
Erreur	3950	36	110		

Table 19 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne fraîche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	103	2	52	0,077	0,925863
Traitement	13313	3	4438	6,633	0,001108
Bloc*Traitement	4577	6	763	1,140	0,359391
Erreur	24086	36	669		

Table 20 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche (10 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	2,111	2	1,056	1,066	0,354978
Traitement	38,337	3	12,779	12,906	0,000007
Bloc*Traitement	2,427	6	0,404	0,408	0,868515
Erreur	35,645	36	0,990		

Table 21 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche (30 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	39,8	2	19,9	4,34	0,020560
Traitement	5074,6	3	1691,5	368,81	0,000000
Bloc*Traitement	25,1	6	4,2	0,91	0,497551
Erreur	165,1	36	4,6		

Table 22 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche (70 j.a.l.) de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	52,5	2	26,2	0,353	0,705079
Traitement	5387,0	3	1795,7	24,140	0,000000
Bloc*Traitement	1234,8	6	205,8	2,767	0,025746
Erreur	2677,9	36	74,4		

Table 23 : table d'analyse de la variance de la biomasse aérienne sèche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	111	2	56	0,399	0,674188
Traitement	3306	3	1102	7,906	0,000354
Bloc*Traitement	252	6	42	0,301	0,932212
Erreur	5018	36	139		

Table 24 : table d'analyse de la variance du nombre de feuilles total de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	0,792	2	0,396	0,51	0,602706
Traitement	1,729	3	0,576	0,75	0,530796
Bloc*Traitement	4,208	6	0,701	0,91	0,498880
Erreur	27,750	36	0,771		

Table 25 : table d'analyse de la variance du nombre de feuilles total de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	3,042	2	1,521	3,65	0,036030
Traitement	10,417	3	3,472	8,33	0,000245
Bloc*Traitement	7,458	6	1,243	2,98	0,018075
Erreur	15,000	36	0,417		

Table 26 : table d'analyse de la variance de la surface foliaire de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	180,2	2	90,1	8,31	0,001077
Traitement	241,3	3	80,4	7,42	0,000541
Bloc*Traitement	2507,2	6	417,9	38,56	0,000000
Erreur	390,1	36	10,8		

Table 27 : table d'analyse de la variance de la surface foliaire de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	527,2	2	263,6	9,44	0,000505
Traitement	1400,0	3	466,7	16,72	0,000001
Bloc*Traitement	226,5	6	37,8	1,35	0,260084
Erreur	1004,9	36	27,9		

Table 28 : table d'analyse de la variance du nombre de jours pour arriver à la floraison mâle de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	16,1	2	8,1	4,7	0,015126
Traitement	42,9	3	14,3	8,4	0,000236
Bloc*Traitement	4,7	6	0,8	0,5	0,833530
Erreur	61,5	36	1,7		

Table 29 : table d'analyse de la variance du nombre de jours pour arriver à la floraison mâle de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	130,7	2	65,3	132,5	0,000000
Traitement	35,9	3	12,0	24,3	0,000000
Bloc*Traitement	25,7	6	4,3	8,7	0,000007
Erreur	17,8	36	0,5		

Table 30 : table d'analyse de la variance du nombre de jours pour arriver à la floraison femelle de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	18,3	2	9,1	14,8	0,000020
Traitement	52,1	3	17,4	28,1	0,000000
Bloc*Traitement	2,9	6	0,5	0,8	0,594570
Erreur	22,3	36	0,6		

Table 31 : table d'analyse de la variance du nombre de jours pour arriver à la floraison femelle de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	66,3	2	33,1	45,5	0,000000
Traitement	29,7	3	9,9	13,6	0,000004
Bloc*Traitement	6,7	6	1,1	1,5	0,195396
Erreur	26,3	36	0,7		

Table 32 : table d'analyse de la variance du taux de chlorophylle de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	0,083	2	0,041	0,183	0,833663
Traitement	14,011	3	4,670	20,598	0,000000
Bloc*Traitement	1,544	6	0,257	1,135	0,362320
Erreur	8,163	36	0,227		

Table 33 : table d'analyse de la variance du taux de chlorophylle de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	0,024	2	0,012	0,032	0,968622
Traitement	20,581	3	6,860	18,434	0,000000
Bloc*Traitement	0,186	6	0,031	0,083	0,997533
Erreur	13,398	36	0,372		

Table 34 : table d'analyse de la variance de la teneur en glucides de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	5,52	2	2,76	0,811	0,452342
Traitement	1410,79	3	470,26	138,308	0,000000
Bloc*Traitement	47,22	6	7,87	2,315	0,054215
Erreur	122,41	36	3,40		

Table 35 : table d'analyse de la variance de la teneur en glucides de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	0,83	2	0,41	0,120	0,887107
Traitement	1543,09	3	514,36	149,567	0,000000
Bloc*Traitement	5,79	6	0,97	0,281	0,942319
Erreur	123,81	36	3,44		

Table 36 : table d'analyse de la variance du taux de phénols de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	194,0	2	97,0	17,78	0,000004
Traitement	1849,0	3	616,3	112,95	0,000000
Bloc*Traitement	23,2	6	3,9	0,71	0,644873
Erreur	196,4	36	5,5		

Table 37 : table d'analyse de la variance du taux de phénols de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	8,3	2	4,2	0,86	0,431568
Traitement	1646,6	3	548,9	113,15	0,000000
Bloc*Traitement	8,4	6	1,4	0,29	0,938289
Erreur	174,6	36	4,9		

Table 38 : table d'analyse de la variance de la teneur en protéines de la variété DZ

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	1,2	2	0,6	0,1	0,889098
Traitement	14257,1	3	4752,4	944,9	0,000000
Bloc*Traitement	12,9	6	2,1	0,4	0,856082
Erreur	181,1	36	5,0		

Table 39 : table d'analyse de la variance de la teneur en protéines de la variété cv 12097

	SC	DDL	CM	F	P
Bloc	6,1	2	3,1	0,7	0,494818
Traitement	12041,5	3	4013,8	940,3	0,000000
Bloc*Traitement	16,5	6	2,8	0,6	0,693529
Erreur	153,7	36	4,3		

Annexe II

Table 1 : le test de Student pour comparer les moyennes des AIA (milieu vs culot) synthétisées par les bactéries *P7002* et *Bt04* dans trois concentrations de Trp (0.1, 0.5 et 1 mM)

	0.1 mM Trp	0.5 mM Trp	1 mM Trp
<i>P7002</i> (milieu vs culot)	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **
<i>Bt04</i> (milieu vs culot)	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **

□

Table 2 : le test de Student pour comparer les moyennes de longueur de la racine principale (Long. racine prin.), Nombre et longueur des racines séminales (Nomb. racines sém., Long. racines sém.), nombre de racines latérales (Nomb. racines lat) et la biomasse racinaire sèche (Biom. racinaire sèche) de la variété cv Clemente avant et après décapitation

	Long. racine prin.	Nomb. racines sém.	Long. racines sém.	Nomb. racines lat.	Biom. racinaire sèche
Mock (racine entière vs racine décapitée)	0.63	0.63	0.906	0.93	0.77
<i>P7002</i> (racine entière vs racine décapitée)	0.00001 **	0.76	0.00001 **	0.00001 **	0.00001 **

Table 3 : le test de Student pour comparer les moyennes de longueur de la racine principale (Long. racine prin.), Nombre et longueur des racines séminales (Nomb. racines sém., Long. racines sém.), nombre de racines latérales (Nomb. racines lat) et la biomasse racinaire sèche (Biom. racinaire sèche) de la population DZ avant et après décapitation

	Long. racine prin.	Nomb. racines sém.	Long. racines sém.	Nomb. racines lat.	Biom. racinaire sèche
Mock (racine entière vs racine décapitée)	0.73	1	1	0.836	0.908
<i>P7002</i> (racine entière vs racine décapitée)	0.00001 **	0.83	0.0001 **	0.00001 **	0.00001 **

Table 4 : le test de Student pour comparer les moyennes de longueur de la racine principale (Long. racine prin.), Nombre et longueur des racines séminales (Nomb. racines sém., Long. racines sém.), nombre de racines latérales (Nomb. racines lat.) et la biomasse racinaire sèche (Biom. racinaire sèche) de la variété cv Clemente (non inoculées vs P_{002}) dans les conditions de témoin, stress salin et stress aluminium.

	Long. racine prin.	Nomb. racines sém.	Long. racines sém.	Nomb. racines lat.	Biom. racinaire sèche
Mock (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0,17	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **
NaCl (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0,09	0.0000 **	0.0000 **	0,0000 **
AlCl2 (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **

Table 5 : le test de Student pour comparer les moyennes de longueur de la racine principale (Long. racine prin.), Nombre et longueur des racines séminales (Nomb. racines sém., Long. racines sém.), nombre de racines latérales (Nomb. racines lat.) et la biomasse racinaire sèche (Biom. racinaire sèche) de la population DZ (non inoculées vs P_{002}) dans les conditions de témoin, stress salin et stress aluminium.

	Long. racine prin.	Nomb. racines sém.	Long. racines sém.	Nomb. racines lat.	Biom. racinaire sèche
Mock (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0,20675838	0.0000**	0.0000 **	0.0000 **
NaCl (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0,004 *	0.0000**	0.0000 **	0.0000 **
AlCl2 (non inoculées vs P_{002})	0.0000 **	0.0000 **	0.0000**	0.0000 **	0.0000 **

Table 6 : le test de Student pour comparer les moyennes de dégradation d'ACC (milieu vs culot) par les bactéries *Pf002* et *Bi04* dans trois concentrations d'ACC (0.1, 0.5 et 1 mM)

	0.1 mM ACC	0.5 mM ACC	1 mM ACC
<i>Pf002</i> (milieu vs culot)	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **
<i>Bi04</i> (milieu vs culot)	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **

* : $P < 0.05$, différence significative

** : $P < 0.001$, Différence très hautement significative

Annexe III

Table 1 : groupes homogènes des moyennes des longueurs racinaires de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	14,20833	****			
<i>Bt04</i>	15,83333		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	17,66667			****	
<i>Pf02</i>	21,00000				****

Table 2 : groupes homogènes des moyennes des vigueurs des tiges (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	14,00000		****	
<i>Bt04</i>	19,50000	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	20,00000	****		
<i>Pf02</i>	21,75000			****

Table 3 : groupes homogènes des moyennes des vigueurs des tiges (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	77,83333	****			
<i>Bt04</i>	83,58333		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	85,83333			****	
<i>Pf02</i>	92,00000				****

Table 4 : groupes homogènes des moyennes de la hauteur des tiges (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	7,000000		****
<i>Bt04</i>	8,166667	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	8,666667	****	
<i>Pf02</i>	8,958333	****	

Table 5 : groupes homogènes des moyennes de la hauteur des tiges (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	A	C
Témoin	47,25000			****
<i>Bt04</i>	54,66667	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	59,50000	****	****	
<i>Pf02</i>	64,25000		****	

Table 6 : groupes homogènes des moyennes de la hauteur des tiges (70 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	C	B
Témoin	102,1667		****	
<i>Bt04</i>	126,0000			****
<i>Pf002*Bt04</i>	131,3333	****		
<i>Pf02</i>	133,9167	****		

Table 7 : groupes homogènes des moyennes de la hauteur des tiges (70 j.a.l.) de la variété cv 12097 classées par 'Bloc*Traitement'

Traitement	Moyenne	A	C	B
Témoin	110,2500		****	
<i>Bt04</i>	121,7500			****
<i>Pf002*Bt04</i>	124,4167	****		
<i>Pf02</i>	126,2500	****		

Table 8 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire fraîche (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	4,288667		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	5,521667	****		
<i>Bt04</i>	5,594167	****		
<i>Pf02</i>	9,045917			****

Table 9 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire fraîche (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	14,71667		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	20,40833	****		
<i>Bt04</i>	21,62500	****		
<i>Pf02</i>	30,65833			****

Table 10 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire fraîche (70 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	64,08333		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	81,08333	****		
<i>Bt04</i>	86,41667	****		
<i>Pf02</i>	94,33333			****

Table 11 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire fraîche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	111,6667		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	123,5833	****		
<i>Bt04</i>	130,7500	****		
<i>Pf02</i>	145,8333			****

Table 12 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire sèche (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	A
Témoin	1,037750	****	
<i>Bt04</i>	1,240167	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	1,252417	****	
<i>Pf02</i>	1,587000		****

Table 13 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire sèche (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	29,41167	****			
<i>Bt04</i>	46,03167		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	51,75750			****	
<i>Pf02</i>	62,54500				****

Table 14 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire sèche (70 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	29,41167	****			
<i>Bt04</i>	46,03167		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	51,75750			****	
<i>Pf02</i>	62,54500				****

Table 15 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse racinaire sèche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	51,66667		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	80,75000	****		
<i>Bt04</i>	80,83333	****		
<i>Pf02</i>	92,33333			****

Table 16 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne fraîche (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	14,41667		****	
<i>Bt04</i>	22,33333	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	23,50000	****		
<i>Pf02</i>	34,33333			****

Table 17 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne fraîche (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	108,0000		****	
<i>Bt04</i>	122,7500	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	126,6667	****		
<i>Pf02</i>	138,9167			****

Table 18 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne fraîche (70 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	121,5833		****	
<i>Bt04</i>	169,8333	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	173,6667	****		
<i>Pf02</i>	212,3333			****

Table 19 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne fraîche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	234,6667		****
<i>Pf002*Bt04</i>	259,5000	****	
<i>Bt04</i>	260,8333	****	
<i>Pf02</i>	281,6667	****	

Table 20 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne sèche (10 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	3,591083		****
<i>Bt04</i>	5,154833	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	5,405000	****	
<i>Pf02</i>	6,014167	****	

Table 21 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne sèche (30 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B	C	D
Témoin	52,23333	****			
<i>Bt04</i>	66,49167		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	69,54167			****	
<i>Pf02</i>	81,09167				****

Table 22 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne sèche (70 j.a.l.) de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	C	B
Témoin	84,0817		****	
<i>Bt04</i>	97,0167			****
<i>Pf002*Bt04</i>	105,5100	****		
<i>Pf02</i>	112,5083	****		

Table 23 : groupes homogènes des moyennes de la biomasse aérienne sèche (70 j.a.l.) de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	138,6667		****
<i>Bt04</i>	153,0000	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	156,1667	****	
<i>Pf02</i>	160,9167	****	

Table 24 : groupes homogènes des moyennes du nombre total des feuilles de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	12,16667		****
<i>Bt04</i>	13,08333	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	13,25000	****	
<i>Pf02</i>	13,33333	****	

Table 25 : groupes homogènes des moyennes de la surface foliaire de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	C	B	A
Témoin	116.39	****		
<i>Pf002</i>	120.6	****	****	
<i>Pf002*Bt04</i>	132,2		****	****
<i>Bt04</i>	136.4			****

Table 26 : groupes homogènes des moyennes de la surface foliaire de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	88,5925		****	
<i>Pf02</i>	96,4858	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	98,7108	****		
<i>Bt04</i>	103,5500			****

Table 27 : groupes homogènes des moyennes du nombre de jours pour arriver à la floraison mâle de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	A
<i>Bt04</i>	59,00000		****
<i>Pf002*Bt04</i>	60,00000	****	****
Témoin	61,16667	****	
<i>Pf02</i>	61,33333	****	

Table 28 : groupes homogènes des moyennes du nombre de jours pour arriver à la floraison mâle de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	A	C
<i>Bt04</i>	49,33333		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	50,25000	****		
<i>Pf02</i>	50,58333	****		
Témoin	51,75000			****

Table 29 : groupes homogènes des moyennes du nombre de jours pour arriver à la floraison femelle de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	C	A	B
<i>Bt04</i>	65,91667		****	
<i>Pf002*Bt04</i>	66,91667			****
<i>Pf02</i>	68,33333	****		
Témoin	68,41667	****		

Table 30 : groupes homogènes des moyennes du nombre de jours pour arriver à la floraison femelle de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
<i>Bt04</i>	59,83333			****
<i>Pf002*Bt04</i>	60,91667	****		
<i>Pf02</i>	61,33333	****	****	
Témoin	62,00000		****	

Table 31 : groupes homogènes des moyennes du taux de chlorophylle de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	4,600000		****	
<i>Bt04</i>	5,108333	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	5,200000	****		
<i>Pf02</i>	6,100000			****

Table 32 : groupes homogènes des moyennes du taux de chlorophylle de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	B	C	A
Témoin	4,700000		****	
<i>Bt04</i>	5,408333	****		
<i>Pf002*Bt04</i>	5,808333	****		
<i>Pf02</i>	6,508333			****

Table 33 : groupes homogènes des moyennes de la teneur en glucides de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	15,84167	****			
<i>Bt04</i>	20,31667		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	24,50833			****	
<i>Pf02</i>	30,55000				****

Table 34 : groupes homogènes des moyennes de la teneur en glucides de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	13,17500	****			
<i>Bt04</i>	18,13333		****		
<i>Pf002*Bt04</i>	23,03333			****	
<i>Pf02</i>	28,44167				****

Table 35 : groupes homogènes des moyennes du taux de phénol de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	44,10833		****
<i>Pf002*Bt04</i>	58,20833	****	
<i>Pf02</i>	58,40000	****	
<i>Bt04</i>	58,70000	****	

Table 36 : groupes homogènes des moyennes du taux de phénol de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	A	B
Témoin	45,70000		****
<i>Pf002*Bi04</i>	58,70833	****	
<i>Pf02</i>	59,30833	****	
<i>Bi04</i>	59,60000	****	

Table 37 : groupes homogènes des moyennes de la teneur en protéines de la variété DZ classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
contrôle	95,5083	****			
P.f.02*B.t.04	127,1000		****		
B.t.04	136,4083			****	
P.f.02	138,6083				****

Table 38 : groupes homogènes des moyennes de la teneur en protéines de la variété cv 12097 classées par 'Traitement'

Traitement	Moyenne	D	C	B	A
Témoin	97,9083	****			
<i>Pf002*Bi04</i>	124,8000		****		
<i>Bi04</i>	135,7083			****	
<i>Pf02</i>	137,6000				****