



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة  
Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger

# THÈSE

*En vue de l'obtention du diplôme de doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en sciences  
agronomiques*

Département : Production végétales

Option : Ressources génétiques et améliorations des productions végétales

*Thème*

***Effet des PGPRs sur le développement de la plante et la teneur  
en métabolites primaires et secondaires chez Datura sp.***

Présenté par : M. **RAHMOUNE Bilal**

**Soutenu le** : 24 /06 / 2017

Devant le jury composé de :

**Président** : Mme. MEKLIICHE L.

Professeur (ENSA, Alger)

**Promoteur** : Mme. KHELIFI-SLAOUI M.

Professeur (ENSA, Alger)

**Co-promoteur** : M. KHELIFI L.

Professeur (ENSA, Alger)

**Examineurs** : Mme. KRIMI Z.

Professeur (Université de Blida 1)

M. MORSLI A .

M. C. A. (ENSA, Alger)

## 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 : **AMINE, ABDELOUAHAB, MOHAMMED, YOUNES**, à ma chère sœur **KHAWLA** et à ma chère **TITA**.

**À** mon frère **ABD ELFETAH** que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

**À** mes chers grands-parents : **DJEDI KOUIDER ET MAMA ZOHRA** qui ne cessaient de me soutenir moralement et matériellement.

**À** mes chers cousins : **HAMZA, MORAD, MOHAMMED, SAMIR et YACINE**.

**À** mes chers amis : **ZAKI, YUCEF, OUSSAMA, MOUNIR, RAMDHANE DJAAFAR, HAKIM, SABRI, GHILES, MENNAD, ABDERAHMANE, SAAD, DJILALI, MOHAMMED et FOUAD**. 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.

**À** toute l'équipe **LRGB**, surtout Mme **ZAOUI D**.

***BILAL***

## *Remerciements*

**E**n 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 ma directrice de thèse, **Mme KHELIFI-SLAOUI M.**, 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.

**J**e tiens à exprimer ma grande reconnaissance à **Mr KHELIFI L.** de m'avoir accordé sa confiance en m'acceptant pour travailler avec lui. Il a suivi mes travaux avec intérêt et il a su me redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Je tiens à le remercier profondément.

**M**a gratitude va à **Mme MEKLICHE L.**, qui m'a fait le plaisir de présider ce jury, qu'elle trouve ici mon profond respect.

**M**es sincères remerciements vont aussi à **Mme KRIMI Z.**, Professeur à l'université de Blida 1 d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

**M**es sincères remerciements vont aussi à **Mr MORSLI A.**, Maître de conférences à l'ENSA, je tiens à lui exprimer tout mon respect et ma gratitude de m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour son aide, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils et orientations et d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

**J**e tiens à remercier également Mr. **BENCHAABANE M.** et Mr. **OUNANE M.** de nous avoir fourni les souches bactériennes et je tiens aussi à leur exprimer mon profond respect et ma reconnaissance.

**M**es remerciements vont également pour **Mr J. VAN DONGEN**, **Mr j. KOPKA** et **Mr J. PRELL** qui ont accepté de m'accueillir dans leurs laboratoires et pour leurs soutiens. L'accueil et l'aide qu'ils m'ont fournis durant mon séjour en Allemagne je ne l'oublierai jamais.

***BILAL***

# Sommaire

## Sommaire

Sommaire .....	iv
Liste des figures .....	ix
Liste des tableaux .....	xiii
Liste des annexes .....	xiv
Liste des abréviations .....	xvii
<b>Introduction &amp; Problématique</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	5
I. Les <i>Datura</i> .....	5
1. Généralités .....	5
2. Caractéristiques .....	7
2.1. <i>Datura stramonium</i> L. ....	7
2.2. <i>Datura innoxia</i> Mill .....	7
II. Les méthodes de multiplication .....	8
1. Méthodes classiques .....	8
1.1. Multiplication sexuée .....	8
1.2. Multiplication végétative .....	9
2. Culture <i>in vitro</i> .....	9
3. Cultures hors sol .....	9
3.1. Définition .....	9
3.2. Culture hydroponique .....	10
3.3. Culture aéroponique .....	11
III. Mode de Multiplication des <i>Datura</i> .....	11
IV. Les Métabolites des plantes .....	11
1. Métabolites primaires .....	11
1.1. Les glucides .....	12
1.2. Les Lipides .....	13
1.3. Autres métabolites primaires .....	13
2. Métabolites secondaires .....	13
2.1. Les composés phénoliques .....	14
2.2. Les terpénoïdes .....	15
3. Les alcaloïdes .....	16
3.1. Généralités .....	16
3.2. Classification des alcaloïdes .....	16
3.3. Les Alcaloïdes tropaniques .....	18
3.4. Biosynthèse .....	20
3.5. Variation de la concentration et de la nature des alcaloïdes tropaniques au sein de la plante entière .....	21
3.6. Extraction des alcaloïdes .....	22
3.7. Purification, dosage et identification .....	24
V. L'Elicitation .....	27
1. Généralités .....	27
2. Eliciteurs et production de métabolites secondaires .....	28
3. L'acide salicylique .....	31

3.1.	Généralités .....	31
3.2.	Biosynthèse .....	32
4.	Les PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) .....	34
4.1.	Généralités .....	34
4.2.	Améliorations des niveaux des substances phytochimiques dans les plantes.....	35
4.3.	Identification des PGPRs par L'ARNr 16S .....	38
<b>Matériel et Méthodes</b>	.....	<b>40</b>
I.	Objectif du travail.....	40
II.	Matériels utilisés.....	41
1.	Matériel végétal.....	41
1.1.	Origine des graines de <i>Datura</i> .....	41
1.2.	Origine des graines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	41
2.	Matériel bactérien.....	42
III.	Méthodes de culture .....	42
1.	Culture des bactéries .....	42
1.1.	Culture sur milieu solide .....	42
1.2.	Culture sur milieu liquide .....	42
2.	Culture d' <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	43
2.1.	Désinfection des semences.....	43
2.2.	Préparation des bactéries.....	43
2.3.	Inoculation des graines .....	43
2.4.	Paramètres mesurés.....	44
3.	Culture des <i>Datura</i> .....	45
3.1.	Scarification et mise en germination des graines de <i>Datura</i> .....	45
3.2.	Culture hydroponique ( <i>Datura stramonium</i> ) .....	45
3.2.1.	Description .....	45
3.2.2.	Traitements effectués .....	46
3.2.3.	Paramètres mesurés .....	47
3.3.	Culture en pots ( <i>Datura innoxia</i> ) .....	47
3.3.1.	Traitements effectués .....	47
3.3.2.	Paramètres mesurés .....	47
IV.	Identification des bactéries isolées par la ARNr 16S .....	48
1.	Isolement des souches bactériennes .....	48
2.	Extraction d'ADN des souches bactériennes .....	49
3.	Quantification d'ADN.....	49
4.	Amplification du gène ARNr 16S par PCR (Polymerase Chain Reaction ; Réaction en chaîne par polymérase).....	49
5.	Nettoyage des produits obtenus par la PCR .....	51
6.	Séquençage.....	52
7.	Courbes de croissance et dénombrements des bactéries .....	52
V.	Les Méthodes analytiques .....	52
1.	Dosage de l'azote total, du carbone total et de l'hydrogène .....	52
2.	Extraction des métabolites primaires et secondaires dont les alcaloïdes .....	53
3.	Dosage des métabolites primaires et secondaires dont les alcaloïdes .....	53

VI. Traitement statistique des données.....	54
<b>Résultats &amp; Interprétations</b> .....	55
I. Identification des bactéries rhizosphérique et analyse de la croissance bactérienne.....	55
1. Identification des bactéries.....	55
2. Croissance bactérienne.....	57
II. Effets des bactéries rhizosphérique sur la croissance chez <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	58
1. Effet des bactéries rhizosphérique sur la Croissance végétative.....	58
1.1. Longueur moyenne des racines.....	58
1.2. Nombre moyen des feuilles.....	58
1.3. Diamètre moyen de la rosette.....	58
1.4. Nombre moyen de racines secondaires.....	59
1.5. Effet des bactéries rhizosphérique sur le poids frais moyen et le poids sec moyen.....	62
1.5.1. Poids frais moyen.....	62
1.5.2. Poids sec moyen.....	62
2. Effet des bactéries rhizosphérique sur les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N.....	64
2.1. Teneur en azote (N).....	64
2.2. Teneur en carbone (C).....	64
2.3. Rapport C/N.....	64
2.4. Teneur en hydrogène (H).....	65
III. Effets des PGPRs sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N chez <i>Datura stramonium</i> .....	67
1. Effet des PGPRs sur la Croissance végétative.....	67
1.1. Longueur moyenne des plantes.....	67
1.2. Nombre moyens de feuilles.....	67
1.3. Poids total moyen des plantes (poids frais).....	68
1.4. Poids sec moyens des feuilles et des racines.....	68
2. Effet des PGPRs sur les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N.....	72
2.1. Teneur en azote (N).....	72
2.1.1. Dans les feuilles.....	72
2.1.2. Dans les racines.....	72
2.2. Teneur en carbone (C).....	72
2.2.1. Dans les feuilles.....	72
2.2.2. Dans les racines.....	73
2.3. Rapport C/N.....	73
2.3.1. Dans les feuilles.....	73
2.3.2. Dans les racines.....	73
2.4. Teneur en hydrogène (H).....	73
2.4.1. Dans les feuilles.....	73
2.4.2. Dans les racines.....	74
IV. Effets des PGPRs sur la composition en métabolites chez <i>Datura stramonium</i> .....	76
1. Teneur en sucres.....	76
2. Teneur en acides aminés et leurs dérivés.....	80

3.	Teneur en acides gras .....	87
4.	Teneur en acides organiques .....	88
5.	Teneur en dérivés de phosphate .....	94
6.	Teneur en polyols .....	96
7.	Teneur en composés de l'azote .....	98
8.	Teneur en alcaloïdes .....	103
8.1.	Teneur en Scopolamine .....	103
8.2.	Teneur en atropine .....	103
8.3.	Teneur en hyoscyamine .....	103
9.	Teneur en phénylpropanoïdes .....	106
10.	Teneur en acides polyhydroxy .....	108
11.	Teneur en MSTs (métabolites inconnus) .....	111
12.	Schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites chez <i>D. stramonium</i> .....	111
V.	Effet des PGPRs et/ou de l'AS sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N chez <i>Datura innoxia</i> .....	113
1.	Croissance végétative .....	113
1.1.	Longueur moyenne des plantes .....	113
1.2.	Nombre moyen de feuilles .....	113
1.3.	Poids total moyen des plantes .....	114
1.4.	Poids sec moyen des racines .....	114
2.	Teneurs en azote et carbone, rapport C/N et teneur en hydrogène .....	118
2.1.	Teneur en azote (N) .....	118
2.1.1.	Dans les feuilles .....	118
2.1.2.	Dans les racines .....	118
2.2.	Teneur en carbone (C) .....	118
2.2.1.	Dans les feuilles .....	118
2.2.2.	Dans les racines .....	119
2.3.	Rapport C/N .....	119
2.3.1.	Dans les feuilles .....	119
2.3.2.	Dans les racines .....	119
2.4.	Teneur en hydrogène (H) .....	119
2.4.1.	Dans les feuilles .....	119
2.4.2.	Dans les racines .....	120
VI.	Effet des PGPRs et de l'AS sur la composition en métabolites chez <i>Datura innoxia</i> ....	122
1.	Teneur en sucres .....	122
2.	Teneur en acides aminés et leurs dérivés .....	129
3.	Teneur en acides gras .....	143
4.	Teneur en acides organiques .....	145
5.	Teneur en dérivés de phosphate .....	157
6.	Teneur en polyols .....	160
7.	Teneur en composés de l'azote .....	165
8.	Teneur en composés du soufre .....	177
9.	Teneur en alcaloïdes .....	178



9.1.	Teneur en scopolamine .....	178
9.2.	Teneur en hyoscyamine .....	178
9.3.	Teneur en atropine .....	179
9.4.	Teneur en pseudotropine.....	179
10.	Teneur en phénylpropanoïdes.....	182
11.	Teneur en acides polyhydroxy.....	186
12.	Teneur des MSTs.....	192
13.	Schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites chez <i>D. innoxia</i> .....	192
<b>Discussion</b> .....		194
1.	Identification des PGPRs .....	194
1.1.	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> .....	194
1.2.	<i>Bacillus sp.</i> .....	194
1.3.	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> .....	195
2.	Effet des trois PGPRs sur la croissance chez <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	195
3.	Effet des PGPRs sur les teneurs en azote, carbone et sur le rapport C/N chez <i>A. thaliana</i> et <i>Datura sp.</i> .....	196
4.	Effet des PGPRs sur la croissance végétative chez <i>Datura sp.</i> .....	197
5.	Effet des PGPRs sur les teneurs en métabolites primaires et secondaires chez <i>Datura sp.</i> .....	198
5.1.	Les sucres.....	199
5.2.	Les acides aminés .....	200
5.3.	Les acides gras .....	201
5.4.	Les acides organiques .....	202
5.5.	Les dérivés de phosphate .....	203
5.6.	Les polyols .....	204
5.7.	Les composés de l'azote .....	205
5.8.	Les alcaloïdes.....	206
5.9.	Les phénylpropanoïdes .....	209
5.10.	Les acide polyhydroxy .....	210
5.11.	Les MSTs .....	211
6.	Effet de l'acide salicylique sur la croissance végétative et sur les teneurs en alcaloïdes chez <i>Datura innoxia</i> .....	211
<b>Conclusion</b> .....		213
<b>Références bibliographiques</b> .....		217
<b>Annexes</b> .....		242
<b>Résumé</b> .....		272
<b>Abstract</b> .....		273
<b>ملخص</b> .....		274

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Distribution du <i>Datura</i> sp. dans le monde, selon the Plantwise knowledge bank basée sur des rapports publiés en littératures. Reproduite par kind permission of CABI (CABI, 2014).	5
<b>Figure 2</b> : <i>Datura stramonium</i> (Csapody 1961).	7
<b>Figure 3</b> : <i>Datura innoxia</i> (Csapody 1961)	8
<b>Figure 4</b> : Structures chimiques des trois alcaloïdes tropaniques (Palazón et al. 2008).	19
<b>Figure 5</b> : Biosynthèse des alcaloïdes tropaniques (Lee et al. 2004)	21
<b>Figure 6</b> : Les différentes catégories d'éliciteurs (Shahzad et Akhtar 2016).	28
<b>Figure 7</b> : Structure de l'acide salicylique	32
<b>Figure 8</b> : Voies de biosynthèse de l'acide salicylique (Hayat et al. 2014).	33
<b>Figure 9</b> : Graines matures des <i>Datura</i> utilisées durant notre travail	41
<b>Figure 10</b> : Plantules de <i>Datura innoxia</i> après 3 semaines de semis sur terreau (A), et plantules de <i>Datura stramonium</i> en préparation pour transplantation en hydroponique (B)	45
<b>Figure 11</b> : Dispositif de la culture hydroponique, (A) : Schéma explique le fonctionnement de notre système hydroponique ; (B) : Photo du système.	46
<b>Figure 12</b> : Dispositif de la culture du <i>Datura innoxia</i> en pots	48
<b>Figure 13</b> : Nano Drop utilisé pour quantifier le taux d'ADN pour chaque souche bactérienne.	49
<b>Figure 14</b> : Thermocycleur Thermal Cycler TC 5000 (Allemagne).	51
<b>Figure 15</b> : Observation microscopique des bactéries rhizosphérique (A) : <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> souche Pp20 (X 2000) ; (B) : <i>Bacillus</i> sp. souche Bt04 (X 2000) ; (C) : <i>Lysinibacillus fusiformis</i> souche Lf89 (X 2000).	56
<b>Figure 16</b> : Cinétique de la croissance en fonction du temps des 3 souches Pp20, Bt04 et Lf89.	57
<b>Figure 17</b> : Evolution de la longueur moyenne des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.	60
<b>Figure 18</b> : Evolution du nombre moyen de feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.	60
<b>Figure 19</b> : Evolution de diamètre moyen de rosette d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.	60
<b>Figure 20</b> : Evolution du nombre moyen des racines secondaire d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du t emps de culture.	60
<b>Figure 21</b> : Effet des 3 bactéries rhizosphérique: <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> souche Pp20, <i>Bacillus</i> sp. souche Bt04 et <i>Lysinibacillus fusiformis</i> souche Lf89, sur la croissance chez <i>Arabidopsis thaliana</i> cv. WT colombia-0 en fonction du temps de culture. (A) Plantes de chaque traitement : Témoin, Pp20, Bt04 et Lf89, 01 semaines après l'inoculation. (B) 02 semaines après l'inoculation (C) 03 semaines après l'inoculation.	61
<b>Figure 22</b> : Poids frais moyen des feuilles et des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.	63
<b>Figure 23</b> : Poids sec moyen des feuilles et des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.	63

<b>Figure 24</b> : Teneur en azote (N) dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	66
<b>Figure 25</b> : Teneur en carbone (C) dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	66
<b>Figure 26</b> : Rapport C/N dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	66
<b>Figure 27</b> : Teneur en hydrogène (H) dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	66
<b>Figure 28</b> : Plantes du <i>Datura stramonium</i> cultivées dans le système aéroponique, après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, A4 et Konm6. A et B : les plantes dans le système aéroponique ; C : préparation des plantes pour mesurer les différents paramètres de croissance après 16 jours d'inoculation.....	69
<b>Figure 29</b> : Evolution de la longueur moyenne des plantes du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	70
<b>Figure 30</b> : Evolution du nombre moyen des feuilles des plantes du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	70
<b>Figure 31</b> : Evolution du poids frais moyen des plantes du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	70
<b>Figure 32</b> : Poids sec moyen des feuilles des plantes du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4 .....	70
<b>Figure 33</b> : Poids sec moyen des racines des plantes du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4 .....	70
<b>Figure 34</b> : Effet des PGPRs sur la croissance des plantes du <i>Datura stramonium</i> . (A) : plantes de différents traitements effectués, de gauche à droite : témoin, Konm6, Pp20, Bt04, A4 après jours d'inoculation. (B) : feuille de plante non inoculée, (B') : feuilles de plante inoculée par la souche Pp20, (C) : racine de plante non inoculée (témoin), (C') : racines de plante inoculée par la souche Pp20.....	71
<b>Figure 35</b> : Teneur en azote (N) dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	75
<b>Figure 36</b> : Teneur en carbone (C) dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	75
<b>Figure 37</b> : Rapport C/N dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPR, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.....	75
<b>Figure 38</b> : Teneur en hydrogène (H) dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	75
<b>Figure 39</b> : Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	78
<b>Figure 40</b> : Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	82
<b>Figure 41</b> : Teneur en acides gras dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	87
<b>Figure 42</b> : Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	90

<b>Figure 43 :</b> Teneur en dérivés de phosphate dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	95
<b>Figure 44 :</b> Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	97
<b>Figure 45 :</b> Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	100
<b>Figure 46 :</b> Teneur en scopolamine dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	105
<b>Figure 47 :</b> Teneur en atropine dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	105
<b>Figure 48 :</b> Teneur en hyoscyamine dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	105
<b>Figure 49 :</b> Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	107
<b>Figure 50 :</b> Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du <i>Datura Stramonium</i> après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	109
<b>Figure 51 :</b> Différentes voies et cycles de biosynthèse des principaux métabolites primaires et secondaires chez <i>Datura stramonium</i> et leurs variations 16 jours après inoculation par les quatre PGPRs Pp20, Bt04, Konm6 et A4. ....	112
<b>Figure 52 :</b> Evolution de la longueur moyenne des plantes du <i>Datura innoxia</i> après inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	115
<b>Figure 53 :</b> Evolution du nombre moyen de feuilles du <i>Datura innoxia</i> inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	115
<b>Figure 54 :</b> Plantes du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. (A, B, C) : plante du <i>Datura innoxia</i> . ;(D) : racines du <i>Datura innoxia</i> . Dans le terreau, avant nettoyage ; (E) ; racine non inoculée (témoin) ; (F) : racines inoculée par la souche Pp20 ; (G) : racines inoculée par la souche Bt04. ....	116
<b>Figure 55 :</b> Evolution du poids total moyen du <i>Datura innoxia</i> après inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	117
<b>Figure 56 :</b> Poids sec moyen des racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	117
<b>Figure 57 :</b> Feuilles et racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	121
<b>Figure 58 :</b> Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	124
<b>Figure 59 :</b> Teneur en acides aminés et leurs dérivés dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS. ....	131

<b>Figure 60 :</b> Teneur en acides gras dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	144
<b>Figure 61 :</b> Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	147
<b>Figure 62 :</b> Teneur en dérivés de phosphate dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	158
<b>Figure 63 :</b> Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	161
<b>Figure 64 :</b> Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	167
<b>Figure 65 :</b> Teneur en composés du soufre dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	177
<b>Figure 66 :</b> Teneur en scopolamine dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	180
<b>Figure 67 :</b> Teneur en hyoscyamine dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	180
<b>Figure 68 :</b> Teneur en atropine dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	181
<b>Figure 69 :</b> Teneur en pseudotropine dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	181
<b>Figure 70 :</b> Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	183
<b>Figure 71 :</b> Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du <i>Datura innoxia</i> après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS.....	188
<b>Figure 72 :</b> Différentes voies et cycles de biosynthèse des principaux métabolites primaires et secondaires chez <i>Datura innoxia</i> et leurs variations après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPR (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$ M et $10^{-6}$ M) d'AS...	193

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Classification des alcaloïdes selon leurs provenances de différents acides aminés . .....	17
<b>Tableau 2 :</b> Sources, diversité chimique et activité biologique des quatre grandes familles d'alcaloïdes .....	18
<b>Tableau 3 :</b> Quelques travaux sur des plantes médicinales élicitées par des éliciteurs abiotiques et biotiques .....	29
<b>Tableau 4 :</b> Formes des PGPRs et leurs mécanismes d'action stimulant la croissance des plantes .....	35
<b>Tableau 5 :</b> Effet des PGPRs sur les constituants phytochimiques de quelques plantes médicinales .....	36
<b>Tableau 6 :</b> Amorces utilisées pour amplifier le gène ARNr 16S par PCR .....	50
<b>Tableau 7 :</b> Programme PCR utilisé pour l'amplification d'ADN des souches bactériennes.	51

## Liste des annexes

<b>Annexe 1:</b> Structure secondaire de l'ARN ribosomique 16S d' <i>Escherichia coli</i> .....	243
<b>Annexe 2:</b> Extraction d'ADN des souches bactériennes .....	244
<b>Annexe 3:</b> Séquence de <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> souche Pp20 (GenBank, NCBI) : ...	246
<b>Annexe 4:</b> Séquence de <i>Bacillus sp.</i> souche Bt04 (GenBank, NCBI) :.....	247
<b>Annexe 5:</b> Séquence de <i>Lysinibacillus fusiformis</i> souche Lf89 (GenBank, NCBI) :.....	248
<b>Annexe 6:</b> Effet des PGPRs sur la longueur moyenne des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	249
<b>Annexe 7:</b> Effet des PGPRs sur le nombre moyen de feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	249
<b>Annexe 8:</b> Effet des PGPRs sur le diamètre moyen de la rosette d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	250
<b>Annexe 9:</b> Effet des PGPRs sur le nombre moyen des racines secondaires d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	250
<b>Annexe 10:</b> Effet des PGPRs sur le poids frais moyen des feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	251
<b>Annexe 11:</b> Effet des PGPRs sur le poids frais moyen des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	251
<b>Annexe 12:</b> Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	251
<b>Annexe 13:</b> Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	252
<b>Annexe 14:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89. ....	252
<b>Annexe 15:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89. ....	253
<b>Annexe 16:</b> Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.....	253
<b>Annexe 17:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> , à la fin de la culture. ....	254
<b>Annexe 18:</b> Effet des PGPRs sur la longueur moyenne des plantes du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture. ....	254
<b>Annexe 19:</b> Effet des PGPRs sur le nombre moyen de feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	255
<b>Annexe 20:</b> Effet des PGPRs sur le poids total moyen des plantes du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture. ....	255
<b>Annexe 21:</b> Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des feuilles du DS, à la fin de culture. ....	255
<b>Annexe 22:</b> Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture. ....	256
<b>Annexe 23:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles des plantes du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	256
<b>Annexe 24:</b> Effet des PGPR sur la teneur en azote dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de culture. ....	256

<b>Annexe 25:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	257
<b>Annexe 26:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	257
<b>Annexe 26:</b> Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture. ....	258
<b>Annexe 28:</b> Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture. ....	258
<b>Annexe 29:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	259
<b>Annexe 30:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	259
<b>Annexe 31:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	260
<b>Annexe 32:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	260
<b>Annexe 33:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	261
<b>Annexe 34:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	261
<b>Annexe 35:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les feuilles du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	261
<b>Annexe 36:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les racines du <i>Datura stramonium</i> , à la fin de la culture.....	262
<b>Annexe 37:</b> Effet des PGPRs sur la longueur moyenne des plantes du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	262
<b>Annexe 38:</b> Effet des PGPRs sur le nombre moyen de feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	263
<b>Annexe 39:</b> Effet des PGPRs sur le poids total moyen du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	263
<b>Annexe 40:</b> Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	263
<b>Annexe 41:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	264
<b>Annexe 42:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	265
<b>Annexe 43:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	265
<b>Annexe 44:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	266
<b>Annexe 45:</b> Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	266
<b>Annexe 46:</b> Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture.....	267



<b>Annexe 47:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	267
<b>Annexe 48:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	268
<b>Annexe 49:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	268
<b>Annexe 50:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	268
<b>Annexe 51:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	269
<b>Annexe 52:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	269
<b>Annexe 53:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	269
<b>Annexe 54:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	270
<b>Annexe 55:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en pseudotropine dans les feuilles du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	270
<b>Annexe 56:</b> Effet des PGPRs sur la teneur en pseudotropine dans les racines du <i>Datura innoxia</i> , à la fin de la culture. ....	271

## Liste des abréviations

- \*** : Effet significatif ;
- \*\*** : Effet hautement significatif ;
- \*\*\*** : Effet très hautement significatif ;
- AIA** : Acide indole 3-acétique ;
- A4** : *Agrobacterium rhizogenes* 4 ;
- ADN** : Acide désoxyribonucléique ;
- ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique ;
- AS** : Acide salicylique ;
- BA2H** : acide benzoïque-2-hydroxylase ;
- BAP** : 6-benzyl-aminopurine ;
- BIA** : Les alcaloïdes benzyloquinolinique ;
- Bt04** : *Bacillus* sp souche 04 ;
- C** : Carbone ;
- CCM** : Chromatographie sur couche mince ;
- CPG** : Chromatographie en phase gazeuse ;
- ddl** : Degré de liberté ;
- DI** : *Datura innoxia* ;
- DS** : *Datura stramonium* ;
- f** : feuille ;
- F** : test statistique de Fisher ;
- G** : Grossissement ;
- GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ;
- GC-TOF-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, et temps de vol ;
- H** : Hydrogène ;
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène ;
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique ;
- H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** : Acide phosphorique ;
- HCl** : Acide chlorhydrique ;
- HCN** : Cyanure d'hydrogène ;
- HPLC** : Chromatographie en phase liquide haute performance ;
- HS** : Hautement significatif ;
- ICS** : synthase isochorismate ;
- IPL** : isochorismate pyruvate lyase ;
- Lf89** : *Lysinibacillus fusiformis* 89 ;
- L-RGB** : Laboratoire des Ressources Génétiques et Biotechnologies ;

**LSD** : Plus Petite Différence Significative ;  
**mg/g PS** : Milligramme par gramme Poids Sec ;  
**MIA** : Les alcaloïdes monoterpène indoliques ;  
**MS**: Milieu Murashige et Skoog ;  
**MSTs** : spectre de masse non identifiée ;  
**N** : Azote ;  
**NCBI** : National Center for Biotechnology Information ;  
**NFT** : Nutriment Film Technique ;  
**NS** : Non significatif ;  
**P** : Probabilité ;  
**PA** : Les alcaloïdes puriniques ;  
**PAL** : phénylalanine ammoniac lyase ;  
**PCR** : Polymerase chain reaction ;  
**PGPRs** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria ;  
**pH** : Potentiel Hydrogène ;  
**PHA** : Les acides polyhydroxy ;  
**PHPR** : Les phénylpropanoïdes ;  
**Pp20** : *Pseudomonas plecoglossicida* souche 20 ;  
**PS** : Poids sec moyen ;  
**PVC** : Polychlorure de vinyle ;  
**r** : racine ;  
**Rayons UV** : rayonnement ultraviolet ;  
**S** : Significatif ;  
**THS** : Très hautement significatif ;  
**TNA** : Les alcaloïdes tropaniques et nicotiniques ;  
**TOF** : Time of flight ;

Introduction  
&  
Problématique

Les plantes constituent depuis longtemps une importante ressource naturelle pour les sociétés humaines. Elles jouent des rôles majeurs en tant que fournisseurs d'aliments, source de guérison physique et mentale, pour leur valeur ornementale et pour leur utilisation dans la thérapie (Seigler 2012a). Elles contiennent de nombreux composés actifs, tels que les huiles, les parfums, les colorants, les arômes, les antioxydants, les cosmétiques...etc. Il existe environ 300.000 espèces de plantes, les plantes médicinales et aromatiques en occupent environ 20%, elles ont en commun la production d'une large gamme de composés naturels actifs importants pour l'Homme et les animaux (Biabiany 2011). Aussi, ces plantes présentent une source inépuisable de métabolites primaires et secondaires utilisés dans les fragrances, l'agroalimentaire et l'industrie pharmaceutique (Sasson 1992).

Quand on parle de la biodiversité des plantes, on parle aussi de leurs diversités chimiques et de la conservation de leurs composés actifs. Ces derniers sont principalement les métabolites secondaires et leurs dérivés. Les métabolites secondaires sont répartis dans trois grandes familles : les composés phénoliques, les isoprénoides et les composés azotés. Dans cette dernière famille, les alcaloïdes sont les plus importants par leur nombre et leur diversité (Bruneton et Barton 1987). Plus de 12.000 alcaloïdes sont connus pour exister dans environ 20% des espèces végétales, et seulement quelques-uns ont été exploités à des fins médicinales (Firn 2010), et plus de 4000 flavonoïdes sont connus pour exister chez les plantes (Ashutosh 2007). Elles possèdent des propriétés thérapeutiques et ont été utilisées pour le durcissement de diverses maladies (Briskin 2000). Les glycosides sont classés sur la base du type de composant de sucre, la nature chimique de l'aglycone, ou l'action pharmacologique (Sarker et Nahar 2007), et les composés phénoliques représentent essentiellement de nombreux antioxydants naturels (Ashutosh 2007).

Les plantes médicinales sont cultivées dans nombreux pays à travers le monde (Phillipson 2001). Leur culture réussie dépend de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques qui peuvent moduler les métabolites primaires, les métabolites secondaires et le rendement (Trivedi 2006). Il est important d'éviter l'utilisation des engrais chimiques et des pesticides dans la culture des plantes médicinales car ils sont responsables des effets délétères sur le plan écologique et agricole par exemple : l'épuisement des ressources énergétiques non renouvelables, la pollution des bassins versants, l'élimination des microorganismes et des insectes utiles, ce qui augmentent la susceptibilité des maladies à la récolte et la réduction de la fertilité des sols (Babalola 2010).

La recherche actuelle dans la découverte des médicaments à partir des plantes médicinales implique des techniques de biotechnologies innovantes, pour minimiser

l'utilisation des engrais, des pesticides et des régulateurs de croissance chimique. En effet, pour améliorer le rendement dans ces procédés, de nombreuses stratégies ont été mises en œuvre telles que, la modification de la composition des milieux de culture, l'utilisation des systèmes de culture moderne, l'élicitation, l'addition de précurseurs et l'optimisation des facteurs environnementaux (oxygène, éclairage, température ...) (Roberts et Shuler 1997).

L'élicitation présente une des stratégies la plus efficace pour améliorer la productivité des métabolites des plantes (Amdoun et al. 2005b). Le plus souvent, elle consiste à utiliser des éliciteurs, afin de stimuler la biosynthèse de métabolites, surtout les métabolites secondaires spécifiques (Vasconsuelo et Boland 2007). Les Éliciteurs sont des produits chimiques ou des biofacteurs de diverses sources qui peuvent déclencher des réactions physiologiques et morphologiques dans les plantes. Ils peuvent être, soit des éliciteurs abiotiques (métaux lourds, rayons UV, herbicides...), soit des éliciteurs biotiques (champignons, levure et essentiellement les bactéries (les PGPRs)).

Les PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont capables de promouvoir la croissance des plantes, l'absorption des nutriments, la protection des végétaux contre divers agents pathogènes, d'aider les plantes à s'adapter à un certain nombre de contraintes environnementales, et aussi d'augmenter leurs teneurs en métabolites (Egamberdieva et Lugtenberg 2014). L'application des PGPRs comme biofertilisants est une alternative plus viable que l'utilisation des engrais chimiques (Ibiene et al. 2012). Il y a des justifications économiques, environnementales et autres liées à la santé pour renforcer la recherche sur les souches PGPRs comme inoculant des plantes médicinales et aromatiques. L'application de ces techniques peut contribuer à la conservation de l'environnement, permettre d'avoir des pratiques agricoles durables et aussi l'augmentation de la productivité des cultures surtout en métabolites. Malheureusement les études sur l'interaction entre les PGPRs et les plantes médicinales et aromatiques et leurs effets sur les teneurs en métabolites, ont reçu très peu d'attention de la recherche à ce jour.

Par ailleurs, les méthodes de profilage des métabolites sont la base des approches métabolomiques modernes qui cherchent l'analyse globale des systèmes biologiques chez les plantes (Fiehn et al. 2000; Roessner et al. 2000). Elles visent l'analyse impartiale et à haut débit de tous les petits métabolites moléculaires et leurs changements dynamiques dans un organisme ou un tissu, ou même dans une seule cellule. Ces dernières années, Il y a eu un grand développement des techniques d'analyse et de profilage des métabolites. Les études métabolomiques sont basées sur la mesure simultanée de plusieurs métabolites, en utilisant des techniques d'analyse parallèle telles que la spectroscopie nucléaire par résonance magnétique

ou la spectrométrie de masse, suivie d'une analyse statistique appropriée (Dunn et al. 2011). En outre, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC / MS) est devenue une technologie largement répandue, en particulier pour le profilage des métabolites primaires (Fiehn et al. 2000; Kopka 2006). Actuellement, la technique d'ionisation la plus utilisée pour le profilage et l'étude des métabolites par la GC / MS est l'ionisation électronique (EI) (Strehmel et al. 2008). C'est une technique très dure, elle induit des réactions de fragmentation caractéristiques et souvent complexes. Le profilage par la GC-EI-MS a été grandement facilitée par le taux élevé d'acquisition de données GC-EI-temps de vol (TOF) / MS et les procédures de dérivation reproductibles adaptées aux métabolites polaires (Roessner et al. 2000). L'analyseur de masse, TOF, donne une sensibilité accrue aux profils métaboliques très riches en données.

Pour ses besoins pharmaceutiques, l'Algérie importe les alcaloïdes et les autres métabolites indispensables dans l'industrie pharmaceutique et ce, malgré la présence en Algérie, à l'état spontané, de nombreuses ressources génétiques d'espèces médicinales comme les *Datura*, qui peuvent être valorisées pour une production locale (Houmani 1999). Dans ce contexte, il est intéressant d'étudier les plantes médicinales et leur composition en métabolites, afin de produire de la matière première pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétiques.

La présente thèse s'inscrit dans le but d'apporter une meilleure connaissance sur la composition chimique (les métabolites primaires et secondaires) chez deux espèces du *Datura*, *D. stramonium* et *D. innoxia* et d'améliorer leurs productions en utilisant des éliciteurs (des PGPRs isolés en Algérie et/ou l'acide salicylique).

Pour ce faire :

- Il fallait tout d'abord identifier les 3 souches de bactéries utilisées.
- L'étude de l'effet des PGPRs (les 3 souches + A4 (*Agrobacterium* 4) + Konm6 (*Rhizobium*)) sur la croissance et les teneurs en métabolites primaires et secondaires et particulièrement les alcaloïdes et les flavonoïdes chez *D. stramonium* et *D. innoxia*. Pour cette dernière l'effet d'un éliciteur l'AS a été également étudié seul ou en combinaison avec les PGPRs.

Ainsi, ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- La première partie est une revue de la littérature qui donne une présentation générale des deux espèces utilisées, rend compte des principaux travaux sur les métabolites primaires et secondaires, l'amélioration de leur production par l'élicitation, les techniques utilisées pour l'identification des composés chimiques de la plante, ainsi que

des généralités sur les PGPRs et leurs utilisation pour les plantes médicinales et leurs effets sur les métabolites.

- La deuxième partie décrit les méthodes, les matériels et les dispositifs utilisés lors des différentes parties expérimentales.

La troisième partie expose tous les résultats obtenus et les discutent en les comparant avec d'autres travaux dans cet axe de recherche. S'ensuit une discussion de l'ensemble des résultats et une conclusion générale où quelques perspectives ont été suggérées.



# Synthèse bibliographique

## I. Les *Datura*

### 1. Généralités

Le *Datura* appartient à la famille des Solanacées, son nom dérive du mot sanscrit "Dhutra" (divine enivrement), il a été décrit la première fois par Avery et al. en 1753. Il est répandu dans les régions chaudes du monde (Drake et al. 1995). Indigène en Amérique et en Asie (Vitale et al. 1995). Il est aussi planté à l'extérieur de son aire de répartition naturelle, en Afrique, en Europe et en Australie (Van Wyk et al. 1997) (**Fig. 1**)



**Figure 1 :** Distribution du *Datura* sp. dans le monde, selon the Plantwise knowledge bank basée sur des rapports publiés en littératures. Reproduite par kind permission of CABI (CABI, 2014).

Le genre *Datura* comporte plusieurs espèces, herbes, arbustes annuelles ou vivaces de courte durée. Il a des feuilles sinuâtes-dentées ou lobées, des fleurs dressées ou obliques, hermaphrodites de calices cylindriques, lobés et de corolles avec une forme d'entonnoir. Le fruit porte environ 500 graines.

En raison de leurs fleurs en forme d'entonnoir, parfumé et nocturnes, les espèces telles que *Datura innoxia*, *Datura metel*, *Datura stramonium* et *Datura wrightii* sont cultivées comme plantes ornementales (Reynaud., 2002). Divers espèces de *Datura* sont connues et largement utilisées pour leurs propriétés médicinales qui sont basées sur plus de 30 alcaloïdes (Bruneton 1999). Elles sont connues aussi comme plantes hallucinogènes qui peuvent provoquer des intoxications graves (Birmes et al. 2002). Les principales substances toxiques sont les alcaloïdes, notamment l'atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine (Diker et al. 2007).

Les *Datura* en Algérie sont cosmopolites (Quezel et Santa, 1963), ils poussent à l'état sauvage, aux bords des routes, dans les décombres et dans les cultures (Benhizia 1989 ; Houmani 1999). Ils préfèrent les sols argileux, légèrement basiques, humides et les expositions bien ensoleillées (Houmani et al. 1994a). Ils sont connus par plusieurs noms selon les régions, en Kabylie "Bounrjouf", aux Aurès "Netina" (Abdelouahab et al. 2011).

### **Les *Datura* appartiennent (APG III) :**

Règne : Plantae.

Sous règne : Tracheobionta.

Embranchement : Spermatophyta.

Sous embranchement : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Asteridae.

Ordre : Solanales.

Famille : Solanaceae.

Sous famille : Solanoideae.

Genre : *Datura*.

Espèce : *Datura stramonium*, *Datura innoxia* (Konarev et al. 2004 ; Doncheva et al. 2006 ; Sanjita et al. 2012).

## 2. Caractéristiques

### 2.1. *Datura stramonium* L

Le *Datura stramonium* (*Datura officinal*, Stramoine) (Fig.2) est une plante herbacée, annuelle qui peut atteindre 1 mètre de hauteur (Debelmas et Delaveau 1983). La tige est arrondie porte des feuilles ovales aiguës profondément découpées en lobes inégaux pointus et marquées par des nervures saillantes, axillaires et grandes (Bruneton et al. 1995). Les fleurs érigées sont insérées de manière solitaire au point de départ des ramifications. La période de floraison s'étale de juillet à septembre. Le fruit est une capsule épineuse remplie de très nombreuses graines et les racines sont fusiformes et ramifiées (Thurzova 1981 ; Pelikan 1986).

Le Stramoine possède douze paires de chromosomes, soit à l'état diploïde ( $2n = 2x = 24$ ) ou tétraploïde ( $2n = 4x = 48$ ) (Rossignol et Embersal. 2004).



**Figure 2 :** *Datura stramonium* (Csapody 1961).

### 2.2. *Datura innoxia* Mill

Le *Datura innoxia* (**Fig.3**) est une plante annuelle de 40 cm à 1 mètre. Les feuilles sont grandes, ovales, obliquement en cœur à la base, entières ou superficiellement sinuées-dentées. Les fleurs sont blanches ou peu rosées, très amples, de 15-20 cm, dressées et courtement pédonculées. Le calice pubescent, d'un vert cendré, d'environ 1 décimètre de longueur, sur 2-3

cm de largeur, atteignant la moitié de la corolle. Les fruits sont des capsules épineuses, ovoïdes ou globuleuses de (3 à 5) x (4 à 6) cm et se tordent vers le bas. Lors de la maturité ils s'ouvrent de manière irrégulière pour libérer des graines de 3 à 5 mm, réniformes, rugueuses de couleur marron (Bruneton 1996).

Le *Datura innoxia* une espèce autogame avec  $2n=2x= 24$  chromosomes (Ducrocq 1994).



Figure 3 : *Datura innoxia* (Csapody 1961)

## II. Les méthodes de multiplication

### 1. Méthodes classiques

#### 1.1. Multiplication sexuée

Selon Tourte et al. (2005), tous les événements qui concernent la reproduction sexuée se réalisent au niveau d'un organe, souvent éphémère, la fleur qui porte souvent les deux organes reproducteurs, mâle et femelle. La reproduction sexuée permet donc de donner naissance à un nouvel être vivant grâce à la rencontre d'un organe mâle et d'un organe femelle (c'est la fécondation). C'est le cas des plantes à fleurs (Robin et al. 1998).

## 1.2. Multiplication végétative

La multiplication végétative est un mode de reproduction qui se déroule en dehors des phénomènes de sexualité et qui permet la propagation d'individus génétiquement identiques (Robert et al. 1998). Ce phénomène ne fait pas intervenir la méiose, mais un autre processus très strict de division cellulaire, sans remaniement du nombre de chromosomes : la mitose (Maarouf, 2000). La multiplication végétative est commune chez les végétaux supérieurs, elle s'effectue naturellement et artificiellement (Vidalie et al. 1989) :

- **Multiplication végétative naturelle** : marcottage naturel et bouturage naturel.
- **Multiplication artificielle** : bouturage, marcottage, greffage, drageonnage, culture *in vitro* et Culture hors-sol.

## 2. Culture *in vitro*

Les cultures *in vitro* sont des techniques de multiplication des plantes par voie asexuée. Dans la pratique, elles consistent à prélever un fragment de plante (fragments de tige, feuille ou racine ...etc.) ou un méristème et à les cultiver sur des milieux synthétiques contenant tous les éléments nécessaires à leurs croissances (Nozeran et Bancilhon 1972). La micropropagation par microbouturage est une technique moderne, qui permet de constituer une population importante d'individus identiques (clones) à partir d'une seule microbouture (fragment de tige contenant un nœud ou méristème) (Lafon et al. 1996).

Il existe deux catégories de culture *in vitro* sont :

- **Culture *in vitro* conforme.**
- **Culture *in vitro* non conforme.**

## 3. Cultures hors sol

### 3.1. Définition

La culture hors-sol est la culture des racines dans un milieu qui n'est pas le sol naturel, mais un milieu reconstitué et isolé du sol. Ce sont des cultures sur substrat, car le milieu reconstitué repose souvent sur l'adoption d'un matériau physique stable : le substrat, parfois d'origine manufacturé et industriel, parfois d'origine naturelle (Morard 1995). Les premiers travaux ont été effectués sur la fertilisation des plantes et la mise en évidence du rôle de l'eau et de l'air dans le sol (Weathers et Zobel 1992). C'est ainsi qu'on s'est aperçu que celui-ci pouvait être entièrement reconstitué de façon artificielle. En effet, Knop et Sachs ont réussi indépendamment à faire pousser des plantes sur des milieux entièrement liquides constitués d'eau additionnée de sels minéraux (macroéléments et microéléments) dès 1860 (Savvas 2001).

Carter (1942) et Klotz (1944) ont utilisé la pulvérisation par des buses pour produire des éléments nutritifs favorisant la croissance des racines d'ananas et d'agrumes respectivement. Ces travaux ont été suivis par ceux de Vyvyan and Travell (1953) qui ont fait pousser des pommiers hors sol dans des boîtes où ils les ont nourris avec des pulvérisations d'éléments nutritifs (Roach et al. 1957). Depuis, les techniques de cultures hors sol se sont très largement développées. Cela parce que les performances agronomiques obtenues étaient supérieures à celles des cultures traditionnelles en sol : réduction du milieu racinaire associée à l'irrigation localisée, possibilité de mieux maîtriser la température des racines, souplesse et mobilité des systèmes proposés permettant une meilleure maîtrise des facteurs de production.

Ainsi, la culture hors-sol permet de maîtriser tous les éléments nécessaires au développement des plantes : lumière, température et hygrométrie, pH et éléments nutritifs (eau, sels minéraux et oligo-éléments).

Par ailleurs, ce procédé a pour avantages de :

- Limiter la consommation d'eau
- Limiter les attaques nuisibles du sol (ce qui permet des traitements phytosanitaires réduits et ciblés)
- Accélérer le processus de croissance des plantes et de maturation des fruits.

En outre, il existe deux principaux types de culture hors sol, l'hydroponie et l'aéroponie.

### **3.2. Culture hydroponique**

Le terme hydroponique provient du latin "hydro" (eau) et "ponos" (travail), c'est donc "le travail par l'eau". Dans ce type de culture, les racines se développent dans une lamelle d'eau courante (contact directe avec la solution nutritive), si cette dernière est non circulante, il s'agit d'aquiculture (Jones 1982; Morard 1995). Typiquement, les racines trempent dans un bac et, pour éviter une asphyxie partielle, il est nécessaire de fournir de l'air par bullage dans la solution nutritive. Pour éviter les problèmes techniques liés à l'aération de la solution nutritive, une technique d'immersion partielle des racines peut aussi être réalisée. Dans ce cas, la racine plonge dans la solution nutritive avec une faible épaisseur de 3 à 4 cm. La partie racinaire située au-dessus de l'eau assure la respiration des plantes. Il existe aussi un autre système qui consiste à cultiver les plantes sur un film de solution nutritive. Cette technique est appelée NFT pour Nutriment Film Technique. Dans ce cas, les racines sont alimentées à l'aide d'une solution nutritive circulante. La circulation du milieu nutritif assure une bonne oxygénation des racines (Vu 2008).

### 3.3. Culture aéroponique

Il y'a plusieurs méthodes aéroponiques. Ce sont des modifications du système hydroponique (NFT). Le terme aéroponie correspond à toute culture de plantes entières et / ou de tissus avec leurs racines par un brouillard ou pulvérisation d'air / d'eau (par opposition à l'hydroponie qui consiste à l'immersion des racines dans / sur l'eau, le sol, la gélose nutritive ou d'autres substrats) (Weathers et Zobel 1992).

Par ailleurs, la croissance de plantes avec leurs racines partiellement suspendues dans l'air et partiellement émergées dans une solution nutritive ou dans l'air pour un temps déterminé et pulvérisée par la solution nutritive pour le reste de la période (par exemple, dans un cycle de 5 min ; 3 min pulvérisation et 2 min suspendues dans l'air), est appelé système aérohydroponique (Vu 2008). Dans la littérature, la méthode prédominante de culture aéroponique, implique la pulvérisation intermittente des racines avec une solution nutritive pour fournir à la fois l'eau et les nutriments nécessaires pour la croissance (Hayden et al. 2004).

Ainsi, c'est le système aéroponique que nous avons utilisé dans la présente étude.

### III. Mode de Multiplication des *Datura*

Généralement, *Datura* se reproduit essentiellement par les graines (Anger et al. 2005). Il a été multiplié également par voie végétative par les boutures ou des racines coupées (Birmes et al. 2002).

De même, il a été cultivé *in vitro* dans plusieurs travaux par vitrosemis (Kaushik and Goyal 2008; Vu 2008; Khelifi et al. 2011).

Par ailleurs, plusieurs chercheurs ont réussi à multiplier les *Datura* par culture hydroponique (Gontier et al. 2002; Vu et al. 2006; Vu 2008; Jousse et al. 2010; Rahmoune et al. 2017).

### IV. Les Métabolites des plantes

Dans les plantes, il y a deux principaux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Bruneton et al. 1999; Patras et al. 2017).

#### 1. Métabolites primaires

Les organismes vivants synthétisent un certain nombre de composés communs (des nucléotides, des acides aminés...) qui ont des fonctions similaires dans toutes les plantes appelés métabolites de bases ou métabolites primaires. Chez les plantes médicinales, ils ont une grande importance dans l'identification des plantes. Pour Hopkins (2003), les métabolites primaires



sont des produits issus directement de la photosynthèse (sucres simples, acides aminés, protéines, acides nucléiques et organiques...), qui participent à la structure des cellules végétales ainsi qu'à ses fonctionnements de base. Ils sont souvent produits en grande quantité mais présentent une valeur ajoutée relativement basse. Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales, nécessaires à leurs croissances et à leurs développements (Hounsoume et al. 2008).

Selon le concept actuel, le métabolisme primaire se réfère au processus cataboliques nécessaires à la respiration, l'assimilation des nutriments et la croissance (Kluger et al. 2014), les principaux métabolites primaires sont :

### 1.1. Les glucides

Les glucides sont des substances présentes dans les plantes en tant que monomères, oligomères (jusqu'à dix unités de monomères), polymères ou de forme de sucre simple. Le nombre d'atomes de carbone dans les monomères est compris entre 3 à 7, chaque atome de carbone porte un groupe hydroxyle (Máthé 2015). On parle d'aldoses et de cétooses en fonction de la caractéristique du groupe carbonyle. Ce sont des composés assymétriques ; D et L série d'isomères selon la projection de Fischer. Chez les Datura, on peut trouver les monosaccharides (les plus importants), les polysaccharides et les oligosaccharides. Parmi les monosaccharides communs chez les plantes : le D-glucose, le D-xylose, le D-arabinose et le L-arabinose, le D-mannose, le D-galactose, etc. Aussi, il existe des dérivés similaires, tel que, les sucres alcooliques, les sucres aminés, les éthers de sucre et les dehydro-sucres comme le L-rhamnose, etc. Les glucides se trouvent dans les organismes vivants dans des formes libres ou liées, par exemple à d'autres sucres fournissant les oligosaccharides (jusqu'à 10 monomères de sucres). La chaîne de sucre peut être attachée à des non-sucres et d'autres types de métabolites, comme les stéroïdes, les triterpènes en saponines, les flavonoïdes, les phényléthanoïdes, etc. Les glucides ont une importance dans l'industrie pharmaceutiques, les émulseurs, les mucilages, etc. Aussi ils peuvent avoir un effet de modulation immunitaire (Bishop et al. 1982).

Exemples de plantes très riches en certains glucides : l'**amidon** dans *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Oryza sativa*, *Zea mays* et *Solanum tuberosum* ; la **Cellulose** dans *Gossypium ssp* ; Les **fructanes** dans *Cichorium intybus* et *Taraxacum officinale* ; la **gomme** dans *Acacia senegal*, *Sterculia urens* et *Astragalus gummifer* (Máthé 2015).

## 1.2. Les Lipides

Les lipides sont des métabolites primaires solubles dans les solvants organiques non polaires. Ils comportent, les acides organiques, les graisses, les acides gras. Les acides organiques ont un ou plusieurs groupes carboxyle, formant une série d'acides gras homologues qui sont intéressants chez les plantes médicinales comme agent estérifiant du glycérol dans les graisses (huiles fixes). Les graisses s'accumulent principalement dans les organes de stockage d'énergie comme les graines des plantes (Sridhar et al. 2016). Il existe deux types d'acides gras, saturés ou insaturés à longue chaîne qui sont synthétisés étape par étape, par l'allongement de la chaîne à 2 atomes de carbone. Alors que les acides gras non saturés sont des dérivés des acides gras saturés. Les acides gras non saturés ont une importance particulière pour les êtres humains comme l'acide linoléique-, l'acide linoléique et d'autres acides insaturés (Satchithanandam et al. 2004). Leurs concentrations varient selon les plantes et le milieu.

Certaines sources d'huiles fixes qui peuvent avoir une pertinence pharmaceutique : l'huile d'amande : *Prunus amygdalus*, l'huile d'arachide : *Arachis hypogea*, l'huile de ricin : *Ricinus communis*, l'huile d'olive : *Olea europaea*, l'huile de coco: *Cocos nucifera* et l'huile de palme: *Elaeis guineensis*...(Máthé 2015).

## 1.3. Autres métabolites primaires

Les acides aminés, les protéines végétales principalement sous forme d'enzymes sont très intéressantes du point de vue pharmaceutique. Aussi les enzymes, telles que les hydrolases, les lipases et les protéases ont une importance particulière (Gertsch 2008).

## 2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont définis comme tous les métabolites autres que les métabolites primaires, ils ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolites primaires et résultent de réactions chimiques ultérieures. (Kluger et al. 2015). Dans la synthèse des métabolites secondaires, la condensation, l'oxydation, la réduction et la substitution sont impliquées comme principales réactions chimiques (Hegnauer 1984).

Pendant longtemps, le dépistage des métabolites secondaires a presque exclusivement été motivé par la recherche de nouveaux ingrédients bioactifs des médicaments, tandis que l'étude de leur fonction biologique a été largement négligée (Karlovsy 2008). Par conséquent, le rôle de la plupart de ces composés reste largement incertain mais il est généralement admis que les plantes utilisent ces métabolites pour plusieurs fonctions tel que, la communication intra et interspécifique, ainsi que dans diverses interactions avec les hôtes (Bartwal et al. 2013).

Les métabolites secondaires sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre (Luckner 2013). Ces molécules sont produites dans différents endroits de la cellule, dans des parties spécifiques de la plante en fonction du stade de développement. De façon générale, le rôle du métabolite secondaire est en lien avec sa localisation au sein de la plante (Murthy et al. 2014; Najda et al. 2015). Avec une structure chimique parfois complexe, ils sont très différents selon les espèces et s'accumulent le plus souvent en faible quantité. Beaucoup de métabolites se comportent comme des signaux chimiques que la plante utilise pour s'adapter aux changements défavorables de l'environnement (Bartwal et al. 2013). Aussi, ils jouent un rôle dans la défense contre les pathogènes, les parasites et les inhibiteurs de la germination (Agrawal et Weber 2015). D'autres assurent la protection contre les radiations solaires, d'autres favorisent la dispersion du pollen et des graines (Scharf et al. 2014).

Actuellement, plus de 100000 molécules différentes sont connues et, 4000 nouveaux métabolites sont découverts chaque année (Calabrò 2015). Ces composés présentent un intérêt économique notable. On estime qu'au moins 25% de principe actif pharmaceutiques mis sur le marché proviennent de plantes médicinales ou de produits dérivés (Ryan et al. 2015; Tomlinson et Akerele 2015). Il existe trois grands groupes de métabolites secondaires : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

### **2.1. Les composés phénoliques**

Ils peuvent être synthétisés, dans les plantes, dans des voies différentes, mais surtout par l'acide Shikimique. Il peut y avoir d'autres voies dont le cycle aromatique. Les principaux groupes de composés phénoliques qui peuvent être présents dans les plantes sont : les composés phénoliques simples (phénols, phloroglucinols, etc.), les coumarines, les flavonoïdes, les tannins, les lignanes, les phénylpropanoïdes... etc., et les sous-groupes de ces grands groupes (De Paepe et al. 2015).

#### **- Les composés phénoliques simples**

Certains phénols simples et leurs sources : acide filcique, Aspidinol, albaspidine (*Dryopteris filix-mas*) ; L'humulone et la lupulone (*Humulus lupulus et Cannabis sativa*) ; Diurétique, antiseptique, arbutine (*Arctostaphylos uva-ursi*) (Chiou et al. 2007).

#### **- Les naphtoquinones**

Ces derniers exercent des activités : hépato-protectrice (*Lawsonia inermis*) ; antibactériennes, insecticides, cytostatiques et fongicides (*Plumbago zeylanica, Juglans regia, Alkanna tinctoria, Lithospermum erythrorhizon*) (Máthé 2015).

### - Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances largement distribuées dans le règne végétal. Le "flavonoïde" est un nom générique de divers sous-groupes, les flavones (apigénine, lutéoline), les flavonoles (kaempférol, quercétine), les flavanones (naringénine, ériodictyol), les flavanonoles (taxifoline, dihydromyricétine), les isoflavones (daidzéine, génistéine) et dans un sens plus large les anthocyanidines (cyanidine, delphinidine, pélargonidine, petunidine, malvidol) (Lhuillier 2007).

Ainsi, *Betula pendula*, *Calendula officinalis*, *Sambucus nigra* sont des espèces très riches en flavonoïdes ; *Equisetum arvense*, riche en flavone glycosides (augmente l'excrétion rénale) et *Passiflora incarnate*, riche en flavone C-glycosides (Máthé 2015).

### - Les tanins

Ce sont des antioxydants, astringents et des inhibiteurs enzymatiques. Ils peuvent être combinés avec des protéines. Il existe deux grands groupes : les hydrolysables et les non hydrolysables.

Quelque plantes riches en tanins : *Acacia catechu*, *Crataegus monogyna* et *Hamamelis virginiana* (Viladomat et Bastida 2015).

## 2.2. Les terpénoïdes

Généralement, les terpénoïdes suivent la voie de biosynthèse de l'acide mévalonique qui est synthétisé à partir de l'acétyl-CoA et acétoacétyl-CoA (Wang et al. 2014).

Cette famille comprend :

- Les monoterpènes (chez *Lavandula angustifolia* : acétate de linalyle, linalol, géraniol) ;
- Les iridoïdes (chez *Olea europea* : oleuropeine et oléacine) ;
- Les sesquiterpènes (chez *Inula helenium* : alantolactone et isoalantolactone) ;
- Les diterpènes (chez *Marrubium vulgare* et *Taxus brevifolia* : abietane, clerodane, kaurane, cembrane, tiglane, taxane, taxol...) ;
- Les triterpènes (chez *Glycyrrhiza glabra* : glycyrrhizine) ;
- Les stéroïdes (chez *Vitex agnus-castus* : Stéroïls, Stéroïdes saponaires, stéroïdes alcaloïdes) ;
- Les tétraterpènes ou polyterpènes (chez *Bixa orellana*, *Hevea brasiliensis* : lutéine, Crocétine, crocine, bixine) (Máthé 2015).

### 3. Les alcaloïdes

#### 3.1. Généralités

Les alcaloïdes est le groupe le plus important des métabolites secondaires, en raison de leurs propriétés biologiques et leur diversité structurale (Steenkamp et al. 2004). Ce sont des substances naturelles et organiques qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique avec un degré variable de caractère basique. Ce sont des composés relativement stables, proviennent de plusieurs voies biosynthétiques, généralement à partir d'acides aminés comme la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Dewick 2001; Khalil 2017).

Les alcaloïdes sont distincts des autres composés azotés comme les aminoacides, les bêtaïnes, les peptides, les amino-sucres, les vitamines azotées, les porphyrines et les alkylamines (Bruneton et Barton 1987). La majorité de ces substances sont toxiques, mais l'Homme a pu les utiliser dans la thérapie. Aussi, ils ont une fonction importante dans la défense chez les plantes (Costa et al. 2008). Depuis l'identification du premier alcaloïde -la morphine - à partir de l'opium en 1806 (Bhatt et Gupta 2015), plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés à partir des plantes (Guirimand et al. 2010).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais, ils diffèrent selon l'espèce, aussi ils peuvent s'accumuler uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits (Hartmann 1999; Dewick 2001).

Ils sont essentiellement présents chez les Angiospermes, et plus particulièrement les Solanacées. Certains alcaloïdes sont présents dans plusieurs genres appartenant à des familles différentes comme la caféine (Asteraceae, Solanaceae, Erythroxylaceae). D'autres sont limités à quelques genres à l'intérieur d'une même famille (l'hyoscyamine) ou sont limités à un groupe d'espèces à l'intérieur d'un même genre (la thébaïne), ou bien sont restreints à une seule espèce telle que la morphine (Roberts 2013).

#### 3.2. Classification des alcaloïdes

On estime qu'il y a plus de 12 000 alcaloïdes différents (Kitajima and Takayama 2016) déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale (Muniz 2006). Plusieurs types de classification ont été proposées mais seule la classification biogénétique a été retenue et est la plus utilisée (Bruneton et Barton 1987). L'atome d'azote dans les alcaloïdes provient, en général, d'un acide aminé dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la structure

finale de l'alcaloïde. Une façon raisonnable pour classer les alcaloïdes en groupes selon leur précurseur biosynthétique. Ainsi, il existe des alcaloïdes dérivés de l'ornithine, de la lysine, de la tyrosine, de la phénylalanine et du tryptophane (Cushnie et al. 2014).

Le **Tableau 1** décrit quelques types d'alcaloïdes et leurs précurseurs biosynthétiques.

**Tableau 1** : Classification des alcaloïdes selon leurs provenances de différents acides aminés (Georgiev et al. 2013).

<b>Acide aminé</b>	<b>Type d'alcaloïde</b>
Ornithine	Pyrrolidines, pyrrolizidines, tropanes
Lysine	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines
R = H, Phénylalanine R = OH, Tyrosine	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines
Tryptophane	Indoles
Acide anthranilique	Quinoléines, quinazolines, acridines
Acide nicotinique	Pyridines
Histidine	Imidazoles
Via aminations	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens

Le **Tableau 2** montre les différentes familles d'alcaloïdes existant dans la nature, quelques plantes sources de ces molécules, les composés actifs (les alcaloïdes), ainsi que leurs activités pharmacologiques et les cibles.

**Tableau 2 :** Sources, diversité chimique et activité biologique des quatre grandes familles d'alcaloïdes (Guirimand et al. 2010).

Famille d'alcaloïdes	Les plantes (les espèces)	Les composés actifs	L'activité pharmacologique	Cible
Les alcaloïdes monoterpène indoliques (MIA)	<i>Catharanthus roseus</i>	vinblastine, vincristine ajmalicine	anticancéreuse	la tubuline
	<i>Rauwolfia serpentina</i>	ajmaline	antihypertenseur, antiarythmique	le récepteur adrénergique
	<i>Camptotheca acuminata</i>	camptothecine	anticancéreuse	l'ADN topoisomérase I
Les alcaloïdes benzyloquinolinique (BIA)	<i>Papaver somniferum</i>	codéine, morphine,	antitussive, analgésique, narcotique.	Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine. récepteur opioïde.
	<i>Eschscholzia californica</i>	papavérine	spasmolytique, vasodilatateur	La phosphodiesterase.
	<i>Thalictrum flavum</i>	sanguinarine berbérine	antibactérienne, proapoptotique	
	<i>Coptis japonica</i>	berbérine, sanguinarine	antibactérienne, antimicrobienne	L'ADN
Les alcaloïdes tropaniques et nicotiniques (TNA)	<i>Hyoscyamus niger</i>	hyoscyamine	anticholinergique, narcotique	Les récepteurs muscariniques
	<i>Datura stramonium</i>	scopolamine	anticholinergique, narcotique	
	<i>Atropa belladonna</i>	hyoscyamine	anticholinergique, narcotique	Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine.
	<i>Nicotiana tabacum</i>	nicotine	neurostimulante, insecticide	
Les alcaloïdes puriniques (PA)	<i>Coffea arabica</i>	caféine	stimulant du système nerveux central	Les récepteurs adénosine A1 et A2A
	<i>Camellia sinensis</i>	caféine,		
	<i>Theobroma cacao</i>	théophylline caféine	stimulant du système nerveux central	phosphodiesterase

### 3.3. Les Alcaloïdes tropaniques

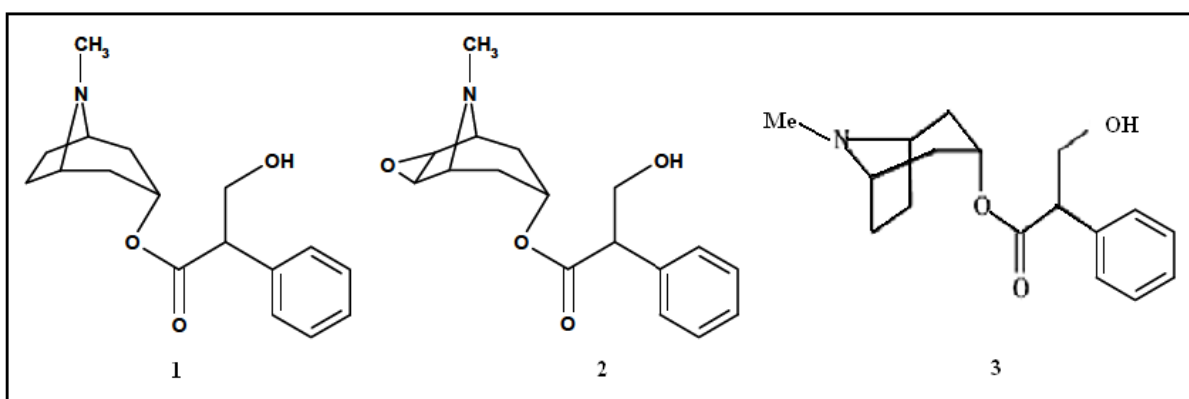
Les alcaloïdes tropaniques, tels que l'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine (**Fig.4**), constituent l'une des familles les plus importantes de métabolites secondaires chez certaines espèces des Solanaceae (Griffin et Lin 2000; Rios et Recio 2005). Ils font partie des plus vieux remèdes utilisés dans la médecine (Berkov et Pavlov 2004). Ces alcaloïdes sont présents surtout chez les Solanacées mais on peut les trouver également chez les Convolvulaceae, les Erythroxylaceae, les Proteaceae et les Rhizophoraceae. Ils sont très rarement présents dans d'autres familles n'ayant aucune relation taxonomique avec les

Solanaceae, comme les Brassicaceae, les Euphorbiaceae et les Olacaceae (Bruneton et al. 1999). On a recensé environ 200 alcaloïdes tropaniques, répartis dans un petit nombre de familles d'Angiospermes.

L'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine sont caractérisées par la présence d'un noyau tropane hérité de la tropinone, qui porte le noyau azoté et d'un noyau benzène hérité de la phénylalanine (**Fig.4**).

L'hyoscyamine et l'atropine ont la même activité : ce sont des parasympatholytiques. Elles agissent comme des antagonistes des récepteurs muscariniques en s'opposant, par un blocage compétitif et réversible des récepteurs périphériques et centraux, c'est l'action de l'acétylcholine. Elles ont servi de base à la chimie de synthèse pour concevoir la plupart des médicaments anticholinergiques. L'atropine est un antispasmodique très apprécié lors des manifestations douloureuses et elle est employée dans les spasmes gastriques et intestinaux, ceux des bronches, du larynx, des voies biliaires et urinaires. Elle protège, aussi, des manifestations vagales, en pré-anesthésie et en cardiologie, lors de bloc auriculoventriculaire et de bradycardies sinusales, elle est l'antidote spécifique des intoxications par des médicaments parasympathomimétiques ou desanticholinestérasiques (Muniz 2006).

La scopolamine, ou hyoscine a une activité parasympatholytique beaucoup moins marquée, au niveau cardiaque, que celle de l'atropine. Elle développe, essentiellement, une action centrale sédatrice, dépressive, hypnotique, amnésiante, antiparkinsonienne. Elle est utilisée dans le traitement symptomatique des douleurs gastriques et gynécologiques. Elle fait l'objet de recherches sur l'amnésie et les processus liés à la mémoire (King et al. 2014).



**Figure 4 :** Structures chimiques des trois alcaloïdes tropaniques (Palazón et al. 2008).

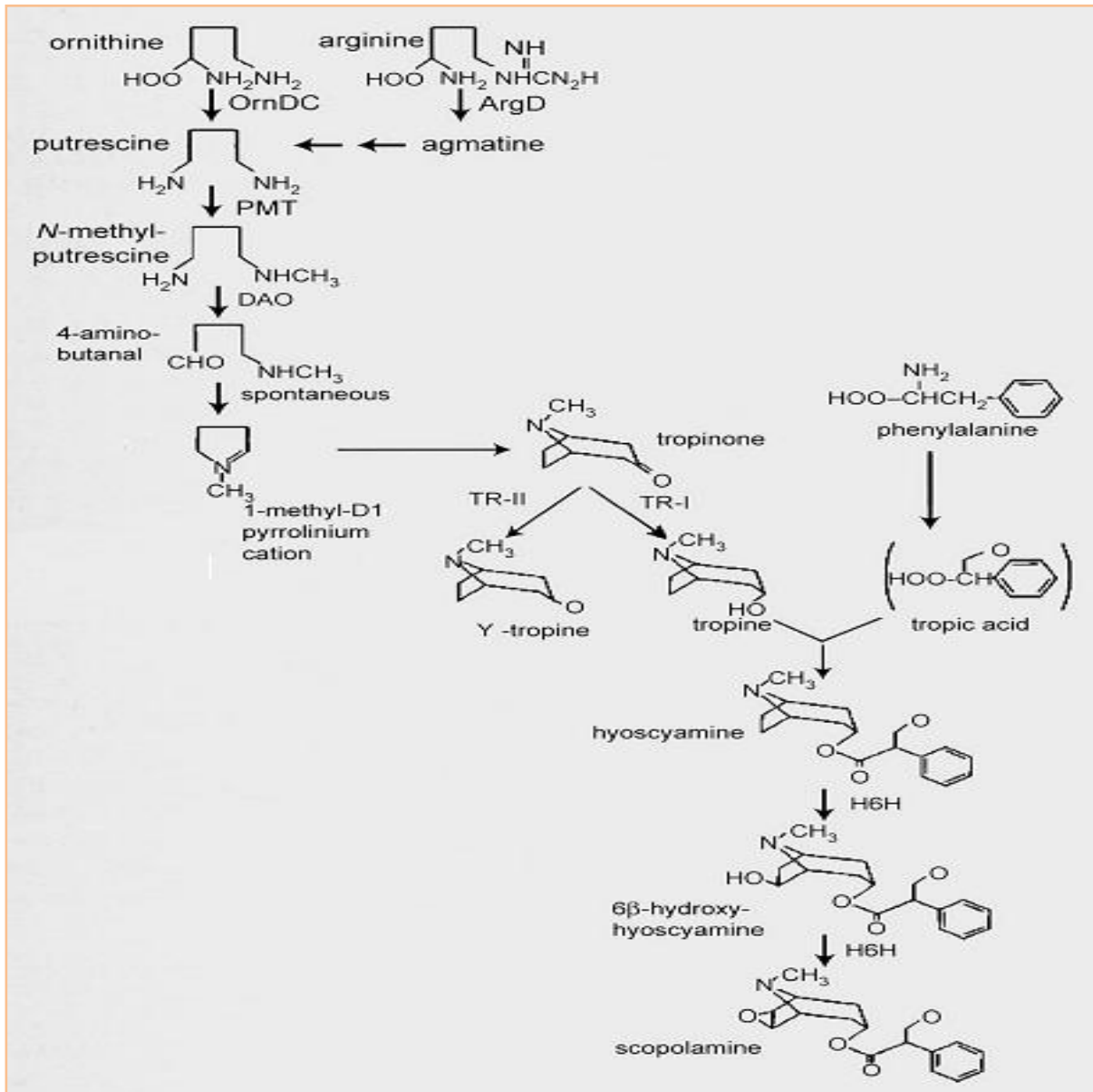
1 : Hyoscyamine, 2 : Scopolamine, 3 : Atropine



### 3.4. Biosynthèse

Les alcaloïdes sont classés en plusieurs familles issues de voies de biosynthèse totalement différentes. Quatre grandes familles, pour lesquelles la biosynthèse et la régulation sont plus particulièrement étudiées, les alcaloïdes de monoterpène indole (MIA), les alcaloïdes benzyloquinoliniques (BIA), les alcaloïdes tropaniques et nicotiniques (TNA) et les alcaloïdes puriniques (Pan et al. 2016).

Nakajima et Hashimoto (1999) ont montré que les racines, lieu de production des alcaloïdes tropaniques, sont constituées de plusieurs types de tissus, dont les caractéristiques changent suivant les différentes phases de développement et les conditions de croissance. Aussi, pour (Gontier et al. (1994), l'hyoscyamine est synthétisée dans la racine par l'estérification du tropanol et de l'acide tropique. Les alcaloïdes tropaniques et nectoniques sont des dérivés des acides aminés, ornithine et arginine et la première étape de biosynthèse conduit à la formation de la N-méthylputrescine (**Fig. 5**). La désamination oxydative de la N-méthylputrescine conduit au cation N-méthylpyrrolinium, ce qui constitue un point de ramification vers la tropane. Les étapes finales sont partiellement caractérisées, mais les informations concernant l'étape centrale est toujours manquantes. Sept étapes enzymatiques générales pour la voie de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques ont été caractérisées. Plus de détails sur ces voies et sur les étapes enzymatiques identifiées sont disponibles dans les études de Lorence et Nessler (2004); Dräger (2006); Oksman-Caldentey (2007) et Ashihara et al. (2008).



**Figure 5 :** Biosynthèse des alcaloïdes tropaniques (Lee et al. 2004)

### 3.5. Variation de la concentration et de la nature des alcaloïdes tropaniques au sein de la plante entière

La quantité et la nature des alcaloïdes tropaniques varient suivant l'organe, l'âge et l'origine de la plante (Damianakos et al. 2014). L'ensemble des variations qualitatives et quantitatives observées peut être exploité pour la sélection de variantes de surproduction (Parr et al. 1990 ; Srivastava et al. 2014).

### 3.5.1. Variation selon l'organe

Hashimoto et al. (1991) ont montré que les racines sont le site principal de synthèse des alcaloïdes chez *Datura*. Chez cette dernière, le taux d'hyoscyamine est supérieur au taux de scopolamine dans les racines. Ce rapport s'inverse dans les tiges et en particulier dans les feuilles (Zhang et al. 2004) où le contenu maximum en scopolamine est observé dans les feuilles apicales (Miraldi et al. 2001).

Le taux d'alcaloïdes dans la plante est donc lié à la synthèse de l'hyoscyamine dans les racines, à la migration des alcaloïdes au sein de la plante et à leur dégradation (Yun et al. 1992). La concentration mesurée dans les racines est d'autant plus forte que leur diamètre est faible (Plank et Wagner 1986).

### 3.5.2. Variation selon le stade de développement de la plante

Au cours de la croissance et du développement de la plante, l'anabolisme ainsi que le catabolisme des alcaloïdes sont sujets à des évolutions.

Le taux d'alcaloïdes mesuré est variable en fonction du stade de développement de la plante (Houmani et al. 1994b). Ce taux augmente avec l'âge de la plante pour être maximal chez une plante cultivée sous une photopériode de 16 heures, lorsque le premier bouton floral atteint 1 cm de longueur. Chez *Hyoscyamus muticus*, la teneur alcaloïdique foliaire maximale est atteinte pendant la floraison (Oksman-Caldentey et al. 1987), alors que dans les racines, la concentration en hyoscyamine continue d'augmenter jusqu'à la mise à graine. Parallèlement, on trouve des quantités plus importantes d'alcaloïdes chez les jeunes feuilles que chez les plus vieilles (Bourgaud et al. 2001).

## 3.6. Extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes est fondée, en général, sur le fait qu'ils existent dans la plante à l'état de sels ou de combinaisons solubles, sur leur caractère basique et donc sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau et dans les solvants en fonction du pH (Bruneton et Barton 1987). Donc l'isolement et l'analyse des alcaloïdes se fondent généralement sur les différences dans la solubilité de la forme de base -libre et de la forme acide. La base libre est habituellement soluble dans les solvants hydrophobes (Makkar et al. 2007). L'extraction est généralement réalisée par des solvants organiques non polaires, par des solvants organiques polaires ou par l'eau acidifiée (Paris et Hurabielle 1981).

Deux méthodes sont utilisées : l'extraction en milieu alcalin (par un solvant) et l'extraction en milieu acide (par l'eau ou par une solution alcoolique ou hydro alcoolique) (Stenkamp et al. 2004).

### 3.6.1. Extraction par un solvant en milieu alcalin

Solon Bruneton (1995) :

- La drogue pulvérisée est mélangée à une solution aqueuse alcaline qui déplace les alcaloïdes de leurs combinaisons salines, les bases ainsi libérées sont ensuite solubilisées dans un solvant organique.
- L'agent d'alcalinisation est très souvent l'ammoniaque. Le solvant organique peut être un solvant chloré, le benzène ou l'éther diéthylique.
- Le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est séparé, et si nécessaire, concentré par distillation sous pression réduite. Il est alors agité à plusieurs reprises avec une solution aqueuse acide. Les alcaloïdes se solubilisent sous forme de sels dans la phase aqueuse tandis que les pigments, stérols et autres impuretés restent en solution dans la phase organique. Les acides utilisés sont variables (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, acide sulfamique ou acide citrique) mais toujours en solutions diluées.
- Les solutions aqueuses de sels d'alcaloïdes sont alcalinisées par une base en présence d'un solvant non miscible. L'épuisement de la phase aqueuse est poursuivi jusqu'à ce que tous les alcaloïdes soient repassés en phase organique.
- Le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation avec un sel anhydre et évaporé sous vide. Il reste alors un résidu : les alcaloïdes totaux.

### 3.6.2. Extraction en milieu acide

Deux cas peuvent se présenter :

- Dans le premier cas, la drogue pulvérisée est directement épuisée par de l'eau acidifiée ;
- Dans le deuxième cas, c'est avec une solution alcoolique ou hydroalcoolique d'acide que l'épuisement est réalisé. Dans ce cas la solution extractive est concentrée par distillation sous vide pour chasser l'alcool.

Dans les deux cas on se retrouve donc avec une solution aqueuse de sels d'alcaloïdes qui peut être traitée de différentes façons (Bruneton et Barton 1987) :

- ❖ Alcalinisation et extraction des bases par un solvant organique non miscible, ou

- ❖ Fixation des alcaloïdes sur des résines échangeuses d'ions puis élution par des acides forts, ou
- ❖ Précipitation des alcaloïdes sous la forme d'iodomercures par du réactif de Mayer concentré, le complexe formé est récupéré par filtration ou centrifugation, redissout dans un mélange hydro-alcool-acétonique et décomposé par passage sur des résines échangeuses d'ions.

### 3.7. Purification, dosage et identification

Quelle que soit la méthode choisie pour extraire les alcaloïdes, ce ne sont pas des produits purs qui sont obtenus mais des alcaloïdes totaux, souvent, un mélange de bases. Dans le meilleur des cas l'un des alcaloïdes est majoritaire et peut être obtenu par cristallisation directe. Dans d'autres cas, les divers alcaloïdes du mélange ont des basicités différentes, ce qui permet des réextractions sélectives à des pH variables (Tong et al. 2005).

Dans beaucoup de cas, il est nécessaire de recourir aux techniques chromatographiques (sur gel de silice, d'alumine ou sur les résines d'échange ionique). Dans les laboratoires de recherches, souvent, la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) sont les plus employées (Dräger 2002) pour la séparation, l'identification et la quantification de composés chimiques dans des mélanges complexes comme les extraits de plantes (Chaunu 2009).

#### 3.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Elle constitue la méthode la plus puissante et la plus fine pour séparer, identifier et quantifier les corps gazeux ou volatilisables (Chaunu 2009).

En chromatographie en phase gazeuse l'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. Contrairement à la plupart des autres chromatographies, il n'y a pas d'interaction entre les molécules d'analyte et la phase mobile ; la seule fonction de celle-ci est de transporter l'analyte dans la colonne (Deng et al. 2002).

Il existe deux types de CPG : la chromatographie gaz-solide (CGS) et la chromatographie gaz-liquide (CGL) (Skoog et al. 2003).

#### 3.7.2. Chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC)

C'est presque le même principe que la CPG. Un fluide appelé phase mobile parcourt la colonne. Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire. A l'instant initial, le

mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne (Skoog et al. 2003).

### **3.7.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et la GC-MS-EI**

La GC-MS est une méthode très utilisée pour la séparation et l'identification des mélanges complexes des alcaloïdes tropaniques (Suau et al. 2002).

La GC-MS à ionisation électronique (EI) est une technique d'analyse qui offre une grande sensibilité et reproductibilité, et permet l'identification des composés en utilisant des bibliothèques spectrales (Steinhauser et Kopka 2007; Garreta-Lara et al. 2016).

Son principe consiste à provoquer l'ionisation d'une molécule et sa dissolution éventuelle en fragments ionisés puis à déterminer la nature et l'abondance de l'ensemble des ions formés. L'ionisation est faite par deux procédés différents, l'impact électronique (les molécules de l'échantillon entrent en collision avec un flux d'électrons, l'impact de l'électron avec une molécule provoque l'expulsion d'un électron de la molécule créant ainsi un ion positif) ou l'ionisation chimique (des réactifs comme des ions  $\text{CH}_5^+$  ou  $\text{NH}_4^+$  réagissent avec les molécules pour former des ions positifs). Les ions sont extraits de la source au fur et à mesure de leur formation, accélérés et focalisés jusqu'à l'analyseur par un jeu de lentilles électrostatiques. Ils passent ensuite dans un analyseur qui contient des électrodes auxquelles on applique un potentiel oscillant. Cela permet la création d'un champ quadripolaire. Selon son rapport masse sur charge ( $m/z$ ), l'ion va effectuer une trajectoire hélicoïdale et atteindra alors le détecteur. Ce dernier fournit ainsi un spectre de masse. L'abondance d'ion est donnée en pourcentage par rapport à l'abondance des autres ions (Rouessac et Rouessac 2013).

### **3.7.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et temps de vol (GC-TOF-MS)**

Le profilage de données par la GC-EI-MS a été grandement facilité par le taux élevé d'acquisition de données par la GC-TOF-MS (Gas chromatography–time of flight-mass spectrometry) et les procédures de dérivation reproductibles adaptées aux métabolites polaires (Roessner et al. 2000). L'institut Max Planck de molécules et de physiologie de plantes (Potsdam, Allemagne) ont été les premiers à utiliser la technique TOF basée sur la GC-EI-MS (Fiehn et al. 2000; Fernie et al. 2004; Lisec et al. 2006; Erban et al. 2007). La TOF analyseur de masse donne une sensibilité accrue et des profils métaboliques riches en données, qui demandent ensuite de nouvelles stratégies dans l'exploration de données. La plate-forme comporte un spectromètre de masse à temps de vol permettant de manière exhaustive

l'identification d'un grand nombre de métabolites préalablement extraits d'une matrice puis purifiés par chromatographie en phase gazeuse (Fiehn et al. 2007). Elle est conçue pour l'analyse des métabolites dans des mélanges complexes (séparation de plusieurs centaines de pics grâce à sa haute vitesse de balayage pouvant atteindre 500 spectres/seconde). Cette technologie permet de réaliser des spectres métaboliques de l'ensemble des composés de faible poids moléculaire (acides aminés, acides organiques, mono et disaccharides ...).

Son principe consiste à introduire l'échantillon par une seringue, il va être vaporisé et mélangé au gaz de l'hélium. Les composés sont séparés dans la colonne capillaire en fonction du temps puis injectés dans la source du spectromètre de masse via une ligne de transfert chauffée. Cette technique est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Une étape de dérivatisation lors de la préparation des échantillons permet de rendre volatils certains métabolites tel que les acides aminés, les sucres et les acides organiques. Dans la source, les molécules sont ionisées par un filament qui génère un faisceau d'électron (70 eV). L'arrachement d'un électron aux molécules produit des ions radicalaires (ionisation électronique) qui vont se fragmenter sous l'effet de l'énergie interne intense acquise lors de l'ionisation (Erban et al. 2007).

Une succession de pulses électroniques poussent les ions formés à travers des grilles d'extraction et d'accélération. Les ions quittent la source avec la même énergie cinétique. Les ions de masses différentes auront des vitesses différentes. Dans le tube de temps de vol, le temps de trajet des ions pour atteindre le détecteur dépend de leur masse. Le réflectron (miroir électrostatique en bas du tube) permet de compenser les variations légères d'énergie en sortie de source. Le détecteur utilisé, une galette de micro-canaux permet d'acquérir jusqu'à 500 spectres de masse par seconde. Les spectres de masse permettent l'identification des molécules présentes dans l'échantillon. En effet, en ionisation électronique, chaque composé a un spectre de masse qui lui est propre et permet de l'identifier s'il est répertorié dans les bibliothèques de spectres. Les composés identifiés peuvent être quantifiés en mesurant l'abondance. L'intégration du pic chromatographique est effectuée sur le courant correspondant à un ion caractéristique du composé (Wagner et al. 2003).

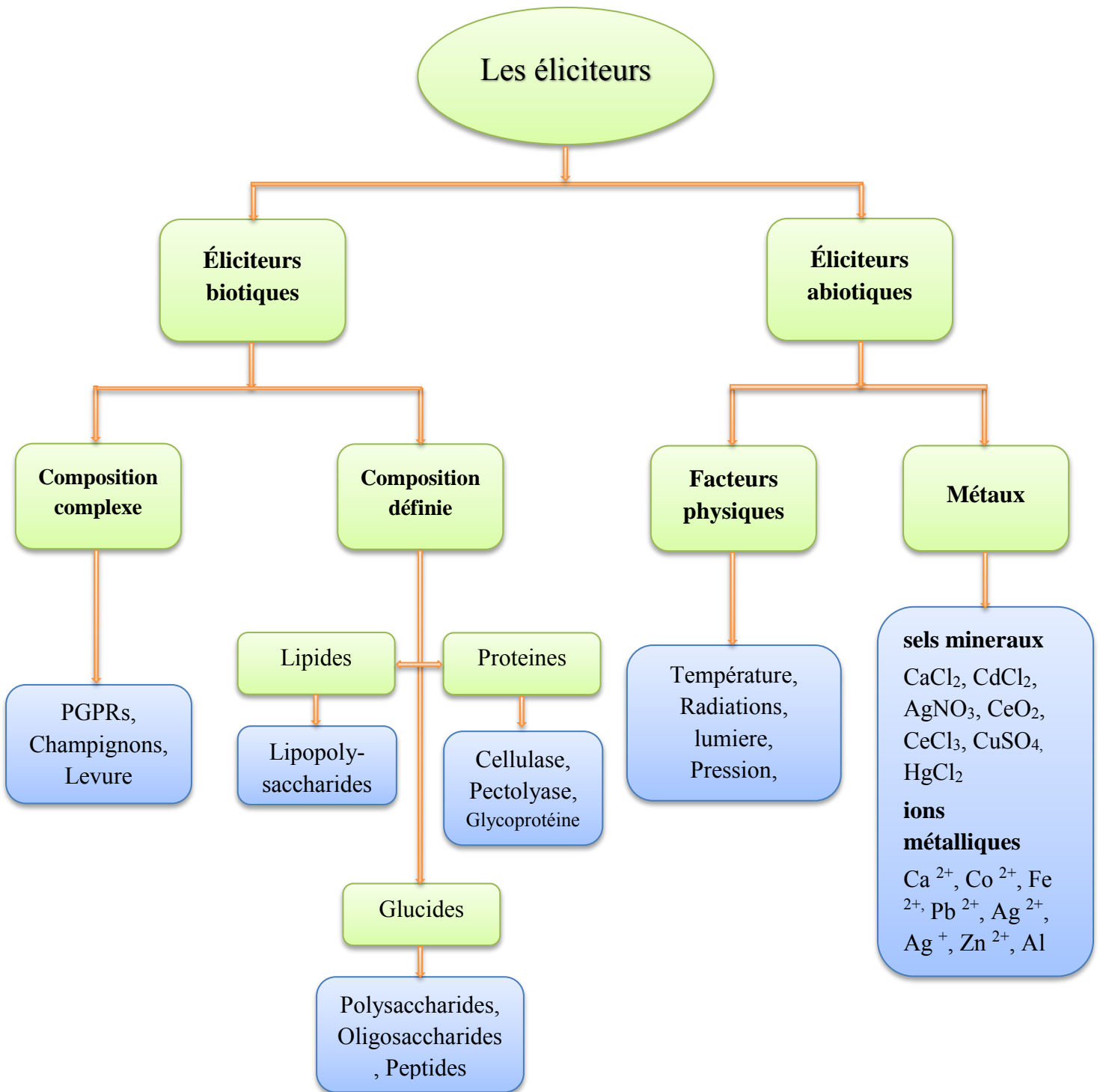
## V. L'Elicitation

### 1. Généralités

L'élicitation consiste en l'induction de la biosynthèse de métabolites secondaires par des substances dites « éliciteurs » suite à un stress biotique ou abiotique (Radman et al. 2003).

Selon Namdeo et al. (2007), les éliciteurs peuvent être classés sur la base de leur nature en éliciteurs abiotiques et éliciteurs biotiques (**Fig.6**), ou sur la base de leur origine en éliciteurs exogènes et éliciteurs endogènes. Les éliciteurs abiotiques sont des substances dont l'origine n'est pas biologique et dont les sels inorganiques sont les plus dominants. Ces derniers, présentent des facteurs physiques agissant en tant qu'éliciteurs comme le Cu, les ions Cd et le  $\text{Ca}^{2+}$  (Patel et Krishnamurthy 2013). Les principaux éliciteurs abiotiques sont : des rayons UV ou des protéines dénaturées, des métaux lourds, des fongicides (Maneb, Buthylamine), des herbicides (Acifluoronfen)... Alors que les éliciteurs biotiques sont des substances d'origine organique. Ils comprennent des polysaccharides dérivés des parois cellulaires de la plante (pectine ou cellulose), les micro-organismes (chitine ou glucane), les glycoprotéines et la G-protéine ou les protéines intracellulaires dont les fonctions sont couplées aux récepteurs en activant ou en désactivant un certain nombre d'enzymes ou de canaux d'ions (Namdeo and others 2007). Ainsi, il été constaté que le traitement des plantes avec un éliciteur biotique peut provoquer une série de réactions de défense avec l'accumulation d'une série de molécules végétales bioactives comme les phytoalexines chez les plantes intactes (Siddiqui et al. 2010).





**Figure 6 :** Les différentes catégories d'éliciteurs (Shahzad et Akhtar 2016).

## 2. Eliciteurs et production de métabolites secondaires

L'élicitation active l'expression de gènes responsables de la biosynthèse des métabolites secondaires (Roberts et Shuler 1997). Elle constitue une stratégie de choix pour l'amélioration de la production de diverses substances par voie biotechnologique (Zhao et al. 2005).

De ce fait, le milieu de culture, particulièrement sa teneur en éléments nutritifs, est devenu une cible pour maximiser l'accumulation des métabolites secondaires (Ono et Tian 2011).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont étudié l'effet des éliciteurs biotiques et abiotiques sur le taux des alcaloïdes chez *Datura* sp. : Cu<sup>2+</sup> et Cd<sup>2+</sup> (Furze et al. 1991) ; zinc (Vaillant et al. 2005) ; pH et *Agrobacterium rhizogenes* (Vu 2008), acide salicylique et acétylsalicylique (Amdoun et al. 2009), acide jasmonique, les acides salicylique et acétylsalicylique (Amdoun et al. 2010), le NaCl (Khelifi et al. 2011), les PGPRs (Rahmoune et al. 2017).

Ainsi, les effets stimulants de divers éliciteurs (abiotiques et biotiques, endogènes et exogènes...etc.) sur l'accumulation et l'amélioration de la production des composés bioactifs chez les plantes médicinales ont été étudiés par de nombreux chercheurs comme l'illustre le **tableau 3**.

**Tableau 3** : Quelques travaux sur des plantes médicinales élicitées par des éliciteurs abiotiques et biotiques (Shahzad et Akhtar 2016).

Plante	Type d'éliciteurs	Références
<i>Abrus precatorius</i>	Champignons ( <i>A. niger</i> , <i>R. stolonifer</i> ), extrait de levure, acide salicylique, acide ascorbique, eugénol	(Karwasara et al. 2010)
<i>Asparagus racemosus</i>	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> souche 532.	(Dixit et Vaidya 2010)
<i>Catharanthus roseus</i>	Pectinase et méthyl jasmonate	(Rijhwani and Shanks 1998)
	sorbitol, mannitol NaCl et KCl	(Zhao et al. 2000b)
	Métaux lourds et le Sulfate de vanadyl	(Zhao et al. 2000a)
	Température	(Ten Hoopen et al. 2002)
	Co, Zn, Ni, Mn, Cr, W, Cu, B, V, Fe et Mo	(Lovkova et al. 2005)

	Lumière UV-B	(Binder et al. 2009)
<i>Dioscorea deltoidea</i>	<i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , lumière (400-600 lux)	(Rojas et al. 1999)
<i>Dioscorea galeottiana</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , UV, acide salicylique	(Pise et al. 2013)
<i>Emidesmus indicus</i>	Chitosane	(Chakraborty et al. 2008)
	Chitosane, jasmonate de méthyle, extrait de levure	(Kundu et al. 2012)
<i>Gymnema sylvestre</i>	Lumière et sels métalliques	(Bakrudeen et al. 2009)
	<i>Aspergillus niger</i>	(Devi et Srinivasan 2011)
	Jasmonate de méthyle, extrait de levure, chitine, pectine	(Veerashree et al. 2012)
	CuCl <sub>2</sub> , CdCl <sub>2</sub> , AgNO <sub>3</sub> , CoCl <sub>2</sub> , CaCl <sub>2</sub> et HgCl <sub>2</sub>	(Chodisetti et al. 2012).
<i>Mucuna pruriens</i>	Jasmonate de méthyle, chitine, pectine, extrait de levure	(Raghavendra et al. 2011)
<i>Rubia tinctorum</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>	(Van-Tegelen et al. 1999)
	Jasmonate de méthyle, CuSO <sub>4</sub> , acide salicylique	(Abd El-Mawla 2012)
	Chitosane	(Vasconsuelo et al. 2003)

En outre, les PGPRs sont mieux connus pour agir comme éliciteurs biotiques, qui peuvent induire la synthèse de produits secondaires dans les plantes (Banchio et al. 2008; Karthikeyan et al. 2008; Sekar et Kandavel 2010; Deepthi et Satheeshkumar 2016).

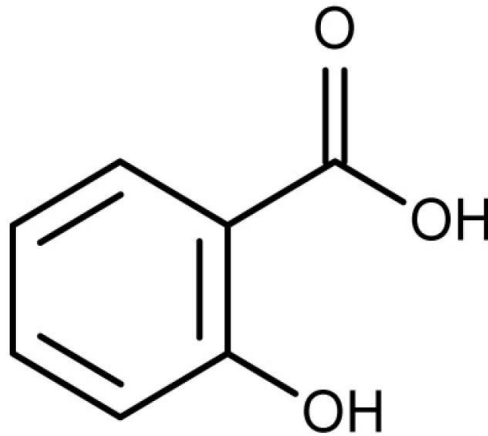
### 3. L'acide salicylique

#### 3.1. Généralités

L'acide salicylique (AS) ou l'acide ortho-hydroxybenzoïque (**Fig.7**), appartient à un groupe varié de composés phénoliques, identifié comme régulateur de croissance (Hayat et al. 2014). Il est impliqué dans un large éventail de processus physiologiques dans le règne végétal. Il est présent dans les plantes sous forme d'acide phénolique libre et sous une forme conjuguée, qui peut être générée par une glycosylation, une méthylation ou hydroxylation du composé aromatique anneau (Raskin 1992; Lee et al. 1995).

Le dérivé d'AS naturel le plus connu est la salicine (alcool salicylique  $\beta$ -glucoside) qui est produite dans le saule blanc (*Salix alba*) et d'autres espèces de saule dont *S. purpurea*, *S. daphnoides* et *S. fragilis*. Le nom de l'acide salicylique est dérivé du mot latin du saule (Salix), parce qu'à partir de l'écorce de cet arbre que Johan Buchner a isolé en 1828 une petite quantité de salicine (Raskin 1992). Plus tard, en 1838, le scientifique italien Rafaele Piria a obtenu de l'AS à partir de bourgeons de fleurs de *Spiraea ulmaria* connue sous le nom *Filipendula ulmaria*. A la fin du XIXe siècle, en 1899, la société Bayer a formulé un nouveau médicament, l'acide acétylsalicylique, et l'a appelé l'acide acétyle-Spirique puis l'aspirine (Kazemi et al. 2011). C'est une substance thérapeutique pour les êtres humains et joue aussi un rôle important dans le règne végétal. L'AS est caractérisé par une activité métabolique et physiologique élevée, et exerce des fonctions de régulation dans les cellules végétales (Hayat et al. 2014).

Depuis plus de vingt ans, ce composé a été étudié pour son rôle dans la réponse des plantes à divers facteurs de stress (Horváth et al. 2007). Les résultats de nombreuses études ont montré que l'acide salicylique pulvérisé sur des plantes entières a pu stimuler la croissance des racines de plusieurs espèces telles que la carotte, le radis, la betterave et le soja (Gutiérrez-Coronado et al. 1998). Aussi, l'AS a été utilisé comme éliciteur dans les cultures des plantes médicinales pour stimuler la production des métabolites secondaires notamment les alcaloïdes tropaniques) (Pitta-Alvarez et al. 2000; Zayed et Wink 2004; Harfi 2009; Pirian et al. 2012).

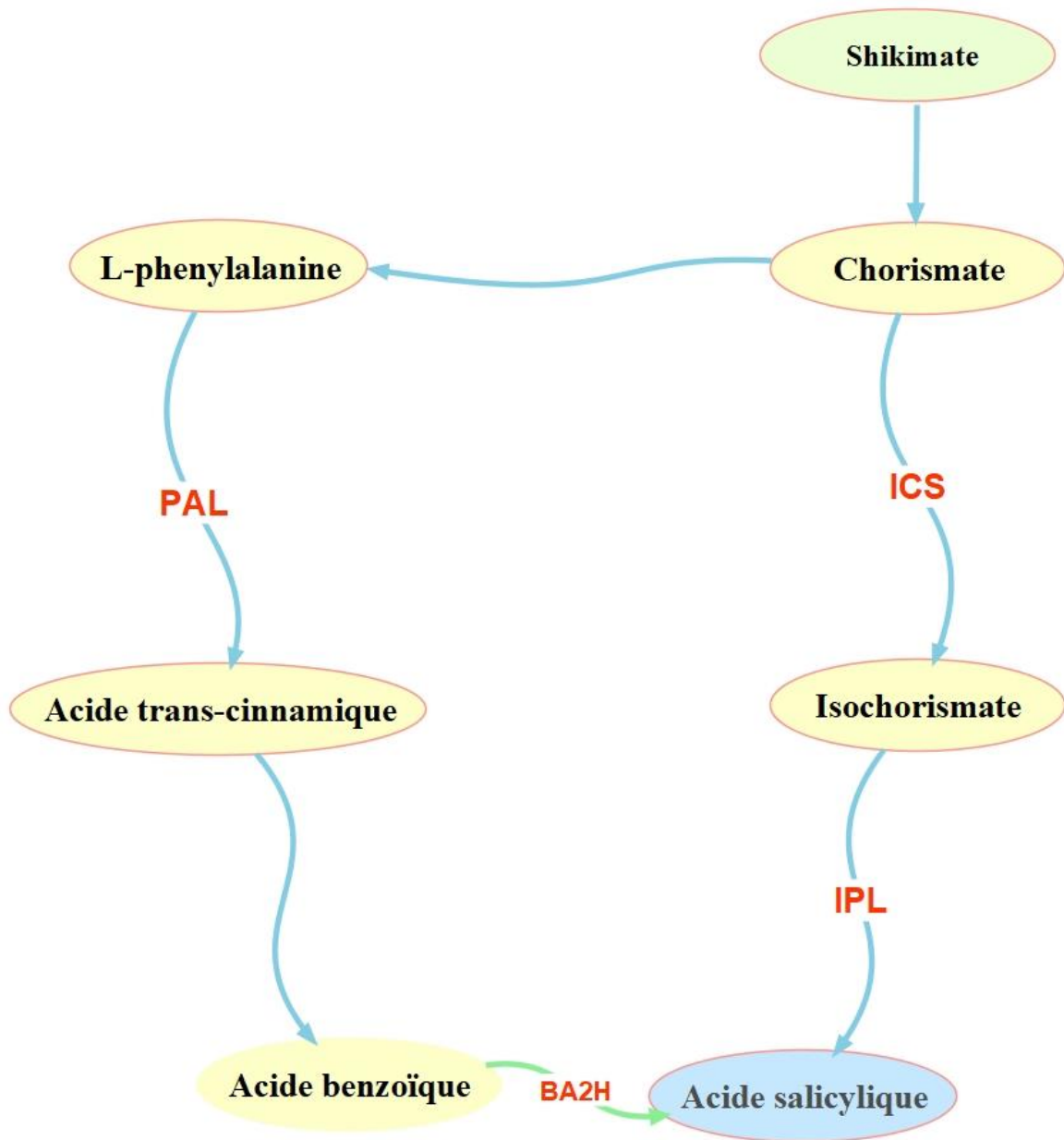


**Figure 7 :** Structure de l'acide salicylique

### 3.2. Biosynthèse

L'AS est synthétisé dans les plantes par deux voies enzymatiques distinctes (**Fig. 8**) qui exigent la présence des métabolites primaires tel que la chorismate et la L-phénylalanine (Wildermuth 2006; Chen et al. 2009). La première voie est la synthèse de l'AS dans les chloroplastes par l'intermédiaire de la chorismate via l'isochorismate dans une réaction de catalysations en deux étapes par la synthase isochorismate (ICS) et l'isochorismate pyruvate lyase (IPL) (Wildermuth 2006). Il a été montré que l'AS synthétisé par cette voie a un rôle important dans la défense des plantes contre les pathogènes (An et Mou 2011).

L'autre voie de biosynthèse est la voie de la phénylalanine localisée dans le cytoplasme. La phénylalanine qui dérive du chorismate est convertie en acide trans-cinnamique (t-CA) par la phénylalanine ammoniac lyase (PAL) et après le t-CA est oxydé en acide benzoïque (AB). L'hydroxylation du cycle aromatique d'AB catalysée par l'acide benzoïque--2-hydroxylase (BA2H) conduit à la formation de l'AS (Lee et al. 1995).



**Figure 8 :** Voies de biosynthèse de l'acide salicylique (Hayat et al. 2014).

PAL : phénylalanine ammoniac lyase ; ICS : synthase isochorismate, IPL : isochorismate pyruvate lyase ; BA2H : acide benzoïque-2-hydroxylase.

#### 4. Les PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)

##### 4.1. Généralités

La rhizosphère, est relativement la plus riche en éléments nutritifs, en raison de la perte de près de 40% par les plantes des photosynthétats des racines (Whipps 2001). Par conséquent, cette région contient un grand nombre de populations microbiennes actives qui ont des effets bénéfiques, neutres ou négatifs sur la croissance des plantes.

Kloepper et Schroth (1978) ont été les premiers à définir les PGPRs : Ce sont les bactéries qui colonisent la racine de la plante et agissent comme une source supplémentaire d'hormones et de vitamines de croissance qui sont très utiles pour améliorer la croissance et le rendement des plantes. Ces bactéries non-pathogènes possèdent un effet inhibiteur sur les agents pathogènes des plantes (Elad et Baker 1985).

Les PGPRs comprennent plusieurs genres de bactéries tel que : *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Sinorhizobium* (Somers et al. 2004; Rajasekar et Elango 2011; Egamberdieva et al. 2013).

Les PGPRs ont des applications diverses dans l'agriculture, l'horticulture et la foresterie (Pierson III et Thomashow 1992; Senthilkumar et al. 2008). Elles sont utilisées comme biofertilisants, bioinoculants et agents de lutte biologique, avec un potentiel pratique d'amélioration (**Tableau 4**) (Reddy 2014). Ces rhizobactéries bénéfiques peuvent améliorer la germination des graines, la croissance des racines, des pousses, le rendement, l'absorption des nutriments, la tolérance au stress des plantes et sont capables aussi de contrôler plusieurs maladies (Cakmakçi et al. 2006; Egamberdieva et al. 2011).

**Tableau 4 :** Formes des PGPRs et leurs mécanismes d'action stimulant la croissance des plantes (Reddy 2014).

Forme des PGPRs	Définition	Mécanisme d'action
<b>Biofertilisant</b>	Lorsque les bactéries sont appliquées sur les semences, la surface de la plante ou le sol, elle colonise la rhizosphère et favorise la croissance des plantes en augmentant l'approvisionnement en éléments nutritifs.	Fixation biologique de l'azote. Utilisation du phosphore insoluble
<b>Phytestimulateur</b>	Microorganismes, capables de produire des phytohormones comme l'acide indole-acétique, l'acide gibbérellique, les cytokinines et l'éthylène	Production de phytohormones
<b>Biopesticide</b>	Microorganismes qui favorisent la croissance des plantes en contrôlant les agents phytopathogènes	Production d'antibiotiques, Sidérophores, HCN Production d'enzymes hydrolytiques Système systémique acquis et induit la résistance
<b>Améliorateur du fonctionnement mycorhiziens</b>	Les interactions des champignons mycorhiziens avec les PGPRs peuvent favoriser le fonctionnement mycorhiziens et augmenter la productivité des plantes.	Fixation biologique de l'azote. Stimulation de la colonisation des racines par des champignons.

#### 4.2. Améliorations des niveaux des substances phytochimiques dans les plantes

Il existe de nombreux rapports sur l'effet bénéfique des PGPRs sur la croissance des plantes, l'absorption des nutriments et la défense contre les maladies. Cependant, il existe peu de travaux sur la production de métabolites secondaires dans les plantes médicinales, comme les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les tanins, l'ajmalicine, la serpentine, le picrocrocin, la crocétine, l'hyoscyamine, la scopolamine, les composés safranals et la



tanshinone sont enregistrés comme les métabolites importants produits par les PGPRs pour susciter les réactions physiologiques et morphologiques chez les plantes médicinales.

Le **tableau 5** résume quelques travaux sur l'effet des PGPRs sur les constituants phytochimiques chez les plantes médicinales.

Banchio et al. (2008) ont étudié les effets de l'inoculation par les PGPRs sur la biomasse et la composition qualitative et quantitative des huiles essentielles chez *Origanum Majorana L.* Ils ont constaté que la teneur en huile essentielle chez la plante est augmentée après inoculation par *Pseudomonas fluorescens*. Les principaux composés touchés par l'inoculation sont la terpinen-4-ol, le cis-sabinene hydrate, la trans-sabinene hydrate et l' $\alpha$ -terpinéol, leurs concentrations ont augmenté de 1000 fois par rapport à des plantes témoins. L'augmentation de la teneur des huiles essentielles dans les pousses d'*Origanum sp.* (Khaosaad et al. 2006) et les espèces Pélargonium (Rao et al. 2002) par *Glomus mosseae* a été signalée. Des résultats similaires ont été observés par Gupta et al. (2002) où l'inoculation de *Mentha arvensis* avec *Glomus fasciculatum* augmente la hauteur des plantes, la croissance des pousses et la teneur en huiles essentielles. Selon (del Rosario Cappellari et al. 2013), les *Pseudomonas fluorescens* et l'*Azospirillum brasilense* ont augmenté la biosynthèse des composantes majeures (azote) jusqu'à 70% et la teneur totale en phénol chez le tagète mexicain (*Tagetes minuta*) (**tableau 5**).

**Tableau 5 :** Effet des PGPRs sur les constituants phytochimiques de quelques plantes médicinales (Reddy 2014; Egamberdieva et da Silva 2015).

PGPRs	Plante	Constituant phytochimique	Références
<i>Glomus macrocarpum</i> , <i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Anethum graveolens</i>	Limonène, $\alpha$ -phellandrene	Kapoor et al. (2002)
<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Mentha arvensis</i>	Huiles essentielles	Gupta et al. (2002)
<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Coléus forskohlii</i>	Forskoline	Sailo et Bagyaraj (2005)
<i>Glomus fasciculatum</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Ocimum spp.</i>	Huiles essentielles	Vinutha (2005)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Huiles essentielles	Copetta et al. (2006)

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salvia militiorrhiza</i>	Pigment diterpénoïdes, Tanshinones	Wu et al. (2007)
<i>Glomus macrocarpum</i> , <i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Artemisia annua</i>	Artemisinine	Kapoor et al. (2007)
<i>Glomus mosseae</i> , <i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Andrographis paniculata</i>	Andrographolide	Arpana et Bagyaraj (2007)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	Ajmalicine, Serpentine	Jaleel et al. (2007)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Crocus sativus</i>	Picrocrocin, crocétine et safranal	Sharaf-Eldin et al. (2008)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bradyrhizobium sp.</i>	<i>Origanum majorana</i>	Cis-terpinene trans-sabinene, $\alpha$ -terpinéol sabinene	Banchio et al. (2008)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Terpinéol, eugénol	Banchio et al. (2009)
<i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	Indole de terpénoïdes alcaloïdes	Karthikeyan et al. (2009)
<i>B. cereus</i>	<i>Salvia militiorrhiza</i>	Tanshinone	Zhao et al. (2010)
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Azospirillum sp.</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>	Stevioside	Das et Dang (2010)
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Salvia officinalis</i>	Huiles essentielles, Bornylacétate, 1,8-cineol, $\alpha$ - et $\beta$ -thujones	Geneva et al. (2010)
<i>P. putida</i> et <i>P. fluorescens</i>	<i>Hyoscyamus niger</i>	Hyoscyamine et scopolamine	Ghorbanpour et al. (2010)
<i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus sp.</i>	<i>Withania somnifera</i>	Aferine A	Rajasekar et Elango (2011)
<i>Glomus aggregatum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus coagulans</i>	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Phénols, ortho dihydroxy phénols, tannins, flavonoïdes alcaloïdes	Selvaraj and Sumithra (2011)

<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Huiles essentielles	Ordookhani et al. (2011)
<i>Glomus walkeri</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Trichoderma viride</i>	<i>Sphaeranthus amaranthoides</i>	Phénols, ortho dihydroxy phénols, flavonoïdes, alcaloïdes, tannins	Sumithra et Selvaraj (2011)
<i>Burkholderia gladioli</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Serratia marcescens</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>	Stevioside, rebaudioside-A	Gupta et al. (2011)
<i>Glomus fasciculatum</i> , <i>P. monteilii</i>	<i>Coléus forskohlii</i>	Forskoline	Singh et al. (2012)
<i>Glomus lamellosum</i>	<i>Geranium dissectum</i>	Huiles essentielles	Karagiannidis et al. (2012)
<i>Glomus lamellosum</i>	<i>Lavandula angustifolia</i>	Huiles essentielles	Karagiannidis et al. (2012)
<i>Glomus lamellosum</i>	<i>Santolina chamaecypar</i>	Huiles essentielles	Karagiannidis et al. (2012)
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Anethum graveolens</i>	Carvone, limonène	Tajpoor et al. (2013)
<i>Glomus intraradices</i> , <i>Glomus etunicatum</i>	<i>Lonicera confuse</i>	Acide chlorogénique	Shi et al. (2013)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Tagetes minuta</i>	Huiles essentielles, phénols	Cappellari et al. (2013)
<i>Glomus mosseae</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Thymus daenensis</i>	Huiles essentielles	Bahadori et al. (2013)

#### 4.3. Identification des PGPRs par L'ARNr 16S

L'ARN ribosomique (ARNr) 16S est le constituant ARN de la petite sous-unité ribosomale 30S des procaryotes. Le gène codant pour cet ARNr est le « gène 16S ARNr» (Clarridge 2004), présent dans l'ensemble des espèces bactériennes en un nombre variable de copies (Stackebrandt et al. 1987; Reller et al. 2007). Il est composé d'environ 1500 nucléotides et est constitué de sept régions conservées et de neuf régions hypervariables (**annexe 1**) (Chakravorty et al. 2007). Ce gène est utilisé pour identifier et détecter toute espèce bactérienne.

Des travaux préliminaires ont pu montrer que le gène ARNr 16S code pour un ARN ribosomique de fonction constante dans l'évolution ; ce gène peut donc servir d'horloge moléculaire pour suivre les changements dans l'évolution des bactéries. Les séquences du gène 16S ont ainsi joué un rôle majeur dans l'étude de la phylogénie et de la taxonomie bactérienne (Olsen et Woese 1993; Janda et Abbott 2007). En 1991, Weisburg et al. ont décrit des amorces dites « universelles » permettant d'amplifier l'intégralité du gène codant pour l'ARNr 16S de la plupart des bactéries (Weisburg et al. 1991). Actuellement de multiples amorces universelles ont été décrites dans la littérature. Il n'existe malheureusement aucune revue ni aucune base de données qui répertorierait les dizaines d'amorces décrites depuis 20 ans. Dans le domaine de la détection bactérienne, Sontakke et al. ont proposé en 2009 une synthèse des diverses amorces utilisées. De plus la nomenclature des amorces reste non consensuelle ; souvent les auteurs nomment une amorce avec un nombre faisant référence à la position de la première base sur l'ADNr 16S d'*Escherichia coli*, suivie de F ou R pour forward ou reverse. Mais cela n'est pas toujours le cas, comme pour les amorces fréquemment utilisées fD1 et rP2 décrites par Sontakke et al. (2009).

Le terme de « PCR universelle » ou « PCR 16S » a été utilisé par abus de langage dans les décennies suivantes pour nommer l'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S. Les termes de « 16S court » et « 16S long » ont fait également leur apparition dans le langage courant des microbiologistes pour faire référence à différentes longueur de séquences amplifiées « 16S court » fait référence à l'amplification d'une partie du gène codant pour l'ARNr 16S, le plus souvent les 500 premiers nucléotides mais ce n'est pas toujours le cas (Reller et al. 2007). Pour la plupart des souches, le pouvoir discriminant de ces courtes séquences semble suffisant pour discriminer les espèces entre elles (Clarridge 2004).

# Matériel et Méthodes

## I. Objectif du travail

Ce travail a pour buts d'étudier et d'identifier des PGPRs (*Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus*), isolées dans diverses régions d'Algérie et de tester leurs effets sur :

- la croissance et le développement des plantes (*Arabidopsis thaliana* ; plante modèle et *Datura sp.*) dans différents systèmes de cultures.
- Les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N.
- Les teneurs en alcaloïdes dans les feuilles et les racines du *Datura stramonium* et *Datura innoxia*.
- les teneurs en métabolites primaires et secondaires chez *D. stramonium* et *D. innoxia*.  
Pour cette dernière l'effet d'un éliciteur l'AS a été également étudié seul ou en combinaison avec les PGPRs.

## II. Matériels utilisés

### 1. Matériel végétal

#### 1.1. Origine des graines de *Datura*

Les graines de *Datura stramonium* et *Datura innoxia* (Fig. 9) utilisées tout au long de nos travaux sont originaires d'Alger et d'Ain Defla respectivement. Elles ont été obtenues par semis en serre à l'école nationale supérieure agronomique-ENSA- El-Harrach, Alger depuis 2009 par l'équipe 5 de biotechnologies végétales forestières (Dr. Morsli A.) du laboratoire de Ressources génétiques et biotechnologies (L-RGB), ENSA.



**Figure 9** : Graines matures des *Datura* utilisées durant notre travail.

**1** : *Datura stramonium* (X 1,4) ; **2** : *Datura innoxia* (X 1,5).

#### 1.2. Origine des graines d'*Arabidopsis thaliana*

Les graines d'*Arabidopsis thaliana* variété WT colombia-0 utilisées pour tester l'effet des PGPR sur la croissance in vitro, nous ont été fournies par le laboratoire de Molecular Ecology of the Rhizosphère- RWTH Université de Aachen, Allemagne.

*Arabidopsis thaliana* ou "Arabette des Dames», présente un modèle de choix, c'est une petite plante de 30 à 40 cm. Elle est en effet au cœur de nombreuses recherches sur le processus de la vie et l'évolution chez les plantes (Baldini et al. 2014).

### 2. Matériel bactérien

Les souches bactériennes utilisées durant notre étude, proviennent :

- Pour les souches *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus* du laboratoire de phytopathologie du département des Biotechnologies de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Blida 1 (isolées par le Professeur Benchaabane M.).
- Pour la souche *rhizobium* Konm6 du laboratoire des analyses du sol de l'école nationale supérieure agronomique, ENSA (isolée par le Professeur Ounane S.).
- Pour la souche *Agrobacterium rhizogenes* A4 (isolée par Mme Krimi Z.) du laboratoire de ressources génétiques et biotechnologies, L-RGB, ENSA où elle est entretenue. Elle est originaire de la Californie (Etats-Unis), elle a été obtenue par Dubrin (Bouzar 1983). C'est une souche à agropine (Lambert et al. 1988). Son ADN-T est constitué de 2 segments, le T<sub>R</sub>-DNA (right-DNA) qui porte les gènes de synthèse d'auxine (Giri et Narasu 2000; Tao et Li 2006) ; et le T<sub>L</sub>-DNA (left- DNA), qui porte les gènes rolA, rolB, rolC et rolD qui dirigent la synthèse d'une substance qui programme les cellules pour se différencier en racines sous l'influence d'auxines endogènes (Tao et Li 2006).

### III. Méthodes de culture

#### 1. Culture des bactéries

##### 1.1. Culture sur milieu solide

Les différentes souches bactériennes ont été entretenues sur milieu solide (15 g d'agar/l) dans des boîtes de Pétri contenant le milieu King B pour les souches : *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus* ; le milieu YEM pour la souche Konm6 et le milieu YMB pour l'*Agrobacterium* souche A4.

Les boîtes de Pétri ont été d'abord placées dans une étuve à 28 °C pendant 2 jours, puis elles ont été conservées au réfrigérateur à 4 °C pour des utilisations ultérieures. Pour leurs entretiens, ces souches bactériennes ont été repiquées tous les mois sur un milieu neuf.

##### 1.2. Culture sur milieu liquide

Avant chaque expérience, les bactéries ont été repiquées puis laissées pendant 2 jours dans l'étuve à 28 °C sur un milieu solide. Cette étape a été répétée 2 à 4 fois pour avoir une croissance optimale. A partir d'une colonie isolée, les bactéries ont été ensuite cultivées dans un milieu King B liquide. Des études préalables sur les cinétiques de croissance des bactéries



ont permis d'estimer les croissances des souches. Les phases exponentielles des souches se sont situées entre 17 à 22 h, à une température de 28 °C et sous agitation orbitale de 120 rpm. Après chaque culture, les densités bactériennes en milieu liquide ont été mesurées à une longueur d'onde de 600 nm (de 1 à 1,5).

## **2. Culture d'*Arabidopsis thaliana***

### **2.1. Désinfection des semences**

Les graines d'*Arabidopsis thaliana* ont été désinfectées selon les étapes suivantes (Schwachtje et al. 2011) :

- Trempage dans 150 ml d'éthanol (70%) et centrifugation pendant 1 min à 4000 rpm.
- Elimination de l'éthanol puis rinçage à l'eau distillé stérile.
- Centrifugation pendant 1 min à 4000 rpm dans 150 ml d'eau de Javel 10%.
- Décantration pendant 10 min puis élimination de l'eau de Javel.
- Enfin, 5 rinçages avec l'eau distillé stérile.

### **2.2. Préparation des bactéries**

Les bactéries ont été préparées selon le protocole suivant :

Les bactéries sont cultivées dans un milieu King B liquide et incubées pendant 24h à 28°C sous agitation à 120 rpm. Après l'incubation, les échantillons sont passés à la centrifugation à 25°C pendant 20 mn. Enfin, le culot de cellules est récolté et remis en suspension avec le milieu King B pour parvenir à une densité optique de 1 (lecture spectrophotométrique à 630 nm de longueur d'onde).

### **2.3. Inoculation des graines**

L'*Arabidopsis thaliana* (considérée comme plante modèle), variété WT-0 colombia a été utilisée en culture *in vitro* afin d'étudier l'effet des souches bactériennes isolées sur la croissance et le développement des vitrosemis.

Le milieu de culture adopté est celui MS (Murashige and Skoog 1962 ; sans vitamines et sans sucres) à pH 5,7, solidifié par 7g/l d'agar. Après autoclavage à 120 °C pendant 20 min, le milieu a été reparti dans des boites de pétri carrées à raison de 15 ml/boite, sous hotte (Schwachtje et al. 2011).

Ainsi, les graines d'*Arabidopsis thaliana* (préalablement désinfectées) ont été inoculées avec les 03 souches bactériennes isolées (*Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus*) par trempage dans des tubes Eppendorf pendant 1 heure (laboratoire de Molecular Ecology of the

Rhizosphère- RWTH Université de Aachen, Allemagne). Puis elles ont été mises en germination dans les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture et ensuite elles ont été installées dans un phytotron, pendant 3 semaines. Sans oublier le lot témoin (graines non traitées par les bactéries).

Les conditions de culture dans le phytotron sont stables, une photopériode de 16 h/8 h (lumière/obscurité), une température de 25 °C, humidité relative de 60-70% et intensité d'éclairage de 180  $\mu\text{mol}$  de photons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (unité de rayonnement photosynthétique actif) en utilisant la lumière blanche (Laboratoire de Molecular Ecology of the Rhizosphère- RWTH Université de Aachen, Allemagne).

**NB :** le nombre de répétition pour chaque traitement est de 10.

### 2.4. Paramètres mesurés

Les paramètres de croissances mesurés sont :

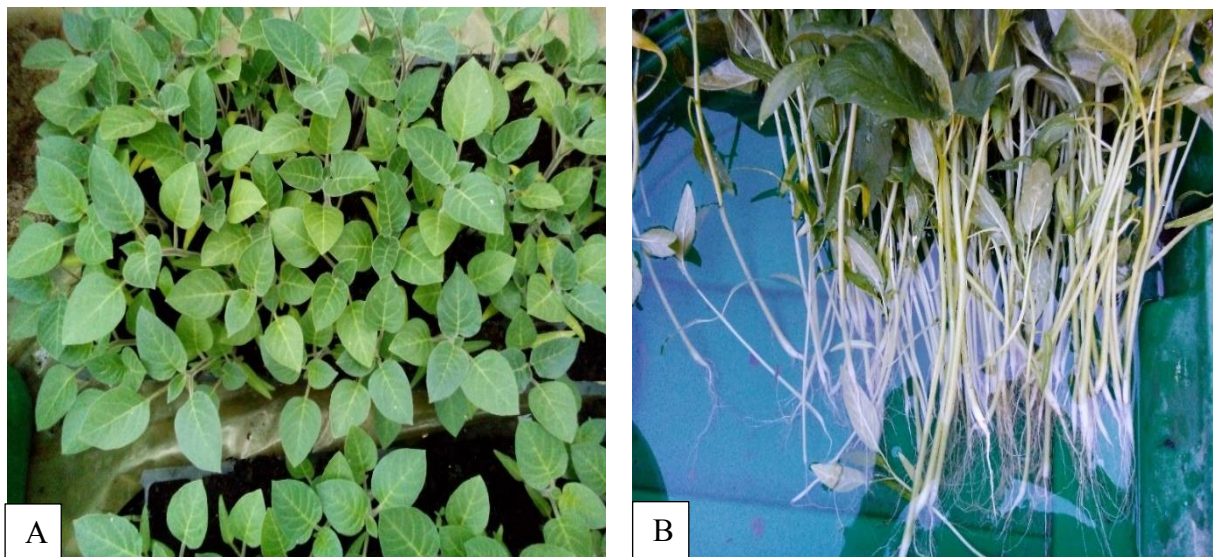
- Longueur moyenne des racines (de la racine principale de l'origine de la graine à la pointe) ;
- Nombre moyen des feuilles ;
- Nombre moyen des racines secondaires ;
- Diamètre moyen de la rosette ;
- Poids frais moyen et poids sec moyen.

### 3. Culture des *Datura*

#### 3.1. Scarification et mise en germination des graines de *Datura*

Avant de les mettre en germination, les graines sont préalablement scarifiées à l'aide du papier verre (80 point) pour le *Datura stramonium* selon la méthode de Khelifi-Slaoui et al. (2005) et d'un coupe-ongles pour *Datura innoxia*.

Les graines sont semées dans des pots de 10 litres contenant du terreau, puis elles sont couvertes par une couche de 0,5 cm de terreau où l'humidité est maintenue par un arrosage quotidien. Quatre à cinq semaines après germination, les plantes atteignent le stade 5-7 feuilles. A ce stade, elles sont transplantées en hydroponie pour *Datura stramonium* ou repiquées sur le même substrat pour *Datura innoxia* (**Fig.10**).



**Figure 10** : Plantules de *Datura innoxia* après 3 semaines de semis sur terreau (A), et plantules de *Datura stramonium* en préparation pour transplantation en hydroponique (B).

#### 3.2. Culture hydroponique (*Datura stramonium*)

##### 3.2.1. Description

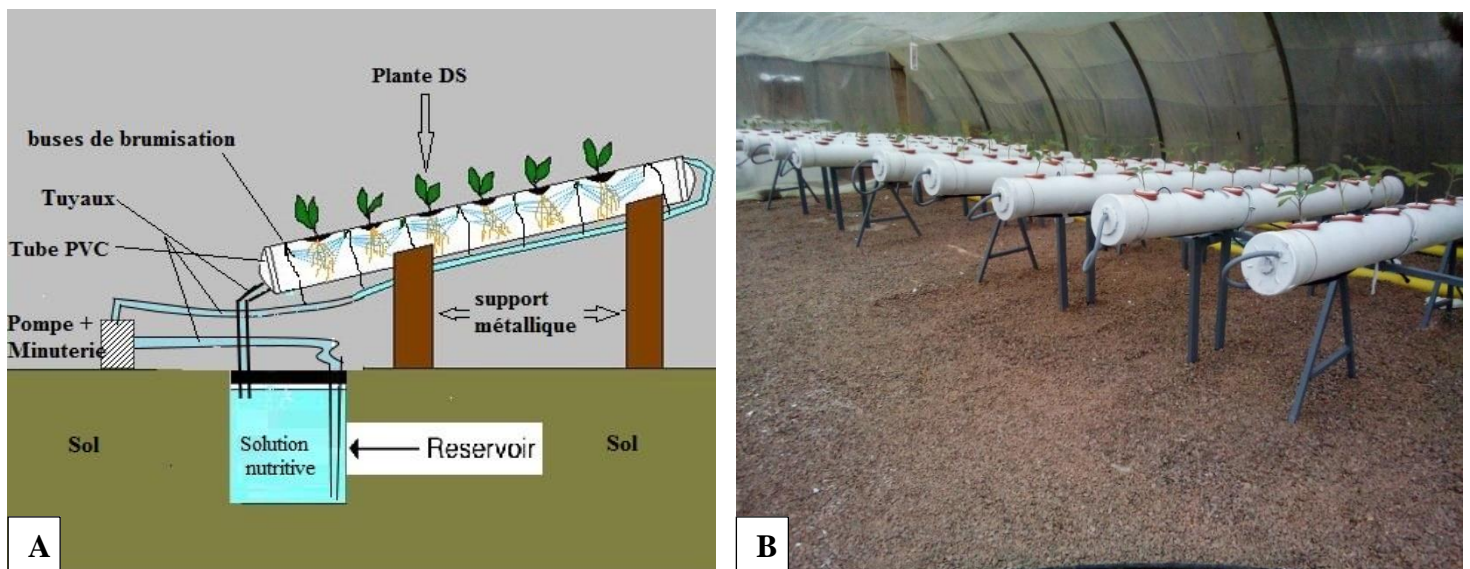
La culture hydroponique utilisée est une technologie de production caractérisée par une alimentation minérale des racines dans une solution nutritive (Milieu MS liquide sans vitamine et sans sucre) et ne nécessite pas de support solide. Elle consiste en systèmes pilotes (tube « pvc » avec une solution nutritive circulante).

Dans ce dispositif, on a utilisé 10 tubes PVC de 200 mm de diamètre, dans chaque tube on a effectué 8 trous (espacé de 30 cm l'un de l'autre) où les plantes ont été placées. Les tubes

ont été installés sur un support métallique (**Fig.11a et b**). A la fin de chaque tube, on a placé des seaux (réservoir) de 12 litres contenant la solution nutritive. Dans ce système, les racines des plantes restent en suspension et la conduction des solutions nutritives vers les racines des plantes a été faite à l'aide des tuyaux noirs (20 mm de diamètre), contenant à la fin des buses de brumisation qui pulvérisent la solution sur les racines. La circulation des solutions a été assurée par des pompes liées à un programmeur qui garanti l'alimentation en suivant un cycle fermé de 3 min pulvérisation / 3 min arrêt (**Fig.11a et b**).

Ainsi, les plantules sont préalablement dépotées et les racines sont ensuite rincées pour éliminer les particules de sol au moyen d'un jet d'eau à pression modérée puis elles sont transférées en système hydroponique pendant 2 semaines pour l'adaptation.

Les cultures des *Datura sp.* en hydroponie (**Fig.11**) ou en substrat (**Fig.12**), ont été réalisées en serre où les conditions de lumière ont été naturelles assurées par le soleil (12 h jour /12 h nuit). Cependant les températures ont été variables de 25 à 30 °C.



**Figure 11** : Dispositif de la culture hydroponique, (A) : Schéma explicatif le fonctionnement de notre système hydroponique ; (B) : Photo du système.

### 3.2.2. Traitements effectués

En plus des 02 souches bactériennes (*Pseudomonas* et *Bacillus*), deux autres souches ont été utilisées, un *rhizobium* souche Konm6 et est une *Agrobacterium rhizogenes* souche A4, afin de les comparer avec les deux souches précédentes. Après les deux semaines d'adaptation, les

plantes ont été inoculées (par trempage dans une solution du milieu King B contenant les bactéries pendant 1 heure, puis elles ont été transférées directement en hydroponie.

**NB** : le nombre de répétition est de 10 pour chaque traitement et pour le témoin.

### 3.2.3. Paramètres mesurés

Durant les 16 jours de culture, des mesures et des prélèvements ont été réalisées, 2, 8 et 16 j.a.i. (jours après l'inoculation), ils ont porté sur les paramètres suivants :

- Longueur moyenne des plantes (mesurée à partir du collet jusqu'au bourgeon terminal) ;
- Nombre moyen de feuilles ;
- Poids frais moyen (mesuré pour la plante entière 2, 8 et 16 j.a.i.) ;
- Poids sec moyen (mesuré, après 16 jours pour les deux parties : racines et tiges), après séchage des échantillons à l'étuve pendant 72 h à 50 °C.

## 3.3. Culture en pots (*Datura innoxia*)

### 3.3.1. Traitements effectués

Cette étape a été réalisée dans le terreau (**Fig.12**). L'inoculation a été faite par les souches *Pseudomonas* et *Bacillus* avec une élicitation par deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'acide salicylique.

Ainsi, les plantes du *Datura innoxia* âgées de 04 semaines ont été inoculées et élicitées, puis transférées dans des pots contenant du terreau désinfecté. En plus du lot témoin non inoculé et non élicité.

**NB** : le nombre de répétition est de 3 répétitions pour chaque traitement.

### 3.3.2. Paramètres mesurés

Durant 4 semaines de culture après inoculation et élicitation, des mesures ont été réalisées pour chaque traitement :

- La longueur moyenne des plantes (du collet jusqu'au bourgeon terminal) ;
- Le nombre moyen de feuilles ;
- Le poids total moyen des plantes ;
- Le poids sec moyen des racines (à la fin de culture), ce dernier a été mesuré pour les deux parties de la plante : racines et tiges, après séchage des échantillons à l'étuve pendant 72 h à 50 °C.



Figure 12 : Dispositif de la culture du *Datura innoxia* en pots.

#### IV. Identification des bactéries isolées par la ARNr 16S

##### 1. Isolement des souches bactériennes

Les trois souches bactériennes *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus* ont été isolées en Algérie à partir de la rhizosphère du poirier à Ghardaïa (sud centre de l'Algérie : 32 ° 29 '00 "N, 3 ° 40' 00" E), palmier dattier à Bechar (sud ouest de l'Algérie 31 ° 33 '40 "N, 2 ° 14' 24" W) et de la tomate à Ain Defla (nord ouest de l'Algérie 36 ° 15'50 "N, 1 ° 58'04" E) respectivement. Les rhizosphères (le sol) des échantillons ont été diluées en série et les suspensions ont été utilisées pour isoler les souches bactériennes sur des plaques contenant du milieu King B gélosé (15g d'agar/l) (King et al. 1954) à 30 °C pendant 48 h.

Après isolement, les bactéries ont été entretenues sur le même milieu.

## 2. Extraction d'ADN des souches bactériennes

L'extraction de l'ADN des bactéries est utilisée selon le protocole fourni avec le kit « MiniBacteria Kit » (Janek et al. 2010) (voir **annexe 2**) :

## 3. Quantification d'ADN

Il est important de quantifier et d'analyser la pureté des acides nucléiques après leurs extractions. La méthode la plus répandue pour la quantification d'acides nucléiques est la spectrophotométrie.

On a mesuré le taux d'ADN présent dans chaque souche bactérienne en utilisant le spectrophotomètre « Nano drop » (**Fig.13**).



**Figure 13** : Nano Drop utilisé pour quantifier le taux d'ADN pour chaque souche bactérienne.

## 4. Amplification du gène ARNr 16S par PCR (Polymerase Chain Reaction ; Réaction en chaîne par polymérase)

Après l'extraction d'ADN génomique pour chaque souche bactérienne, l'étape suivante est l'amplification d'un fragment de l'ARNr 16S en utilisant 2 types d'amorces universelles ;

- la première : BAC 27f (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3')
- la deuxième : BAC 1492r (5'-CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT-3').

Les caractéristiques des amorces utilisées en PCR sont présentées dans le **tableau 6**.

**Tableau 6 :** Amorces utilisées pour amplifier l'ADNr 16S par PCR (Lane 1991).

Amorces	Séquences (5' 3')	Positions sur E. coli	Température de Fusion °C	Poids moléculaire g/mol
27f	5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG- 3'	f 8-27	50,3	6161
1492r	5'-CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT- 3'	r 1492-1511	52,2	6074

**NB :** (f : forward ; r : reverse).

Le gène ARNr 16S des souches bactériennes a été amplifié par PCR, après préparation en utilisant une solution de réaction contenant :

- 1 µl de chaque amorce (27f et 1492r) ;
- 1 µl d'échantillon d'extrait d'ADN ;
- 10 µl de Master Mix (GoTaq Green, ProMega) ; contenant la Taq ADN polymérase, dNTPs, MgCl<sub>2</sub> et tampons de réaction
- 7 µl d'eau distillé stérile.

Le volume final étant de 20 µl pour chaque souche. Une réaction sans ADN a servi comme témoin.

Les amplifications ont été réalisées par un Thermocycleur TC 5000 (laboratoire Molecular Ecology of the Rhizosphère- RWTH Université de Aachen, Allemagne) (**Fig.14**) selon le programme d'amplification détaillé dans le **tableau 7**.



**Tableau 7 :** Programme PCR utilisé pour l'amplification d'ADN des souches bactériennes.

Étapes	Température (°C)	Temps (min)	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	94	04	/
Dénaturation	94	01	30
Hybridation	56	01	30
Elongation	72	02	30
Elongation finale	72	10	/
Maintien	4	pause	/



**Figure 14 :** Thermocycleur Thermal Cycler TC 5000 (Allemagne).

### 5. Nettoyage des produits obtenus par la PCR

Le nettoyage des produits finaux obtenus après l'amplification de l'ADNr 16S pour chaque souche s'est déroulé en 5 phases :

- Vérification de l'état de la liaison d'ADN
- Liaison de l'ADN aux membranes de silice
- Lavage des membranes de silice
- Séchage des membranes de silice
- L'élution de l'ADN.

### 6. Séquençage

Les produits finaux nettoyés ont été envoyés pour les séquencer dans le laboratoire spécialisé 'SeqLab' (Gottingen, Allemagne).

Les séquences nucléotidiques obtenues ont été traitées à l'aide du logiciel « Clone Manager Professionnel » pour éliminer toutes les lectures de faible qualité et les transformer en séquences consensus. Les séquences de hautes qualités obtenues après les traitements ont été analysées dans la base de données Blast de NCBI (National Center for Biotechnology Information= (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) pour identifier les souches en les comparant avec des séquences les plus proches dans la base de données.

### 7. Courbes de croissance et dénombrements des bactéries

Pour chaque souche bactérienne isolée, la croissance bactérienne a été suivie au cours du temps par mesure de l'absorbance à 600 nm.

Au cours de cette étape, les cultures ont été réalisées dans des Erlenmeyers de 250 ml contenant 50 ml de milieu King B. Les mesures ont été faites chaque heure durant 24 heures.

## V. Les Méthodes analytiques

### 1. Dosage de l'azote total, du carbone total et de l'hydrogène

La détermination des taux totaux en azote, en carbone et en hydrogène des échantillons secs broyés (*Arabidopsis* et *Datura*) a été réalisée à l'aide d'un analyseur élémentaire (Vario EL III Elément Analyzer, Laboratoire de Molecular Ecology of the Rhizosphère- RWTH Université de Aachen, Allemagne). Les mesures sont basées sur la méthode de Dumas (1831) qui permet le dosage de l'azote, du carbone et de l'hydrogène contenus dans les échantillons après une combustion complète et détection des gaz élémentaires.

Avant d'initier le dosage, l'appareil est étalonné à l'aide de deux standards, l'acide aspartique et le nicotinamide dont le pourcentage de carbone et d'azote est connu. Pour chaque échantillon, des pesées de 10 à 20 mg ont été faites à l'aide d'une balance de Précision à 0,01mg, puis elles sont conditionnées dans une nacelle en étain (P/N 252 08000, Thermo). La nacelle qui porte les échantillons est comprimée puis ils ont été introduits dans l'analyseur par un chargeur automatique.

Le gaz vecteur de l'analyse est l'hélium (140 ml/min). L'échantillon subit une combustion « Flash » en présence d'oxygène dans un four à oxydation maintenu à 920°C.

L'oxydation est complétée par catalyse et les halogènes sont piégés dans un tube contenant de l'oxyde de chrome et de l'oxyde cobalto-cobaltique argenté. Les gaz sont ensuite réduits sur un tube de cuivre maintenu à 600°C où l'oxygène et les sulfates sont piégés. A cette température, les oxydes d'azote sont réduits en azote moléculaire (N<sub>2</sub>) et les oxydes de carbone en CO<sub>2</sub>. L'eau est enfin piégée sur un filtre danhydrone (perchlorate de magnésium). Le CO<sub>2</sub> et le N<sub>2</sub> présents dans le tampon de gaz sont alors séparés sur une colonne de chromatographie en phase gazeuse, en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire (polymère poreux à base de divinylbenzène). Ils sont détectés en sortie de colonne par un catharomètre. Les signaux, enregistrés sous forme de chromatogrammes, sont analysés par le logiciel Flash EA 1112 (Thermo Electron Corporation, Italie) qui identifie les molécules CO<sub>2</sub> et N<sub>2</sub> par leur temps de rétention et détermine leur quantité par rapport aux étalons cités précédemment.

**NB :** le nombre de répétition est de 3 pour chaque traitement.

### **2. Extraction des métabolites primaires et secondaires dont les alcaloïdes**

L'extraction a été faite suivant le protocole de Kopka et al (2004) (groupe d'application des analyses des métabolites, Institut Max Planck de la physiologie des molécules des plantes-Golm-Allemagne).

Dans des tubes Eppendorf de 2 ml, on met 20 mg du matériel végétal sec broyé de chaque échantillon, puis on ajoute 300 µl de méthanol (concentré à 100%) et on les refroidit à -20°C pendant 10 min (pour que les activités enzymatiques s'arrêtent). Ensuite, on ajoute 30 µl d'acide undécanoïque ester méthylique (2 mg/ml dans CHCl<sub>3</sub>) et 30 µl d'un pré-mélange à base de sorbitol. Ce mélange est agité et chauffé fortement au vortex les tubes pendant 15 min à 70°C. Puis, on ajoute 200 µl de CHCl<sub>3</sub> et 400 µl H<sub>2</sub>O, après on mit les tubes dans le vortex pour les homogénéiser. Les échantillons sont centrifugés à 14000 rpm pendant 5 min. le surnageant de la phase polaire supérieure est transféré dans des nouveaux tubes Eppendorf. Ensuite, les échantillons obtenus sont séché dans un Speed-Vac durant toute la nuit et conservé à -20°C jusqu'à leur utilisation.

### **3. Dosage des métabolites primaires et secondaires dont les alcaloïdes**

Les analyses biochimiques réalisées dans ce travail concernent les métabolites primaires, les métabolites secondaires y compris les alcaloïdes et les différents éléments chimiques produits par la plante entière en distinguant la partie aérienne et racinaire. Ces molécules ont été détectées et dosées par la technique la plus performante la GC-TOF-MS (gas chromatography–time of flight-mass spectrometry). Ces analyses ont été réalisés dans l'institut

Max Planck de la physiologie des molécules des plantes-Golm- Potsdam, Allemagne.

Le profilage des métabolites a été réalisé comme précédemment décrit par Wagner et al. (2003) ; Erban et al. (2007) par chromatographie en phase gazeuse couplé au temps de vol de masse spectrométrie (gas chromatography coupled to electron impact ionization/time-of-flight mass spectrometry : GC-TOF-MS). Cela, en utilisant un Agilent 6890N24 de chromatographie en phase gazeuse (Agilent Technologies, Böblingen, Allemagne; <http://www.agilent.com>) avec split et splitless injection sur une colonne capillaire VF-5 ms facteur quatre, 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre intérieur, épaisseur du film de 0,25  $\mu\text{m}$  (Varian Agilent Technologies, Waldbronn, Allemagne), qui est reliée à un Pegasus III à temps de vol à spectromètre de masse (time-of-flight mass spectrometer) (LECO Instrumente GmbH, Mönchengladbach, Allemagne; <http://www.leco.de>). Les métabolites ont été méthoxyaminées et triméthylsilylées manuellement avant de les analyser avec la GC-TOF-MS (Fiehn et al 2000 ; Roessner et al 2000 ; Wagner et al. 2003 ; Lisek et al. 2006 ; Erban et al. 2007). Les indices de rétention ont été étalonnés par addition de C10, C12, C15, C18, C19, C22, C28, C32 et C36 mélange n-alcanes à chaque échantillon (Strehmel et al. 2008). Les chromatogrammes GC-TOF-MS ont été acquis, visuellement contrôlés, base de données corrigées et exportées dans un fichier format NetCDF à l'aide du logiciel ChromaTOF (Version 4.22 ; LECO, St. Joseph, MI, USA). Le traitement GC-MS de données standardisées en une matrice de données numériques et l'identification des composés a été effectuée en utilisant le logiciel TagFinder (Luedemann et al. 2008). Les composés ont été identifiés par des spectres de masse et du temps de rétention correspondant à l'index de collection de référence dans la base de données Golm Métabolome (GMD, <http://gmd.mpimpgolm.mpg.de/>) (Kopka et al. 2005; Schauer et al. 2005; Hummel et al. 2010) et de la base de données NIST08 (<http://www.nist.gov/srd/mslist.htm>).

**NB :** le nombre de répétition est de 3 pour chaque traitement.

## VI. Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATGRAPHICS Centurion et l'Excel version 2013, en utilisant :

- La procédure d'analyse de la variance à un facteur, avec éventuellement la comparaison des moyennes selon le test de LSD de Fisher (au seuil de 5%).
- Les discriminations de groupes homogènes par rapport à l'effet d'un facteur ont été également réalisées avec un test de LSD de Fisher (seuil de 5%).
- Les bars d'erreur sur les figures représentent l'écart type.

# Résultats & Interprétations

### I. Identification des bactéries rhizosphérique et analyse de la croissance bactérienne

Cette partie du travail a porté sur l'identification de 03 souches bactériennes rhizosphérique *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus* isolées dans 03 régions différentes de l'Algérie.

#### 1. Identification des bactéries

L'identification des trois bactéries *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Lysinibacillus* a été réalisée sur la base de la méthode ARNr 16S par séquençage de l'ADNr 16S après amplification par PCR.

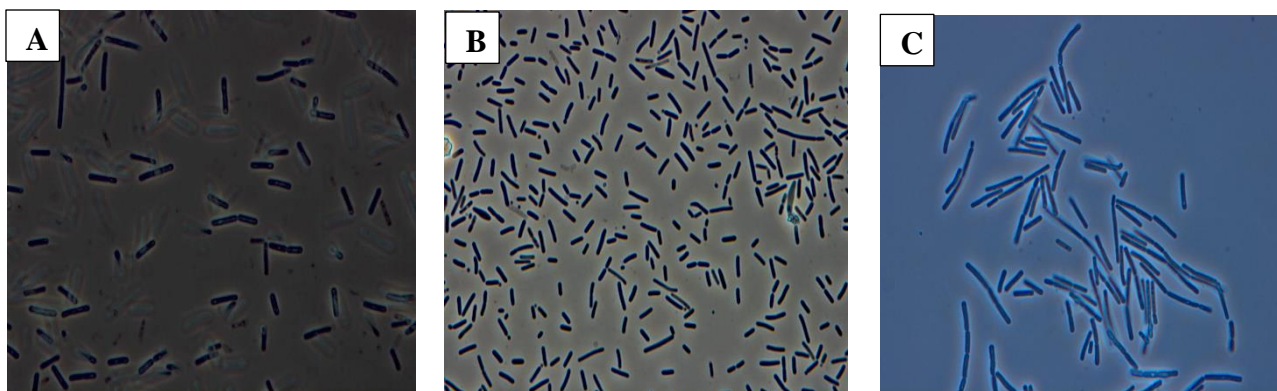
La comparaison des séquences partielles obtenues a été faite avec les séquences déposées précédemment dans la base de données GenBank (NCBI) :

- La première séquence obtenue a montré une identité de 100% avec la souche *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162 (numéro d'accès\_114226) et *Pseudomonas plecoglossicida* FPC 951 (numéro d'accès\_024662), notre bactérie a été nommée *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20.
- La deuxième séquence a montrée 99% d'identité avec trois bacilles (*Bacillus toyonensis*, *Bacillus thuringiensis* ou *Bacillus cereus*), la souche a été appelée *Bacillus sp.* Souche Bt04.
- La troisième séquence a montré une identité de 99% avec la souche *Lysinibacillus fusiformis* NBRC15717 (numéro d'accès\_112569) et *Lysinibacillus Fusiformis* DSM 2898 (numéro d'accès\_042072), la souche a été nommée *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89.

Toutes les données et informations sur les 03 séquences d'ARNr 16S obtenues ont été déposées dans la base de données GenBank nucléotidique de NCBI sous des numéros d'accès KU321233 pour la souche Pp20, KU321234 pour la souche Bt04 et KU321235 pour la souche Lf89. (voir annexe3, 4 et 5).

Par ailleurs, Des observations microscopiques ont été effectuées afin de distinguer entre les formes des 3 souches.

Les résultats ont montré que la forme de Bt04 ressemble à celle de Lf89 avec une densité bactérienne plus élevée chez Bt04. Alors que Pp20 présente une forme bâtonnée plus longue que les deux premières (Fig.15).



**Figure 15 :** Observation microscopique des bactéries rhizosphérique (A) : *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20 (X 2000) ; (B) : *Bacillus sp.* souche Bt04 (X 2000) ; (C) : *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89 (X 2000).

Ainsi, ces bactéries appartiennent à trois genres différents :

**Les *Pseudomonas* (*Pseudomonas plecoglossicida*) :** sont des bactéries à Gram négatif non sporulées, aérobies, en forme de tige, mobiles par un ou plusieurs flagelles polaires (Liu et al. 2008). Elles ont des cellules de 0,5µm de largeur et de 2,0 à 2,5 µm de longueur. Les *Pseudomonas* sont des microorganismes très répandus, bien connus, et peuvent être isolés à partir de plusieurs sources naturelles comme le sol, les plantes, les eaux minérales ou les échantillons cliniques.

**Les *Bacillus* (*Bacillus sp.*)** sont des bactéries grandes et hétérogènes peuvent être anaérobies, aérobies ou facultatives à Gram positif, à une forme de bacille, formant des endospores qui sont largement distribués dans l'environnement. En général, les espèces de *Bacillus* utilisées en biocontrôle sont mobiles, avec des flagelles (Gordon et al. 1973). Ils tolèrent diverses conditions environnementales. La majorité est mésophile, avec une température optimale de 30 à 45°C ; Cependant, certains sont thermophiles, de plus en plus à hauteur de 65°C, ou psychrophiles, capables de croître à 0°C. Ils se trouvent, pratiquement, sur une plage de pH allant de 2 à 11 (Hyde et al. 2006). De manière générale, les *Bacillus* sont capables d'utiliser des composés organiques simples, tels que les acides aminés, les sucres, les acides organiques ou les hydrates de carbone, ainsi que diverses autres substances (Chakraborty et al. 2006).

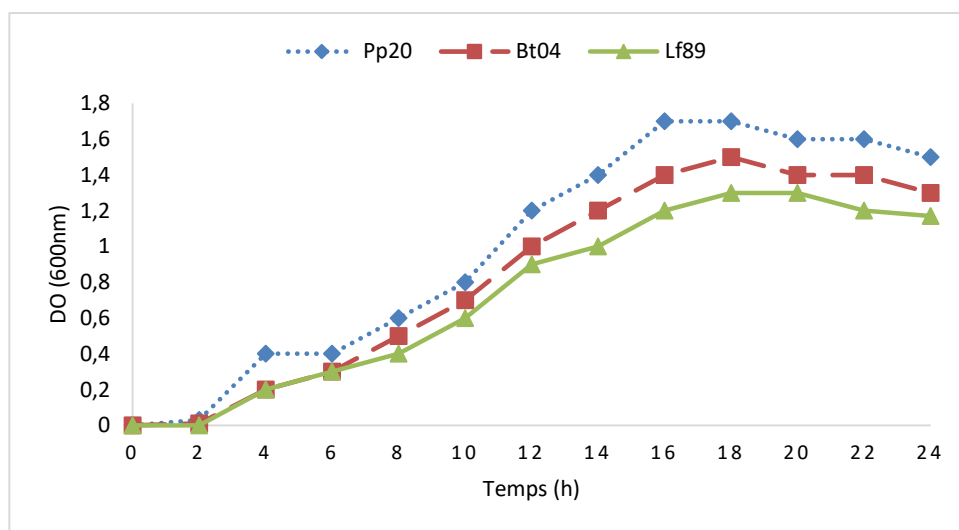
**Les *Lysinibacillus* (*Lysinibacillus fusiformis*)** sont des bactéries ubiquitaires, à Gram positif, aérobies, à une forme de tige. Aussi, elles sont mésophiles et sporulées, généralement isolées du sol. A l'heure actuelle, le genre *Lysinibacillus* est composé de 18 espèces (Cheng et al. 2015). Les souches appartenant à ce genre contiennent la lysine et l'aspartate dans la sous-

unité peptidique du peptidoglycane de la paroi cellulaire, comme acides aminés de diagnostic. Alors que l'acide méso-diaminopimélique caractérise le genre *Bacillus* (Miwa et al. 2009).

## 2. Croissance bactérienne

Dans le milieu King B liquide à 28°C et sous agitation (210 rpm) la croissance des 3 souches a été suivie chaque heure durant 24 heures. Ainsi, l'étude des courbes de croissance a montré que ces dernières suivent en général une croissance avec 6 phases principales (**Fig.16**) :

- La phase de latence : courte d'environ de 2h et le taux de croissance nul
- Phase d'accélération, de 2h à 6h, caractérisée par une augmentation de la vitesse de croissance.



**Figure 16** : Cinétique de la croissance en fonction du temps des 3 souches Pp20, Bt04 et Lf89.

- la phase exponentielle, la plus longue de 6h à 14h pour la souche Pp20 et jusqu'à 16h pour les 2 souches Bt04 et Lf89 où les taux de croissance atteignent le maximums
- La phase de ralentissement de 14h à 16h pour Pp20 et de 16h à 18h pour Bt04 et Lf 89 où la vitesse de croissance régresse.
- La phase stationnaire : de 16h à 18h pour Pp20 et de 18h à 20h pour Bt04 et Lf89, dans cette phase le taux de croissance devient nul et les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent au-delà
- La phase de mortalité au-delà.

Par ailleurs, la souche Pp20 a présenté la cinétique de croissance la plus rapide, elle a atteint après 16 heures, une DO de 1,6. Suivie par la souche Bt04 qui a montré une DO de 1,5 après 18 heures de culture. Alors que la souche Lf89 a présenté la cinétique la plus lente, après 18 heures, elle a atteint une DO de 1,3



## II. Effets des bactéries rhizosphérique sur la croissance chez *Arabidopsis thaliana*

Cette partie dans notre travail, a pour but de vérifier et de confirmer l'effet des bactéries rhizosphérique sur la croissance et le développement des plantes d'*Arabidopsis thaliana* (plante modèle).

Cela en étudiant quatre traitements, le témoin : graines d'AT sans inoculation et les trois autres traitements : graines d'AT inoculées par les trois souches, Pp20, Bt04 et Lf89.

Les cultures ont été réalisées *in vitro*, dans des boites de Pétri contenant le milieu MS solide (sans vitamines ni hormones).

### 1. Effet des bactéries rhizosphérique sur la Croissance végétative

#### 1.1. Longueur moyenne des racines

Les résultats obtenus ont montré que l'inoculation par les bactéries, et dès la première semaine de culture a augmenté d'une manière très significative la longueur moyenne des racines par rapport au témoin (sans bactéries). Après 3 semaines, les valeurs les plus élevées ont été obtenues par la souche Bt04 dont la longueur moyenne des racines a augmenté de 90% par rapport au témoin suivi par celle de Pp20 avec une augmentation de 86% par rapport au témoin.

L'analyse de la variance à la 3ème semaine de culture a révélé un effet très hautement significatif des bactéries sur la longueur moyenne des racines (**Fig.17**).

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de 3 groupes homogènes qui se chevauchent (**Annexe 6**).

#### 1.2. Nombre moyen des feuilles

La **figure 18** montre que le nombre moyen des feuilles, après 3 semaines de culture, est statistiquement le même pour les 3 souches Pp20, Bt04 et Lf89 avec un nombre moyen de 7.22, 7.04 et 6.89 respectivement.

En effet, l'analyse de la variance à la 3ème semaine de culture n'a montré aucune différence significative entre les traitements (**Annexe 7**).

#### 1.3. Diamètre moyen de la rosette

Le diamètre moyen de la rosette évolue presque linéairement durant les 3 semaines de culture, avec tous les traitements. À la 3ème semaine de culture les résultats obtenus pour

chaque traitement par ordre décroissant sont : Bt04 (3,33cm), Pp20 (3,25cm), Lf89 (2,95cm) et le témoin (2,34cm) (**Fig.19**).

L'analyse de la variance effectuée à la 3ème semaine de culture a montré un effet significatif des traitements par les bactéries sur le diamètre moyen de la rosette (**Annexe 8**).

En effet, le test LSD de Fisher a révélé l'existence de deux groupes homogènes, Bt04 et Pp20 constituent le premier groupe, alors que, le témoin forme le deuxième groupe.

### 1.4. Nombre moyen de racines secondaires

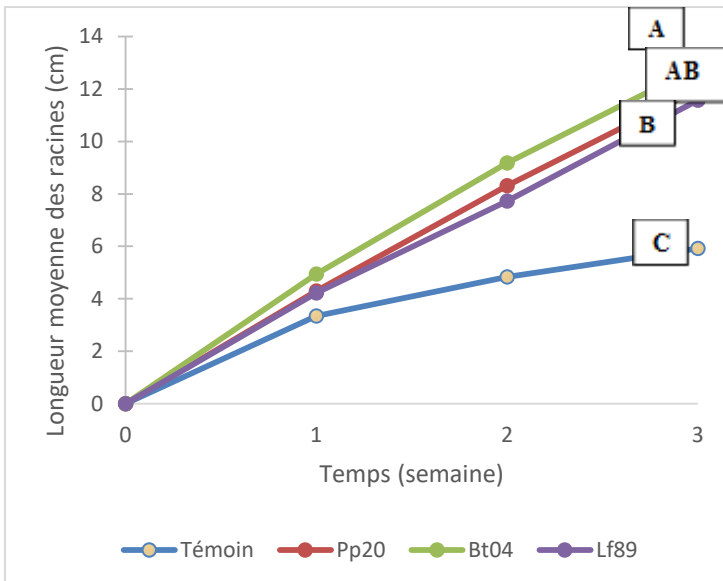
La **figure 20** montre que le nombre moyen des racines secondaires, après trois semaines de culture, est très élevé chez les traitements par les bactéries Lf89, Bt04 et Pp20 par rapport au témoin avec respectivement 31,3 ; 31,08 ; et 29,88.

Les traitements par les bactéries augmentent les nombres moyens des racines secondaires par 101%, 99% et 92% respectivement pour Lf89, Bt04 et Pp20.

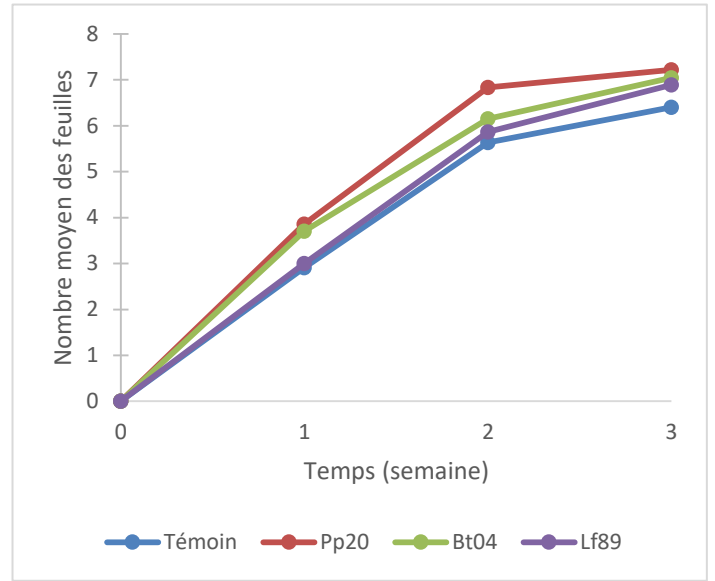
L'analyse de la variance à la 3ème semaine de culture a montré, effectivement, un effet très hautement significatif du traitement par les bactéries sur le nombre moyen de racines secondaires chez *Arabidopsis thaliana* (**Annexe 9**).

En effet, le test LSD de Fisher a révélé deux groupes homogènes et les traitements Pp20, Bt04 et Lf89 forment le premier groupe.

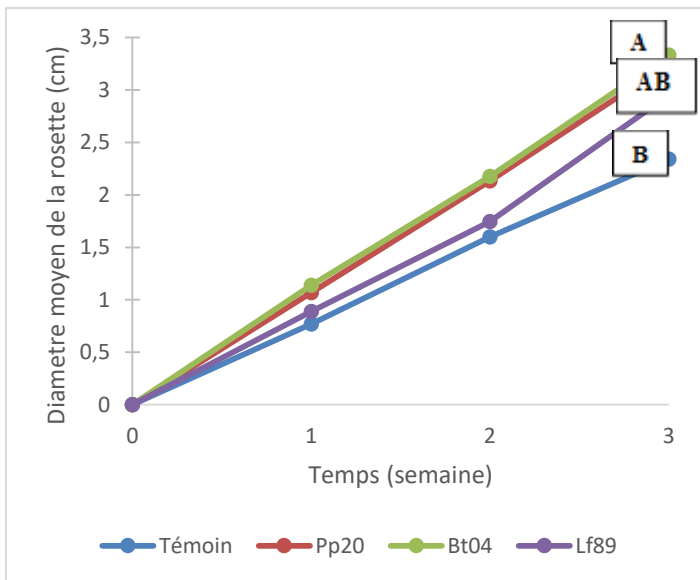
La **figure 21** montre l'évolution des plantules de l'*A. thaliana* en fonction du temps de culture.



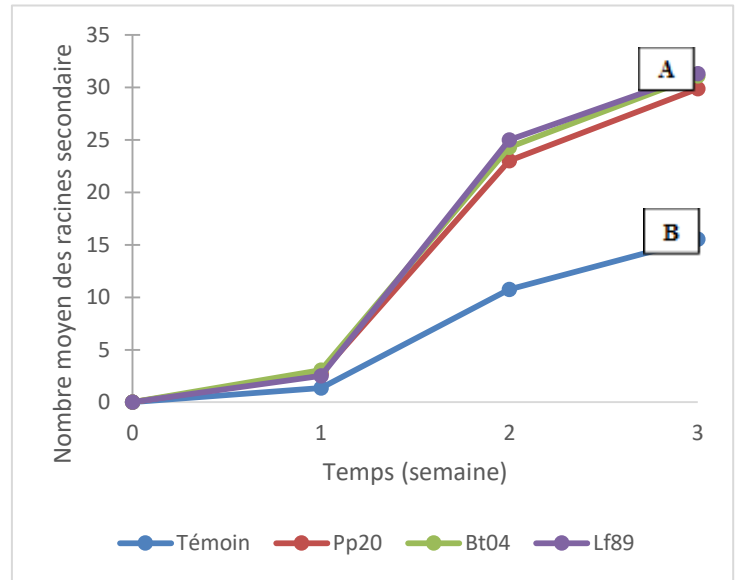
**Figure 17 :** Evolution de la longueur moyenne des racines d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.  
 $F(3,36) = 22,46 ; P < 0,001^{***}$



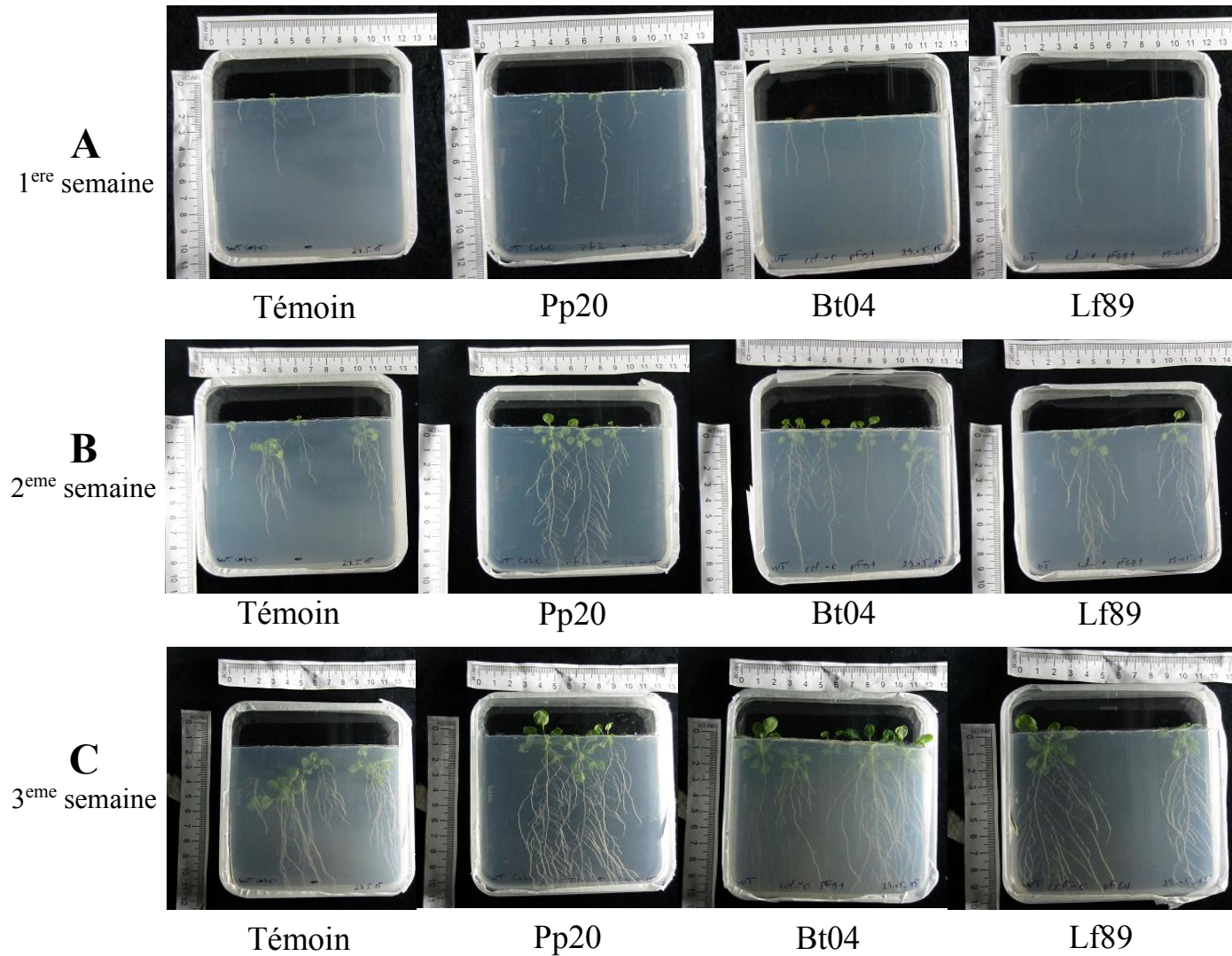
**Figure 18 :** Evolution du nombre moyen de feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.  
 $F(3,36) = 2,08 ; P > 0,01$



**Figure 19 :** Evolution de diamètre moyen de rosette d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.  
 $F(3,36) = 2,73 ; P < 0,05^*$



**Figure 20 :** Evolution du nombre moyen des racines secondaire d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89 en fonction du temps de culture.  
 $F(3,36) = 6,02 ; P < 0,005^{**}$



**Figure 21** : Effet des 3 bactéries rhizosphériques : *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20, *Bacillus sp.* souche Bt04 et *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89, sur la croissance chez *Arabidopsis Thaliana* cv. WT colombia-0 en fonction du temps de culture. (A) Plantes de chaque traitement : Témoin, Pp20, Bt04 et Lf89, 01 semaines après l'inoculation. (B) 02 semaines après l'inoculation (C) 03 semaines après l'inoculation.

### 1.5. Effet des bactéries rhizosphérique sur le poids frais moyen et le poids sec moyen

Les poids frais moyens (des feuilles et des racines) des plantes ont été mesurés à la fin de la culture (Après 3 semaines de culture). Alors que, les poids secs moyens ont été mesurés après séchage des échantillons pendant 72 h à 50 °C.

#### 1.5.1. Poids frais moyen

Ce paramètre illustre la production de la biomasse dans les différents traitements effectués, le poids frais moyen obtenu dans les feuilles a été de 0.18g, 0.16g et 0.15g, pour les plantes inoculées avec Lf89, Bt04 et Pp20 respectivement, et de 0,11g pour le témoin (**Fig.22**). Cependant, dans les racines, le poids frais moyen obtenu a été de 0.05g, 0.05g, 0.03g et de 0.03g pour Pp20, Lf89, Bt04 et le témoin, respectivement (**Fig.22**).

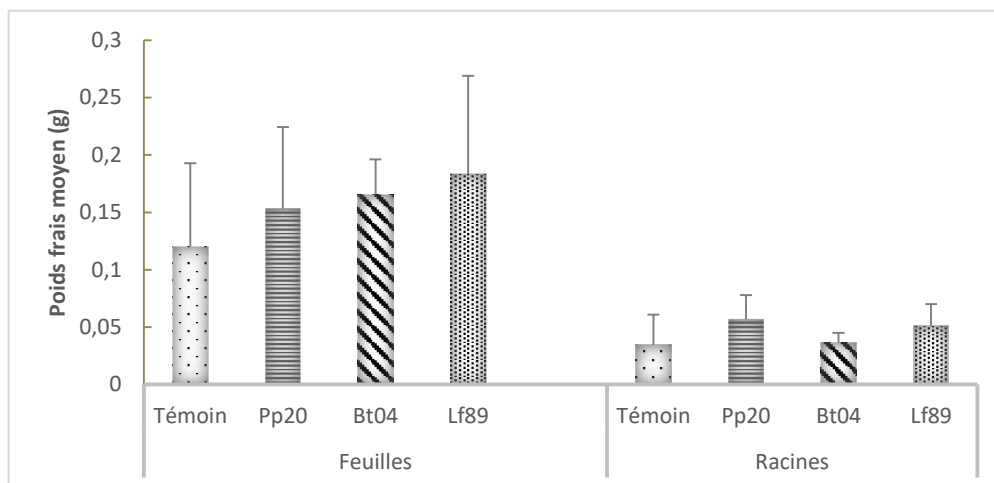
L'analyse de la variance n'a pas révélé de différence statistiquement significative entre les poids frais des feuilles ou des racines d'*Arabidopsis thaliana* (**Annexe 10 et 11**).

#### 1.5.2. Poids sec moyen

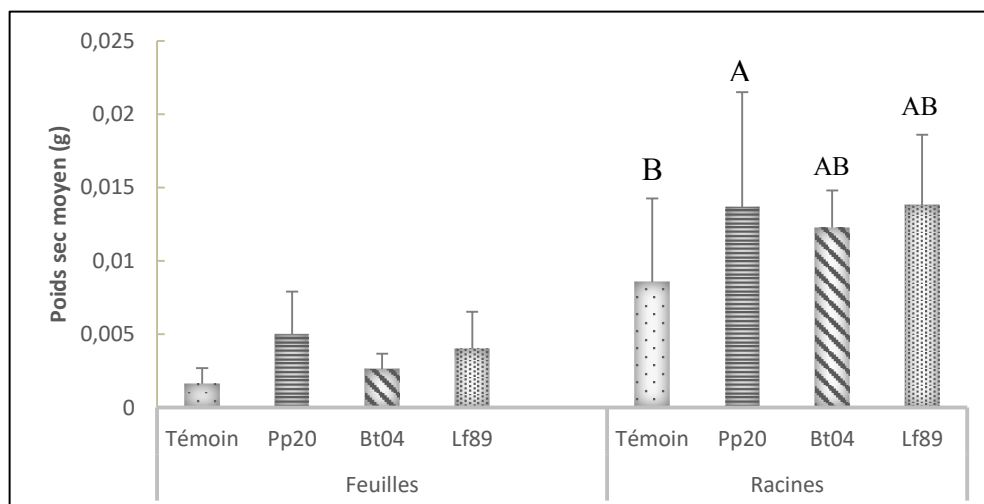
Après séchage des échantillons, les poids sec des feuilles et des racines ont été mesurés, une augmentation significative a été observée pour les plantes traitées par les PGPRs par rapport aux témoins. Le traitement Pp20 a montré les taux les plus élevés dans les deux parties (feuilles (400%) et racines (62%)), suivi par les souches Lf89 et Bt04 (**Fig.23**).

L'analyse de la variance a révélé un effet significatif entre les moyennes dans les racines (**Annexe 12, 13**).

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de deux groupes homogènes qui se chevauchent, dans les racines (**Annexe 12, 13**), avec Pp20 comme meilleur traitement aussi bien pour les racines que pour les feuilles.



**Figure 22 :** Poids frais moyen des feuilles et des racines d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.  
 $F(3,36) = 1,83 ; P > 0,01 ; F(3,36) = 0,78 ; P > 0,01$



**Figure 23 :** Poids sec moyen des feuilles et des racines d'*Arabidopsis* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.  
 $F(3,36) = 2,24 ; P > 0,01 ; F(3,36) = 3,77 ; P < 0,05^*$

### 2. Effet des bactéries rhizosphérique sur les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N

Le rapport entre le carbone (C) et l'azote (N) dans la matière végétale représente la mesure de l'état physiologique du métabolisme de la plante. Les plantes optimisent leurs croissances en fonction de l'équilibre entre C et N (rapport C/N).

En raison de cette importance, on a étudié, l'effet des 3 souches bactériennes sur les taux de carbone et d'azote, aussi que sur le rapport C/N.

#### 2.1. Teneur en azote (N)

Pour cet élément, les souches Bt04 et Pp20 ont présenté les taux les plus élevés avec 9,08% et 8,99% respectivement. Par contre, le témoin et Lf89 montrent des taux plus faibles 8,66% et 8,49% respectivement (**Fig.24**).

L'analyse de la variance a révélé un effet hautement significatif des traitements sur le taux d'azote (N) dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* (**Annexe 14**).

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de deux groupes homogènes où les souches Pp20 et Bt04 forment le premier groupe, Alors que, la souche Lf89 et le témoin présentent le deuxième groupe.

#### 2.2. Teneur en carbone (C)

Ce paramètre varie selon le traitement, les souches Pp20 et Bt04 induisent une diminution de la teneur des feuilles d'*Arabidopsis thaliana* en carbone, avec des taux de 35,16% et 35,33% respectivement. Par contre la souche Lf89 et le témoin donnent des taux plus élevés avec 36,64% et 36,92% (**Fig.25**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le taux de carbone dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* (**Annexe 15**).

En effet, le test LSD de Fisher a montré deux groupes homogènes avec la souche Lf89 et le témoin qui forment le premier groupe et les souches Pp20 et Bt04 qui représentent le deuxième.

#### 2.3. Rapport C/N

Ce rapport est variable selon les traitements, il est de 4,26 et 4,35 pour le témoin et la souche Lf89 respectivement. Cependant, les plantes inoculées avec les souches Pp20 et Bt04 ont montré des valeurs plus faibles 3,91 et 3,89, respectivement (**Fig.26**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le rapport C/N dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* (**Annexe 16**).

Le test LSD de Fisher a indiqué deux groupes homogènes, Lf89 et le témoin forment le premier groupe, Alors que Pp20 et Bt04 présentent le deuxième.

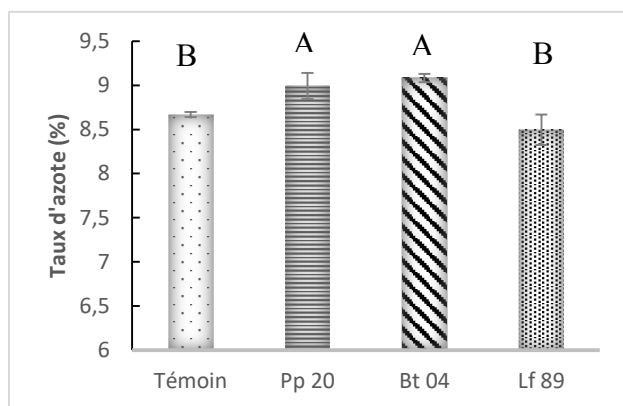
### **2.4. Teneur en hydrogène (H)**

La souche Lf89 a présenté la teneur la plus élevée en hydrogène, avec un taux de 6,11% suivi par Pp20 (5,94%) et le témoin (5,93%) et en fin Bt04 qui donne un taux de 5,86% (**Fig.27**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le taux d'hydrogène (H) dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* (**Annexe 17**).

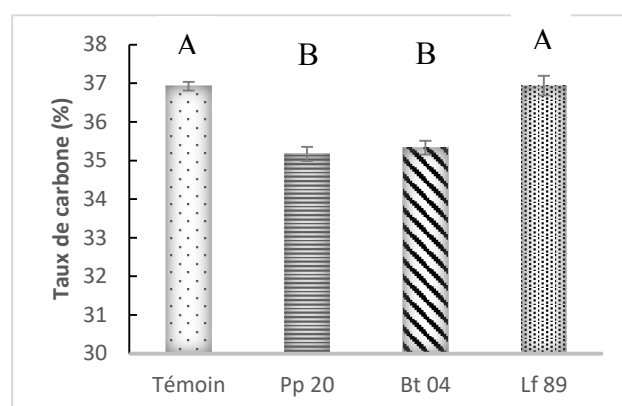
En effet, le test LSD de Fisher a indiqué deux groupes homogènes avec Lf89 qui constitue le premier groupe et les autres traitements représentent le deuxième.





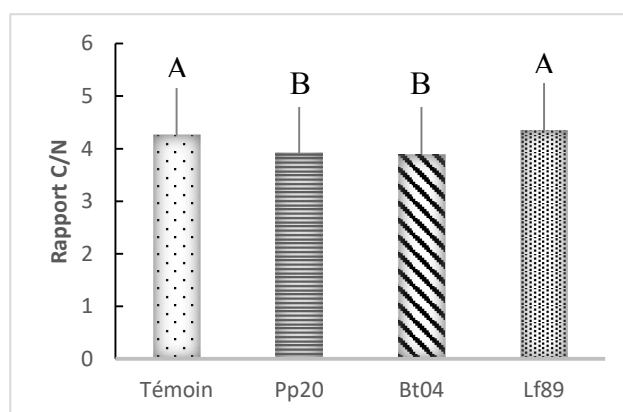
**Figure 24 :** Teneur en azote (N) dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$F(3,8) = 8,88$  ;  $P < 0,005^{**}$



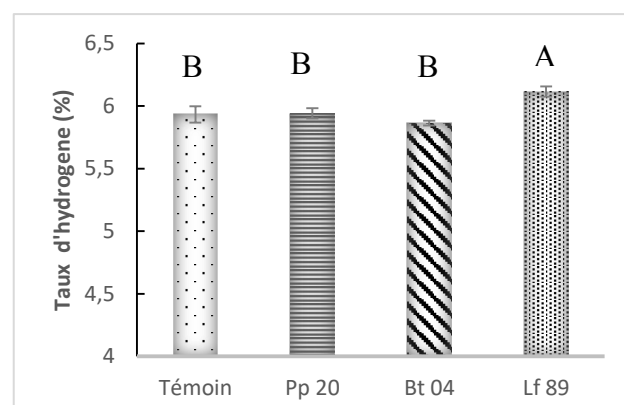
**Figure 25 :** Teneur en carbone (C) dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$F(3,8) = 44,82$  ;  $P < 0,001^{***}$



**Figure 26 :** Rapport C/N dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$F(3,8) = 9,49$  ;  $P < 0,005^{**}$



**Figure 27 :** Teneur en hydrogène (H) dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après l'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$F(3,8) = 26,57$  ;  $P < 0,001^{***}$

### III. Effets des PGPRs sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N chez *Datura stramonium*

*Datura*, est une plante médicinale très riche en métabolites secondaires, surtout en alcaloïdes tropaniques qui sont très utiles dans l'industrie pharmaceutique et la lutte biologique.

Comme il a été montré dans le chapitre précédent, les PGPRs augmentent significativement la biomasse végétale des plantes d'*Arabidopsis thaliana* inoculées, dans les conditions contrôlées.

L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'effet des PGPRs, non seulement, sur la croissance végétative, mais aussi sur la production et la teneur en alcaloïdes chez *Datura stramonium*, dans une culture hydroponique, sous serre.

#### 1. Effet des PGPRs sur la Croissance végétative

Dans cette expérimentation, les plantes du *Datura stramonium* ont été inoculées par quatre souches bactériennes (**Fig.28**), deux isolats (Pp20 et Bt04), un rhizobium 'Konm6' et une souche d'*Agrobacterium rhizogenes* 'A4'.

##### 1.1. Longueur moyenne des plantes

Après 16 jours d'inoculation, la longueur moyenne des plantes inoculées par Pp20 a subi une augmentation de 20% (32,52 cm) par rapport au témoin, tandis que celles inoculées par Bt04, A4 et Konm6 ont augmenté de 15%, 11% et 10%, respectivement, par rapport au témoin (**Fig.29 ; Fig.34A**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la longueur moyenne des plantes (**Annexe 18**).

Le test LSD de Fisher a montré 03 groupes homogènes dont deux chevauchent, Pp20 présente le premier groupe, A4 et konm6 forment le deuxième groupe.

Aussi bien la partie aérienne que celle racinaire ont enregistré des augmentations après traitements par les PGPRs, les feuilles ont augmenté de taille et les racines de longueur (**Fig.34 B' et C'**).

##### 1.2. Nombre moyens de feuilles

Le nombre moyens de feuilles a été influencé par les PGPR, les deux souches Pp20 et Bt04 ont augmenté ce paramètre de 20% par rapport au témoin (**Fig.30**).

L'analyse de la variance n'a pas révélé de différence significative entre les moyennes des différents traitements (**Annexe 19**).

### 1.3. Poids total moyen des plantes (poids frais)

Après 16 jours, la valeur la plus élevée a été obtenue avec Bt04 (35% d'augmentation par rapport au témoin) suivie par Pp20 (32%) (**Fig.31**).

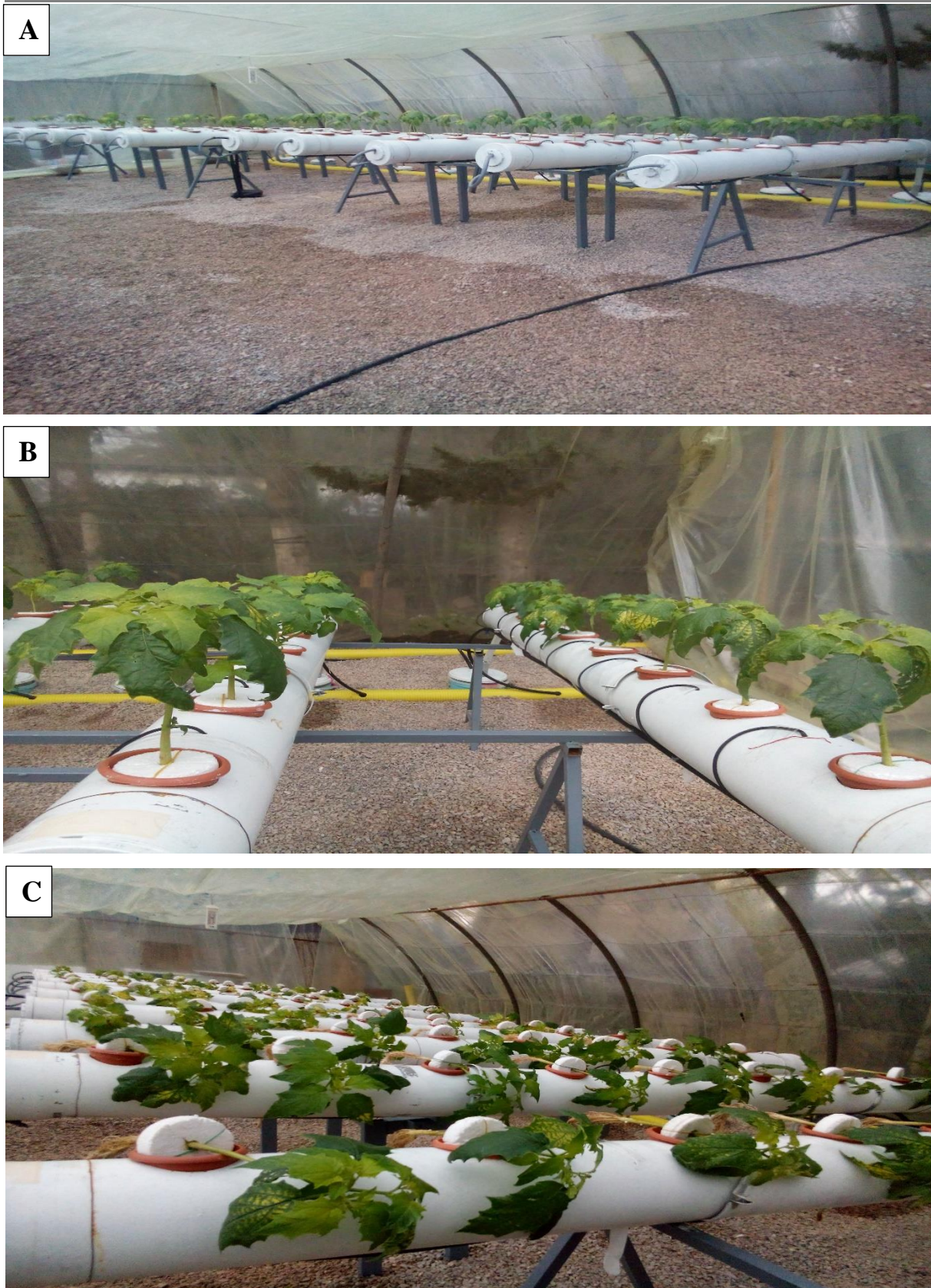
L'analyse de la variance n'a révélé aucune différence entre les moyennes des différents traitements (**Annexe 20**).

### 1.4. Poids sec moyens des feuilles et des racines

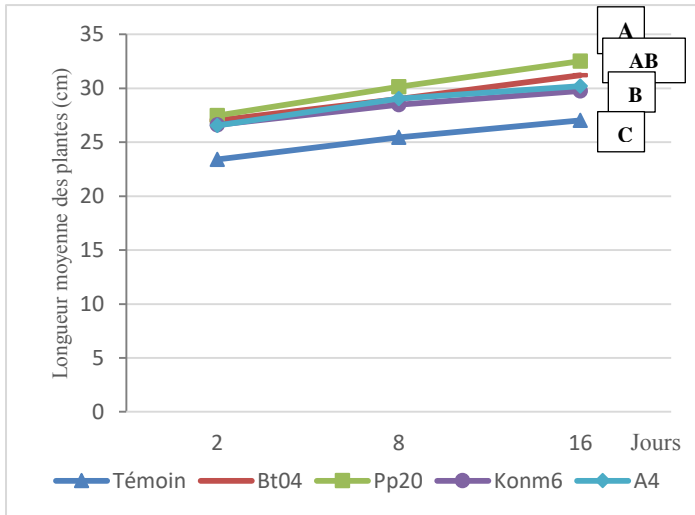
Les plantes traitées par les PGPRs ont montré des poids sec moyens un peu plus élevés par rapport aux témoins. Les souches Pp20 et Bt04 ont donné les meilleurs poids sec moyens, dans les feuilles et les racines (**Fig.32 et Fig.33**).

L'analyse de la variance a révélé l'existence d'une différence significative entre les moyennes des poids sec moyens des traitements dans les feuilles (**Annexe 21**). Alors que, pour les racines, aucune différence des poids sec moyens n'a été révélée (**Annexe 22**).

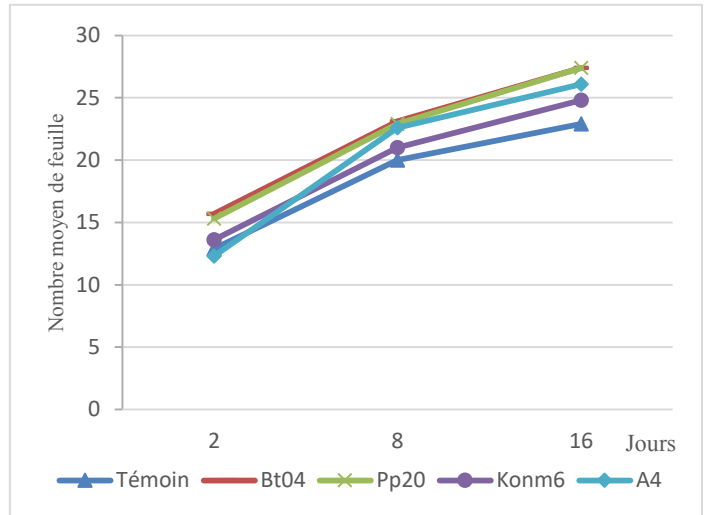
Le test LSD de Fisher a montré l'existence dans les feuilles de 02 groupes homogènes qui chevauchent. Bt04 présente le premier et komm6 et le témoin présentent le deuxième. Alors que, Pp20 et A4 chevauchent entre les 2 groupes.



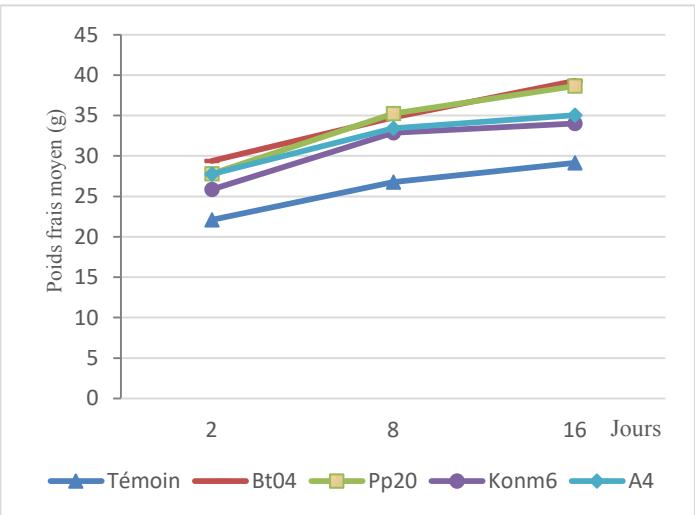
**Figure 28 :** Plantes du *Datura stramonium* cultivées dans le système aéronique, après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, A4 et Konm6. A et B : les plantes dans le système aéronique ; C : préparation des plantes pour mesurer les différents paramètres de croissance après 16 jours d'inoculation.



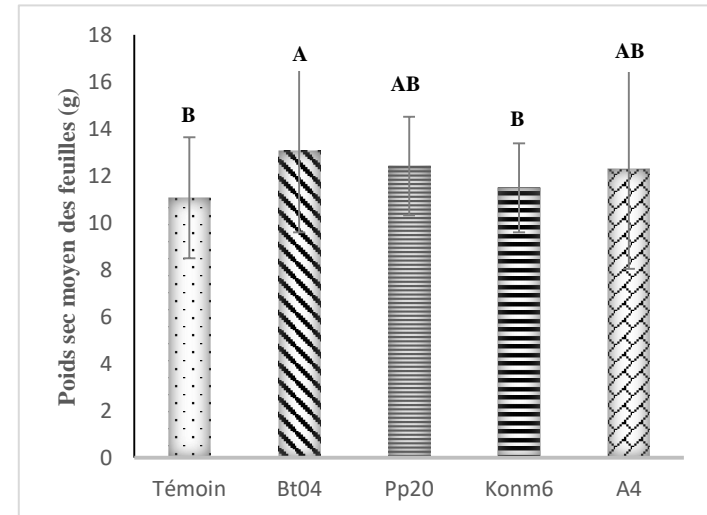
**Figure 29 :** Evolution de la longueur moyenne des plantes du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  $F(4,45) = 11,65$  ;  $P < 0,001^{***}$



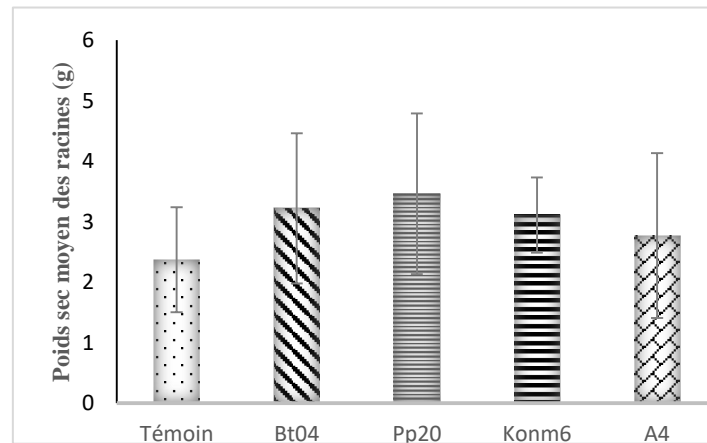
**Figure 30 :** Evolution du nombre moyen des feuilles des plantes du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  $F(4,45) = 1,59$  ;  $P > 0,01$



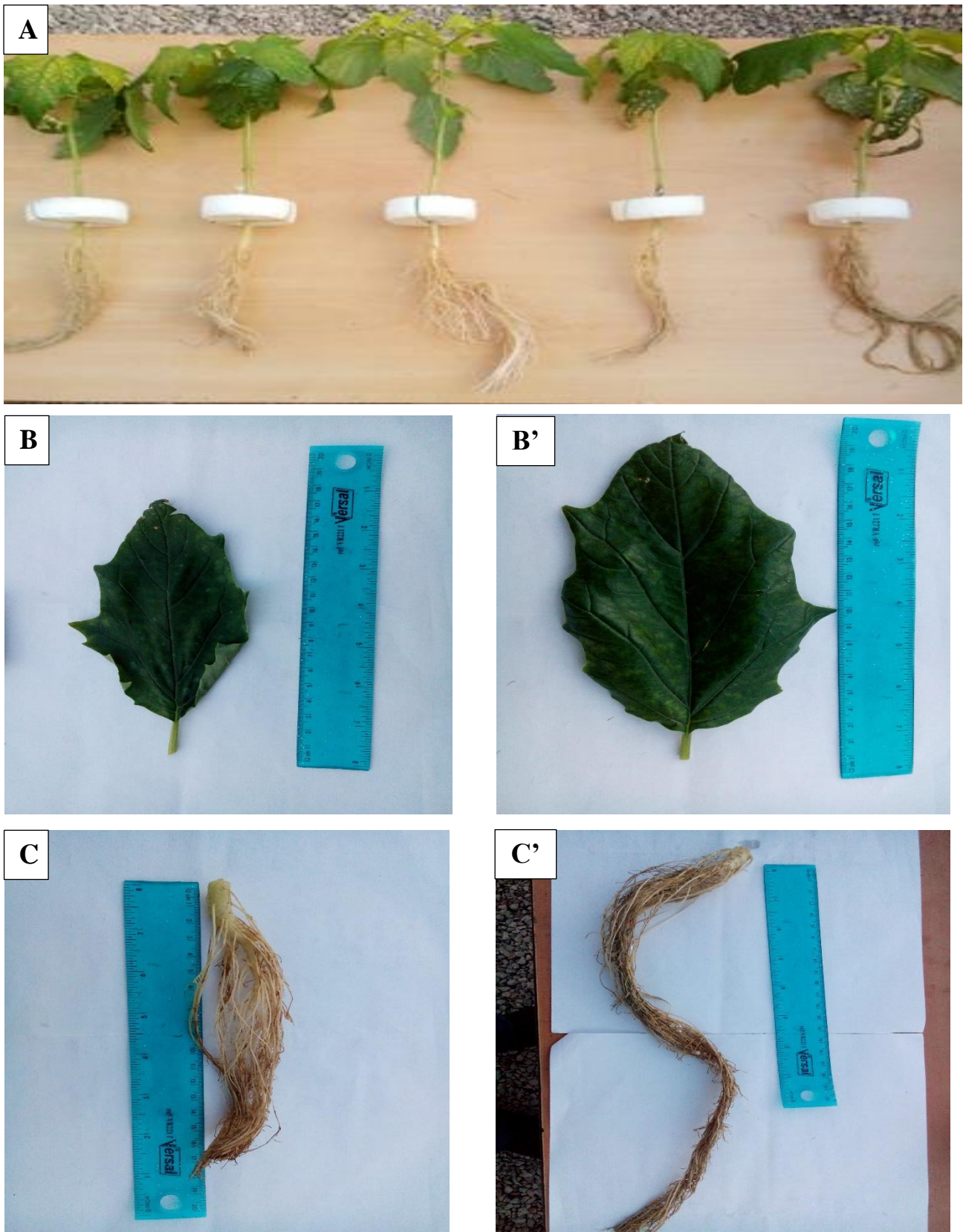
**Figure 31 :** Evolution du poids frais moyen des plantes du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  $F(4,45) = 1,59$  ;  $P > 0,01$



**Figure 32 :** Poids sec moyen des feuilles des plantes du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  $F(4,45) = 3,08$  ;  $P < 0,05^*$



**Figure 33 :** Poids sec moyen des racines des plantes du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  $F(4,45) = 1,43$  ;  $P > 0,01$



**Figure 34 :** Effet des PGPRs sur la croissance des plantes du *Datura stramonium*. (A) : plantes de différents traitements effectués, de gauche à droite : témoin, Konm6, Pp20, Bt04, A4 après jours d'inoculation. (B) : feuille de plante non inoculée, (B') : feuilles de plante inoculée par la souche Pp20, (C) : racine de plante non inoculée (témoin), (C') : racines de plante inoculée par la souche Pp20.

### 2. Effet des PGPRs sur les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N

D'après les résultats obtenus, les teneurs en N, C et H dans les feuilles du *Datura stramonium* sont supérieures à celles obtenus dans les racines, et c'est le contraire pour le rapport C/N.

#### 2.1. Teneur en azote (N)

##### 2.1.1. Dans les feuilles

La **figure n°35** montre que la teneur en azote varie selon les traitements, la valeur la plus élevée a été enregistrée avec la souche Pp20 (6,88%) et la plus faible avec la souche A4 (6,24%).

Effectivement, l'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en azote dans les feuilles et la comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré l'existence de 4 groupes homogènes dont Pp20 constitue le premier groupe, Konm6 et le témoin forme le deuxième. Alors que Bt04 constitue le troisième et A4 le dernier groupe (**Annexe 23**).

##### 2.1.2. Dans les racines

Les traitements Bt04 et A4 ont présenté les meilleurs taux en azote avec 5,40% et 5,22%, respectivement. Les autres traitements ont donné presque le même taux (**Fig. 35**).

L'analyse de la variance a révélé un effet significatif des traitements sur la teneur en azote dans les racines.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré 2 groupes homogènes, avec Bt04 comme premier groupe, le deuxième groupe renferme, le témoin, Pp20 et Konm6 (**Annexe 24**).

#### 2.2. Teneur en carbone (C)

##### 2.2.1. Dans les feuilles

Comme la teneur en azote, la teneur en carbone a varié selon les traitements. Cependant, on a enregistré une supériorité pour la souche Pp20 (40,45%). Alors que, le taux le plus faible a été obtenu avec A4 (37,41) (**Fig.36**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en carbone dans les feuilles.

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de 5 groupes homogènes dont chaque traitement forme un groupe indépendant (**Annexe 25**).

### 2.2.2. Dans les racines

Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec les souches Konm6 et Pp20 avec 37,57% et 36,83 respectivement. Alors que, le témoin a présenté la valeur la plus faible (35,07%) (**Fig.36**).

En effet, l'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en carbone.

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de 5 groupes homogènes, chaque traitement forme un groupe indépendant (**Annexe 26**).

### 2.3. Rapport C/N

#### 2.3.1. Dans les feuilles

Pour le rapport C/N, on a obtenu les meilleurs résultats avec les souches Bt04 et A4 avec des valeurs de 6,04 et 5,99, respectivement (**Fig.37**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le rapport C/N.

En effet, la comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré 3 groupes homogènes dont Bt04, A4 et le témoin forment le premier groupe, Pp20 le deuxième groupe et Konm6 constitue le dernier groupe (**Annexe 27**).

#### 2.3.2. Dans les racines

Dans les racines, les traitements Konm6 et Pp20 ont présenté les meilleures valeurs avec 7,38 et 7,29 respectivement (**Fig.37**).

L'analyse de la variance effectuée a montré un effet très hautement significatif des traitements sur le rapport C/N.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 2 groupes homogènes qui chevauchent (**Annexe 28**).

### 2.4. Teneur en hydrogène (H)

#### 2.4.1. Dans les feuilles

Les teneurs en hydrogène les plus élevées ont été obtenues par les souches Pp20, Bt04 et le témoin, avec des taux de 6,68%, 6,65% et 6,64%, respectivement. Alors que la teneur la plus faible a été enregistrée par Konm6 (6,46%) (**Fig.38**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en hydrogène.



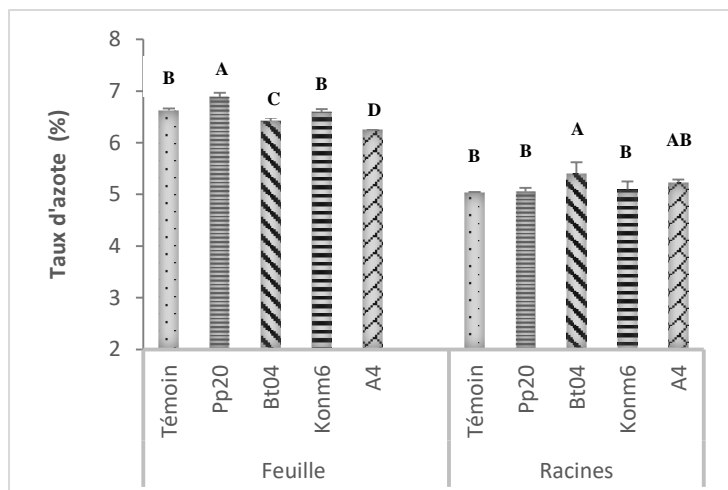
En effet, le test LSD de Fisher a révélé 3 groupes homogènes qui chevauchent, Pp20 forme le premier groupe et Konm6 constitue le dernier groupe (**Annexe 29**).

### **2.4.2. Dans les racines**

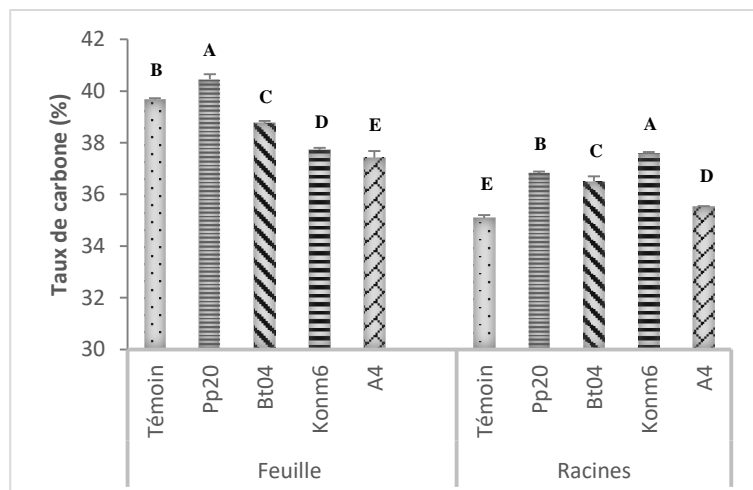
Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les souches Konm6, Pp20 et Bt04 qui ont enregistré des taux de 6,07%, 6,06% et 6,01% respectivement (**Fig.38**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des PGPRs sur la teneur d'hydrogène dans les racines.

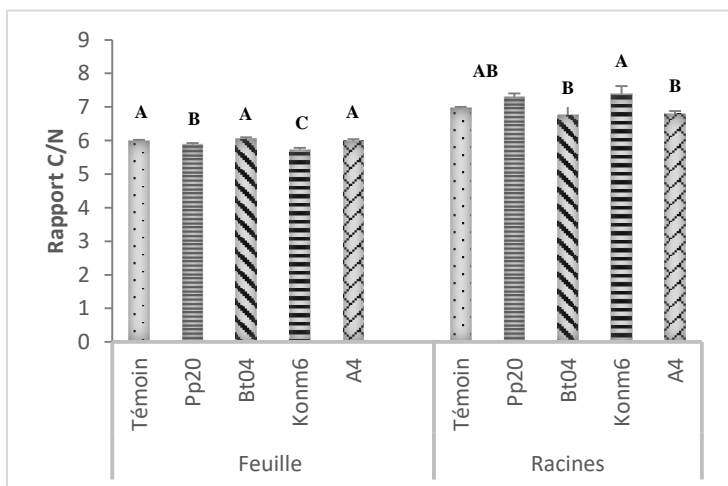
En effet, le test LSD de Fisher a révélé 4 groupes homogènes (**Annexe 30**).



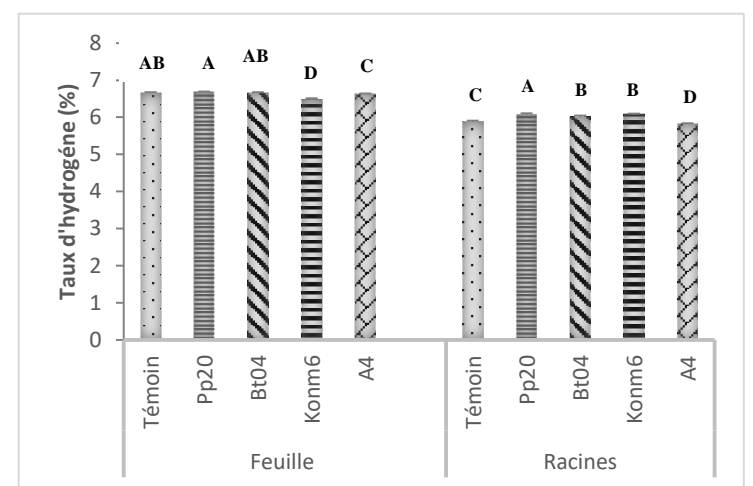
**Figure 35 :** Teneur en azote (N) dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 53,30 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 4,67 ; P < 0,05\*



**Figure 36 :** Teneur en carbone (C) dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 198,29 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 250,16 ; P < 0,001\*\*\*



**Figure 37 :** Rapport C/N dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 22,23 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 7,38 ; P < 0,005\*\*



**Figure 38 :** Teneur en hydrogène (H) dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPR, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 33,42 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 56,86 ; P < 0,001\*\*\*

#### IV. Effets des PGPRs sur la composition en métabolites chez *Datura stramonium*.

Les analyses ont été réalisées aux deux niveaux de la plante (feuilles et racines), 16 jours après l'inoculation.

Les résultats obtenus ont montré que *Datura stramonium* contient 158 métabolites (entre primaires et secondaires) dont 106 sont connus par leurs noms et leurs formules chimiques et 52 métabolites inconnus (MSTs : spectres de masse non identifiée).

Les métabolites profilés ont été classés selon leurs propriétés et leurs compositions en onze (11) familles chimiques : les sucres, les acides aminés, les acides gras, les acides organiques, les dérivés de phosphate, les polyols, les composés azotés, les alcaloïdes, les phénylpropanoïdes, les acides Polyhydroxy ainsi que les MSTs.

##### 1. Teneur en sucres

Les résultats obtenus ont montré que *Datura stramonium* contient 12 sucres : le **fructose**, le **glucose**, le **lyxose**, le **maltose**, le **melezitose**, le **psicose**, le **raffinose**, le **saccharose**, le **2-amino-2-deoxy-glucose**, le **1-kestose**, le **2-deoxy-ribofuranose** et l'**alpha-alpha' tréhalose**.

Selon la **figure 39**, les teneurs en sucres sont très variables entre les racines et les feuilles du *Datura stramonium*. Les feuilles contiennent l'**alpha-alpha' tréhalose** (**Fig.39** 12) avec une très faible concentration par rapport aux racines, par contre les racines contiennent de faibles teneurs en **maltose** et en **melezitose** (**Fig.39** 4, 5). Certains sucres tels que, le **saccharose**, le **fructose**, le **1-kestose** et le **2-amino-2-deoxy-glucose** ont presque les mêmes teneurs dans les feuilles et les racines de la plante (**Fig.39** 8, 1, 10, 9).

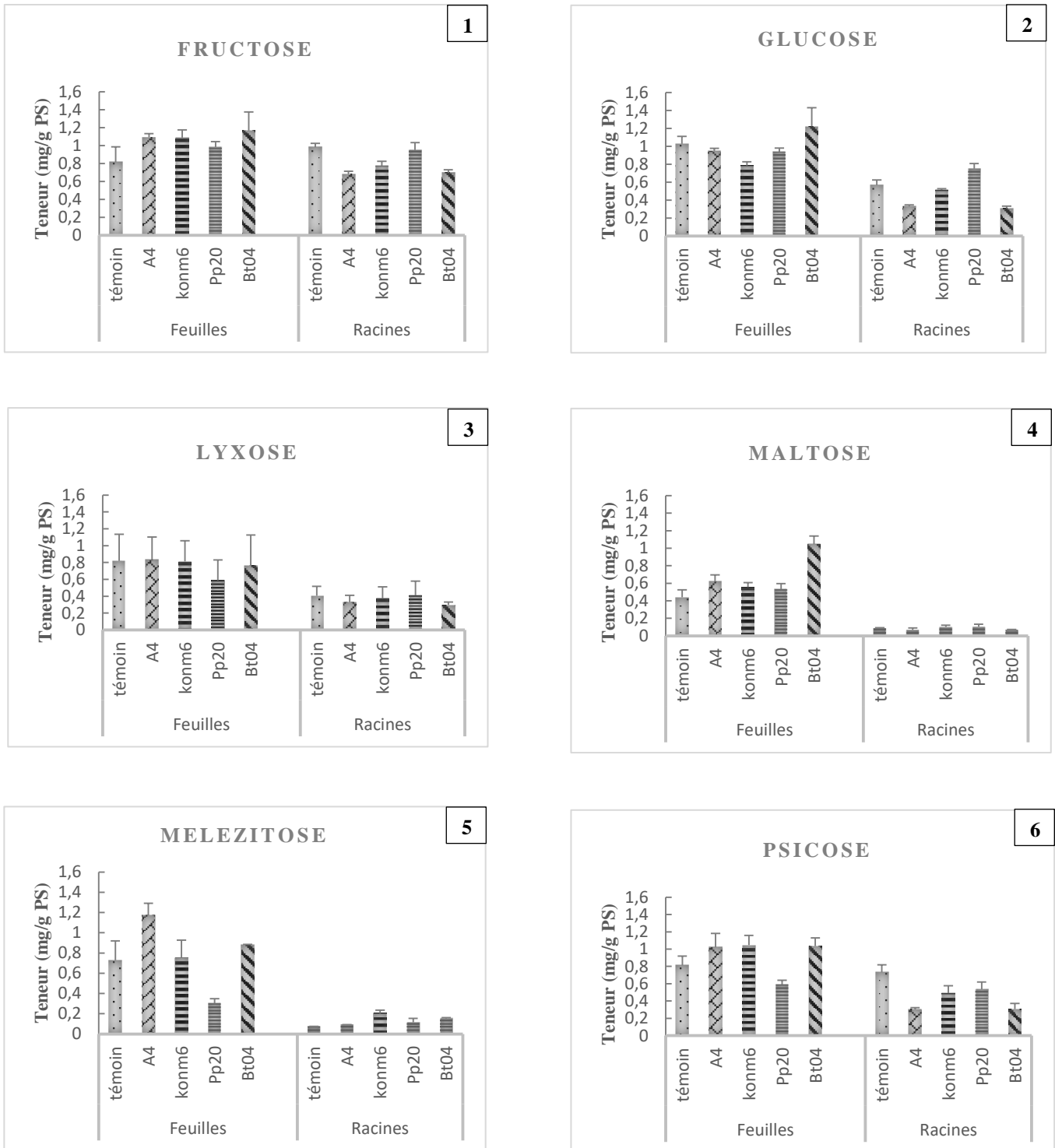
Des augmentations remarquables sont enregistrées pour la majorité des sucres détectés, après l'inoculation par les PGPR. Les teneurs les plus élevées sont enregistrées avec la souche Bt04 qui a augmenté les teneurs en **saccharose** de 60% et 31% dans les racines et les feuilles respectivement, une augmentation de la teneur en **fructose** de 43% dans les feuilles, en **maltose** de 141% dans les feuilles et en **raffinose** de 113% dans les feuilles et de 142% dans les racines (**Fig.39** 8, 1, 4, 7).

Alors que, l'influence de la souche Pp20 est plus remarquable dans la partie racinaire de la plante, des augmentations de 11%, 27%, 32% et 92% sont obtenus pour le **maltose**, le **saccharose**, le **glucose** et le **raffinose** respectivement (**Fig.39** 4, 8, 2, 7).

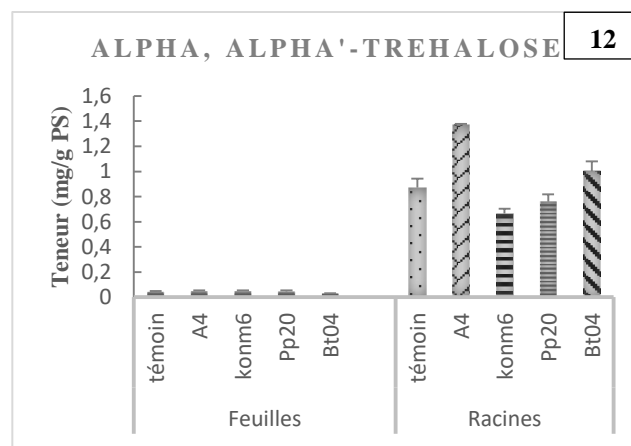
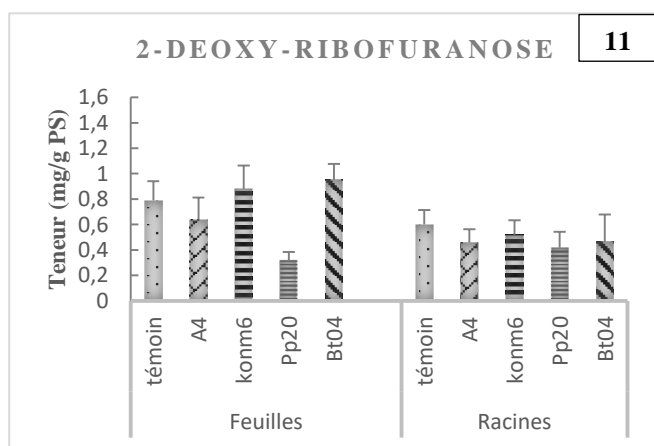
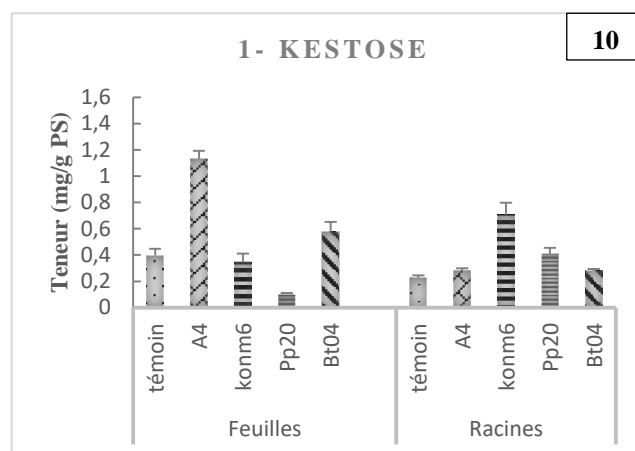
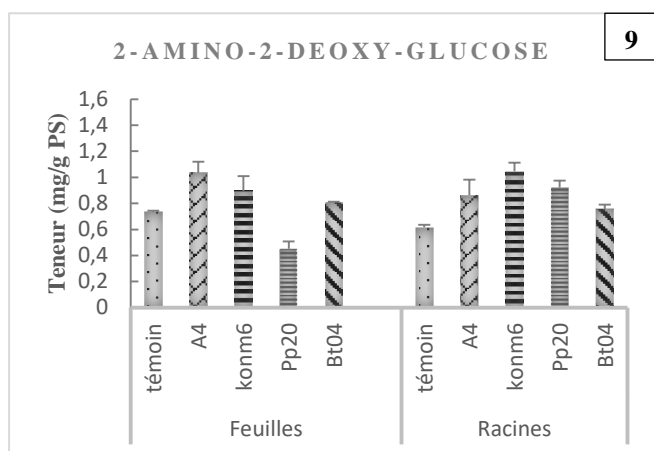
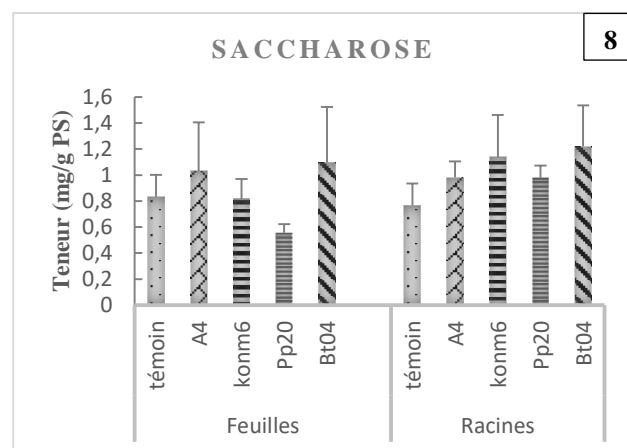
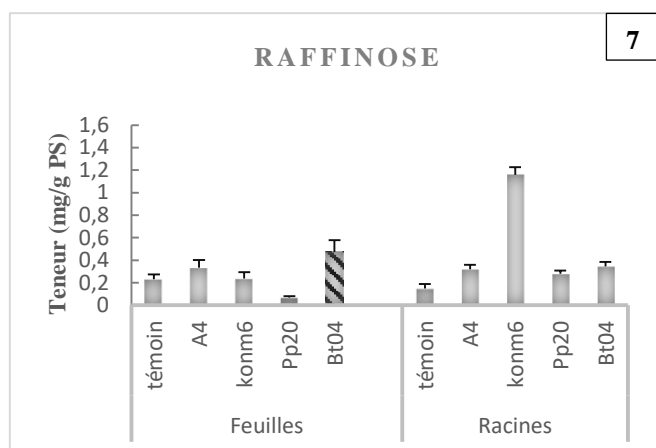
Par ailleurs, la souche A4 a augmenté les teneurs en **saccharose**, **2-amino-2-deoxy-**

**glucose** et en **alpha- alpha' tréhalose** de 28%, 40% et 57% respectivement, dans les racines du *Datura stramonium*. Dans les feuilles, elle a augmenté les teneurs en **psicose, fructose, melezitose** et en **1-kestose** de 25%, 34%, 62% et 187% respectivement (**Fig.39** 8, 9, 12, 6, 1, 5, 10).

En outre, la souche rhizobium Konm6 a amélioré les teneurs en **fructose, psicose et maltose** de 33%, 28% et 27% respectivement dans les feuilles. Alors que, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **raffinose, 1-kestose** et de **2-amino-2-deoxy-glucose** de 721%, 218% et 70% respectivement (**Fig.39** 1, 6, 4, 7, 10, 9).



**Figure 39 :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) fructose, (2) glucose, (3) lyxose, (4) maltose, (5) melezitose, (6) psicose.



**Figure 39 (suite) :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (7) raffinose, (8) saccharose, (9) 2-amino-2-deoxy-glucose, (10) 1-kestose, (11) 2-deoxy-ribofuranose, (12) alpha, alpha'-tréhalose.

## 2. Teneur en acides aminés et leurs dérivés

Les acides aminés sont des molécules qui entrent dans la composition des protéines grâce à leur assemblage par les liaisons peptidiques. Actuellement, 22 acides aminés protéinogènes différents avec des codons spécifiques dans le code génétique sont connus (Agerberth et al. 1991; Böck et al. 1991). En outre, il existe un certain nombre d'acides aminés non protéinogènes résultant de la modification post-traductionnelle, tels que l'hydroxyproline (Colley et Baenziger 1987) et l'hydroxylysine (Chicooree et al. 2015), l'homocystéine, l'homoserine, la citrulline et l'ornithine, qui sont des métabolites dans le cycle de l'urée (Berg et al. 2002).

Les résultats obtenus ont montré que *Datura stramonium* contient les 18 acides aminés standards : l'**alanine**, l'**arginine**, l'**asparagine**, l'**aspartate (acide aspartique)**, le **glutamate (l'acide glutamique)**, la **glutamine**, la **glycine**, l'**histidine**, l'**isoleucine**, la **leucine**, la **lysine**, la **phénylalanine**, la **proline**, la **sérine**, la **thréonine**, le **tryptophane**, la **tyrosine** et la **valine**(Fig.40). Elle contient aussi quelques dérivés d'acides aminés tels que **la 3-cyano-alanine**, **la bêta-alanine**, **l'acide 4-amino-butanoïque**, **la butyro 1,4-lactam**, **l'homocystéine**, **l'homoserine**, **l'ornithine**, **la ornithine 1,5-lactam** et **l'acide pyroglutamique (Fig.40)**.

Aussi bien que chez les familles précédentes, chez les acides aminés, il existe une différence entre les teneurs dans la feuilles et celles dans les racines. La quantité de **glutamine** présente dans les feuilles est inférieure à celle dans les racines (**Fig.40 6**). Alors que dans ces dernières contiennent de faibles teneurs en **homoserine**, **ornithine**, **ornithine 1,5-lactam** et en **tyrosine (Fig.40 24, 25, 26, 17)**.

L'effet des PGPR sur la teneur en acides aminés et leurs dérivés est remarquable (négativement ou positivement). Par ailleurs, la souche *Agrobacterium* A4 a une influence notable sur les teneurs en acides aminés dans les deux parties (feuilles et racines). Dans les feuilles, elle augmente les teneurs en **alanine**, **ornithine**, **asparagine**, **butyro 1,4-lactam**, **ornithine 1,5-lactam**, **bêta-alanine**, **arginine**, **proline**, **histidine**, **acide glutamique**, **isoleucine** et en l'**homoserine** de 189%, 152%, 88%, 79%, 78%, 75%, 70%, 54%, 48%, 39%, 34% et 32% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.40 1, 25, 3, 22, 26, 20, 2, 13, 8, 5, 9, 24**). Mais dans les racines, elle n'a montré d'effet, à que sur l'**histidine**, **la 3-cyano-alanine**, **l'alanine** et **la phénylalanine** avec des augmentations de 65%, 47%, 25% et 18% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.40 8, 19, 1, 12**).

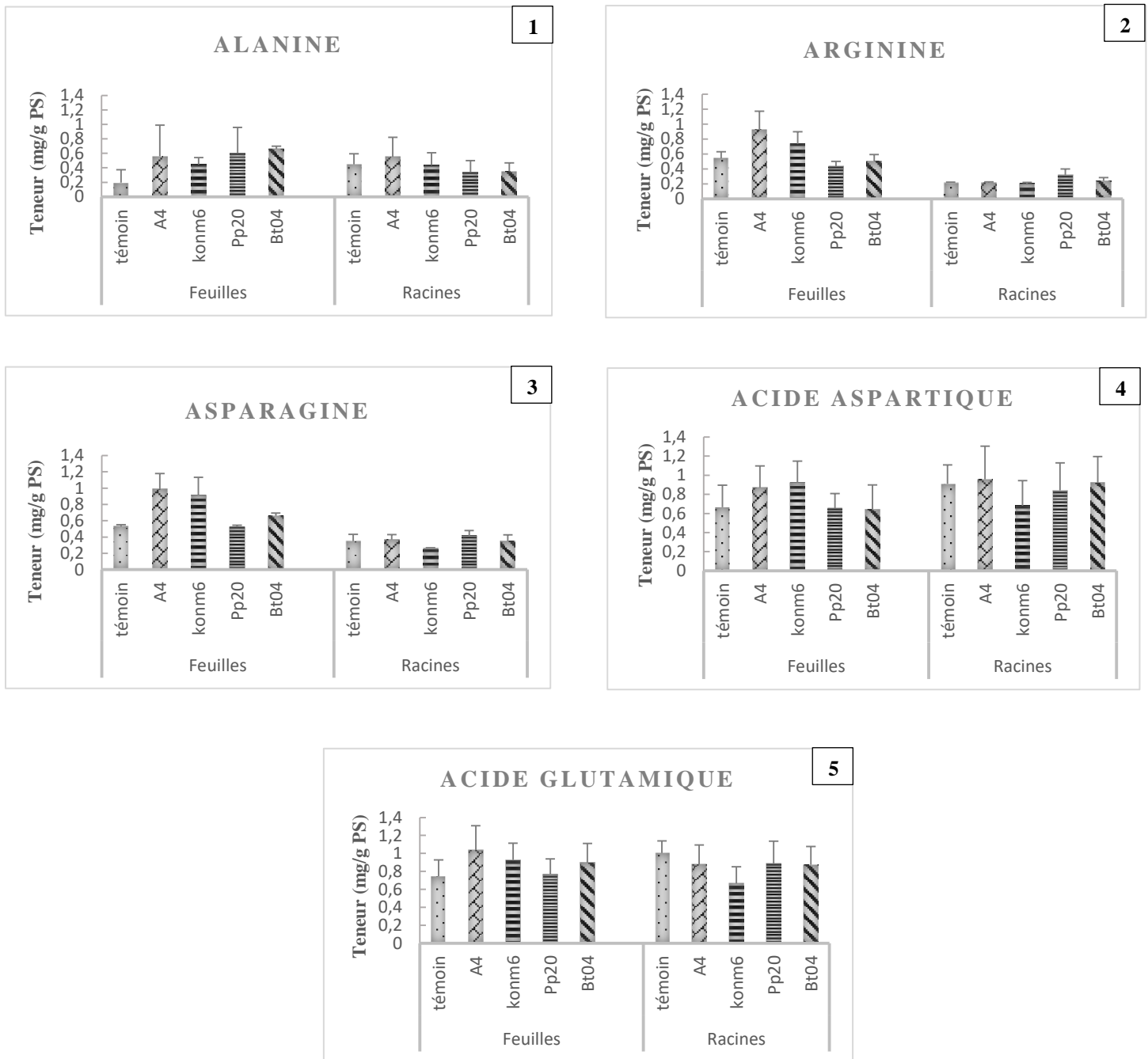
En outre, la souche Konm6 a amélioré les teneurs en AA dans les deux parties. Dans les feuilles, elle a augmenté les teneurs de 131%, 128%, 75%, 41%, 39%, 35%, 29%, 24% et 22%

pour l'**alanine**, l'**ornithine**, l'**asparagine**, la **3-cyano-alanine**, **acide aspartique**, **arginine**, la **leucine**, l'**histidine** et la **serine** respectivement par rapport aux témoins (**Fig.40** 1, 25, 3, 19, 4, 2, 10, 8, 14). De même, dans les racines, la Konm6 a amélioré les teneurs en **histidine**, **tyrosine** et en **phénylalanine** de 145%, 100% et 22% respectivement, par rapport aux témoins (**Fig.40** 8, 17, 12).

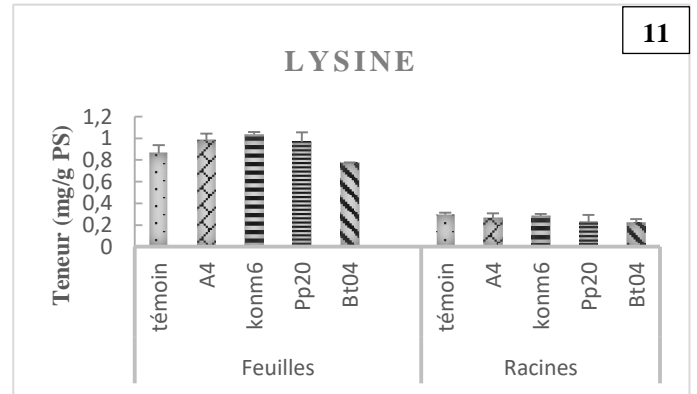
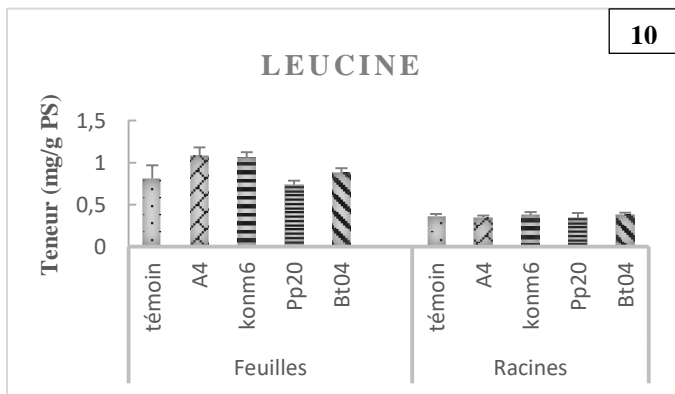
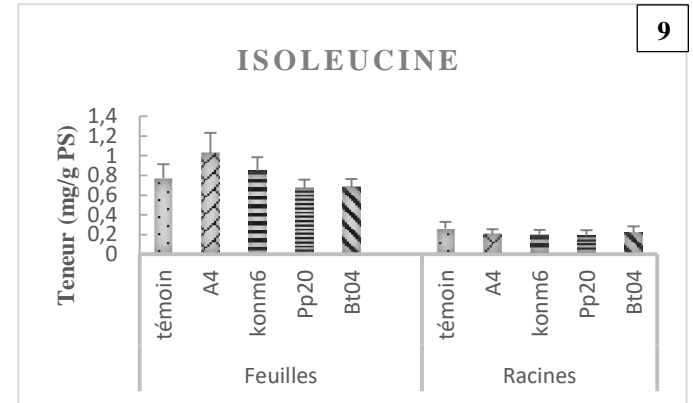
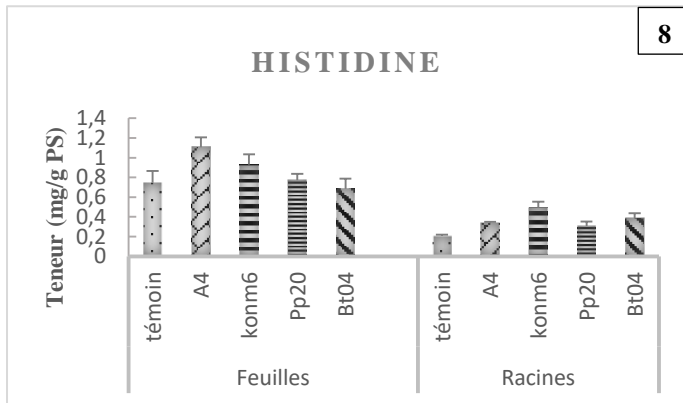
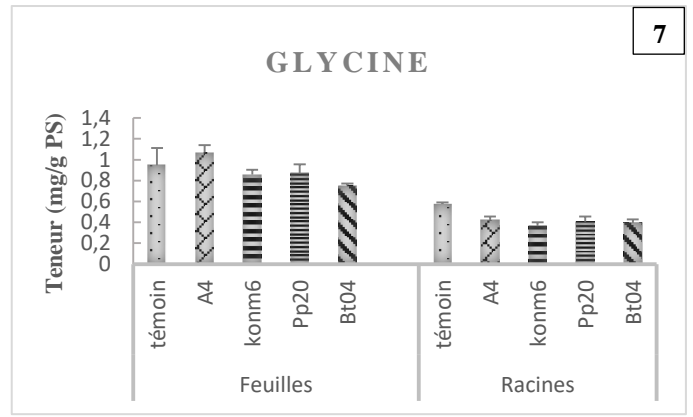
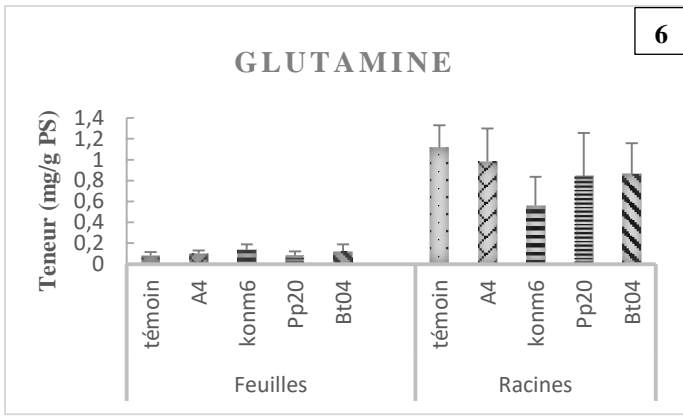
Cependant, la souche Pp20 n'a pas montré une grande influence sur les teneurs en acides aminés et leurs dérivés à l'exception de l'**alanine** et la **lysine** qui ont subi des augmentations de 215% et 11% respectivement par rapport aux témoins, dans les feuilles (**Fig.40** 1, 11). Aussi, dans les racines des augmentations pour l'**histidine**, l'**arginine** et l'**asparagine** de 50%, 47% et 20% respectivement, ont été enregistrées par rapport aux témoins (**Fig.40** 8, 2, 3).

De même que la souche Pp20, la souche Bt04 n'a pas montré une grande influence sur les teneurs en acides aminés et leurs dérivés. Dans les feuilles, elle a augmenté les teneurs en **alanine**, **ornithine**, **asparagine**, **3-cyano-alanine** et en **homoserine** de 247%, 52%, 25%, 21% et 20% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.40** 1, 25, 3, 19, 24). Cependant, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **histidine** et en **acide pyroglutamique** de 90% et 22% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.40** 8, 27).

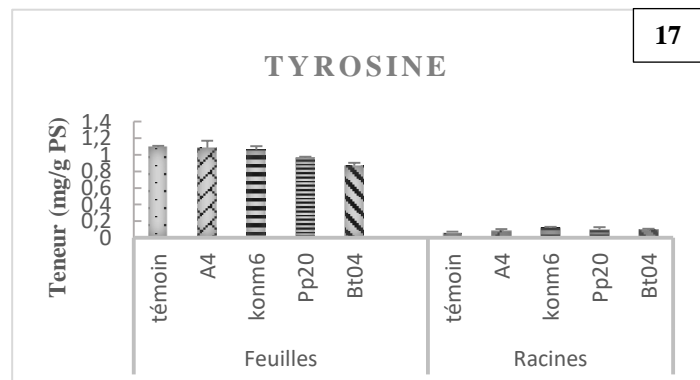
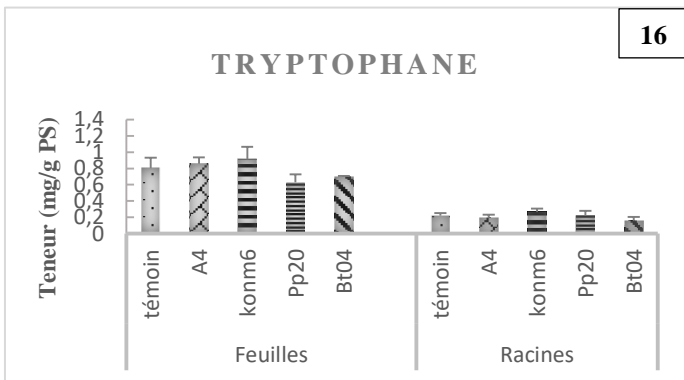
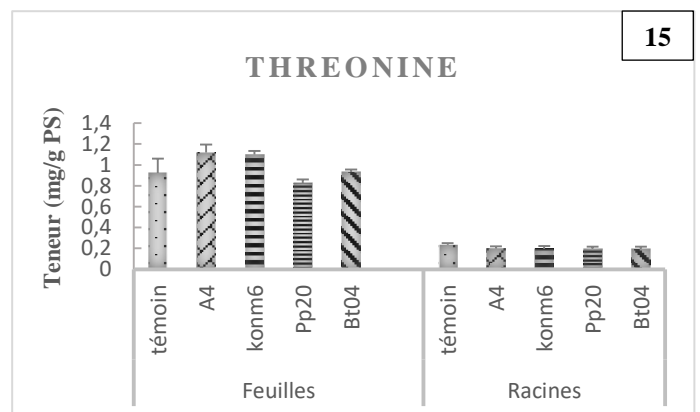
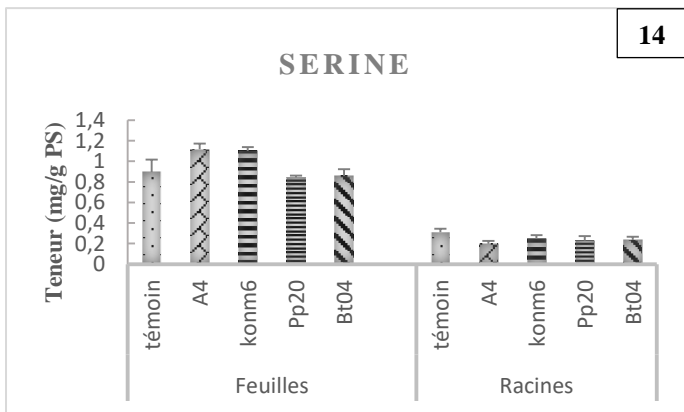
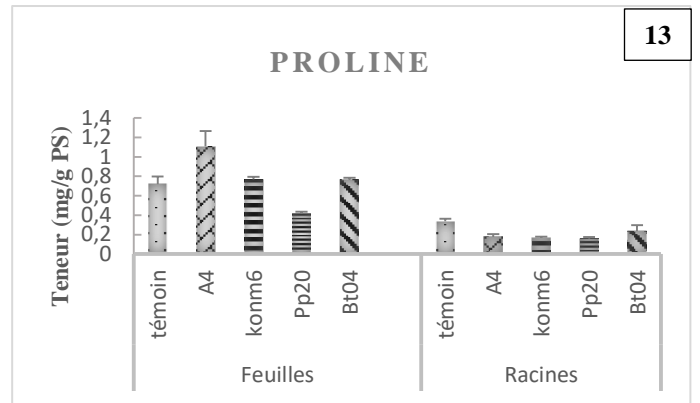
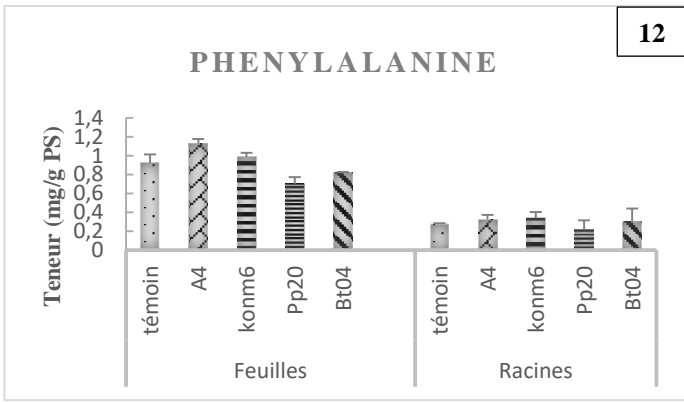




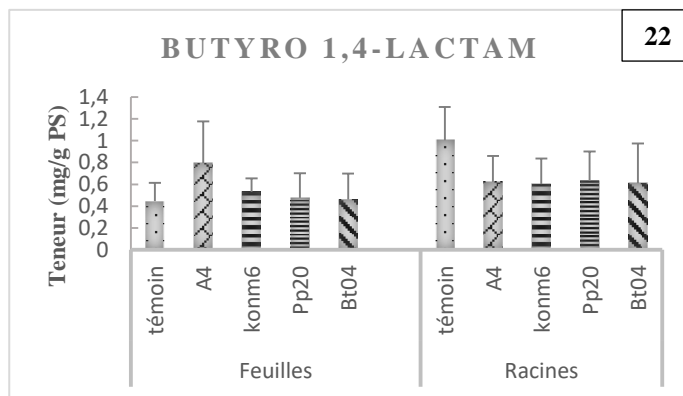
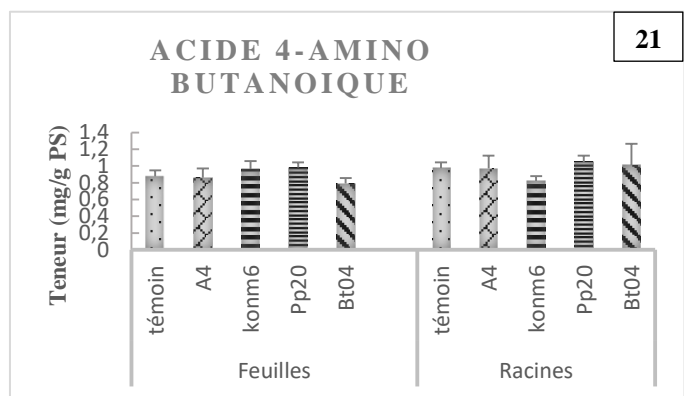
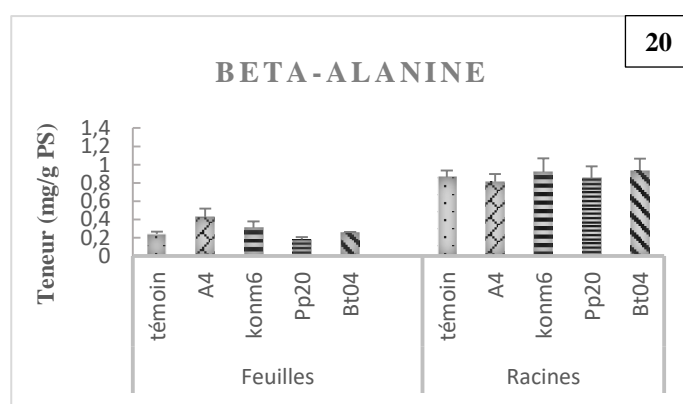
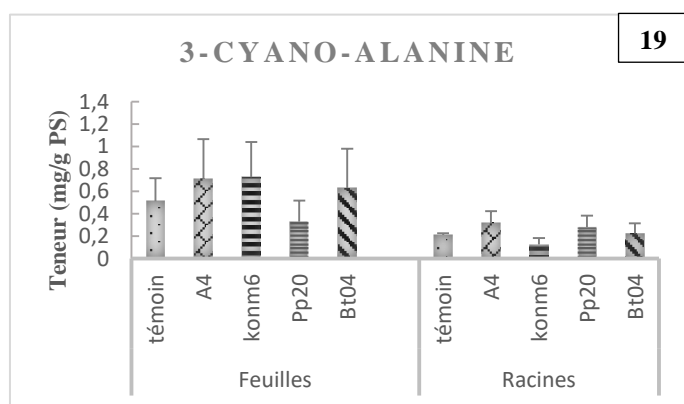
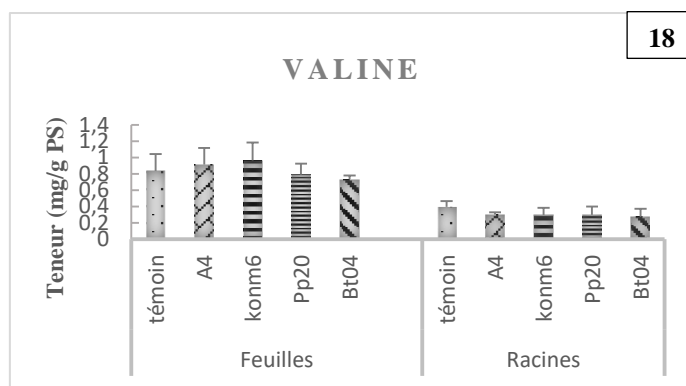
**Figure 40 :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (1) alanine, (2) arginine, (3) asparagine, (4) aspartate et (5) glutamate.



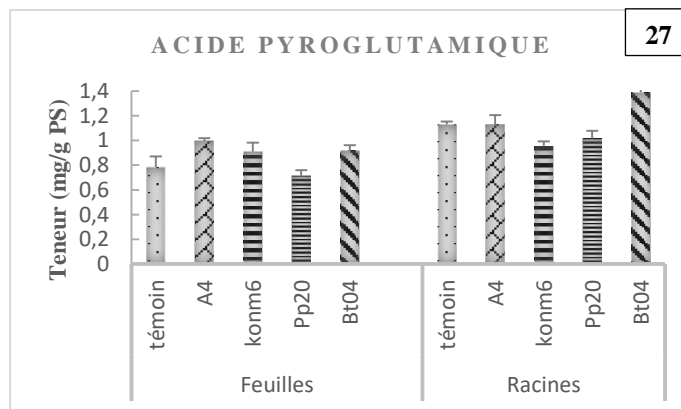
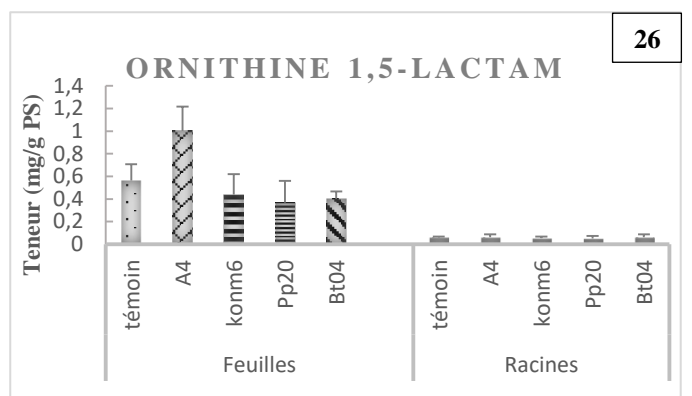
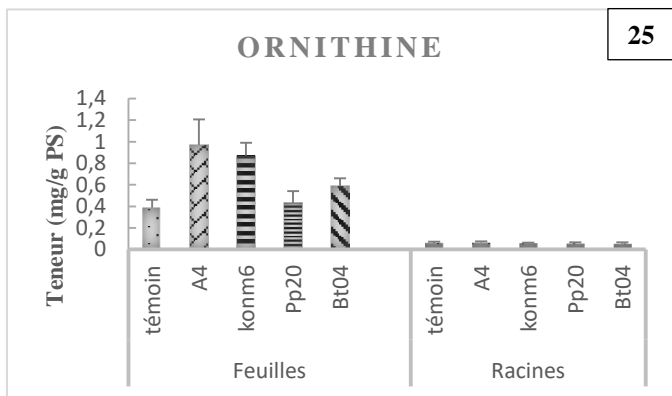
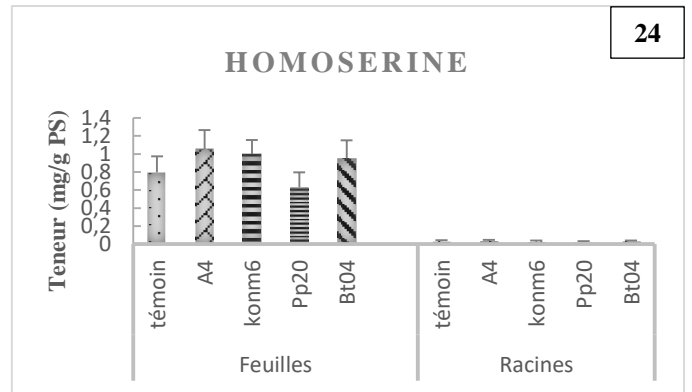
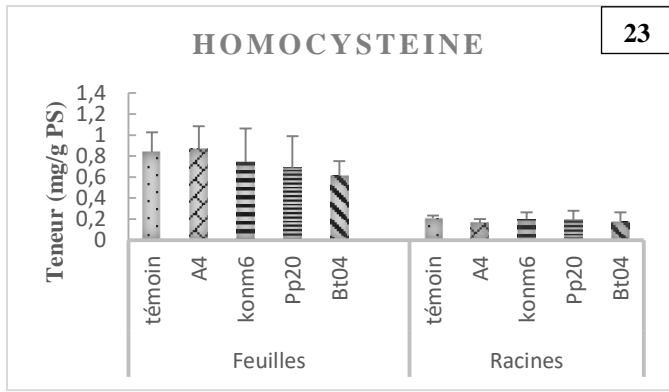
**Figure 40 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (6) glutamine, (7) glycine, (8) histidine, (9) isoleucine, (10) leucine et (11) lysine.



**Figure 40 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (12) phénylalanine, (13) proline, (14) sérine, (15) thréonine, (16) tryptophane et (17) tyrosine.



**Figure 40 (suite) :** Teneur en acides aminés et leurs dérivés dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (18) valine, (19) 3-cyano-alanine, (20) bêta-alanine, (21) acide 4-amino-butanoïque, (22) butyro 1,4-lactam



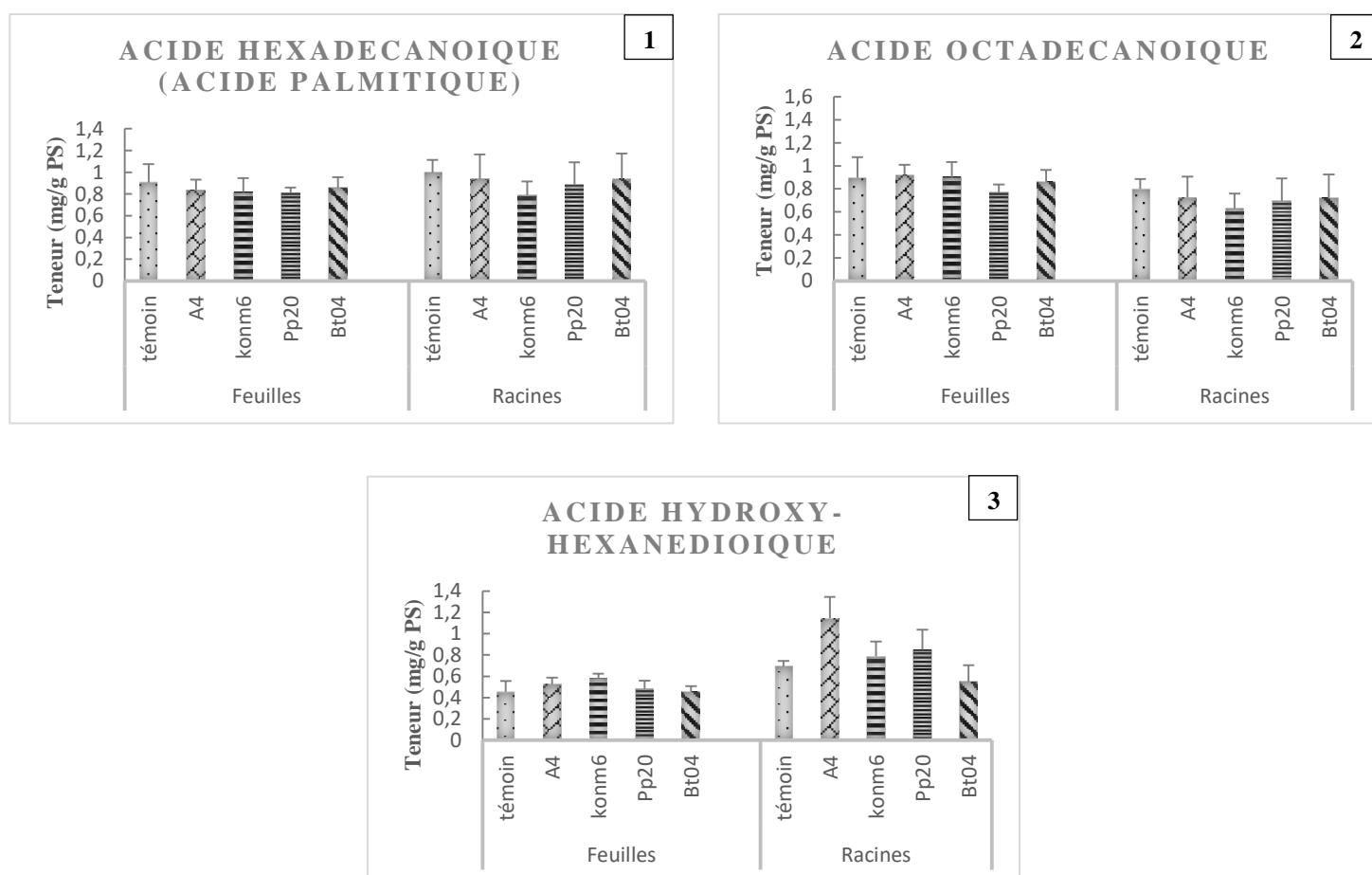
**Figure 40 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (23) homocystéine, (24) homoserine, (25) ornithine, (26) ornithine 1,5-lactam, (27) acide pyroglutamique.

### 3. Teneur en acides gras

Les acides gras sont les constituants de base des triglycérides, les principaux lipides. Ce sont des acides carboxyliques aliphatiques ou ramifiés, faits de chaînes d'au moins 4 carbones, plus ou moins insaturées, c'est-à-dire présentant une ou plusieurs doubles liaisons (Chalut-Carpentier et al. 2015).

Les résultats obtenus ont révélé que *Datura stramonium* contient 3 acides gras saturés : **l'acide hexadécanoïque (acide palmitique)**, **l'acide hydroxy-hexanedioïque**, et **l'acide octadécanoïque (l'acide stéarique)** (Fig.41).

Le **Figure 41** (1, 2 et 3) montre que l'inoculation par les PGPRs a d'une façon général diminué les teneurs en acides gras, à l'exception de quelques augmentations pour **l'acide hydroxy-hexanedioïque** avec des élévations dans les feuilles de 26% et 15% avec les souches Konm6 et A4 respectivement et de 65%, 21% et 13% avec A4, Pp20 et Konm6 respectivement dans les racines.



**Figure 41** : Teneur en acides gras dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) acide hexadécanoïque, (2) acide hydroxy-hexanedioïque, (3) acide octadécanoïque.

#### 4. Teneur en acides organiques

Les résultats obtenus ont montré que *Datura stramonium* renferme 19 acides organiques: l'**acide 4'hydroxyphényl-acétique**, l'**acide cis-aconitique**, l'**acide benzoïque**, l'**acide 4-hydroxy-benzoïque**, l'**acide 2,4-dihydroxy-butanoïque**, l'**acide citrique**, l'**acide 2-hydroxy-glutarique**, l'**acide 2-oxo-glutarique**, l'**acide glycolique**, l'**acide lactique**, l'**acide 3-phényl-lactique**, l'**acide malique**, l'**acide 2-isopropyl-malique**, l'**acide 2-méthyl-malique**, l'**acide malonique**, l'**acide oxalique**, l'**acide picolinique**, l'**acide pyruvique** et l'**acide succinique** (Fig.42).

Les teneurs en acides organiques sont très variables entre les racines et les feuilles.

D'après la **figure 42**, les racines du *Datura stramonium* ne renferment pas d'**acide 4'hydroxyphényl-acétique** qui dans les feuilles existe en grande quantité (Fig.42 1). En outre, les feuilles contiennent l'**acide benzoïque**, l'**acide 2-oxo-glutarique**, l'**acide 3-phényl-lactique**, l'**acide pyruvique** et l'**acide succinique** en faibles teneurs. Alors que les racines montrent des teneurs basses en **acide 2,4-dihydroxy-butanoïque** et en **acide malonique** (Fig.42 3, 8, 11, 18, 19, 5, 15).

Généralement, les résultats obtenus ont montré un effet positif des PGPRs sur les teneurs en acides organiques en provoquant soit leurs augmentations, soit leurs diminutions.

Ainsi, la souche Agrobacterium A4 a un effet remarquable sur ces substances, elle a augmenté, dans les feuilles, les teneurs en **acide 2-oxo-glutarique**, **acide lactique**, **acide 2-hydroxy- glutarique**, **acide 2,4-dihydroxy-butanoïque**, **acide glycolique**, **acide cis-aconitique**, **acide citrique**, **acide 4-hydroxy-benzoïque** et en **acide picolinique** de 230%, 104%, 102%, 91%, 38%, 26%, 25%, 22% et 16% respectivement, par rapport aux témoins (Fig.42 8, 10, 7, 5, 9, 2, 6, 4, 17). Et dans les racines les teneurs en **acide lactique** et **acide 2-méthyl-malique**, de 77% et 47% respectivement (Fig.42 10, 14).

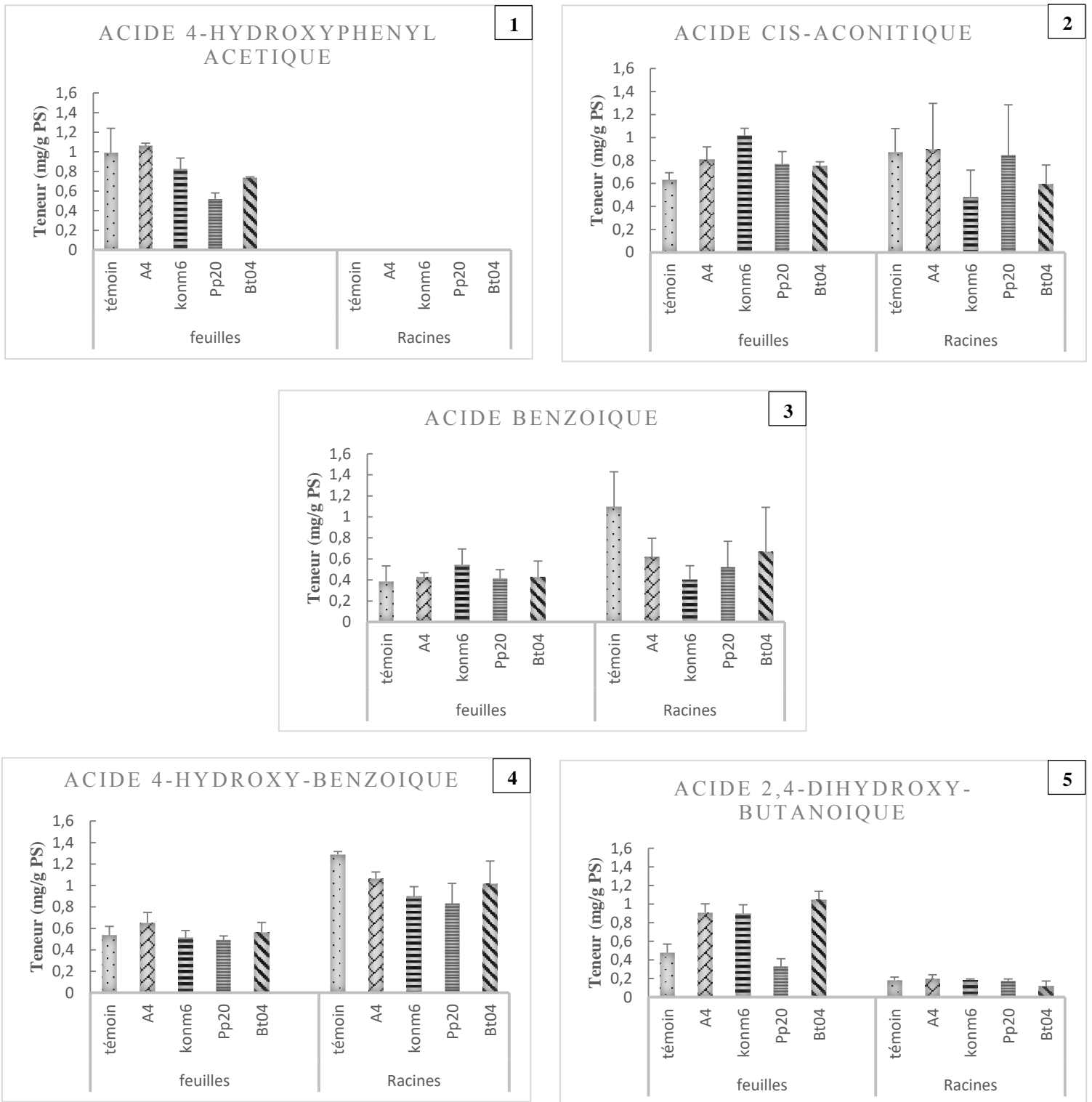
Par contre, la souche Konm6 a augmenté dans les feuilles les teneurs en **acide 2-oxo-glutarique**, **acide 2-hydroxy-glutarique**, **acide 2-hydroxy-glutarique**, **acide 2,4-dihydroxy-butanoïque**, **acide lactique**, **acide cis-aconitique**, **acide benzoïque**, **acide glycolique** et en **acide citrique** de 350%, 129%, 105% 78%, 60%, 42%, 23% et 18% respectivement, par rapport aux témoins (Fig.42 8, 7, 5, 10, 2, 3, 9, 6). Et les teneurs en **acide 3-phényl-lactique**, **acide oxalique** et en **acide 2-isopropyl-malique** dans les racines de 14%, 31% et 480% respectivement (Fig.42 11, 16, 13).

Par ailleurs, la souche Pp20 a présenté des teneurs inférieures à celles du témoin dans les feuilles à l'exception de l'**acide 2-oxo-glutarique** et l'**acide cis-aconitique** qui ont subi des

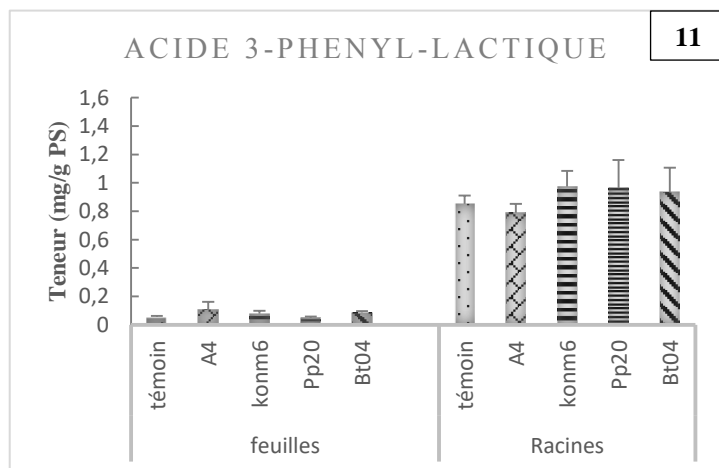
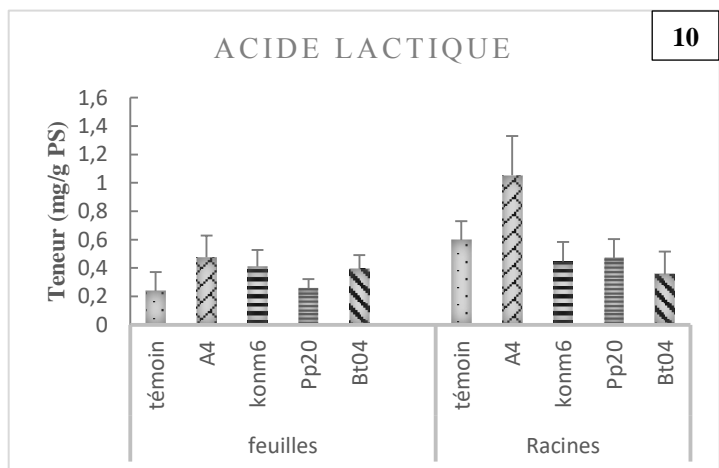
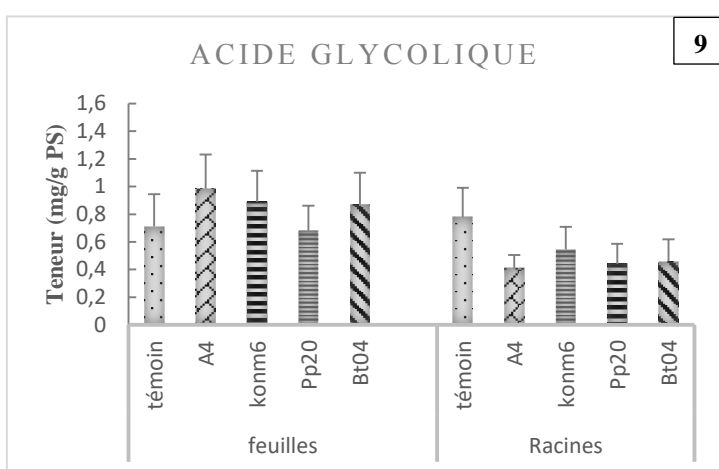
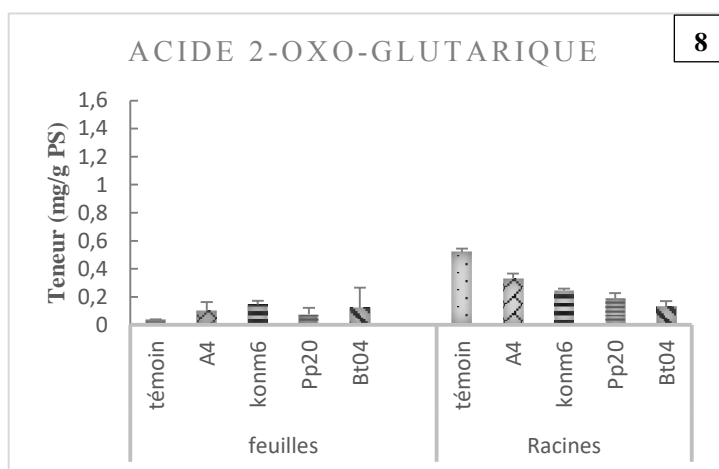
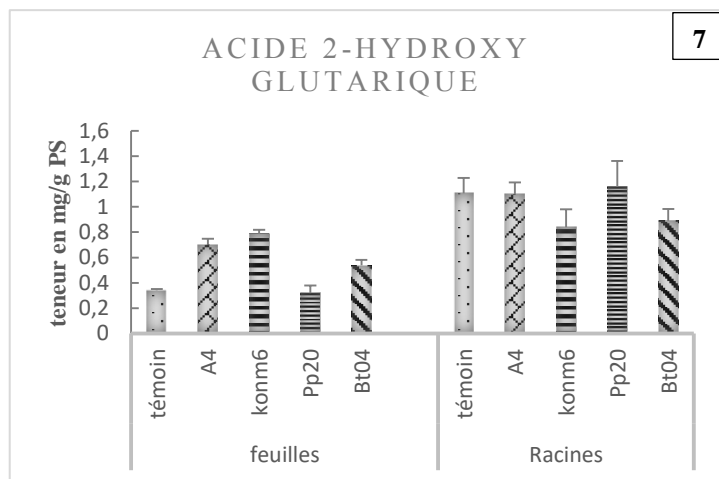
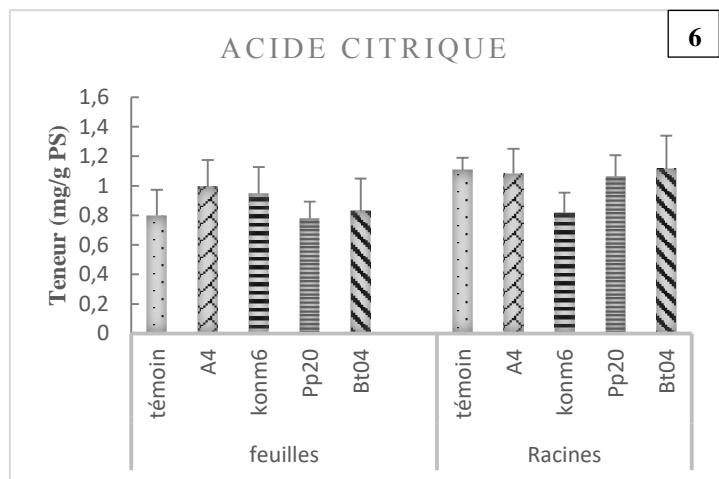
augmentations de 133% et 20% respectivement, par rapport aux témoins (**Fig.42** 8, 2). Et de légères améliorations dans les racines de 270% et 12% par rapport aux témoins pour **l'acide 2-isopropyl-malique** et **l'acide 3-phényl-lactique** respectivement (**Fig.42** 13, 11).

En outre, la souche Bacillus Bt04 a amélioré les teneurs en acides organiques dans les feuilles : **l'acide 2-oxo-glutarique**, **l'acide 2,4-dihydroxy-butanoïque**, **l'acide 2-hydroxy-glutarique**, **l'acide lactique**, **l'acide malique**, **l'acide glycolique** et **l'acide cis-aconitique** de 300%, 121%, 70%, 69%, 46%, 22% et 19% par rapport aux témoins, respectivement (**Fig.42** 8, 5, 7, 10, 12, 9, 2). Dans les racines, elle a augmenté le taux de **l'acide malique** et **l'acide 3-phényl-lactique** de 18% et 19% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.42** 11, 12).

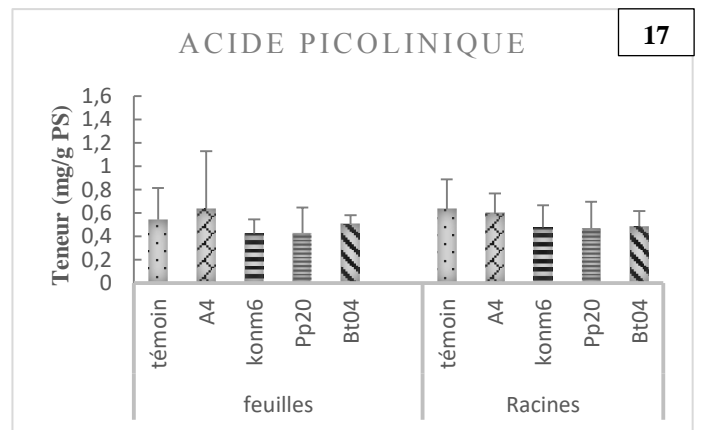
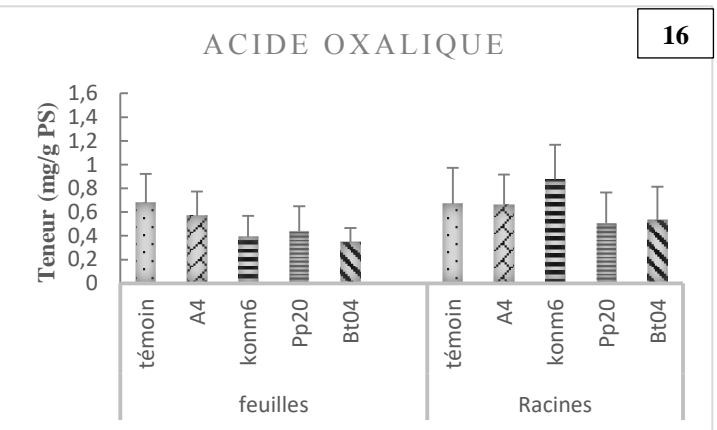
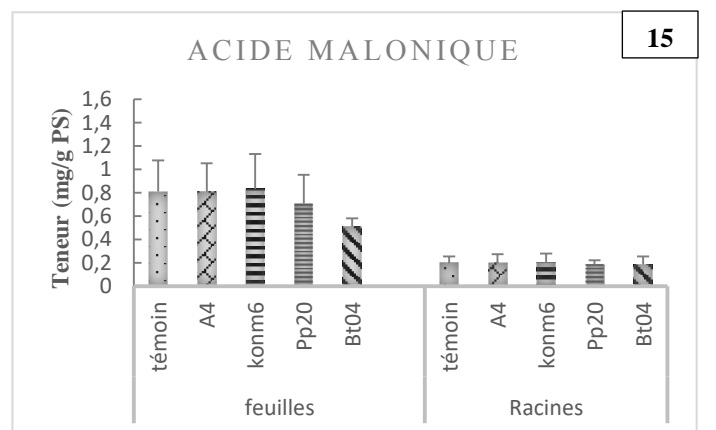
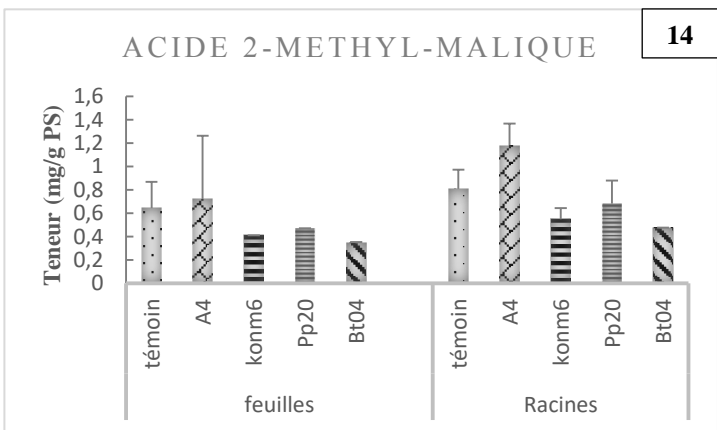
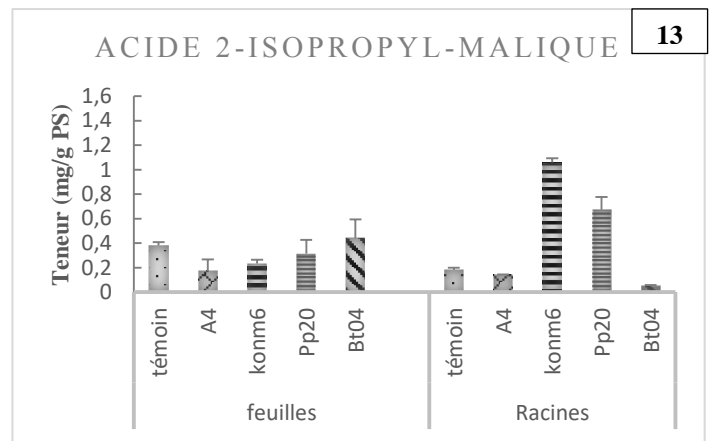
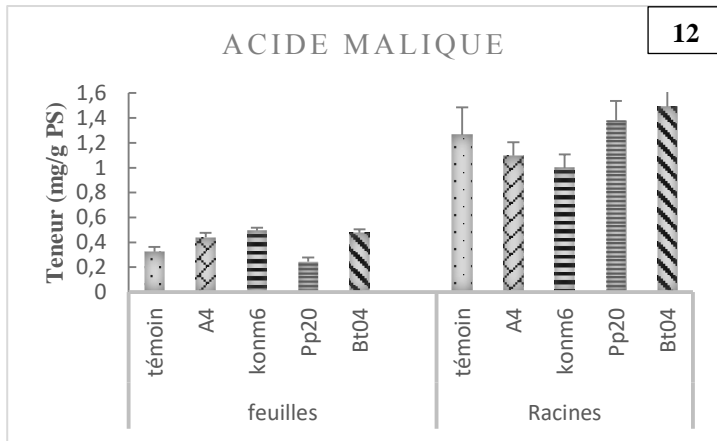




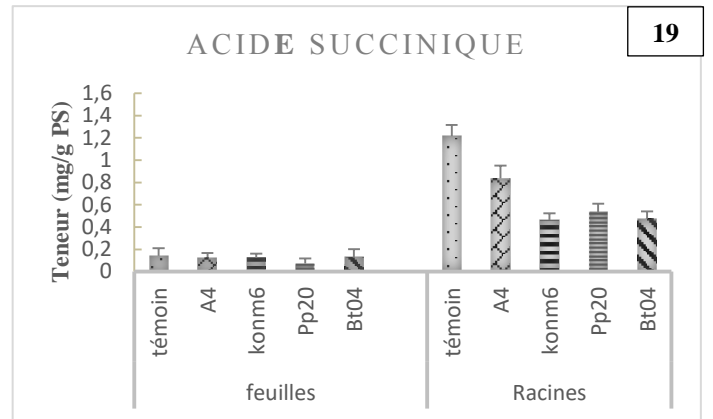
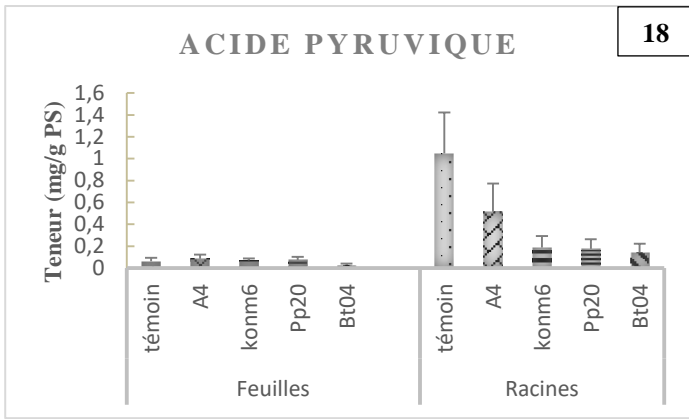
**Figure 42 :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) acide 4'hydroxyphényl-acétique, (2) acide cis-aconitique, (3) acide benzoïque, (4) acide 4-hydroxy-benzoïque et (5) acide 2,4-dihydroxy-butanoïque.



**Figure 42 (suite):** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (6) acide citrique, (7) acide 2-hydroxy-glutarique, (8) acide 2-oxo-glutarique, (9) acide glycolique, (10) acide lactique et (11) acide 3-phényl-lactique.



**Figure 42 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (12) acide malique, (13) acide 2-isopropyl-malique, (14) acide 2-méthyl-malique, (15) acide malonique, (16) acide oxalique et (17) acide picolinique.



**Figure 42 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (18) acide pyruvique et (19) acide succinique.

## 5. Teneur en dérivés de phosphate

En chimie organique, un phosphate est un composé organophosphoré dérivé de l'acide phosphorique (Wang et al. 2014).

Quatre dérivés de phosphate ont été obtenus après les analyses par la GC-TOF-MS :

**1- l'acide phosphorique** : (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). C'est un oxacide trifonctionnel (triacide) important obtenu par combustion du phosphore.

**2- le glycerol-3-phosphate** (HOH<sub>2</sub>C-CHOH-CH<sub>2</sub>O-PO(OH)<sub>2</sub>). C'est un organophosphate issu de la phosphorylation du glycérol par la glycérol kinase (ATP + glycérol  $\longrightarrow$  glycérol-3-phosphate + ADP).

**3- le glycérophosphoglycérol** dont les deux groupements glycérol sont fixés à des positions primaires.

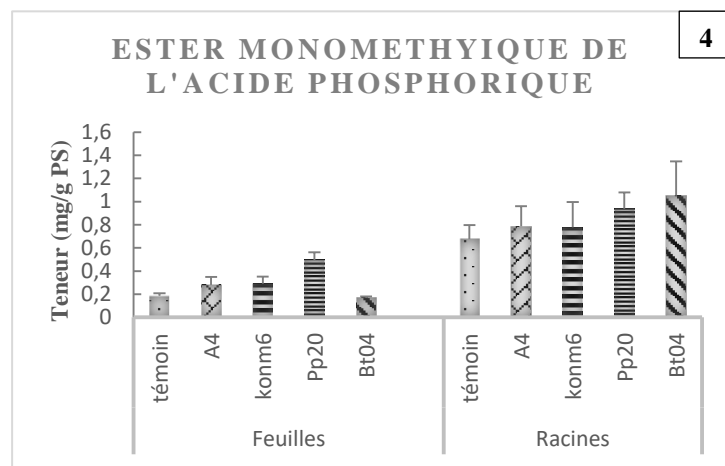
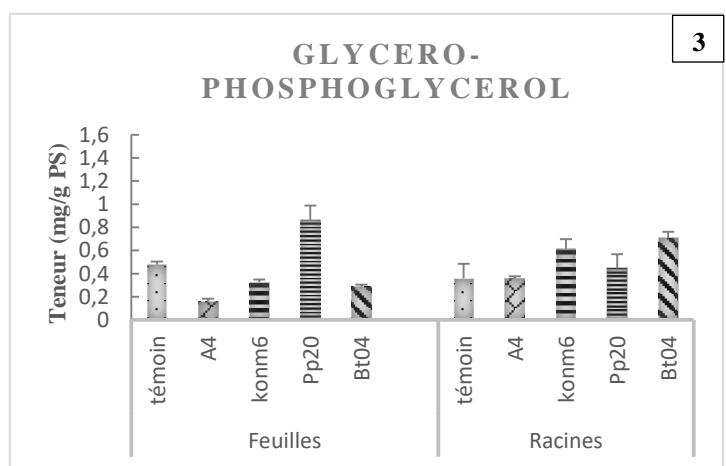
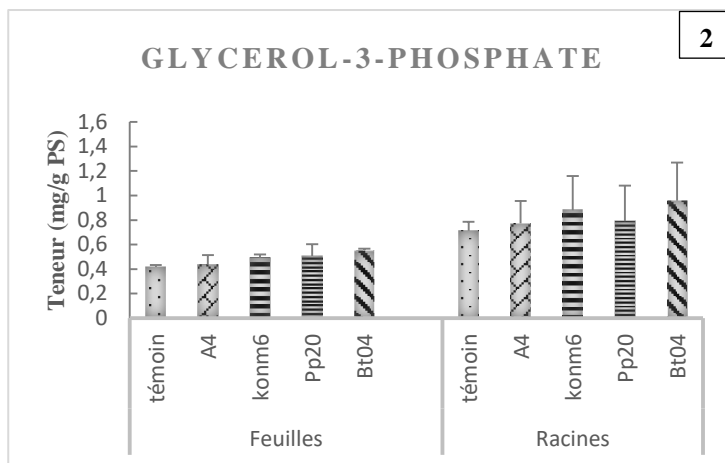
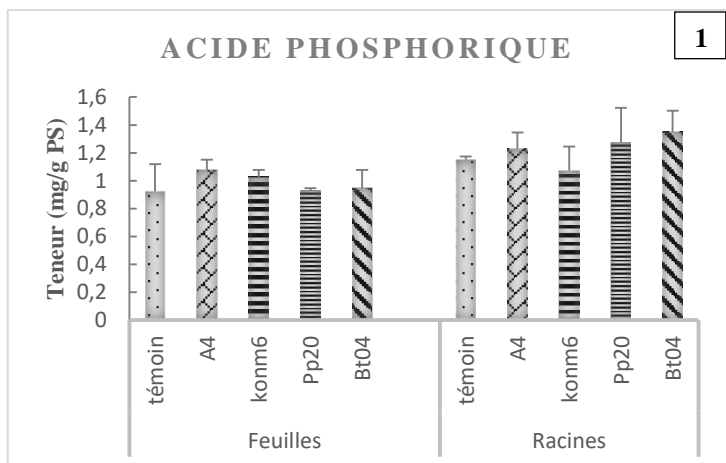
**4- l'ester monométhyle de l'acide phosphorique** : la fonction ester désigne un groupement caractéristique formé d'un atome lié simultanément à un atome d'oxygène par une double liaison et à un groupement alkoxy du type -O-R'.

La **figure 43** montre que les teneurs en dérivés de phosphates dans les racines sont supérieures à celles dans les feuilles.

Ainsi, la souche A4, dans les feuilles a augmenté les teneurs en **acide phosphorique** et **en ester monométhyle de l'acide phosphorique** de 16% et 55% respectivement par rapport aux témoins et de **l'ester monométhyle de l'acide phosphorique** de 16%, dans les racines (**Fig.43** 1, 4). De même, la souche Konm6 a amélioré de 19% et 61% les teneurs en **glycerol-3-phosphate** et **en ester monométhyle de l'acide phosphorique** respectivement (dans les feuilles). Dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **glycerol-3-phosphate** et **du phosphoglycérol de glycérol** de 23% et 74% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.43** 2, 4, 3).

En outre, la souche Pp20 a montré un effet bénéfique sur les teneurs en dérivés de phosphate, dans les deux parties analysées notamment pour le **glycérophosphoglycérol** et **l'ester monométhyle de l'acide phosphorique**, dans les feuilles de 77% et 172% respectivement, et de 25% et 38% respectivement, dans les racines (**Fig.43** 3, 4).

Cependant, la Bt04 a augmenté les teneurs dans les racines de 33%, 56% et 100% en **glycerol-3-phosphate**, **ester monométhyle de l'acide phosphorique** et en **glycérophosphoglycérol** respectivement (**Fig.43** 2, 4, 3).



**Figure 43 :** Teneur en dérivés de phosphate dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) acide phosphorique, (2) glycerol-3-phosphate, (3) glycérophosphoglycéril, (4) ester monométhylique de l'acide phosphorique.

## 6. Teneur en polyols

Les polyols, appelés aussi polyalcools ou glycols, sont des hydrates de carbone dont le groupe carbonyle (aldéhyde ou cétone) a été réduit à un groupe hydroxyle primaire ou secondaire. Ces composés sont utilisés dans une variété d'applications pour fournir des aliments fonctionnels et des nutraceutiques avec de forte valeur ajoutée. Les polyols typiques disponibles dans le commerce comprennent le sorbitol, le mannitol, le xylitol, le lactitol, le maltitol, l'érythritol (Moon et al. 2010). Ils sont utilisés principalement dans l'industrie alimentaire. Ils servent à la fabrication d'édulcorants, tels que le sorbitol, peut être utilisé dans le cadre d'un régime alimentaire ou chez les diabétiques, car il ne crée pas de sécrétion d'insuline. Le mannitol et le sorbitol peuvent être utilisés comme osmorégulateurs, notamment dans la tolérance aux stress biotique et abiotique (Nakanishi et al. 1989).

Les résultats de la GC-TOF-MS ont montré que *Datura stramonium* contient 5 polyols : **l'arabitol, l'érythritol, le glycérol, le myo-inositol et le sorbitol (Fig.44)**.

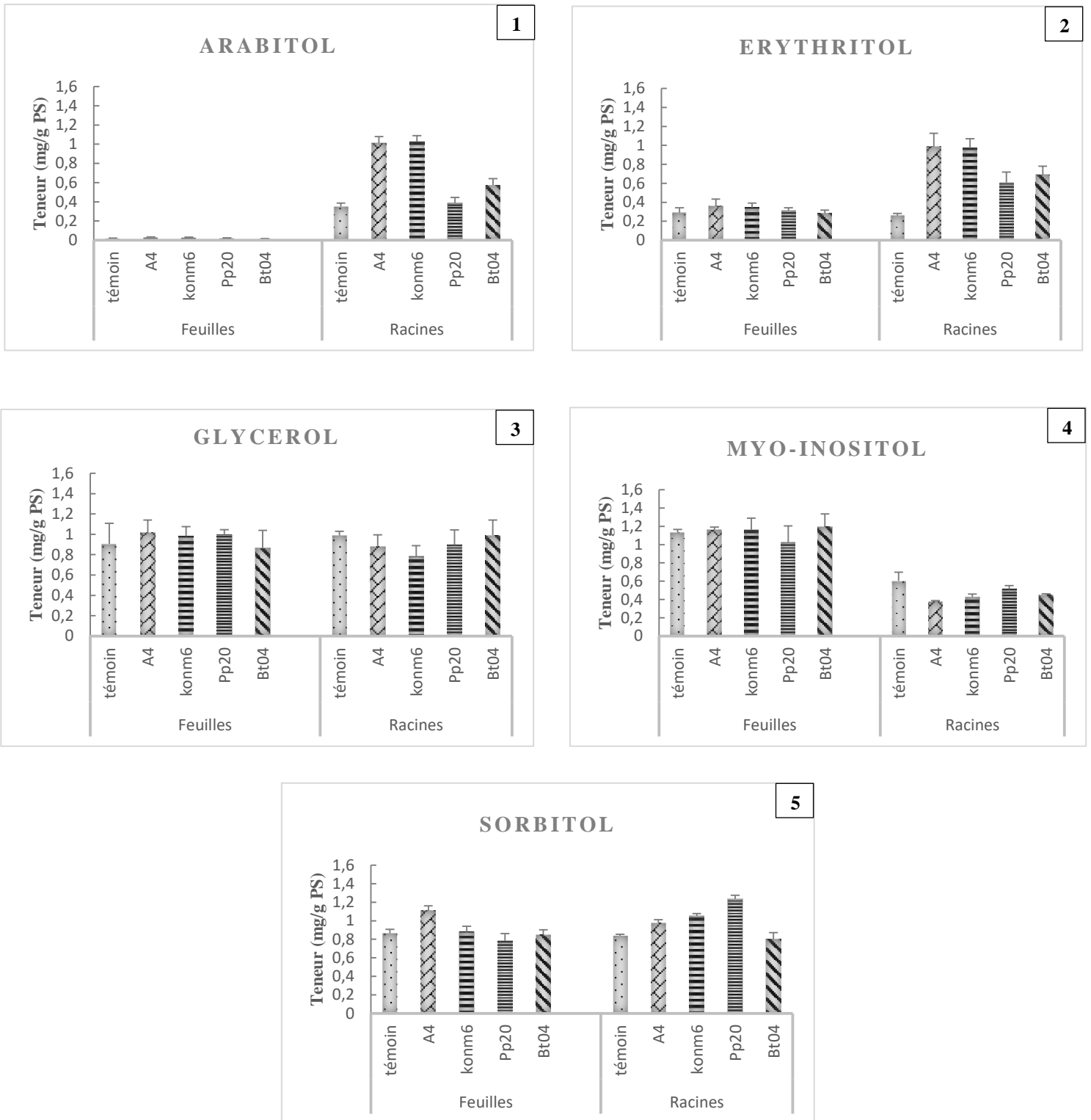
Les feuilles renferment de faibles teneurs en **arabitol** et en **érythritol** et de grandes teneurs en **myo-inositol** par rapport aux racines (**Fig.44** 1, 2, 4).

En outre, la souche A4 a amélioré les teneurs en **sorbitol, érythritol** et **glycérol** de 27%, 25% et 12% respectivement, dans les feuilles (**Fig.44** 5, 2, 3). Alors que dans les racines, elle a augmenté de 276%, 188% et 16% les teneurs en **érythritol, arabitol** et en **sorbitol (Fig.44** 2, 1, 5).

Par ailleurs, la souche Konm6 a amélioré également les teneurs en **érythritol** et en **glycérol de 21% et 8%** respectivement, dans les feuilles (**Fig.44** 2, 3). Cependant, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **érythritol, arabitol** et en **sorbitol** de 273%, 191% et 26% respectivement (**Fig.44** 2, 1, 5).

En outre, la souche Bt04 aussi a induit des améliorations des teneurs de 5% sur la **myo-inositol**, dans les feuilles (**Fig.44** 4). Alors que, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **arabitol** et en **érythritol** de 62% et 161% respectivement (**Fig.44** 1, 2).

Aussi, la souche Pp20 a augmenté, dans les feuilles, de 10% la teneur en **glycérol** et dans les racines de 130% et 48% les teneurs en **érythritol** et en **sorbitol (Fig.44** 3, 2, 5).



**Figure 44 :** Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) Arabitol, (2) érythritol, (3) glycérol, (4) myo-inositol, (5) sorbitol.



## 7. Teneur en composés de l'azote

Les composés de l'azote sont les composés chimiques qui contiennent de l'azote. Ils sont essentiels aux vivants. On retrouve ces molécules partout dans le corps, seules ou agencées à plusieurs autres molécules différentes, jouant ainsi plusieurs rôles.

Les analyses de la GC-TOF-MS ont montré que *Datura stramonium* contient 18 éléments composés de l'azote : l'**adénine**, l'**allantoïne**, la **cytidine**, la **cytosine**, la **5-méthyl-cytosine**, l'**éthanolamine**, la **guanine**, la **guanosine**, la **nicotianamine**, l'**acide nicotinique**, la **putrescine**, la **2-hydroxy-pyridine**, la **3-hydroxy-pyridine**, la **thymine**, la **tyramine**, l'**uracile**, l'**acide urique**, la **xanthine** (Fig.45).

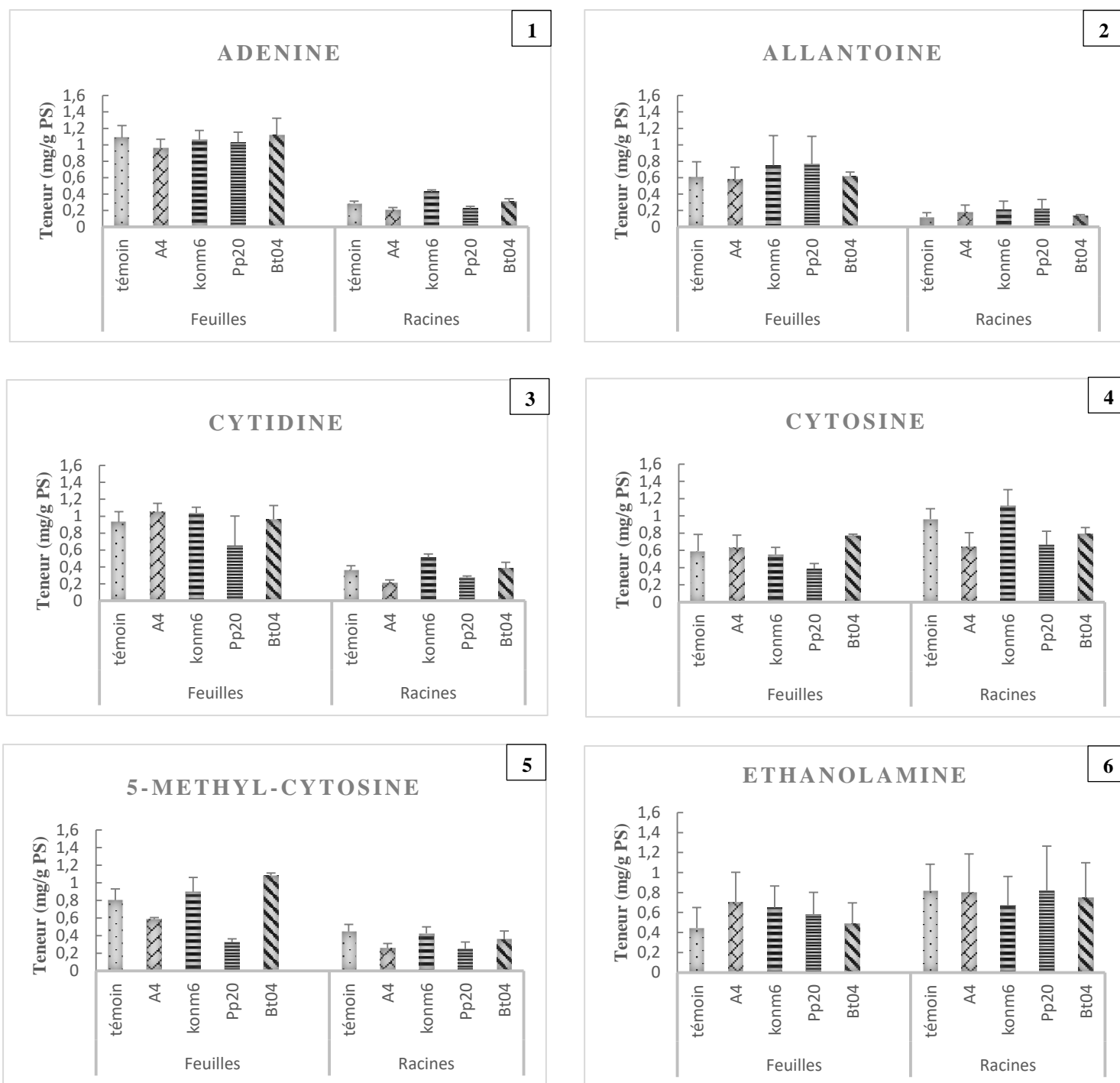
Les feuilles contiennent l'**adénine**, l'**allantoïne**, la **cytidine**, la **5-méthyl-cytosine**, la **guanosine**, la **putrescine** et la **xanthine** avec des teneurs plus élevées que dans les racines (Fig.45 1, 2, 3, 5, 8, 11, 18). Ces dernières contiennent la **cytosine**, l'**éthanolamine**, l'**uracile** et l'**acide urique** en teneurs élevées par rapport aux feuilles (Fig.45 3, 6, 16, 17). Les deux organes renferment presque les mêmes quantités en **guanine**, **nicotianamine**, **acide nicotinique** et en **thymine** (Fig.45 7, 9, 10, 14).

Les PGPRs ont eu un effet bénéfique sur les teneurs de la majorité des composés de l'azote détectés. Ainsi, la souche A4 a augmenté les teneurs en **nicotianamine**, **éthanolamine**, **2-hydroxy-pyridine**, **putrescine**, **3-hydroxy-pyridine**, **guanine**, **acide nicotinique** et en **cytidine** de 100%, 59%, 41%, 23%, 21%, 19%, 15% et 13% respectivement, dans les feuilles (Fig.45 9, 6, 12, 11, 13, 7, 10, 3). Alors que, dans les racines, elle n'a amélioré que les teneurs en **allantoïne** et en **acide urique** de 41% et 23% respectivement (Fig.45 2, 17).

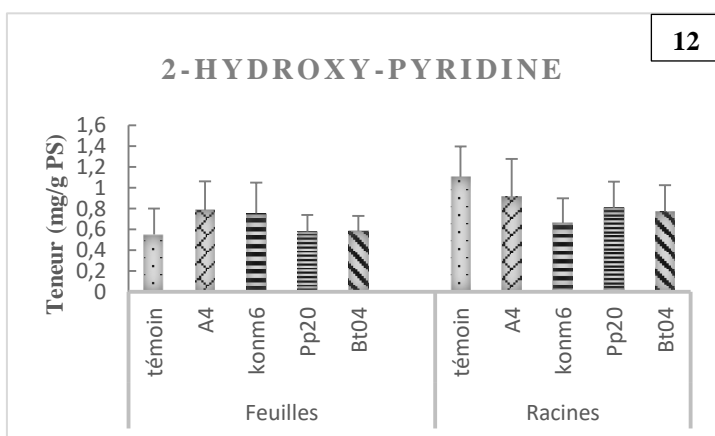
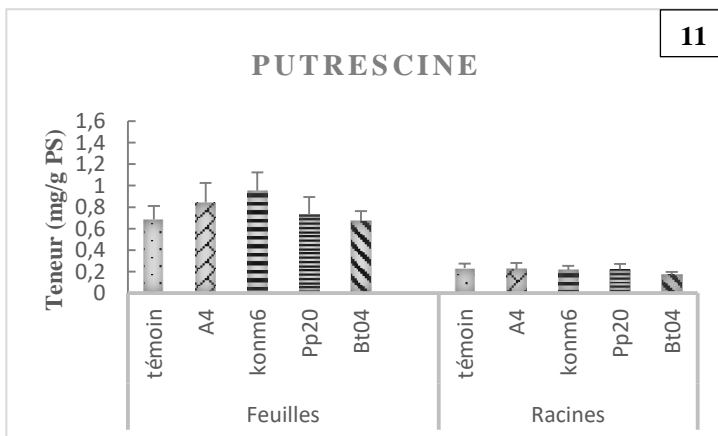
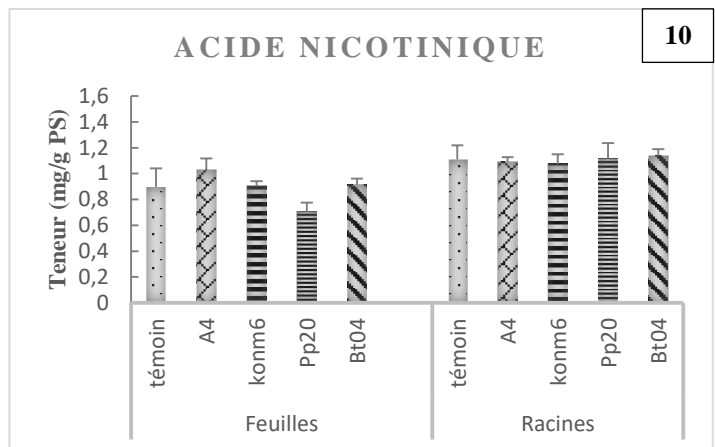
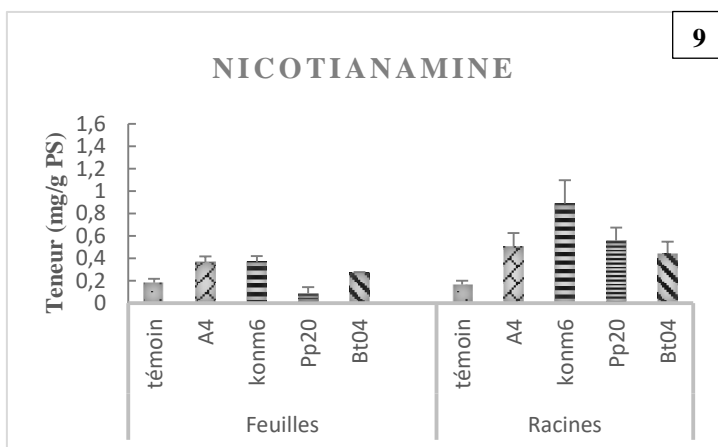
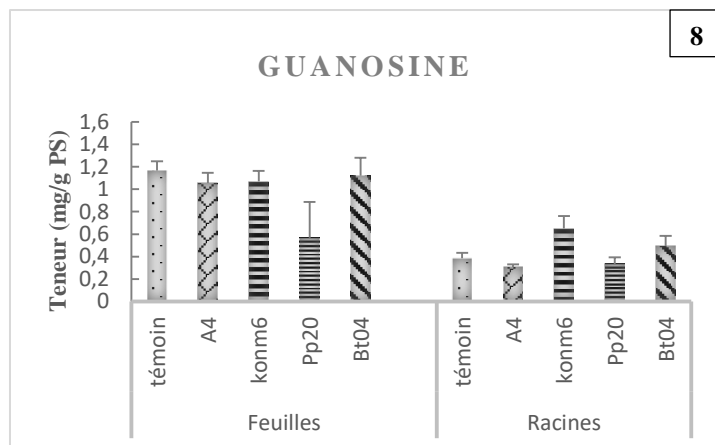
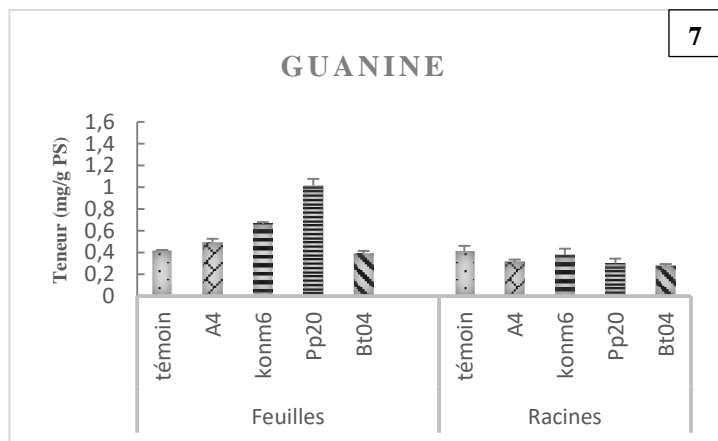
En outre, la souche Konm6 a amélioré, dans les feuilles, les teneurs en **nicotianamine**, **guanine**, **éthanolamine**, **putrescine**, **2-hydroxy-pyridine**, **3-hydroxy-pyridine**, **allantoïne**, **cytidine** de 100%, 60%, 44%, 39%, 36%, 36%, 23% et 11% respectivement (Fig.45 9, 7, 6, 11, 12, 13, 2). Et dans les racines, elle a augmenté de 450%, 79%, 75%, 71%, 50%, 41% et 35% les teneurs en **nicotianamine**, **xanthine**, **allantoïne**, **guanosine**, **adénine**, **cytidine** et en **acide urique** (Fig.45 9, 18, 2, 8, 1, 3, 17).

De même, la souche Pp20, a influé les teneurs en quelque composé de l'azote, dans les feuilles, elle a augmenté les teneurs en **guanine**, **éthanolamine**, **allantoïne** et en **putrescine** de 146%, 31%, 26% et 5% respectivement (Fig.45 7, 6, 2, 11). Alors que, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **nicotianamine**, **xanthine** et en **allantoïne** de 240%, 126% et 75% respectivement (Fig.45 9, 18, 2).

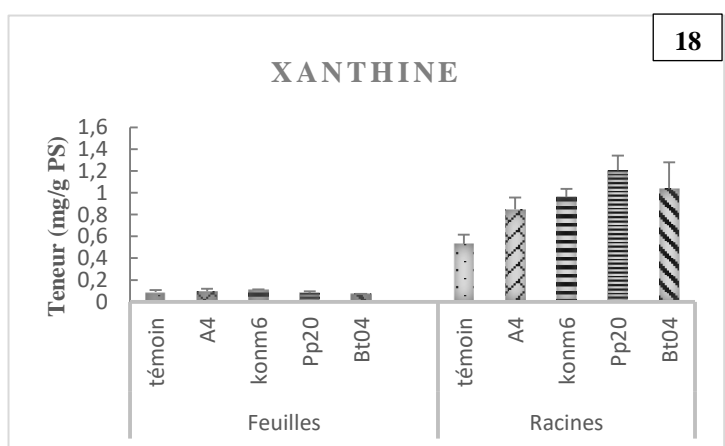
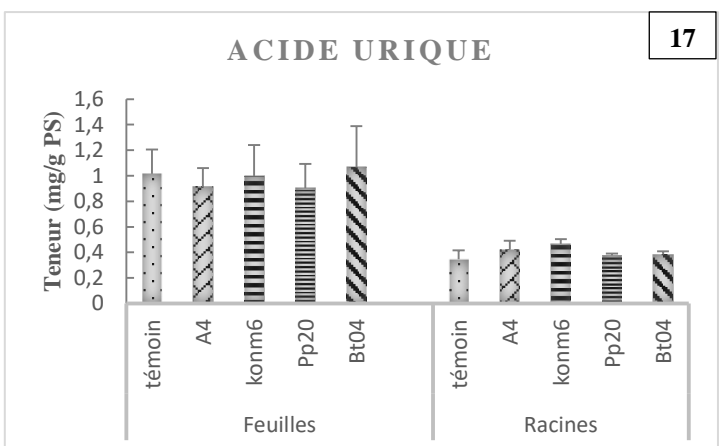
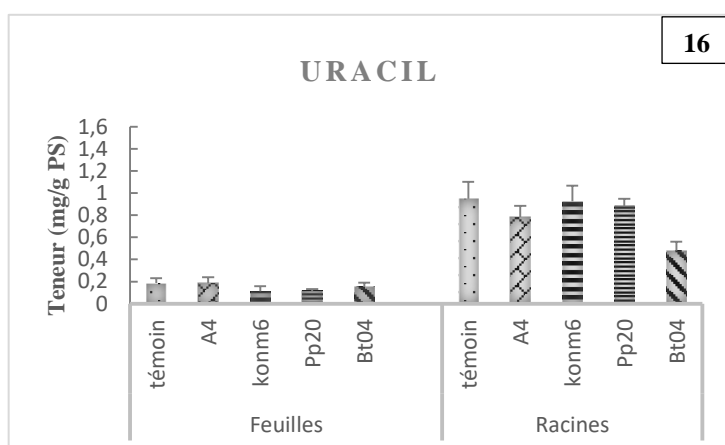
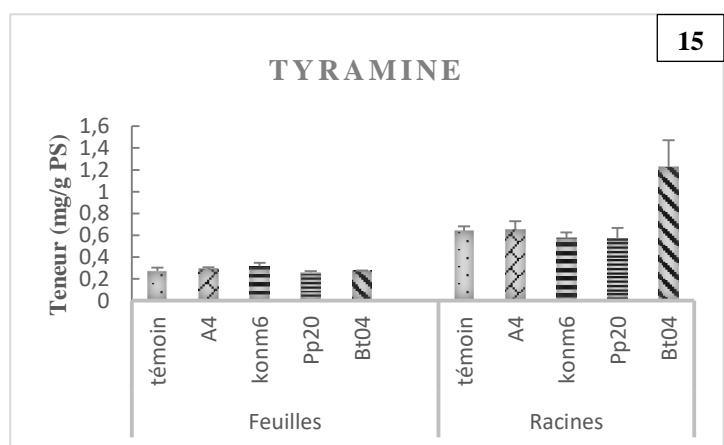
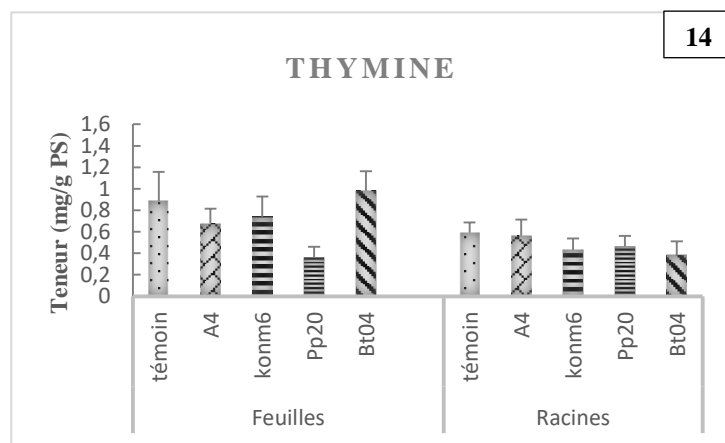
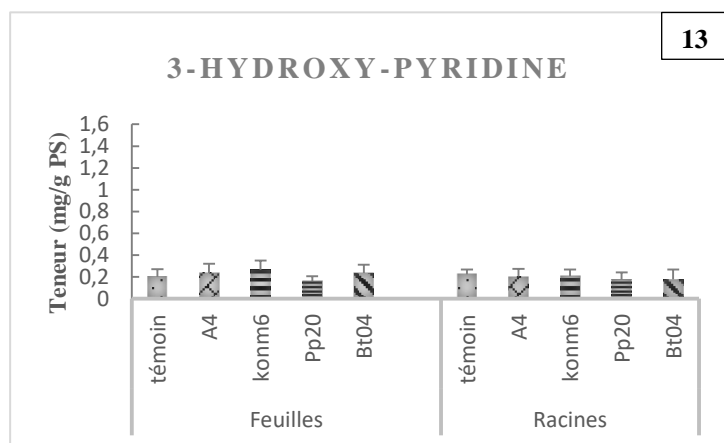
D'autre part, la souche Bt04, a montré un effet bénéfique sur certains composés de l'azote, elle a enregistré des améliorations dans les feuilles de 50%, 35%, 28%, 11%, 9% et 5% pour la **nicotianamine**, la **5-méthyl-cytosine**, la **cytosine**, la **thymine**, l'**éthanolamine** et la **3-hydroxy-pyridine** respectivement (**Fig.45** 9, 5, 4, 14, 6, 13). Cependant, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **nicotianamine**, **xanthine**, **tyramine** et en **guanosine** de 175%, 94%, 93% et 28% respectivement (**Fig.45** 9, 18, 15, 8).



**Figure 45 :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) Adénine, (2) allantoïne, (3) cytidine, (4) cytosine, (5) 5-méthyl-cytosine, (6) éthanolamine.



**Figure 45 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (7) guanine, (8) guanosine, (9) nicotianamine, (10) acide nicotinique, (11) putrescine, (12) 2-hydroxypyridine.



**Figure 45 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (13) 3-hydroxy-pyridine, (14) thymine, (15) tyramine, (16) uracile, (17) acide urique, (18) xanthine.

### 8. Teneur en alcaloïdes

#### 8.1. Teneur en Scopolamine

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en scopolamine sont plus élevées dans les feuilles par rapport à celles des racines.

Chez les témoins, la teneur la plus élevée en scopolamine a été obtenue dans les feuilles.

Dans les feuilles, la souche A4 a donné la valeur la plus élevée, suivie par Bt04 par une augmentation de 90% pour la première et 57% pour la deuxième, par rapport aux témoins.

Alors que, dans la partie racinaire, la teneur de la scopolamine a été très peu influencée par les PGPRs (**Fig.46**).

L'analyse de la variance a montré un effet significatif dans les feuilles et non significatif, dans les racines (**Annexe 31, 32**).

Le test LSD de Fisher, dans les feuilles a révélé 3 groupes homogènes (Pp20 (A), Bt04 (B) et A4 (C)), qui chevauchent (**Annexe 31, 32**).

#### 8.2. Teneur en atropine

Les résultats ont montré que ce sont les racines qui sont les plus riches en atropine.

Chez les témoins, les racines du *D. stramonium* contiennent 15 fois plus d'atropine que les feuilles.

Dans les feuilles, la meilleure concentration a été obtenue avec la souche Bt04 qui a augmenté le taux d'atropine de 180% par rapport aux témoins (**Fig.47**).

Tandis que dans les racines, on a observé une fluctuation des concentrations entre les différents traitements. En outre, avec Pp20 et Bt04 l'augmentation a été très faible (6% et 3% respectivement) (**Fig.47**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en atropine dans les feuilles. Cependant les traitements dans les racines n'ont montré aucun effet significatif sur la teneur d'atropine (**Annexe 33, 34**).

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a révélé 3 groupes homogènes dans les feuilles dont Bt04 constitue le premier groupe et le reste des traitements constituent le deuxième groupe (**Annexe 33, 34**).

#### 8.3. Teneur en hyoscyamine

Comme pour l'atropine, les racines sont plus riches en hyoscyamine par rapport aux feuilles.

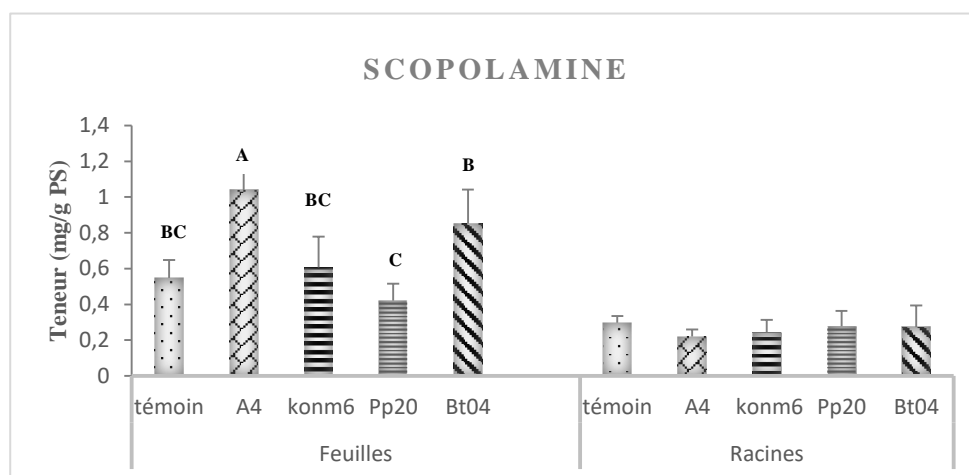
Chez les témoins, pour l'hyoscyamine et comme pour l'atropine, la teneur la plus élevée

a été enregistré dans les racines de la plante.

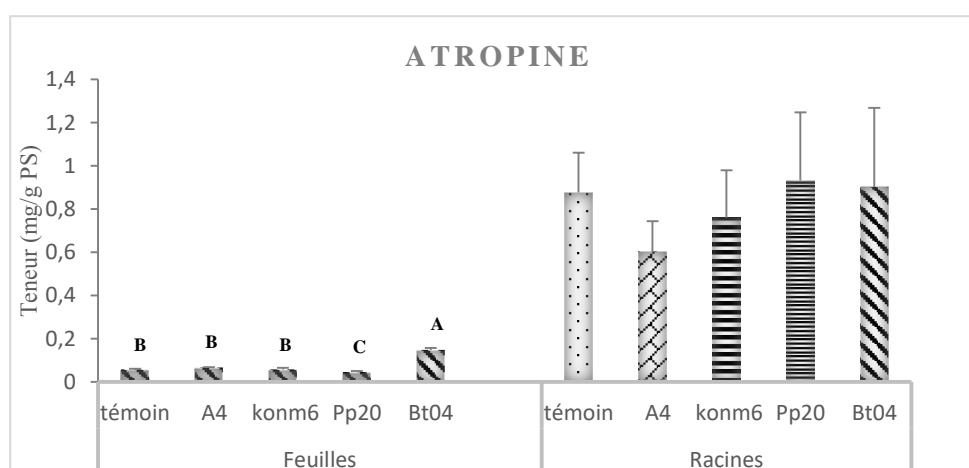
Dans les feuilles, la teneur la plus élevée a été enregistré avec A4, qu'a augmenté la teneur en hyoscyamine de 72% par rapport aux témoins. Cependant dans les racines les traitements ont diminué le taux d'hyoscyamine, sauf Bt04 (**Fig.48**).

Dans les feuilles, l'analyse a révélé un effet significatif des souches sur la teneur en l'hyoscyamine **Annexe 35, 36**), et non significatif, dans les racines.

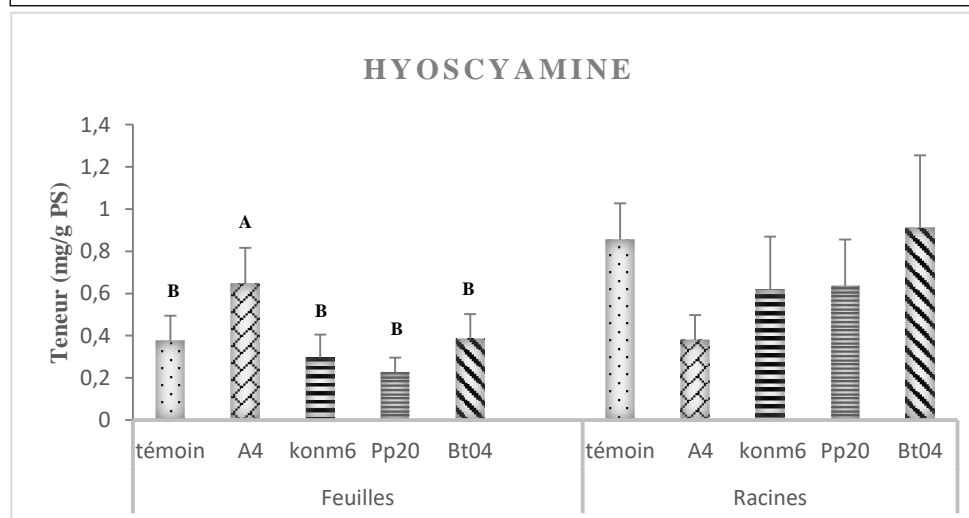
Le test LSD de Fisher a montré l'existence de 2 groupes homogènes dans les feuilles avec A4 qui forme le premier groupe et le reste des traitements constitue le deuxième groupe (**Annexe 35, 36**).



**Figure 46 :** Teneur en scopolamine dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 7,28 ; P < 0,05\* ; Fr(4,10) = 0,46 ; P > 0,01



**Figure 47 :** Teneur en atropine dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 140,20 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 0,82 ; P > 0,01.



**Figure 48 :** Teneur en hyoscyamine dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. Ff(4,10) = 5,24 ; P < 0,05\* ; Fr(4,10) = 2,44 ; P > 0,01.



## 9. Teneur en phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes (PHPR) sont des composés phénoliques d'origine naturelle, ils présentent un cycle aromatique auquel est fixée une chaîne latérale ayant trois atomes de carbone. Ils sont biosynthétisés à partir de la phénylalanine qui est un acide aminé protéinogène aromatique, et contiennent une ou plusieurs unités C6-C3. Ces composés sont des métabolites secondaires, impliqués dans diverses fonctions telles que la fertilité, la pigmentation, la lignification, la protection contre des agents biotiques ou abiotiques, ou encore la signalisation (Hahlbrock et Scheel 1989; Shirley 1996; Weisshaar et Jenkins 1998).

Les flavonoïdes, sous famille des phénylpropanoïdes, interviennent également comme signaux dans les interactions plante-microorganisme. Lors des réactions de défense dans les plantes, la synthèse des flavonoïdes ayant des propriétés antifongiques est stimulée. Aussi, au cours de la symbiose avec les Rhizobium, les flavonoïdes interviennent notamment dans le chimiotactisme et la nodulation des légumineuses.

Les analyses réalisées par la GC-TOF-MS ont montré que *Datura stramonium* contient 5 phénylpropanoïdes : **l'acide trans-caféique, l'acide dihydro-férulique, l'acide trans-férulique, la lutéoline** et la **quercétine** (des flavonoïdes) (**Fig.49**).

La comparaison des concentrations des phénylpropanoïdes entre les feuilles et les racines a montré la supériorité des premiers (**Fig.49**).

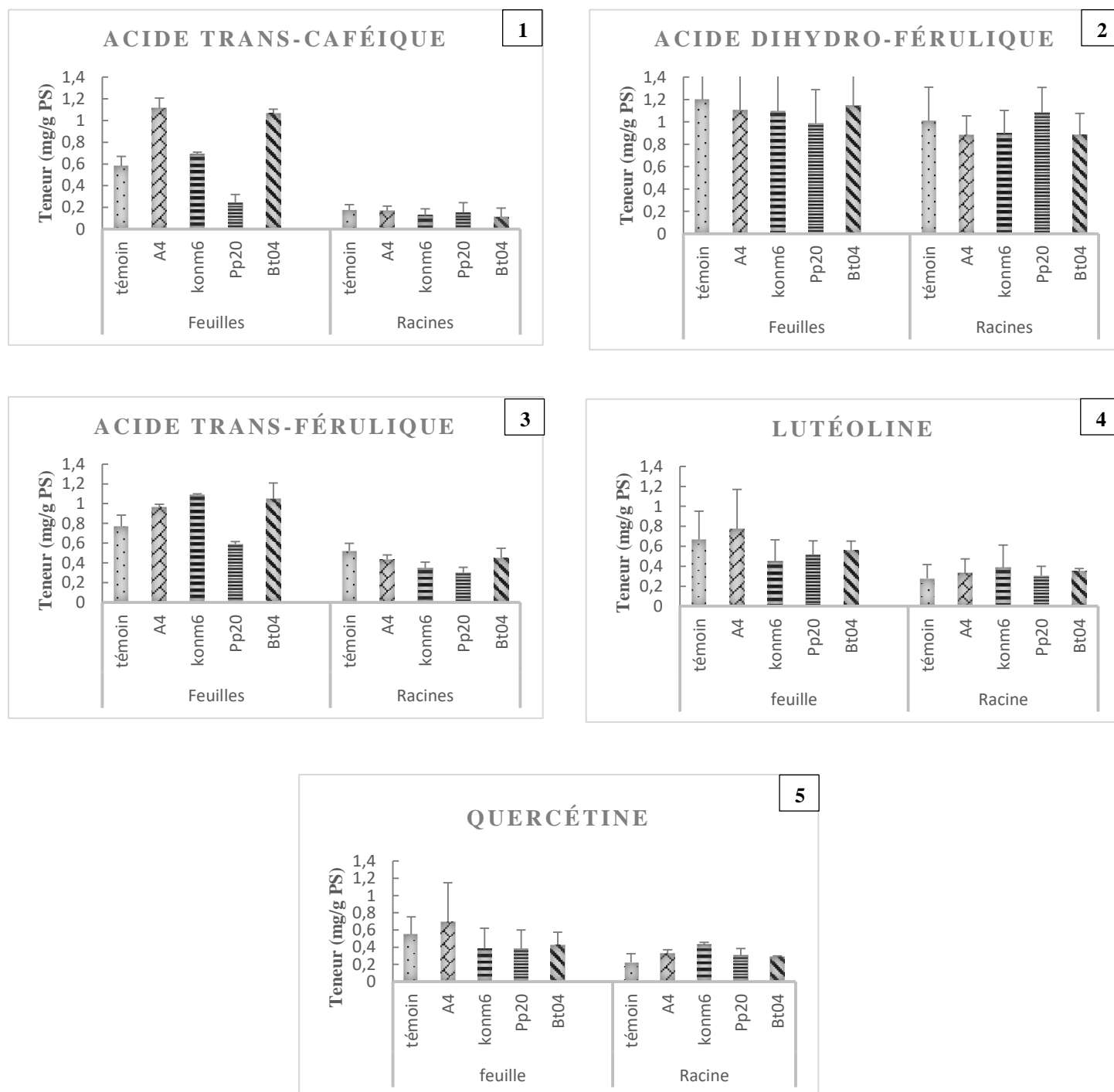
Ainsi, la souche A4 a un effet bénéfique sur les teneurs en phénylpropanoïdes dans les feuilles avec des augmentations de 16%, 26%, 27% et 91% de **lutéoline, acide trans-férulique, quercétine** et **acide trans-caféique** respectivement (**Fig.49** 4, 3, 5, 1). Dans les racines des améliorations ont été notées de 22% et 45% les teneurs en **lutéoline** et en **quercétine** respectivement (**Fig.49** 4, 5).

De même, la souche Konm6 a amélioré les teneurs de certains phénylpropanoïdes. Dans les feuilles, les teneurs en **acide trans-caféique** et en **acide trans-férulique**, ont subi des augmentations de 16% et 42% respectivement (**Fig.49** 1, 3). Dans les racines, **la lutéoline** et la **quercétine** ont augmenté de 40% et 95% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.49** 4, 5).

Aux contraire des deux premières souches, la Pp20 a induit des chutes remarquables de la teneur en PHPR dans les deux parties de la plante : pour **l'acide trans-férulique**, on a obtenu des diminutions de 141% dans les feuilles et de 52% dans les racines (**Fig.49** 3).

En outre, avec la souche Bt04 des fluctuations ont été enregistrées, elle a augmenté dans les feuilles les teneurs en **acide trans-caféique** et en **acide trans-férulique** de 82% et de 36% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.49** 1, 3). Dans les racines, elle a augmenté les

teneurs en **lutéoline** et en **quercétine** de 25 et 31%, respectivement (Fig.49 4, 5).



**Figure 49 :** Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (1) acide trans-caféique, (2) acide dihydro-férulique, (3) acide trans-férulique, (4) lutéoline, (5) quercétine.

## 10. Teneur en acides polyhydroxy

Les acides polyhydroxy (PHA) ont un fonctionnement similaire aux AHA (alpha-hydroxy-acides ou acides des fruits) qui sont des acides naturels de sucres et peuvent être extraits des fruits ou d'autres substances naturelles. Leurs molécules possèdent à la fois un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH), qui caractérisent les alcools et un ou plusieurs groupements carboxyliques (-COOH)) mais seraient légèrement moins irritants car leurs molécules, plus grosses pénètrent moins bien dans la peau. Les PHA sont d'excellents antioxydants (Siddiqui et al. 2016).

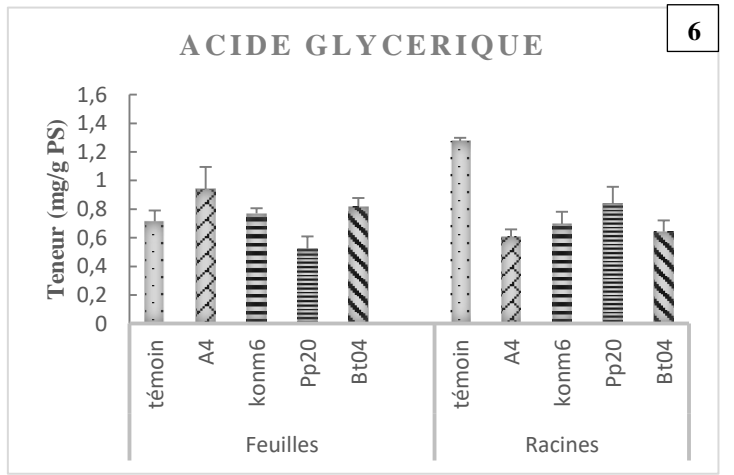
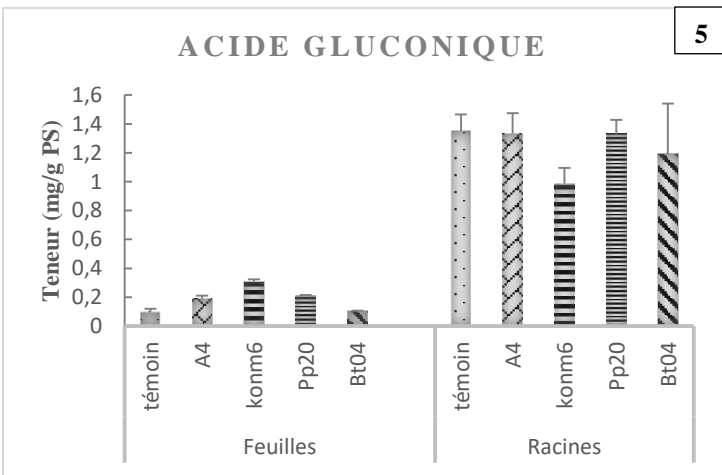
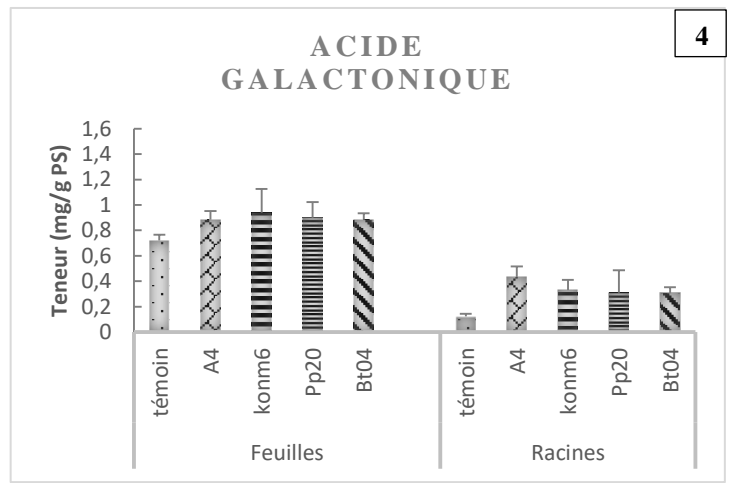
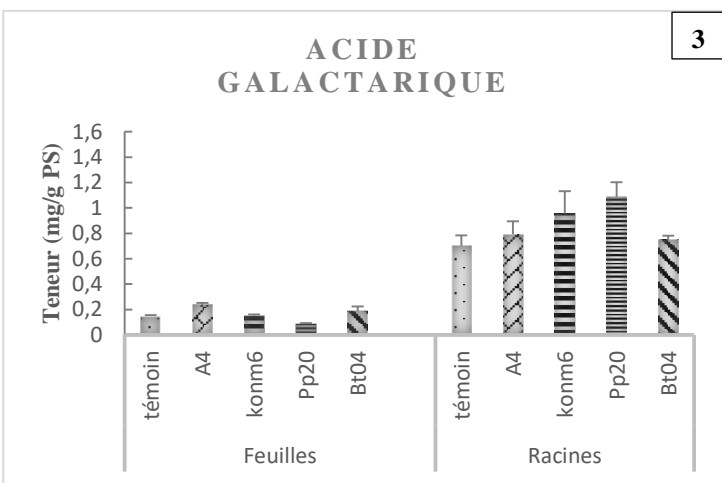
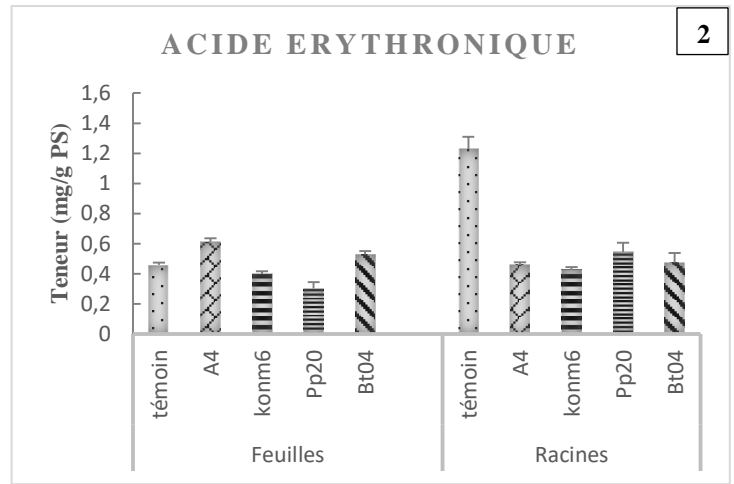
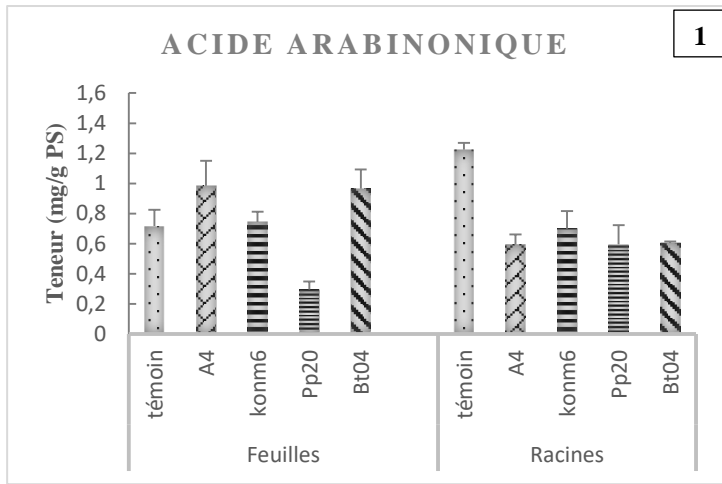
Les échantillons étudiés ont révélé l'existence de 10 PHA : **l'acide arabinonique, l'acide érythronique, l'acide galactarique, l'acide galactonique, l'acide gluconique, l'acide glycérique, l'acide gulonique, l'acide lyxonique, l'acide ribonique et l'acide thréonique (Fig.50).**

En général, les PGPRs ont influé positivement les teneurs en PHA dans les feuilles à l'exception de la souche Pp20.

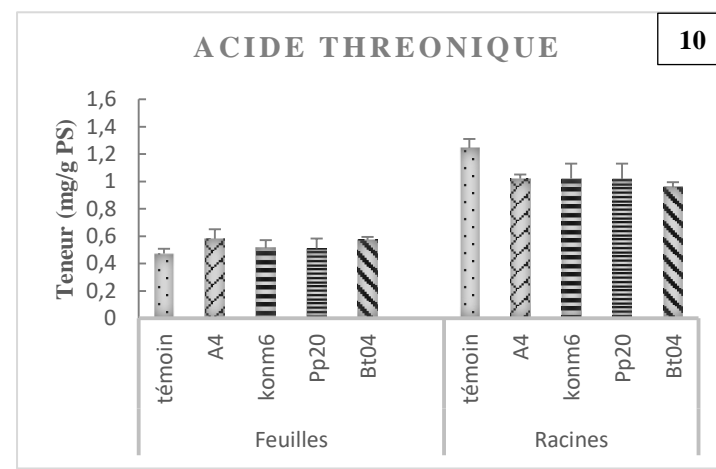
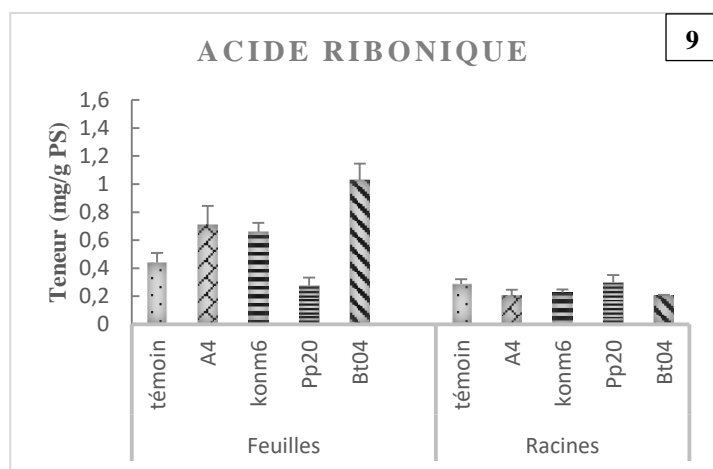
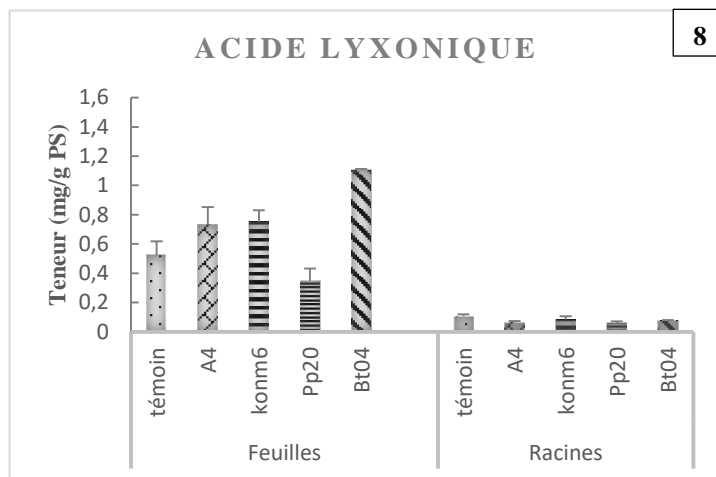
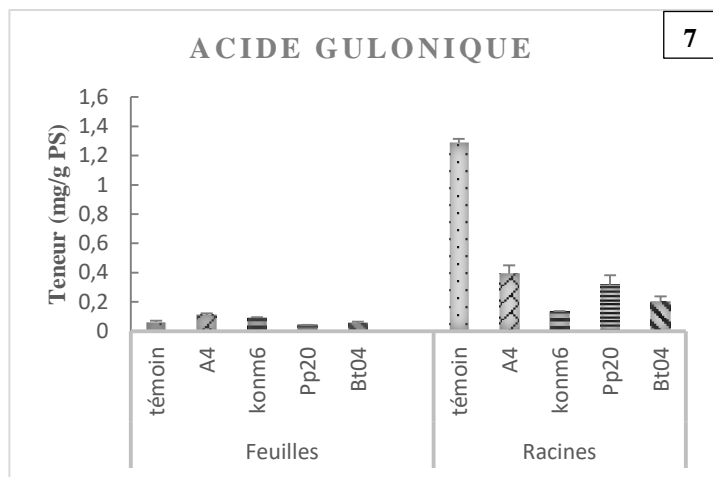
Ainsi, la souche A4 a augmenté les teneurs en **acide arabinonique, acide lyxonique, acide ribonique, acide galactonique** et en **acide gluconique** de 38%,40%, 59%, 64% et 80% respectivement, par rapport aux témoins (**Fig.50** 1, 8, 9, 4, 5).

En outre, la souche Konm6 a augmenté les teneurs en **acides gluconiques, acide ribonique, acide lyxonique et en acide galactonique** de 200%, 47%, 44% et de 29% respectivement (**Fig.50** 5, 9, 8, 4). De même la souche Bt04 a amélioré de 28%, 35%, 111% et 131% les teneurs en **acide galactonique, acide arabinonique, acide lyxonique et en acide ribonique** respectivement (**Fig.50** 4, 1, 8, 9).

Au contraire des feuilles, dans la partie racinaire, des chutes remarquables ont été révélées pour la majorité des teneurs en PHA. Ainsi, l'**acide arabinonique** a diminué de 106%, 106%, 103% et 74% avec les traitements A4, Pp20, Bt04, Konm6 respectivement (**Fig.50** 1). De même, **l'acide érythronique** a baissé de 190%, 171%, 159%, 125% avec les souches Konm6, A4, Bt04 et Pp20 respectivement (**Fig.50** 2). Uniquement pour les teneurs en **acide galactarique et en acide galactonique** où les PGPRs ont eu un effet positif dans les racines. Elles ont augmenté les teneurs de 14%, 37% et de 55% avec A4, Konm6 et Pp20 respectivement pour l'**acide galactarique** de 258%, 175%, 150% et 150% avec A4, Konm6, Pp20 et Bt04 respectivement pour l'**acide galactonique** (**Fig.50** 3, 4).



**Figure 50 :** Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4.  
 (1) acide arabinonique, (2) acide érythronique, (3) acide galactarique, (4) acide galactonique, (5) acide gluconique, (6) acide glycérique.



**Figure 50 (suite) :** Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura Stramonium* après 16 jours d'inoculation par les quatre PGPRs, Pp20, Bt04, Konm6 et A4. (7) acide gulonique, (8) acide lyxonique, (9) acide ribonique, (10) acide thréonique.

### 11. Teneur en MSTs (métabolites inconnus)

Les MSTs regroupent l'ensemble des métabolites retenus par la GC-TOF-MS mais qui n'ont pas été reconnues ou identifiés (par leurs noms). La nature et la composition de ces molécules dépendent du choix de l'extraction des métabolites, du type d'échantillon biologique et des conditions expérimentales. Ces composants représentent les balises spectrales de masse de métabolites volatils ou des dérivés de métabolites.

L'identification des MSTs est le défi majeur des techniques de profilage moderne, l'identification et la collecte des MSTs seraient très efficace pour les futurs recherches dans les domaines biologiques et pharmaceutiques par la découverte de nouveaux marqueurs d'identification métaboliques.

Les résultats obtenus ont montré que *Datura stramonium* contient **52 MSTs**.

### 12. Schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites chez *D. stramonium*

**La figure 51** représente le schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites primaires et secondaire chez *D. stramonium* et leurs variations après inoculation par les PGPRs Pp20, Bt04, Konm6 et A4.

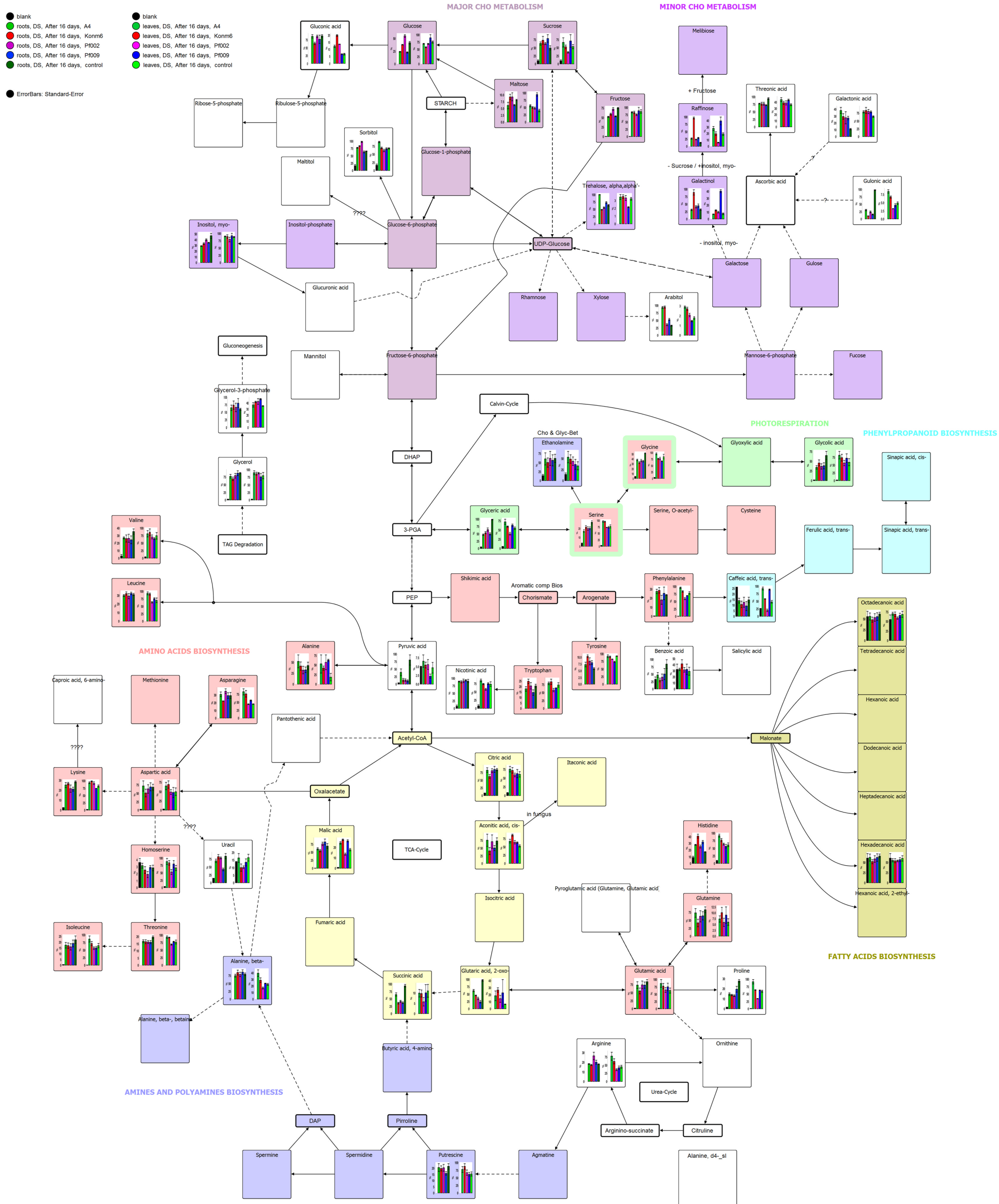


Figure 51 : Différentes voies et cycles de biosynthèse des principaux métabolites primaires et secondaires chez *Datura stramonium* et leurs variations 16 jours après inoculation par les quatre PGPRs Pp20, Bt04, Konm6 et A4.

## V. Effet des PGPRs et/ou de l'AS sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N chez *Datura innoxia*

Dans cette partie, on a étudié l'effet de deux PGPRs (Pp20 et Bt04), de deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'acide salicylique et en combinant les deux (PGPRs et les deux concentrations d'AS), sur la croissance végétative chez *Datura innoxia*, sur les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N dans les feuilles et dans les racines.

### 1. Croissance végétative

#### 1.1. Longueur moyenne des plantes

La **figure 52** montre une évolution de la longueur moyenne des plantes en fonction du temps pour tous les traitements. Après 4 semaines de culture, les longueurs moyennes les plus élevées ont été enregistrées avec la concentration  $10^{-4}$  M d'AS suivie par la concentration  $10^{-6}$  M d'AS et la souche Pp20 avec 43.1 cm (14% d'augmentation), 42.37 cm (12% d'augmentation) et 41.82 cm (10% d'augmentation) respectivement. Alors que, les plantes des combinaisons (PGPR + AS) ont montré des valeurs légèrement plus faibles, la longueur moyenne n'a varié que de 38,83 cm à 41,62 cm entre les différents traitements. Cependant, c'est le témoin qui a enregistré la plus faible moyenne (37,87 cm) (**Fig. 52**).

En effet, l'analyse de la variance n'a pas révélé de différence significative entre les moyennes des différents traitements (**Annexe 37**).

#### 1.2. Nombre moyen de feuilles

La **figure 53** montre une évolution de la longueur moyenne des plantes en fonction du temps pour tous les traitements. A la fin de la culture, les nombres moyens des feuilles n'ont varié que de 36 à 45. Ils ont atteints avec les souches Pp20 et Bt04 45 et 41 feuilles respectivement. Ainsi, les concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS ont donné un nombre moyen d'environ de 40 feuilles pour chacune. Alors que, le témoin a montré toujours le plus faible nombre moyen de feuilles avec 36 feuilles (**Fig. 53**).

Effectivement, l'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative entre les différents traitements (**Annexe 38**).

La **figure 54** illustre l'aspect des plantes du *D. innoxia* après 4 semaines d'inoculation par deux PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS



### 1.3. Poids total moyen des plantes

La **figure 55** montre que la souche Pp20 seule a augmenté le poids total moyen par 20%. De même les concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS ont amélioré le poids total moyen de 31% et 39%, respectivement par rapport au témoin. Cependant, les poids totaux moyens les plus élevés ont été enregistrés avec les combinaisons PGPR+AS, ils ont varié entre 174,96 g et 209,96 g.

Pour ce paramètre, l'analyse de la variance après 4 semaines de culture a révélé un effet hautement significatif entre les moyennes des différents traitements (**Annexe 39**).

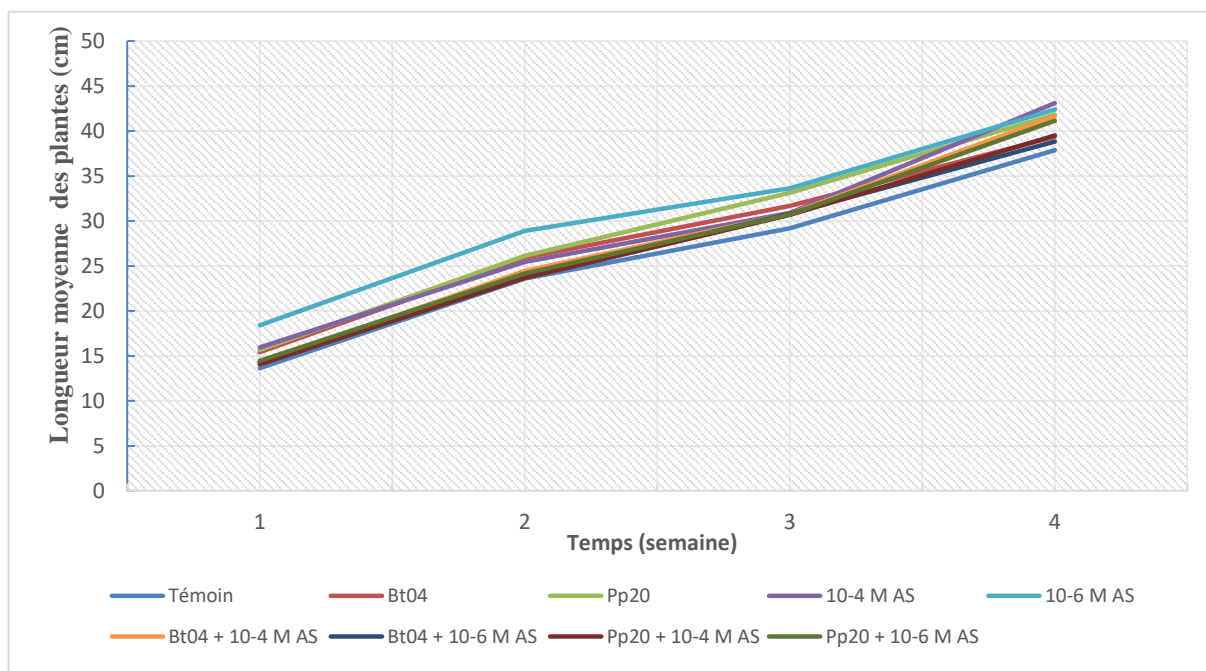
En effet, le test LSD de Fisher a révélé 03 groupes homogènes dont deux chevauchent (**Annexe 38**).

### 1.4. Poids sec moyen des racines

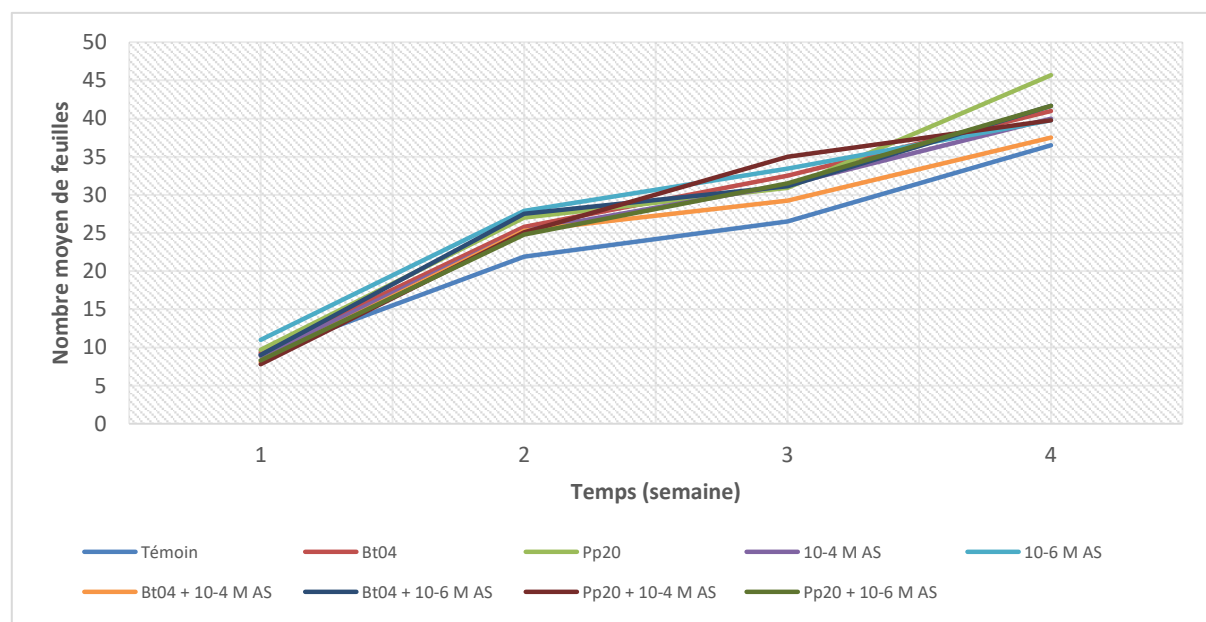
Les résultats obtenus ont montré que les valeurs enregistrées pour les différents traitements sont supérieures par rapport aux témoins. Les valeurs les plus élevées sont obtenues avec les concentrations  $10^{-6}$  M d'AS suivie par  $10^{-4}$  M d'AS puis avec la souche Pp20 qui ont enregistré des augmentations du poids sec moyen de 82%, 80% et 69% respectivement par rapport aux témoins (**Fig. 56**).

L'analyse de la variance après 4 semaines de culture a révélé un effet hautement significatif entre les moyennes des différents traitements (**Annexe 40**).

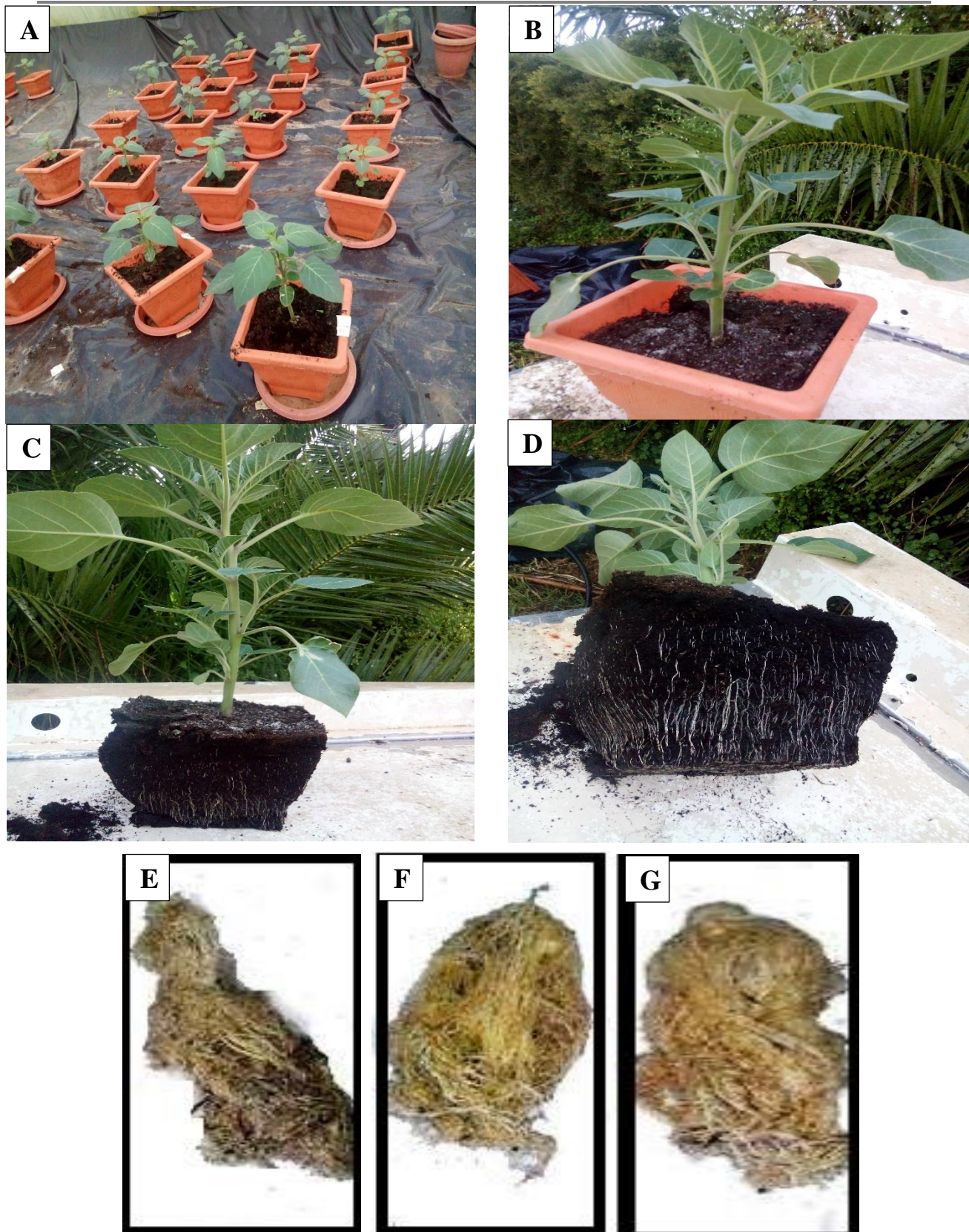
En effet, le test LSD de Fisher a révélé 3 groupes homogènes dont deux chevauchent (**Annexe 40**).



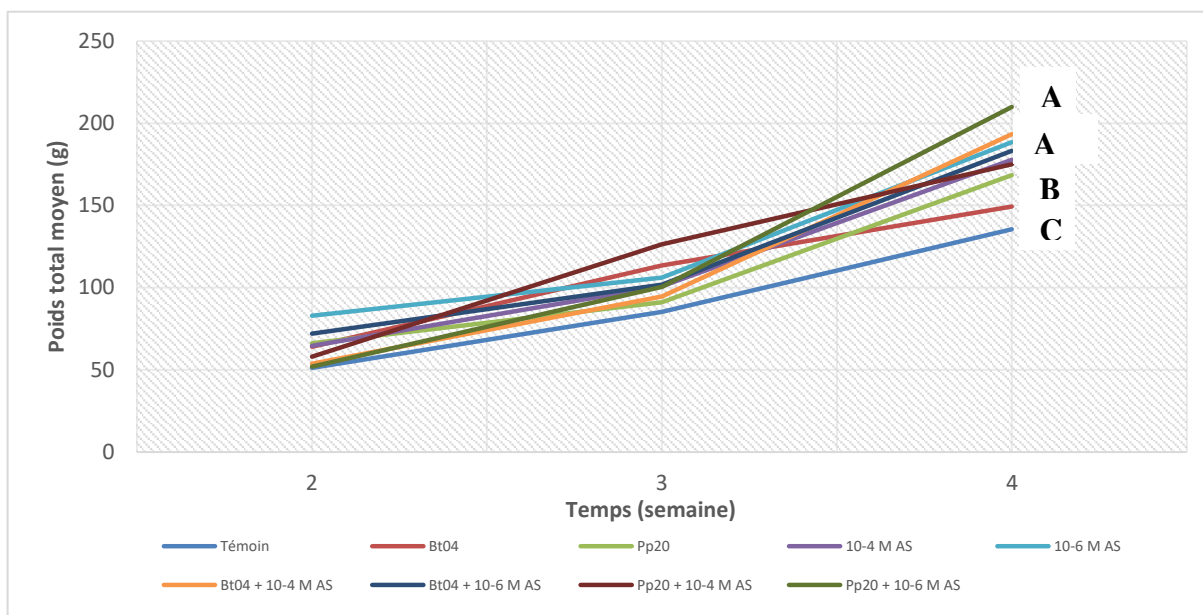
**Figure 52 :** Evolution de la longueur moyenne des plantes du *Datura innoxia* après inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 $F(8,18) = 0,49$  ;  $P > 0,01$



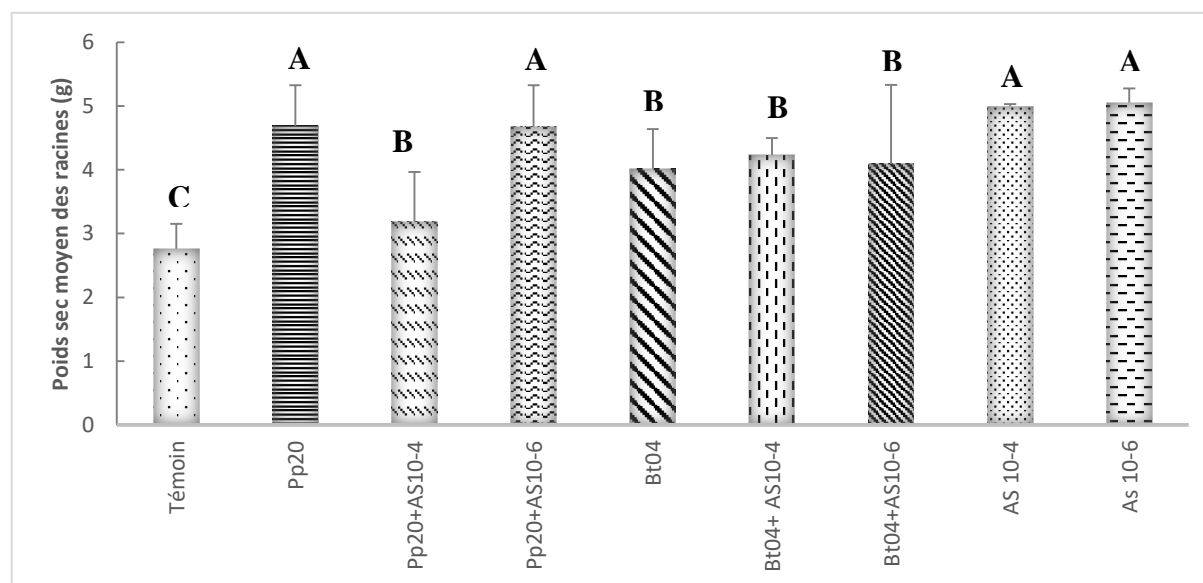
**Figure 53 :** Evolution du nombre moyen de feuilles du *Datura innoxia* inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 $F(8,18) = 0,82$  ;  $P > 0,01$



**Figure 54** : Plantes du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (A, B, C) : plante du *Datura innoxia*. ;(D) : racines du *Datura innoxia*. Dans le terreau, avant nettoyage ; (E) ; racine non inoculée (témoin) ; (F) : racines inoculée par la souche Pp20 ; (G) : racines inoculée par la souche Bt04.



**Figure 55 :** Evolution du poids total moyen du *Datura innoxia* après inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 $F(8,18) = 4,16$  ;  $P < 0,005^{**}$



**Figure 56 :** Poids sec moyen des racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 $F(8,18) = 4,61$  ;  $P < 0,005^{**}$

### 2. Teneurs en azote et carbone, rapport C/N et teneur en hydrogène

#### 2.1. Teneur en azote (N)

##### 2.1.1. Dans les feuilles

D'après la **figure 57A** le témoin a présenté une teneur plus élevée en azote (3,65%) par rapport autres traitements (PGPRs et AS), ces derniers ont montré presque les mêmes teneurs (entre 2,22% et 2,57%).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif entre les moyennes des traitements sur la teneur en azote dans les feuilles.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré l'existence de 3 groupes homogènes dont 2 chevauchent, le témoin présente le premier groupe. Le deuxième groupe est constitué par Pp20 et les deux concentrations d'AS le troisième groupe. (**Annexe 41**).

##### 2.1.2. Dans les racines

Comme dans les feuilles, le témoin a présenté la teneur en azote la plus élevée (2,10 %). La souche Bt04 a montré une teneur de 1,83% suivie par la dose  $10^{-4}$  M d'AS avec un taux de 1,8 % (**Fig.57A**).

L'analyse de la variance effectuée a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en azote dans les racines.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré l'existence de 2 groupes homogènes (**Annexe 42**).

#### 2.2. Teneur en carbone (C)

##### 2.2.1. Dans les feuilles

Les meilleures teneurs en carbone ont été enregistrées avec la concentration  $10^{-6}$  M d'AS (40,47%) et la souche Pp20 (39,84%) (**Fig.57B**). Tous les traitements PGPRs et AS ont présenté des teneurs supérieures à celle du témoin.

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en carbone dans les feuilles.

Le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 3 groupes homogènes dont 2 chevauchent (**Annexe 43**).

### 2.2.2. Dans les racines

Tous les traitements avec les PGPRs et l'AS ont montré des teneurs en carbone supérieures à celle du témoin.

La souche Pp20 a enregistré la meilleure teneur (41,06%), suivie par la concentration  $10^{-6}$  M d'AS avec une teneur de 40,15% (**Fig.57B**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en carbone dans les racines.

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de 3 groupes homogènes (**Annexe 44**).

### 2.3. Rapport C/N

#### 2.3.1. Dans les feuilles

Les valeurs obtenues dans les différents traitements ont été supérieures à celles du témoin. Le meilleur résultat a été enregistré avec la concentration  $10^{-6}$  M d'AS (18,21), suivie par la concentration  $10^{-4}$  M d'AS, Bt04 et Pp20(**Fig.57C**).

Effectivement, l'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le rapport C/N.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré l'existence de 4 groupes homogènes. La concentration  $10^{-6}$  M d'AS constitue le premier groupe. Le deuxième groupe est formé par la concentration  $10^{-4}$  M d'AS et la souche Bt04. Alors que, la souche Pp20 forme le troisième groupe (**Annexe 45**).

#### 2.3.2. Dans les racines

Dans les racines, des augmentations significatives ont été obtenues. Les valeurs enregistrées par ordre décroissant sont 23.04, 23.03, 22.14 et 21.67 pour Pp20, la concentration  $10^{-6}$  M d'AS, la concentration  $10^{-4}$  M d'AS et Bt04, respectivement (**Fig.57C**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des traitements sur le rapport C/N dans les racines.

La comparaison des moyennes par le test LSD de Fisher a montré l'existence de 3 groupes homogènes (**Annexe 46**).

### 2.4. Teneur en hydrogène (H)

#### 2.4.1. Dans les feuilles

Tous les traitements ont présenté des teneurs en hydrogène supérieure à celle du témoin.

Pour ce paramètre, les concentrations d'AS ont montré les meilleurs résultats, avec une teneur de 6,69% pour la concentration  $10^{-6}$  M d'AS et de 6,60% pour la concentration  $10^{-4}$  M d'AS. (**Fig.57D**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en hydrogène dans les feuilles. (**Annexe 47**).

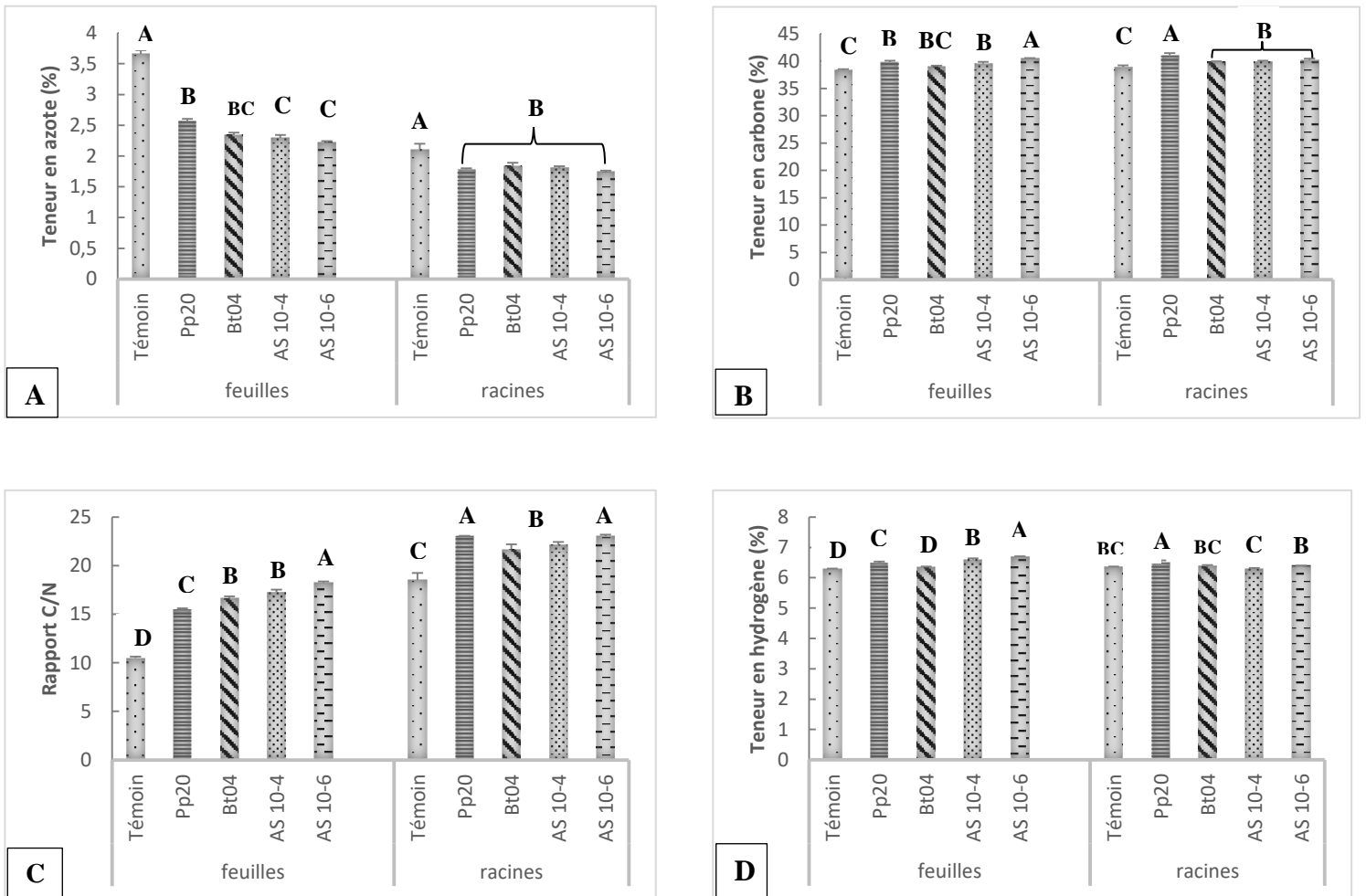
En effet le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 4 groupes homogènes (**Annexe 47**).

### 2.4.2. Dans les racines

La teneur la plus élevée a été enregistrée avec la souche Pp20 (6,49%). Suivie par la concentration  $10^{-6}$  M d'AS (6,39%) (**Fig.57D**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des traitements sur la teneur en hydrogène dans les racines.

En effet, le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 3 groupes homogènes dont deux chevauchent (**Annexe 48**).



**Figure 57** : Feuilles et racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

- (A) : teneur en azote ; Ff(4,10) = 163,84 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 22,38 ; P < 0,001\*\*\*
- (B) : teneur en carbone ; Ff(4,10) = 19,53 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 25,96 ; P < 0,001\*\*\*
- (C) : rapport C/N ; Ff(4,10) = 194,88 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 56,10 ; P < 0,001\*\*\*
- (D) : teneur en hydrogène ; Ff(4,10) = 30,48 ; P < 0,001\*\*\* ; Fr(4,10) = 8,53 ; P < 0,005\*\*



## VI. Effet des PGPRs et de l'AS sur la composition en métabolites chez *Datura innoxia*

Les analyses réalisées par la GC-TOF-MS ont montré que *Datura innoxia* contient 242 métabolites (primaires et secondaires) dont 150 sont connus (par leurs noms et leurs formules chimiques) et 92 métabolites inconnus appelés aussi **MSTs**.

En comparant les deux espèces étudiées, on peut conclure que *Datura innoxia* est plus riche en métabolites par rapport au *Datura stramonium*.

Les métabolites obtenus ont été classés en **douze (12) familles** chimiques : les sucres, les acides organiques, les acides aminés, les phénylpropanoïdes, les alcaloïdes, les acides gras, les dérivés de phosphate, les composés azotés, les acides polyhydroxy, les polyols, les composés du soufre, ainsi que des spectres de masse inconnues (MSTs).

### 1. Teneur en sucres

Les résultats obtenus ont montré que *Datura innoxia* contient 14 sucres : **arabinose, fucose, fructose, galactose, glucose, maltose, psicose, raffinose, saccharose, tagatose, xylose, alpha, alpha'-tréhalose, 1-kestose et 6-kestose (Fig.58)**.

A l'exception du **saccharose** et du **tagatose** (où les teneurs sont sensiblement similaires entre les feuilles et les racines). Les teneurs en sucres sont plus élevées dans les racines par rapport aux feuilles. *Datura innoxia* contient **l'arabinose, le glucose, le maltose, le raffinose, l'alpha, alpha'-tréhalose et le 6-kestos** en faibles teneurs dans les feuilles de la plante. Alors que, les racines contiennent des faibles teneurs en **maltose** et en **6-kestose (Fig.58 1, 5, 6, 8, 12, 14)**.

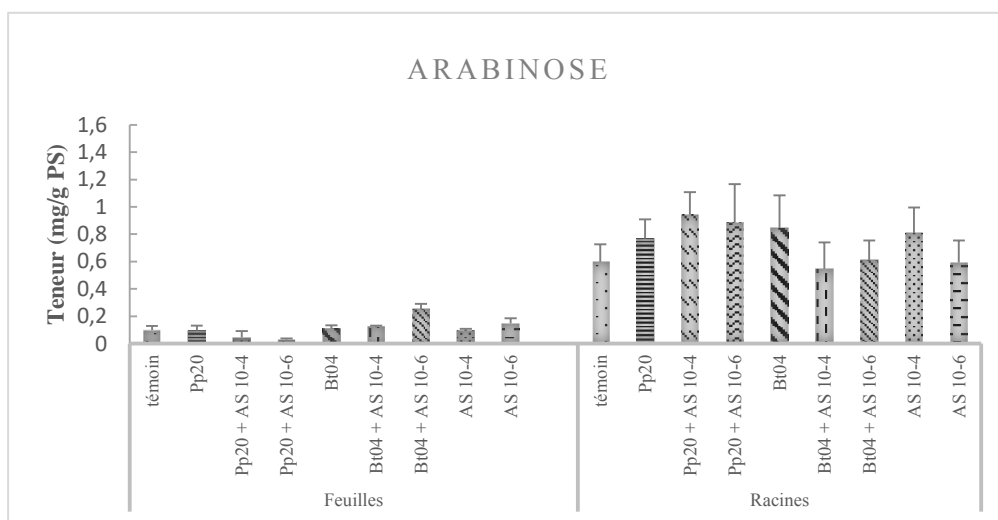
Dans les feuilles, la souche Pp20 n'a influencé que les teneurs en **alpha, alpha'-tréhalose** et en **fucose** de 550% et 33% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.58** 12, 2). Cependant dans les racines, elle a amélioré les teneurs en **xylose, fucose, arabinose** et en **alpha, alpha'-tréhalose** de 57%, 35%, 28% et 32% respectivement, par rapport aux témoins (**Fig.58 11, 2, 1, 12)**.

En outre, la souche Bt04 a augmenté dans les feuilles les teneurs en **alpha, alpha'-tréhalose, glucose, maltose, tagatose** et en **fucose** de 330%, 122%, 100%, 43% et 30% respectivement par rapport aux témoins (**Fig.58 12, 5, 6, 10, 2)**. Ainsi, dans les racines les teneurs en **maltose, xylose, fucose, arabinose** et en **glucose** ont été améliorées de **286%, 52% 48%, 42%** et **30%** respectivement par rapport aux témoins (**Fig.58 6, 11, 2, 1, 5)**.

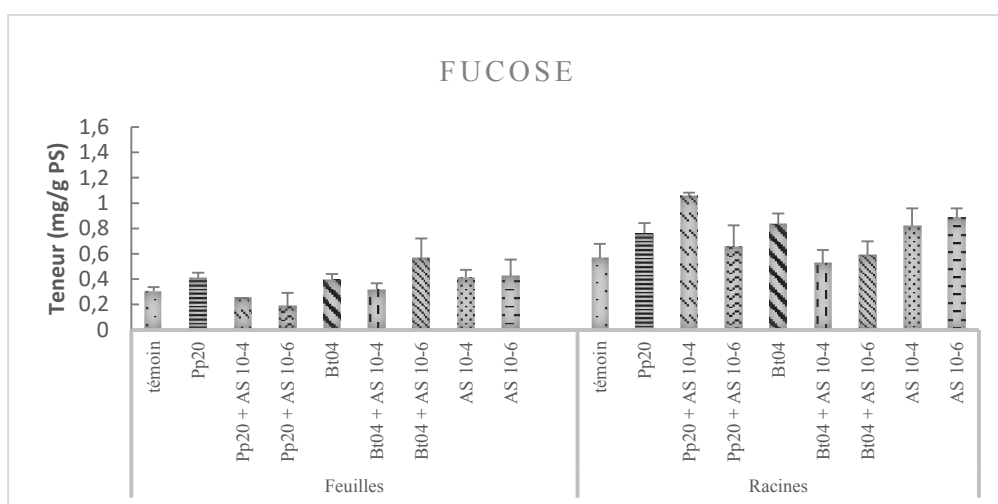
Alors que, les concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS n'ont augmenté que les teneurs en quelques sucres. La concentration  $10^{-4}$  M d'AS a augmenté dans les feuilles les teneurs en **fuco**se et en **alpha, alpha'-tré**halose de 36% et 520% respectivement (**Fig.58** 2, 12). Cependant, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **fuco**se, **xy**lose et en **arab**inose de 44%, 35% et 35% respectivement (**Fig.58** 2, 11, 1). De même, la concentration  $10^{-6}$  M d'AS n'a augmenté que les teneurs en **fuco**se et en **alpha, alpha'-tré**halose dans les feuilles de 40 % et 800% respectivement, de 57% et 110% respectivement, dans les racines (**Fig.58** 2, 12).

Alors que, les combinaisons PGPR +AS ont amélioré les teneurs en **arab**inose, **fuco**se et en **alpha, alpha'-tré**halose dans les feuilles et les teneurs en **arab**inose, **fuco**se, **xy**lose et en **alpha, alpha'-tré**halose dans les racines (**Fig.58** 1, 2, 11, 12).

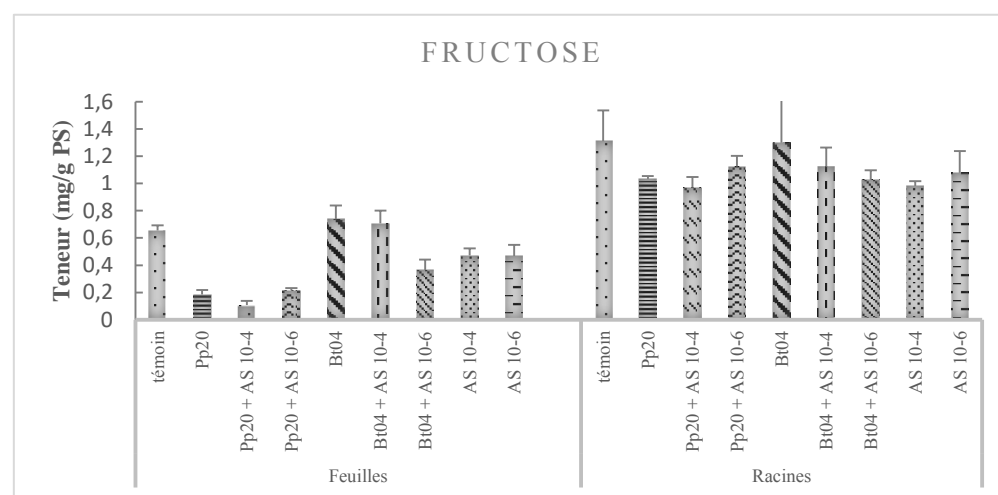
1



2

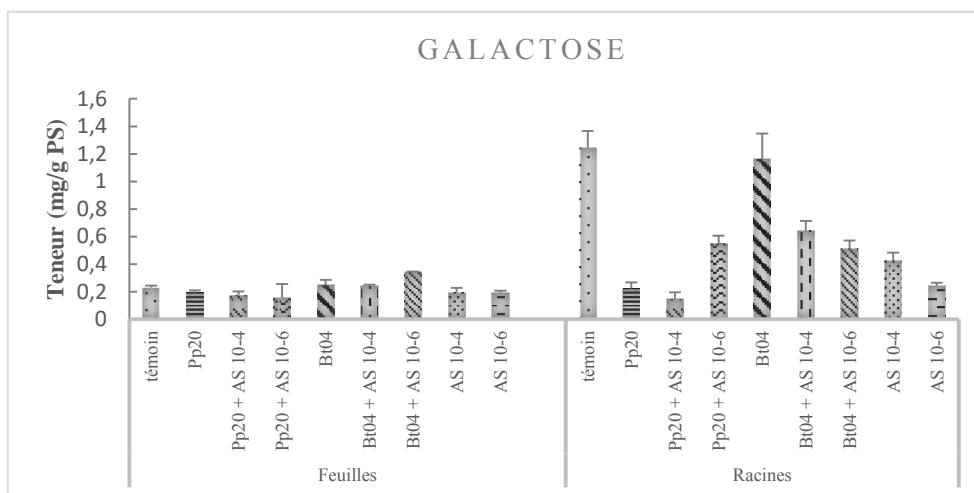


3

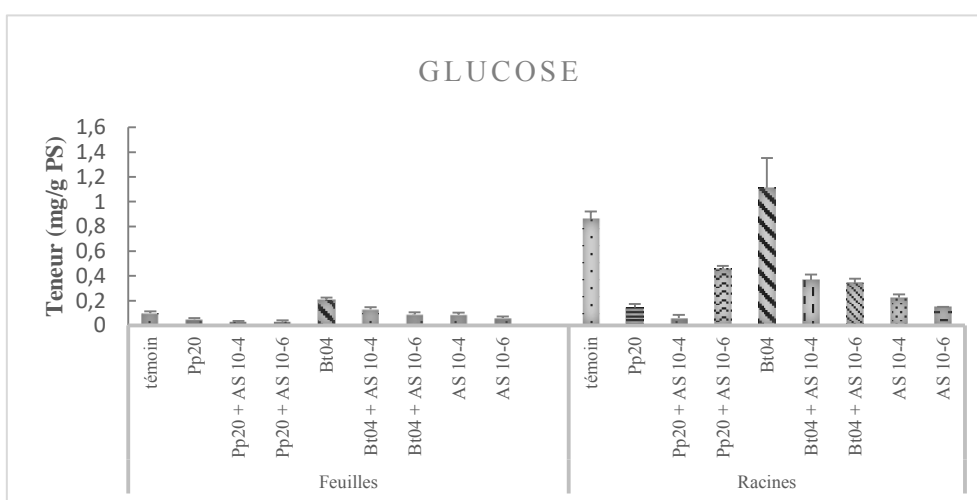


**Figure 58 :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (1) arabinose, (2) fucose, (3) fructose.

4



5

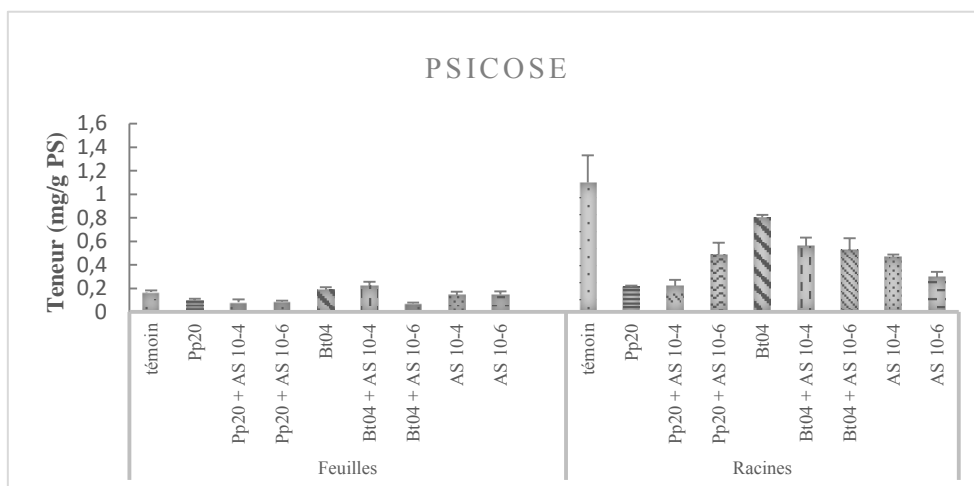


6

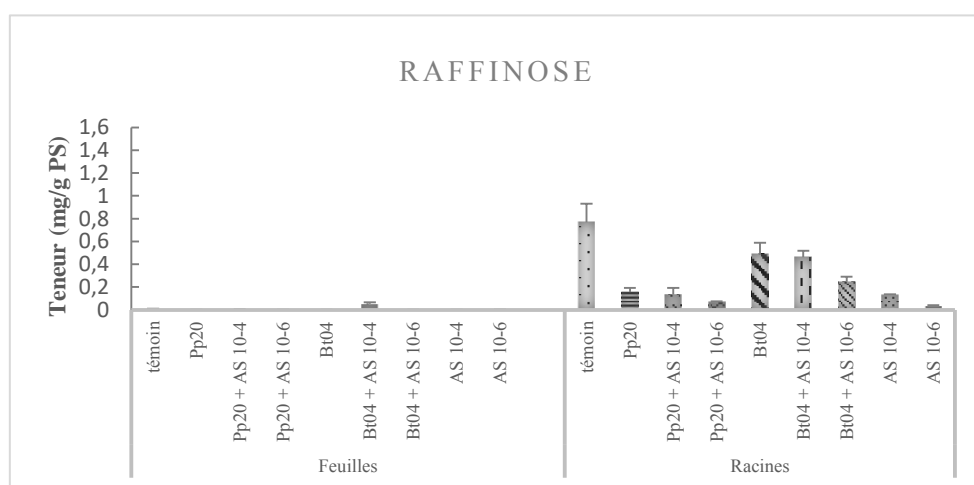


**Figure 58 (suite) :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (4) galactose, (5) glucose, (6) maltose.

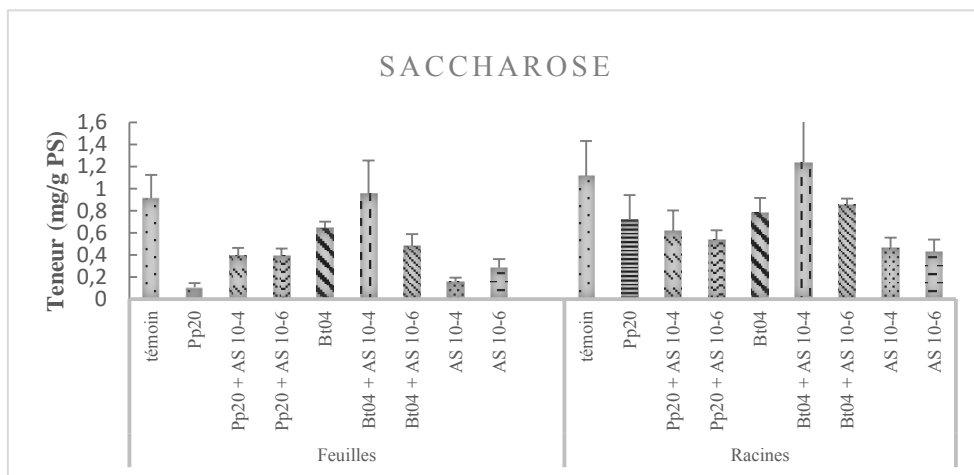
7



8

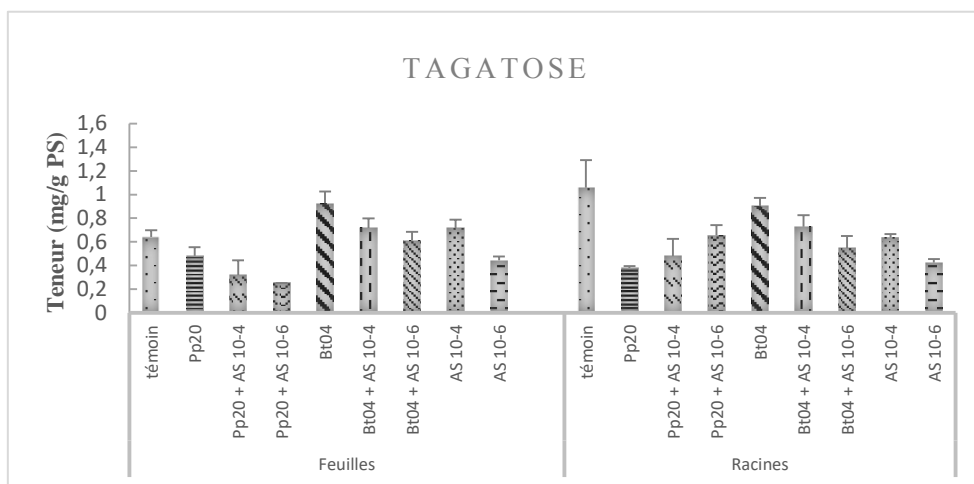


9

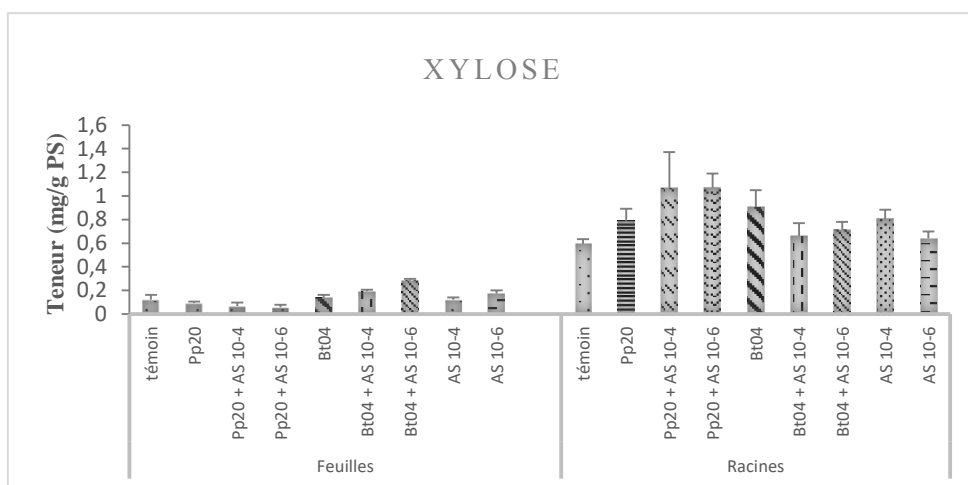


**Figure 58 (suite) :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS. (7) psicose, (8) raffinose, (9) saccharose.

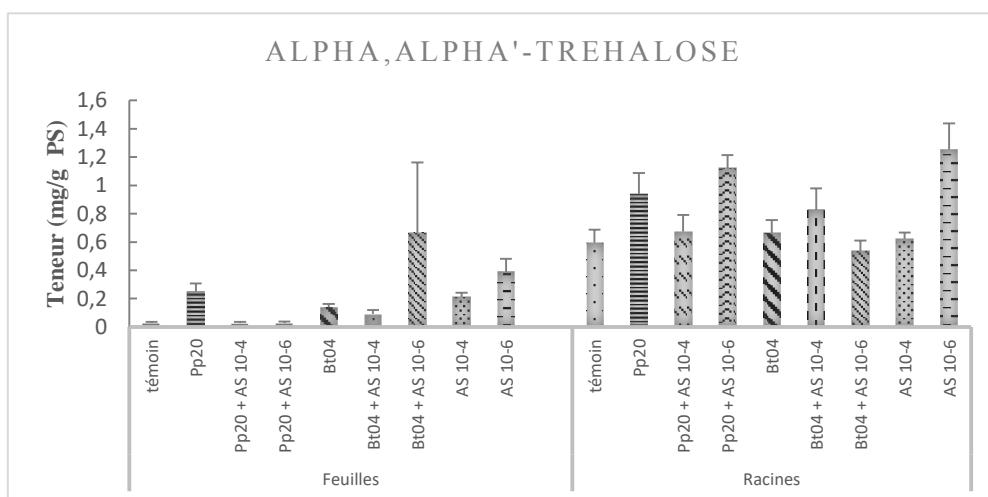
10



11

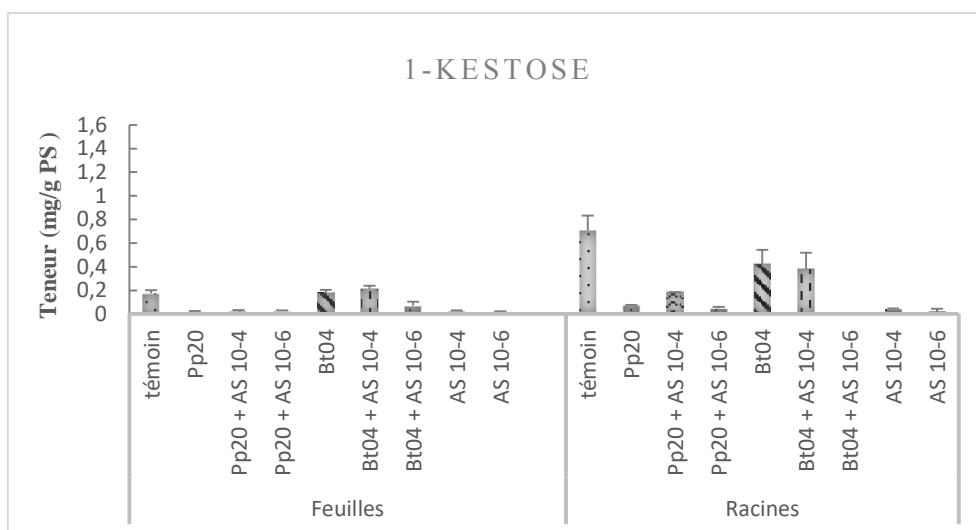


12

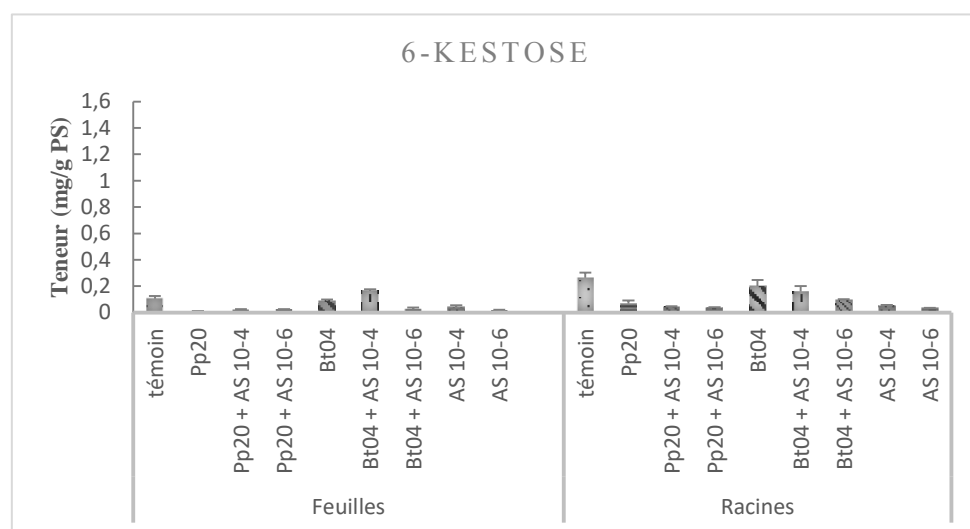


**Figure 58 (suite) :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (10) galactose, (11) xylose, (12) alpha, alpha'-tréhalose.

13



14



**Figure 58 (suite) :** Teneur en sucres dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (13) 1-kestose, (14) 6-kestose

## 2. Teneur en acides aminés et leurs dérivés

Après les analyses réalisées, les résultats obtenus ont montré que *Datura innoxia* contient 35 molécules de cette famille. 19 acides aminés standards : l'**alanine**, l'**arginine**, l'**asparagine**, l'**aspartate (acide aspartique)**, la **cystéine**, le **glutamate (l'acide glutamique)**, la **glutamine**, la **glycine**, l'**histidine**, l'**isoleucine**, la **leucine**, la **lysine**, la **phénylalanine**, le **proline**, la **sérine**, la **thréonine**, le **tryptophane**, la **tyrosine**, la **valine**. Aussi, elle renferme, 16 dérivés des acides aminés : l'**acide 2-amino-adipique**, la **bêta-alanine**, la **3-cyano-alanine**, l'**acide 2-amino-butanoïque**, l'**acide 4-amino-butanoïque**, la **butyro 1,4-lactam**, la **gamma-glutamylvaline**, l'**homocystéine**, l'**homoserine**, la **N-carboxyglycine**, la **N-acétyl-valine**, la **ornithine 1,5-lactam**, la **N-acétyl-serine**, la **O-acétyl-serine**, l'**allo-thréonine** et la **triméthyllysine (Fig.59)**.

Les racines ne contiennent pas deux dérivés d'acides aminés : la **gamma-glutamylvaline** et la **triméthyllysine (Fig.59 26, 35)**. Aussi, elles contiennent des faibles teneurs en **alanine**, **asparagine**, **cystéine**, **acide glutamique**, **lysine**, **phénylalanine**, **tyrosine**, **acide 2-amino-butanoïque** et **homocystéine (Fig.59 1, 3, 5, 6, 12, 13, 18, 24, 27)**.

Par ailleurs, la souche Pp20 a augmenté les teneurs de tous les acides aminés standards et de leurs dérivés dans les feuilles à l'exception de l'**acide 2-amino-adipique** et l'**acide 4-amino-butanoïque (Fig.59 20, 24)**. Les meilleures augmentations ont été enregistrées avec l'**homocystéine (246%)**, la **sérine (210%)** la **triméthyllysine (128%)** et l'**histidine (106%) (Fig.59 27, 15, 35, 9)**. Alors que, dans les racines, elle n'a pas présenté un grand effet sur les teneurs en acides aminés, sauf pour l'**homoserine (400%)**, l'**acide 2-amino-adipique (90%)** et la **N-carboxyglycine (53%) (Fig.59 28, 20, 29)**.

Alors que, la souche Bt04 dans les feuilles n'a influencé significativement que les teneurs en **alanine (153%)**, **homocystéine (87%)**, **sérine (78%)**, **butyro 1,4-lactam (73%)**, **glutamine (63%) (Fig.59 1, 15, 25, 7)**. Et dans les racines les teneurs en **cystéine (275%)**, **homoserine (95%)** et en **acide 2-amino-adipique (53%) (Fig.59 5, 28, 20)**.

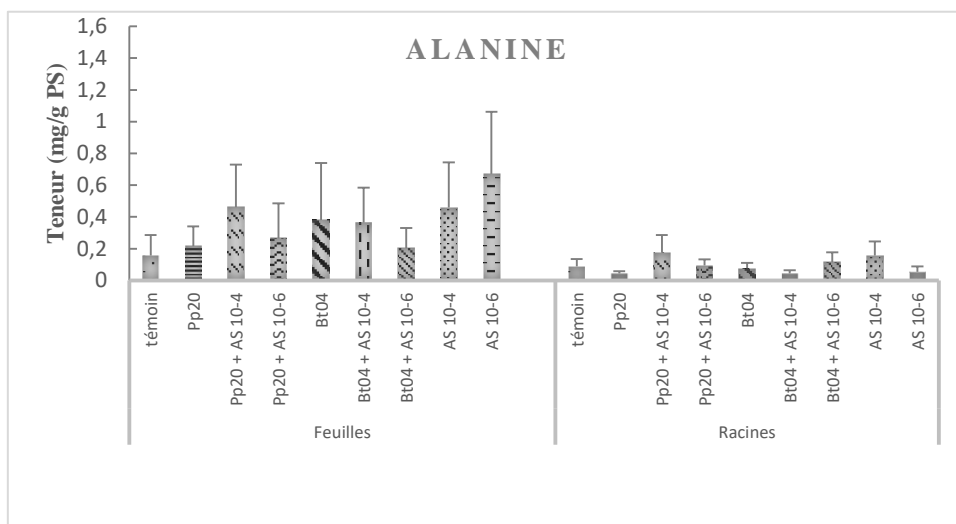
Les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS ont amélioré les teneurs de tous les acides aminés et de leurs dérivés, à l'exception dans les feuilles de la **cystéine**, le **tryptophane** et l'**acide 2-amino-adipique (Fig.59 5, 17, 20)**, et dans les racines de la **glutamine**, le **tryptophane** et l'**allo-thréonine (Fig.59 7, 17, 34)**. Les augmentations les plus élevées dans les feuilles sont obtenues pour la **sérine ( $10^{-4}$  M : 295% ;  $10^{-6}$  M : 405%)**, l'**alanine ( $10^{-4}$  M : 200% ;  $10^{-6}$  M : 350%)** et l'**homocystéine ( $10^{-4}$  M : 279% ;  $10^{-6}$  M : 212%) (Fig.59 15, 1, 27)**.



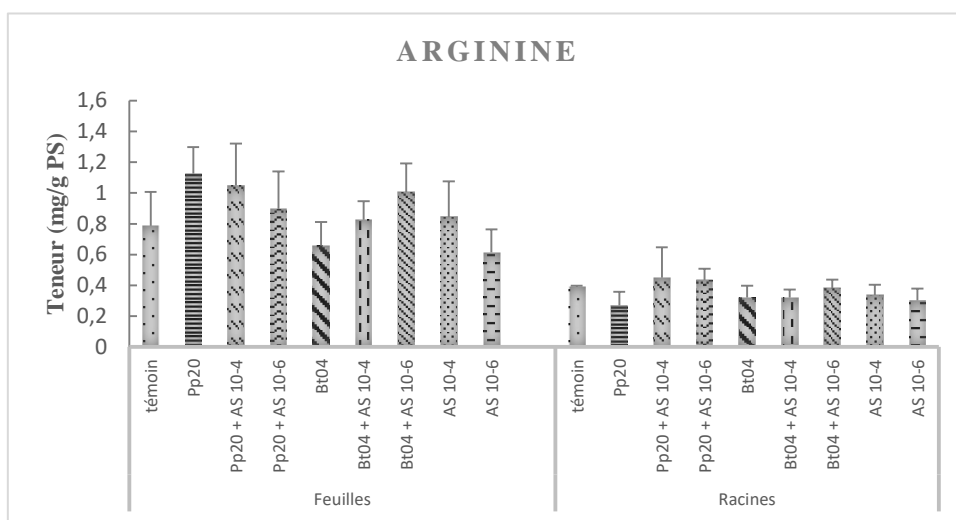
Les combinaisons (PGPRs+AS) ont montré, aussi, des augmentations des teneurs en acides aminés, dans les feuilles et les racines et avec la majorité de ces substances (**Fig.59**).

Pour la combinaison (Pp20+AS), les améliorations les plus élevées dans les feuilles ont été enregistrée avec **la sérine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : **421%** ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 226%), la **glutamine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : **315%** ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 342%) et **l'homocystéine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : 330% ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 220%) (**Fig.59** 15, 7, 27). Et dans les racines des augmentations ont été enregistrée avec **l'homoserine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : 1000% ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 330%), **la cystéine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : 300% ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 300%), **l'acide 2-amino-adipique** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : 473% ; Pp20+10<sup>-6</sup> M : 150%) et la **sérine** (Pp20+10<sup>-4</sup> M : 136%) (**Fig.59** 28, 5, 20, 15).

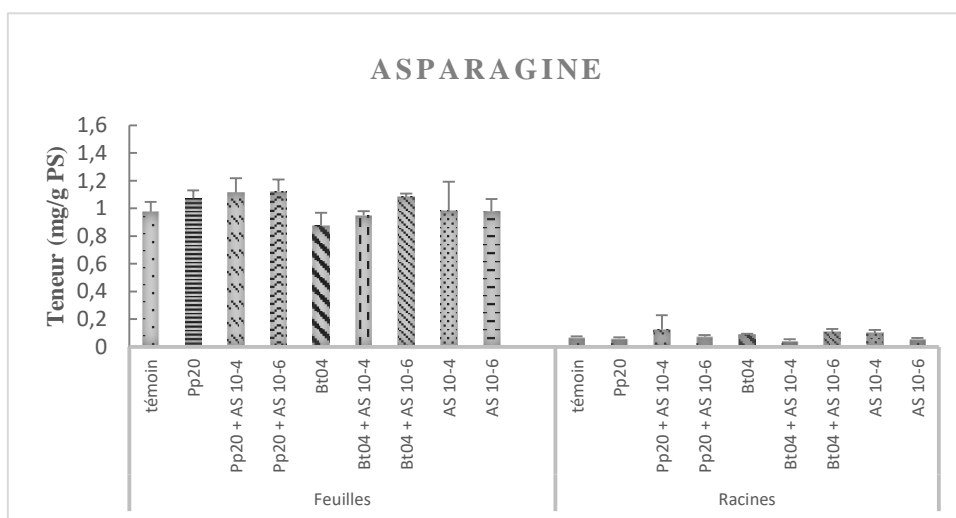
1



2

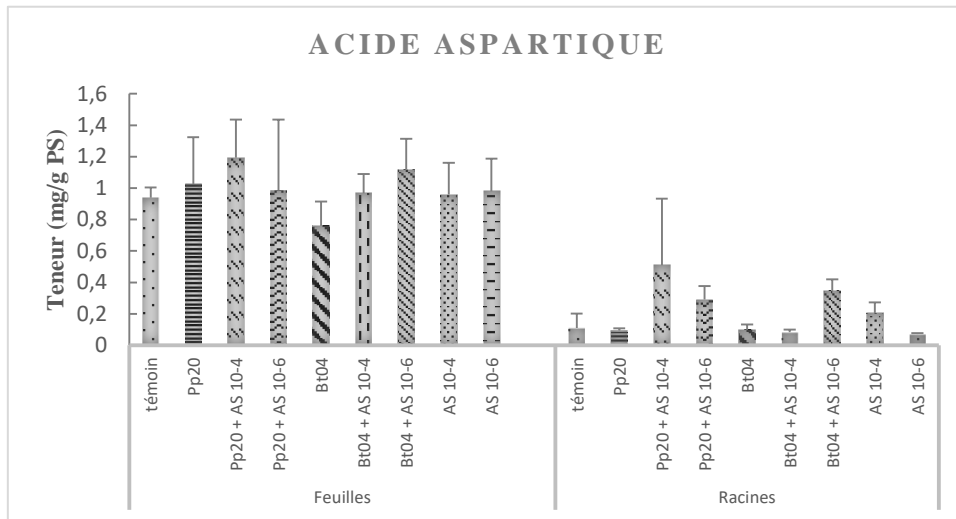


3

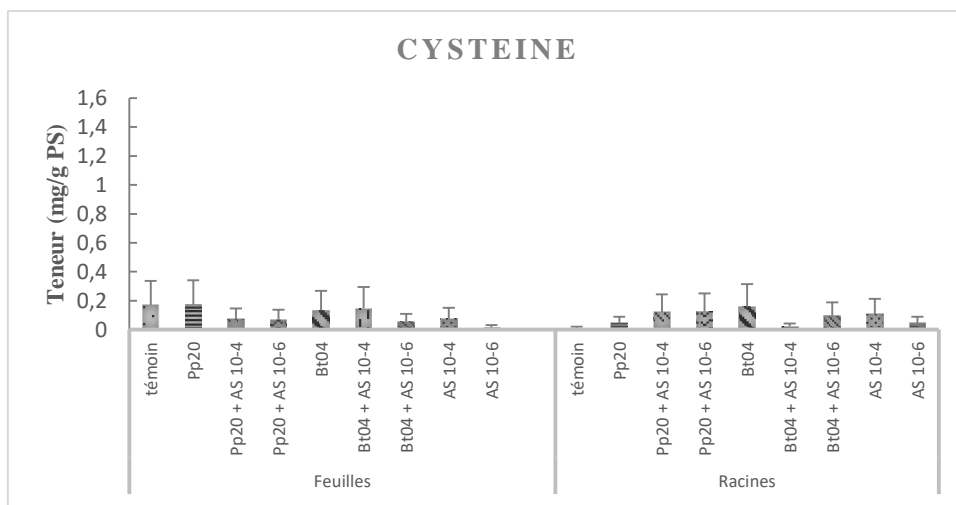


**Figure 59 :** Teneur en acides aminés et leurs dérivés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(1) alanine, (2) arginine, (3) asparagine.

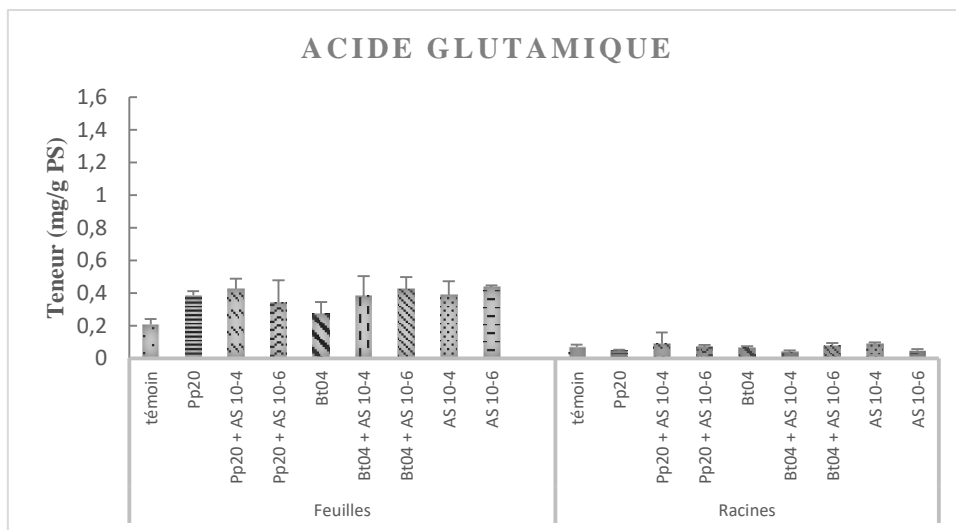
4



5



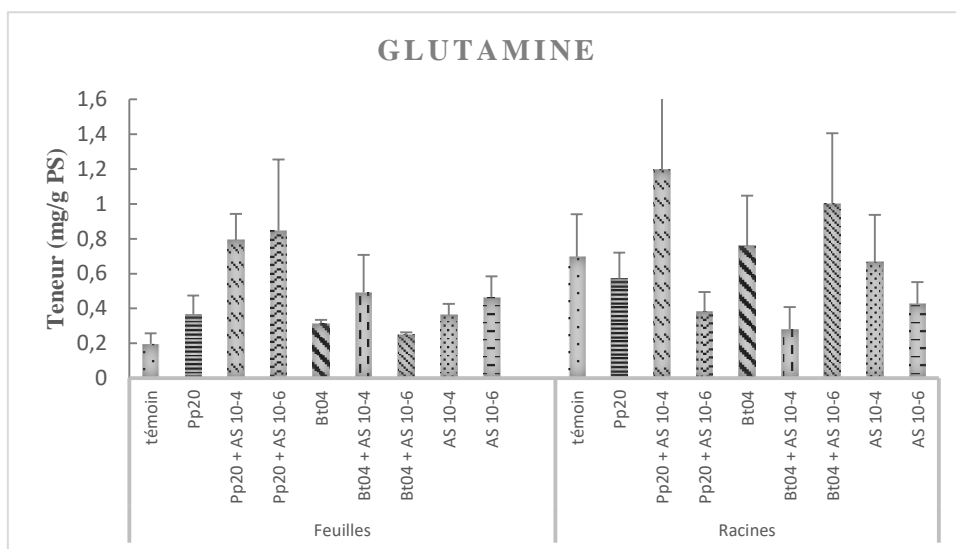
6



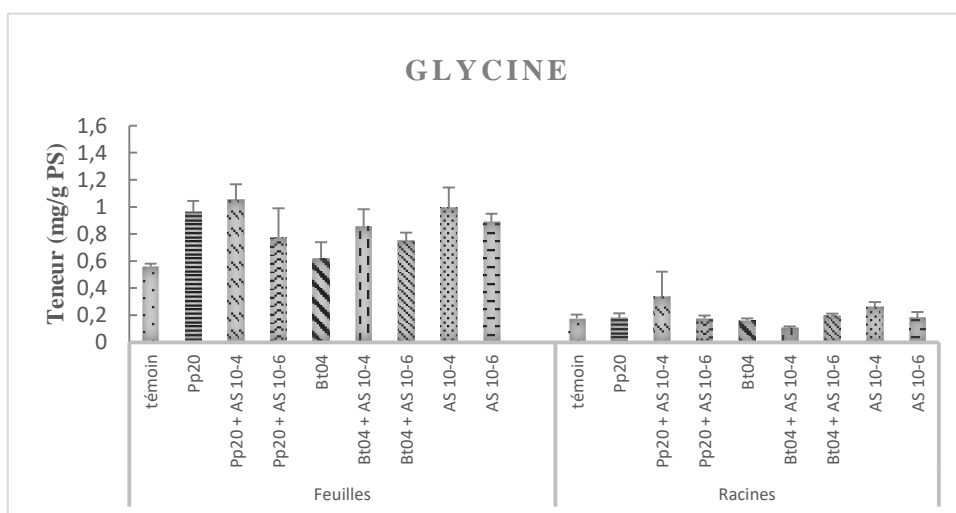
**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M, et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(4) acide aspartique (aspartate), (5) cystéine, (6) acide glutamique.

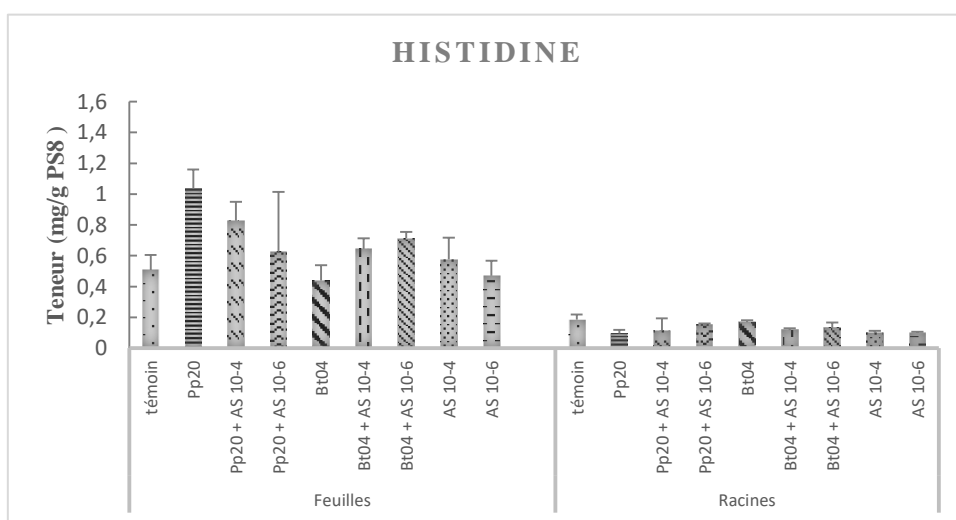
7



8

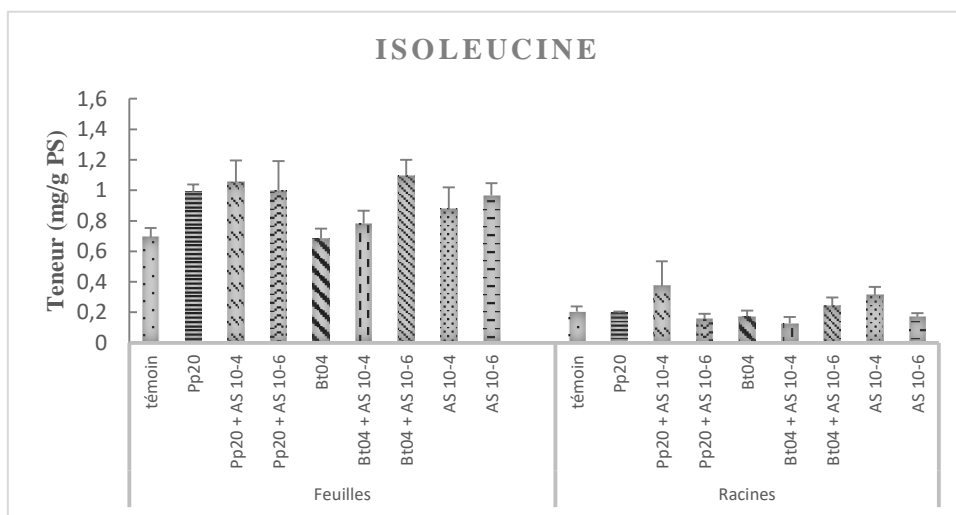


9

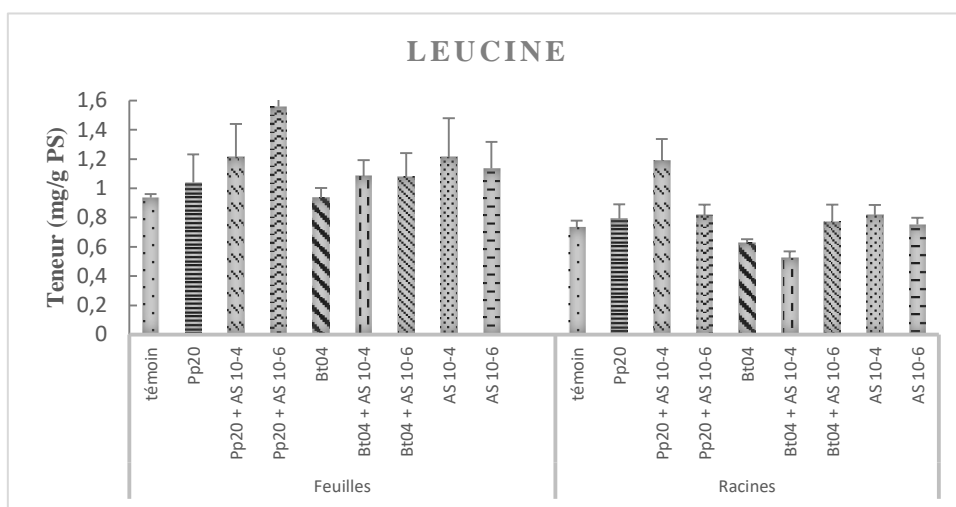


**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(7) glutamine, (8) glycine, (9) histidine.

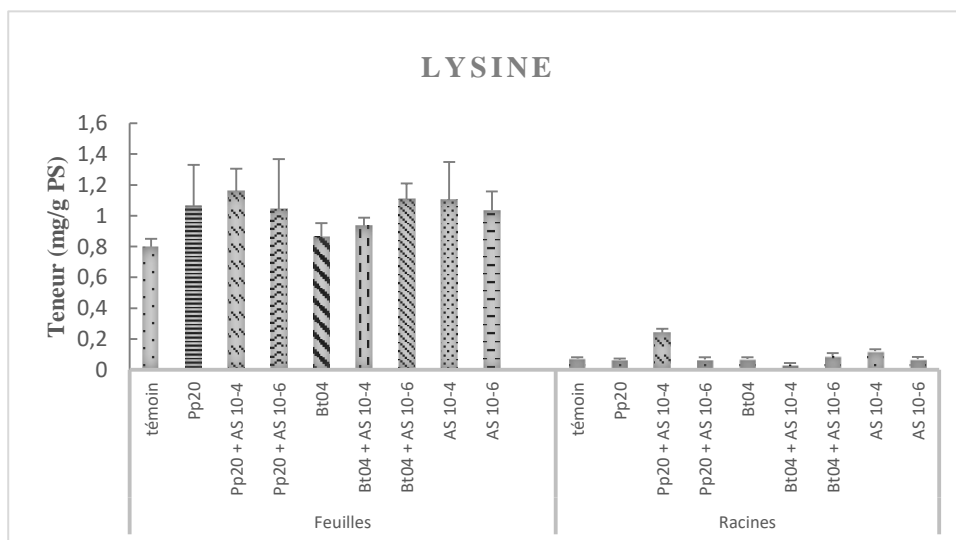
10



11

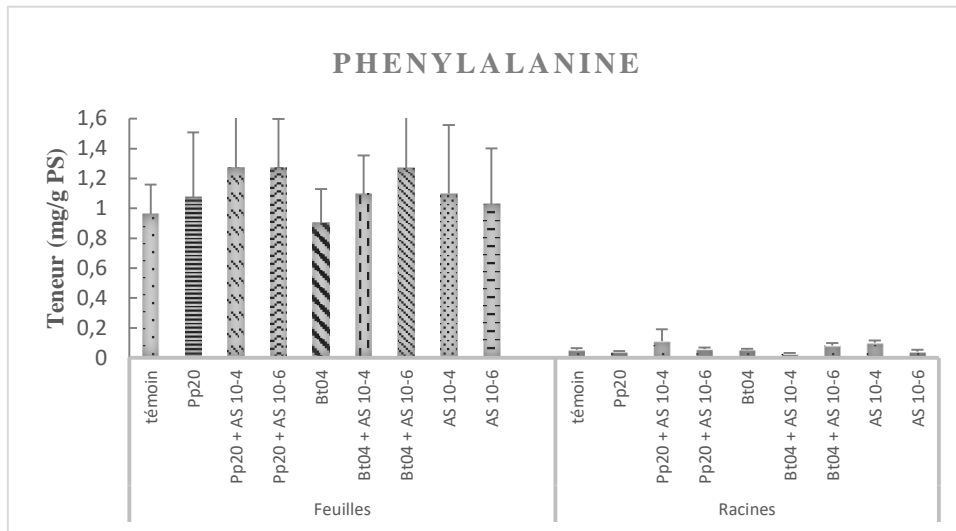


12

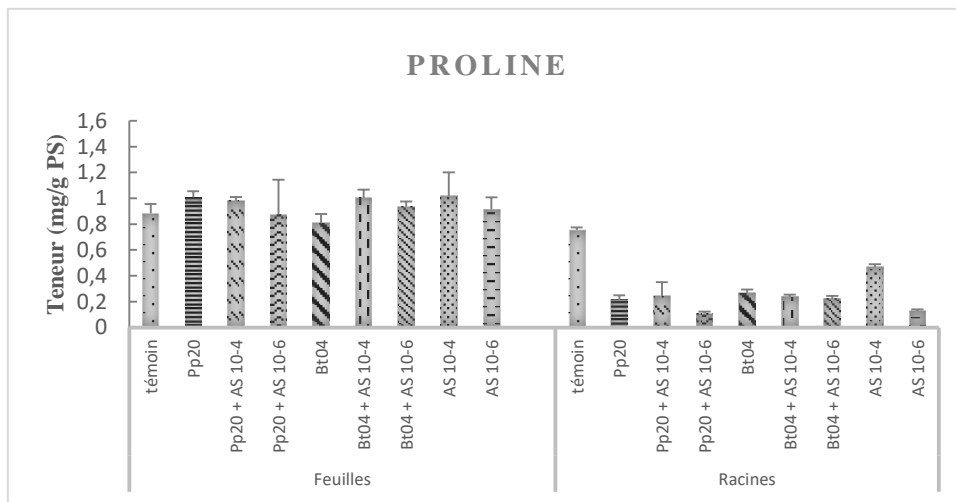


**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(10) isoleucine, (11) leucine, (12) lysine.

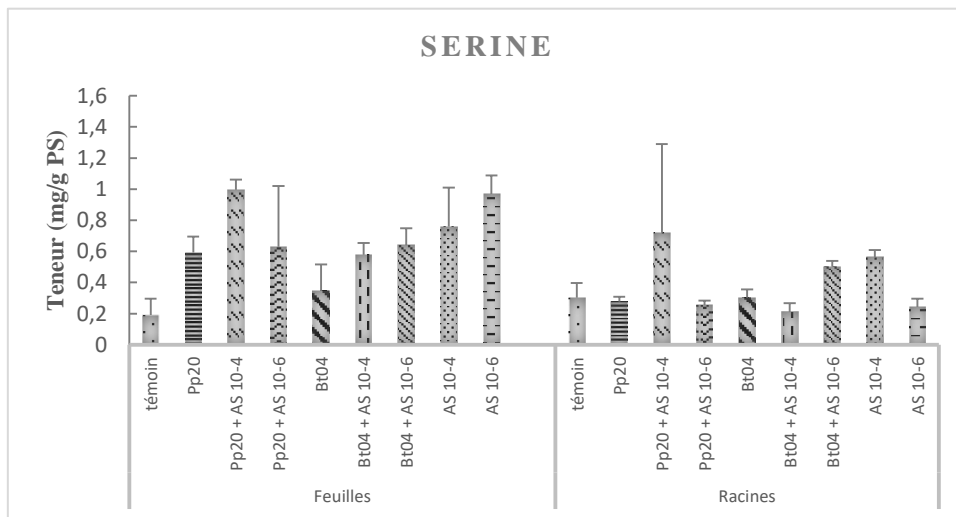
13



14

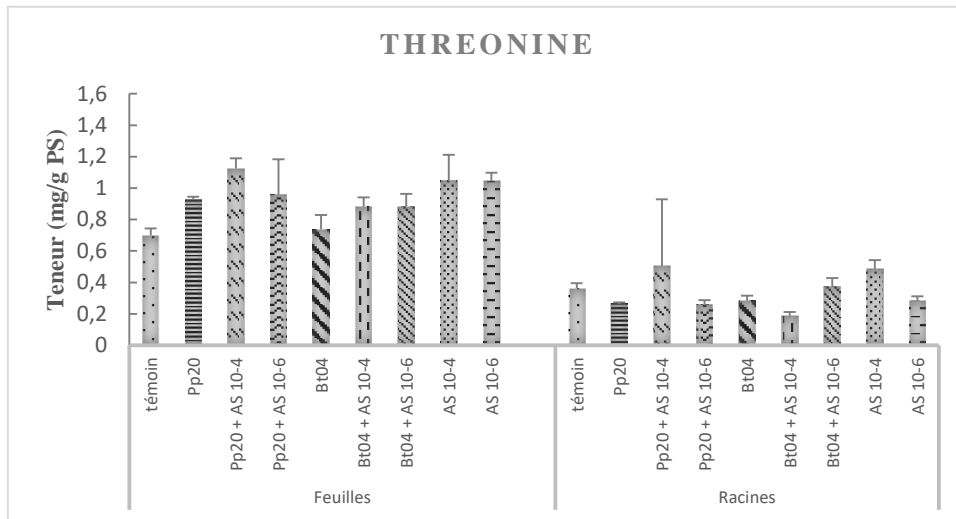


15

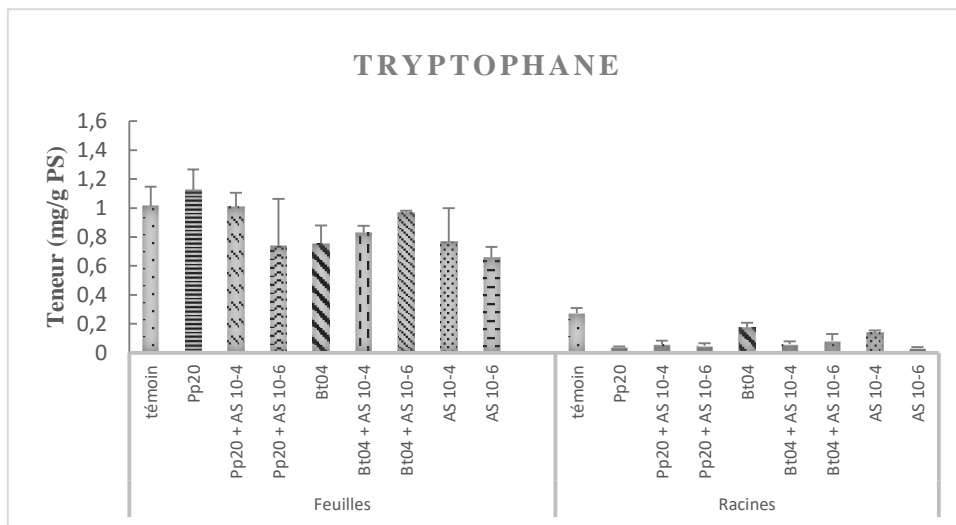


**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(13) phénylalanine, (14) proline, (15) sérine.

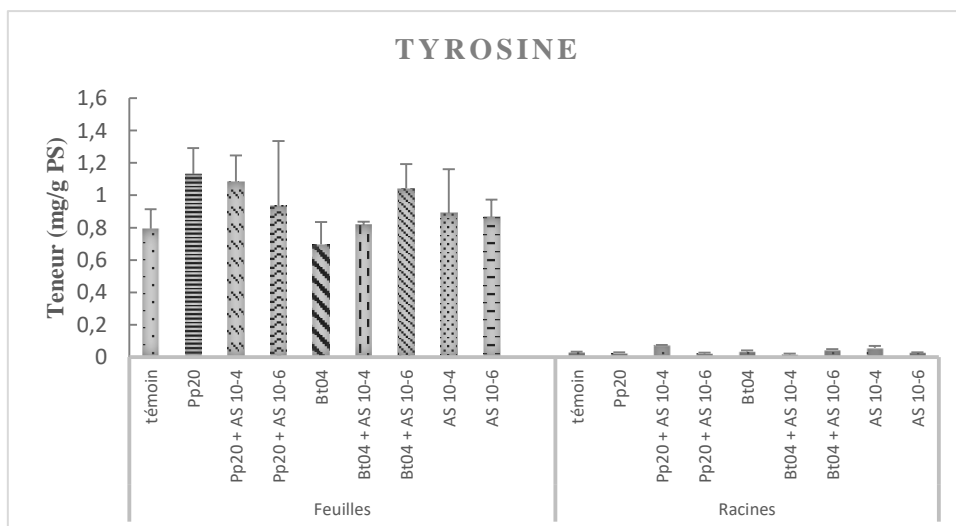
16



17

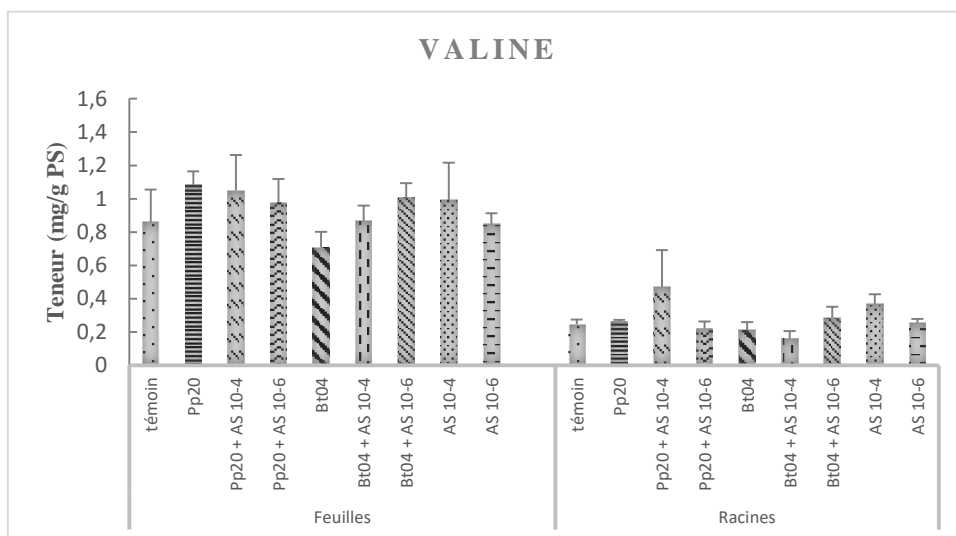


18

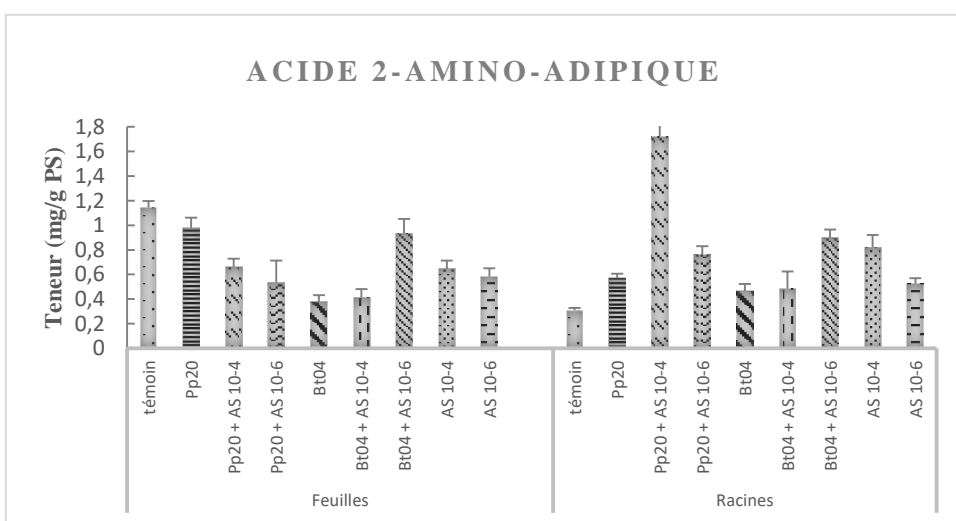


**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés standards dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(16) thréonine, (17) tryptophane, (18) tyrosine.

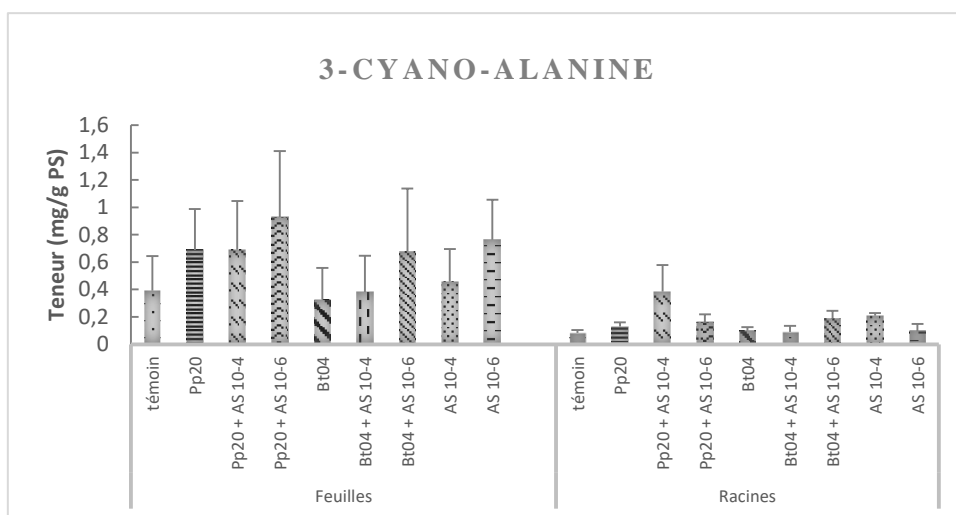
19



20



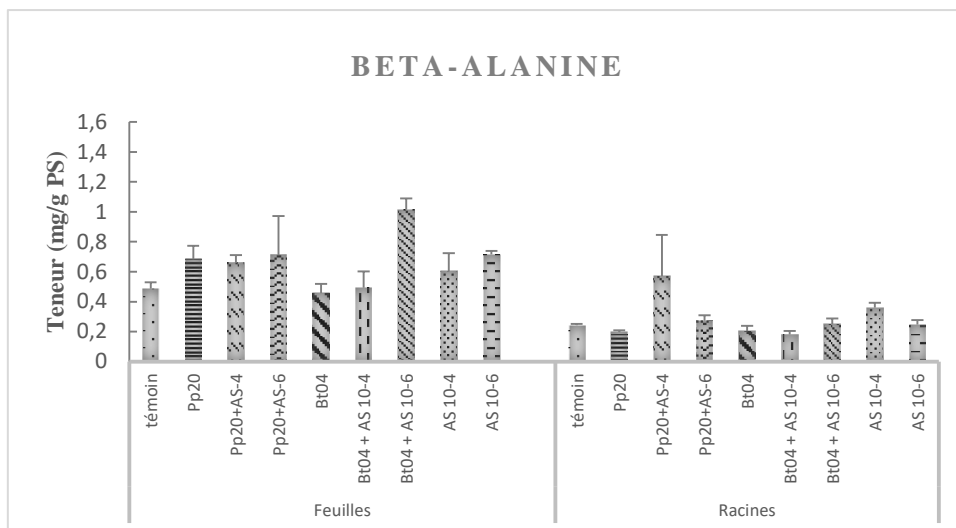
21



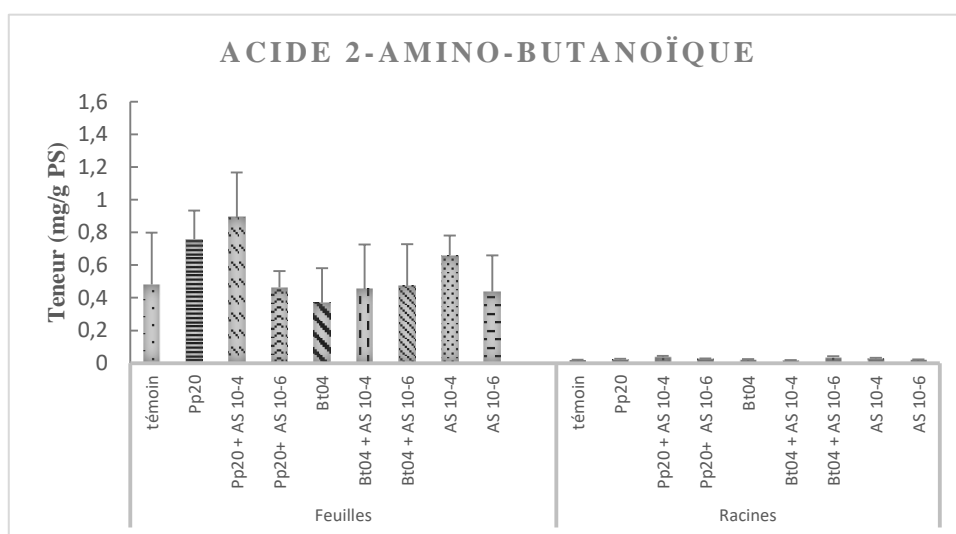
**Figure 59 (suite) :** Teneur en acides aminés et leurs dérivés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(19) valine, (20) acide 2-amino-adipique, (21) 3-cyano-alanine.



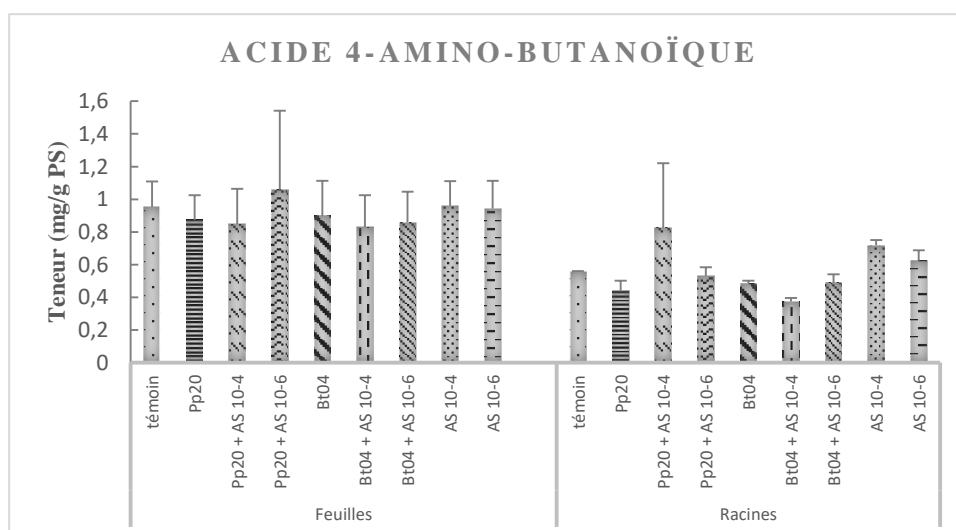
22



23



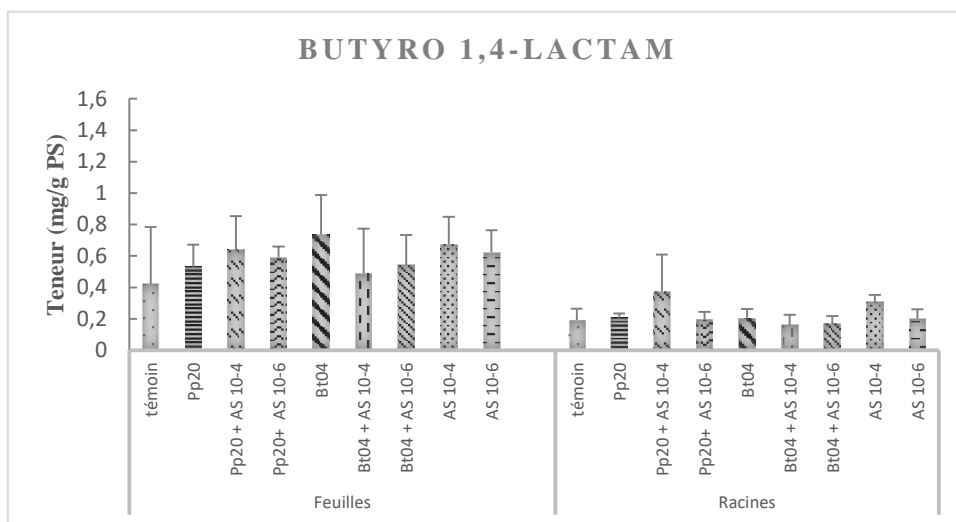
24



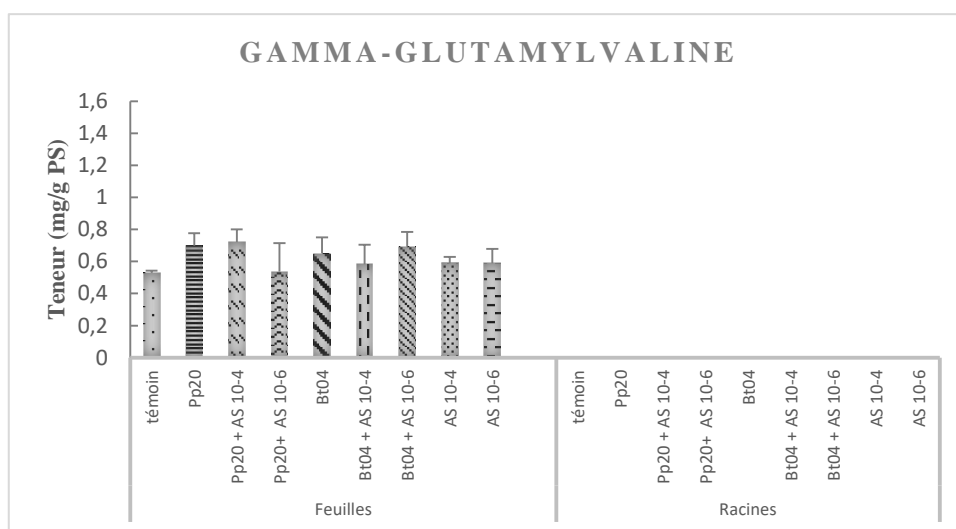
**Figure 59 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(22) bêta-alanine, (23) acide 2-amino-butanoïque, (24) acide 4-amino-butanoïque.

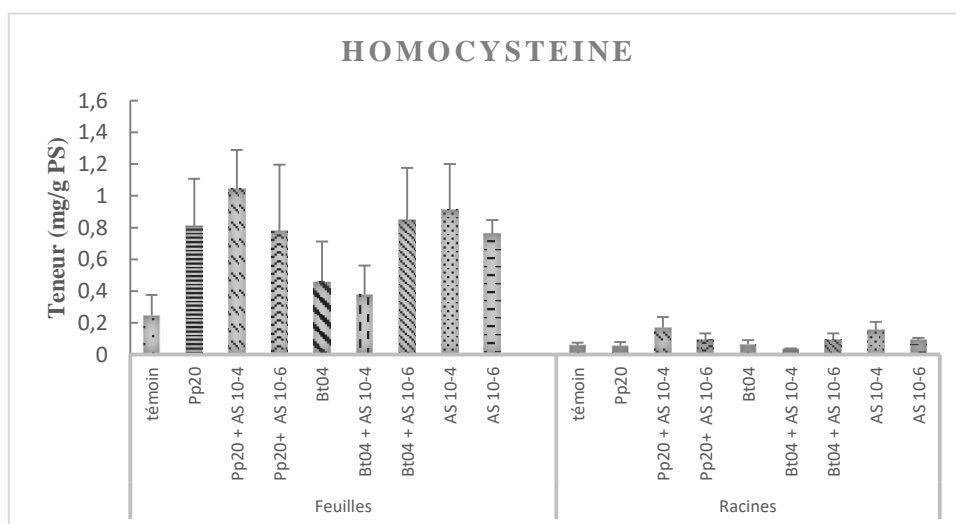
25



26

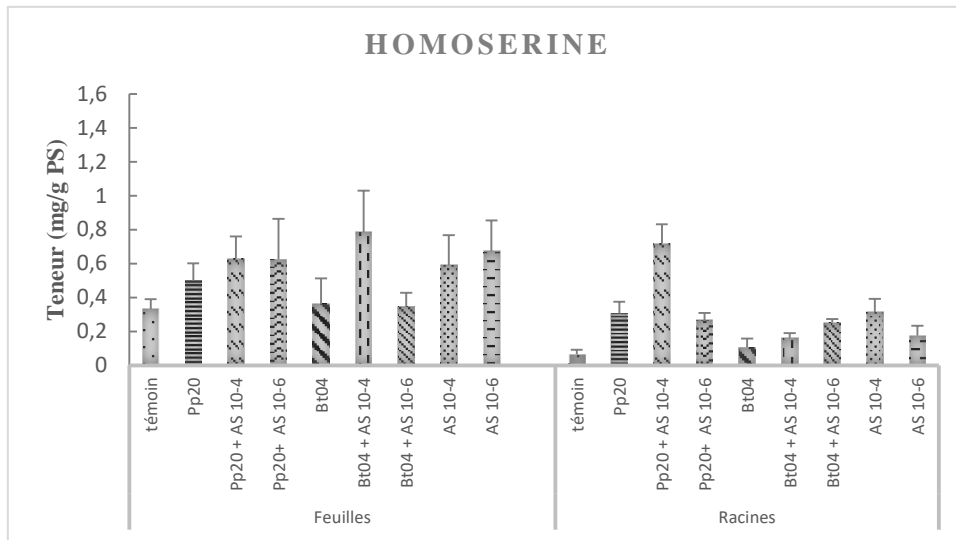


27

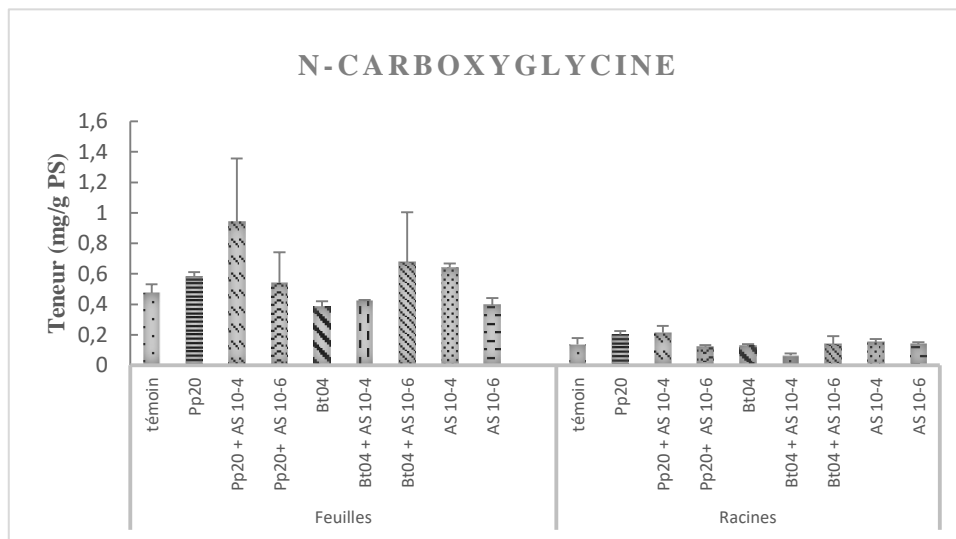


**Figure 59 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M, et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(25 butyro 1,4-lactam, (26) gamma-glutamylvaline, (27) homocystéine.

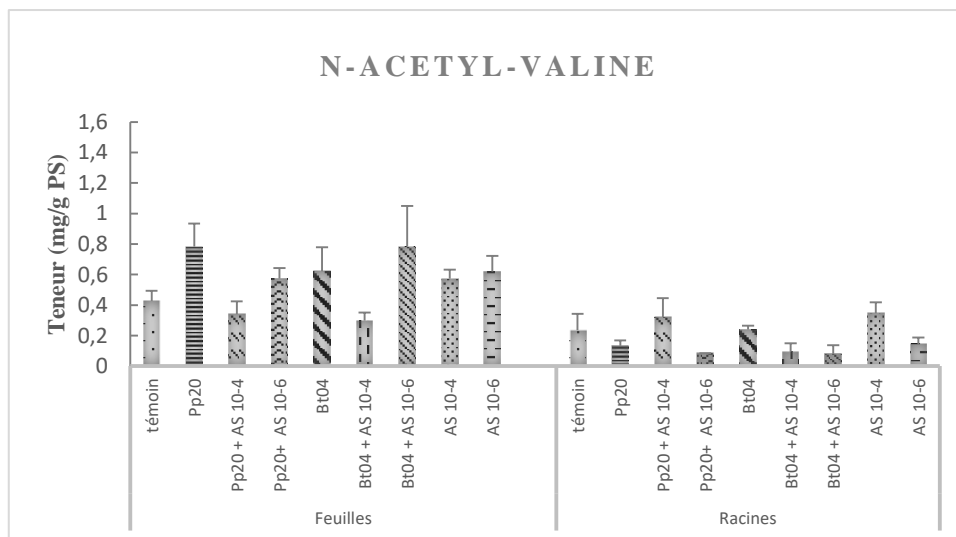
28



29



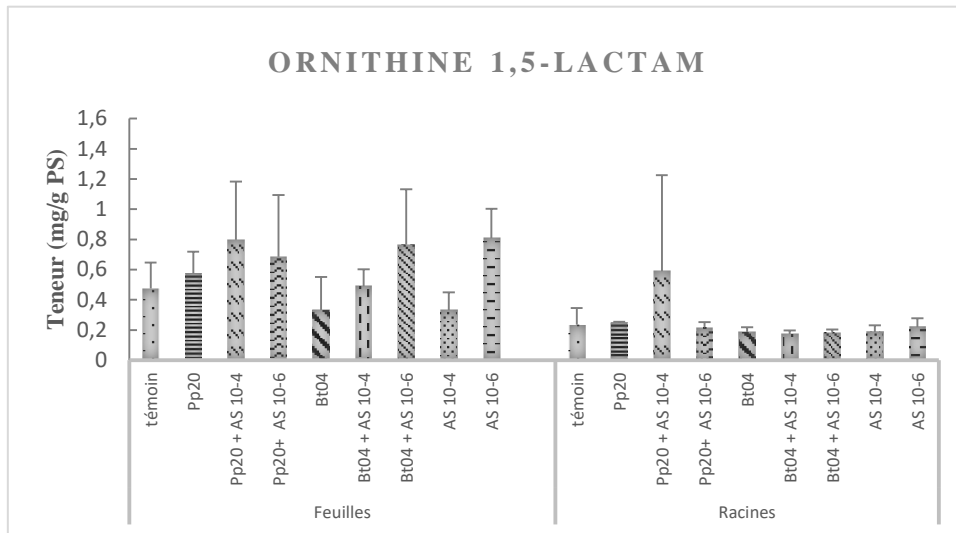
30



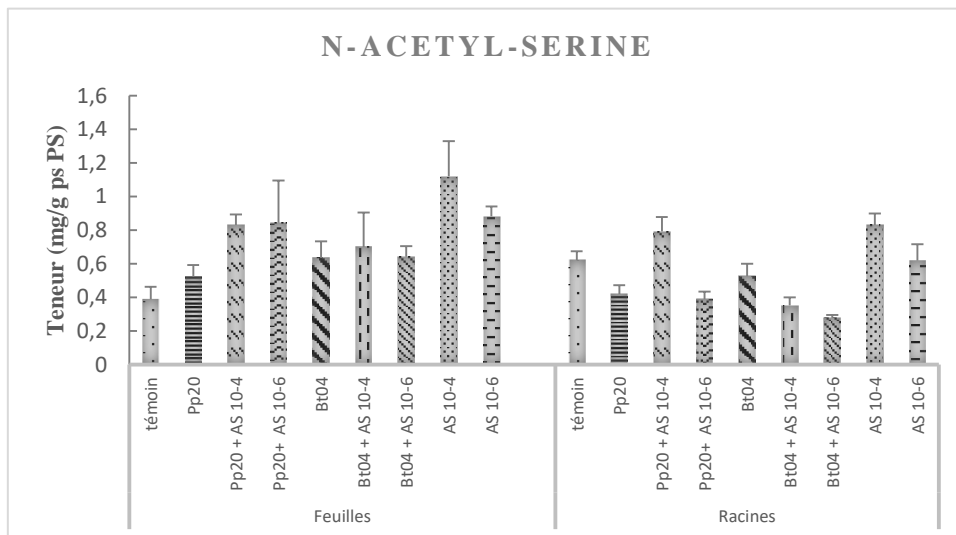
**Figure 59 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS..

(28) homoserine, (29) N-carboxyglycine, (30) N-acétyl-valine.

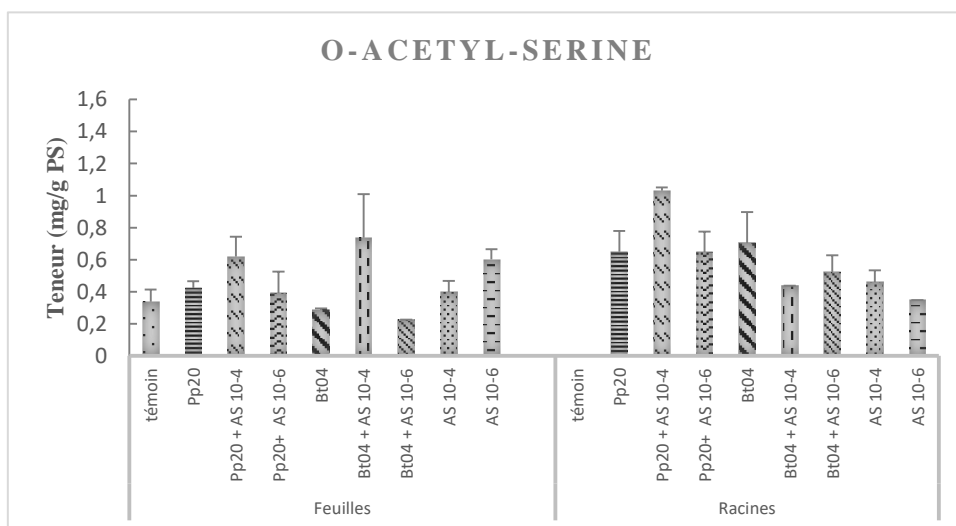
31



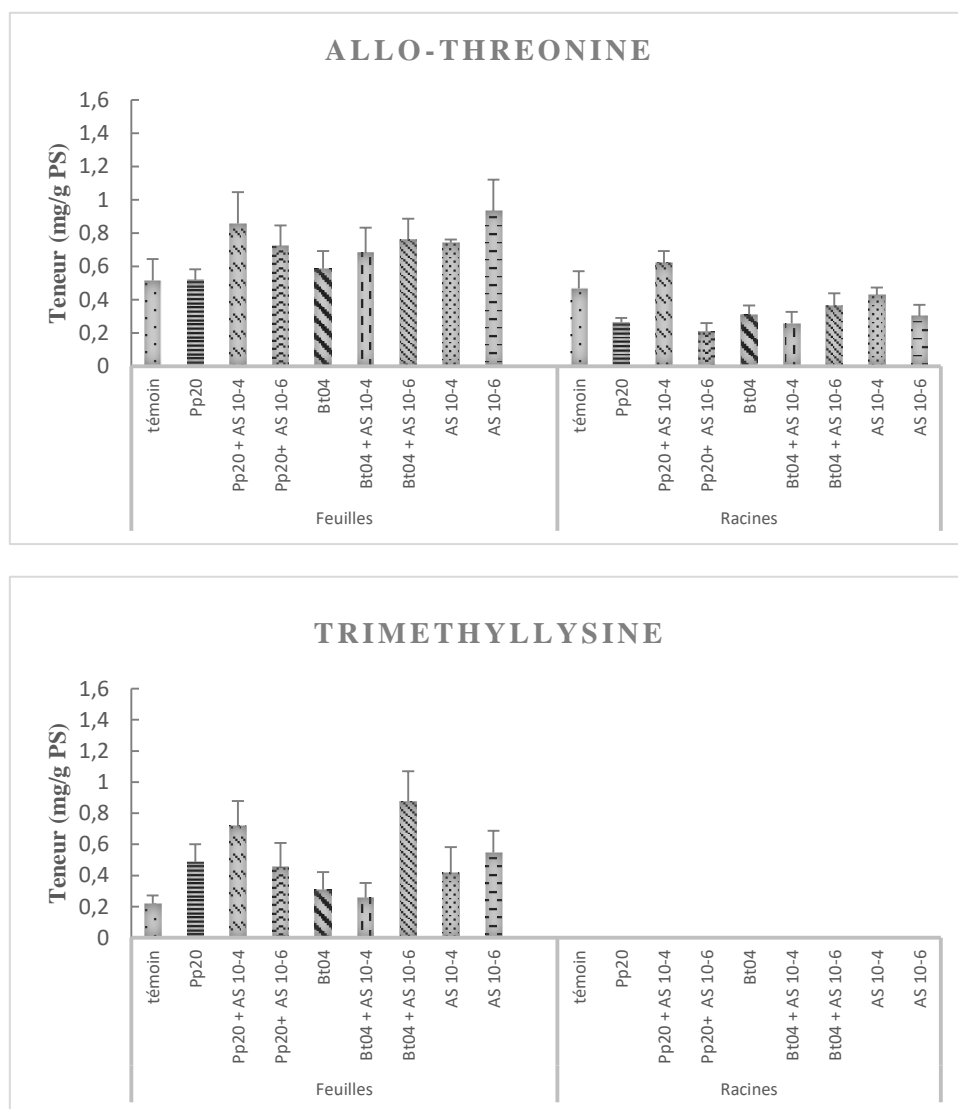
32



33



**Figure 59 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
 (31) ornithine 1,5-lactam, (32) N-acétyl-serine, (33) O-acétyl-serine.



**Figure 59 (suite) :** Teneur en dérivés d'acides aminés dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(34) allo-thréonine, (35) triméthyllysine.

### 3. Teneur en acides gras

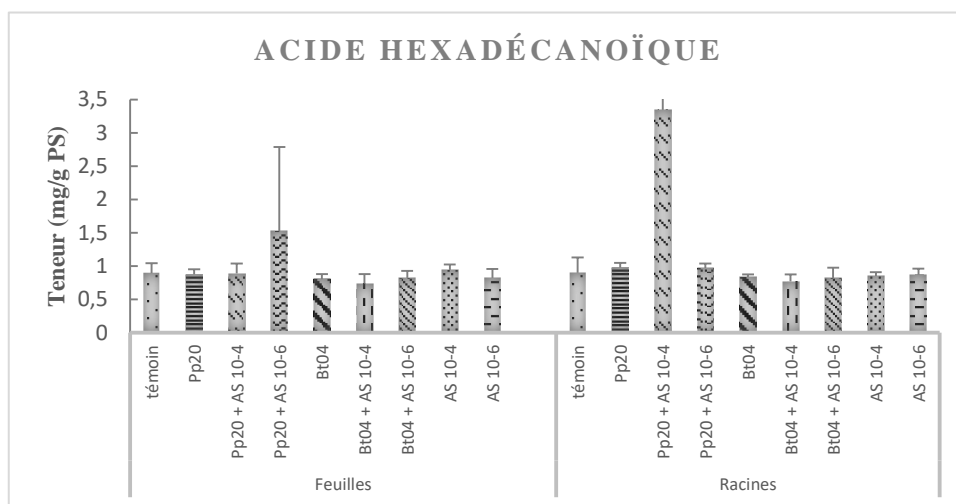
Les résultats ont montré que *Datura innoxia* contient 03 acides gras : **l'acide hexadécanoïque, l'acide hexanoïque et l'acide octadécanoïque (Fig.60).**

Pour cette famille, les teneurs dans les feuilles et les racines sont presque égales **(Fig.60).**

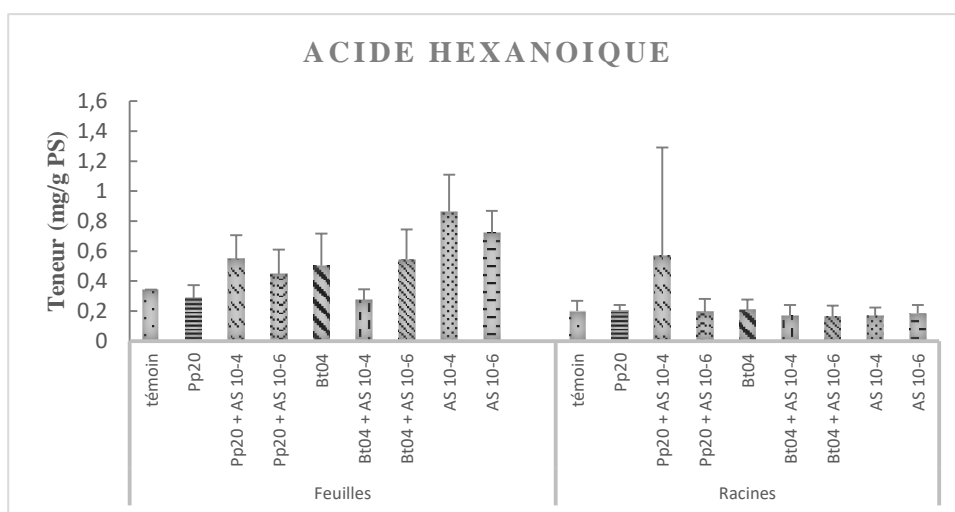
Avec les souches Pp20 et Bt04 et les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS, **l'acide hexadécanoïque et l'acide octadécanoïque** ont subi des diminutions de teneurs, dans les feuilles et les racines **(Fig.60 1, 3)**. Pour **l'acide hexanoïque**, la souche Bt04, la concentration  $10^{-4}$  M et la concentration  $10^{-6}$  M ont augmenté les teneurs de 47%, 152% et 111% respectivement dans les feuilles **(Fig.60 2)**.

Cependant, avec les combinaisons (PGPRs+AS), les teneurs ont été très variables. Dans les feuilles, la combinaison Pp20+ $10^{-6}$  M a augmenté les teneurs en **acide hexadécanoïque** et en **acide octadécanoïque** de 70% et 37% respectivement **(Fig.60 1,3)**. Alors que, la combinaison Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS a augmenté les teneurs en **acide hexanoïque** de 58% par rapport au témoin **(Fig.60 2)**. Cependant, dans les racines, la combinaison Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS a augmenté les teneurs des 03 acides de 271%, 200% et 157% pour **l'acide hexadécanoïque, l'acide hexanoïque et l'acide octadécanoïque**, respectivement **(Fig.60 1, 2, 3)**,

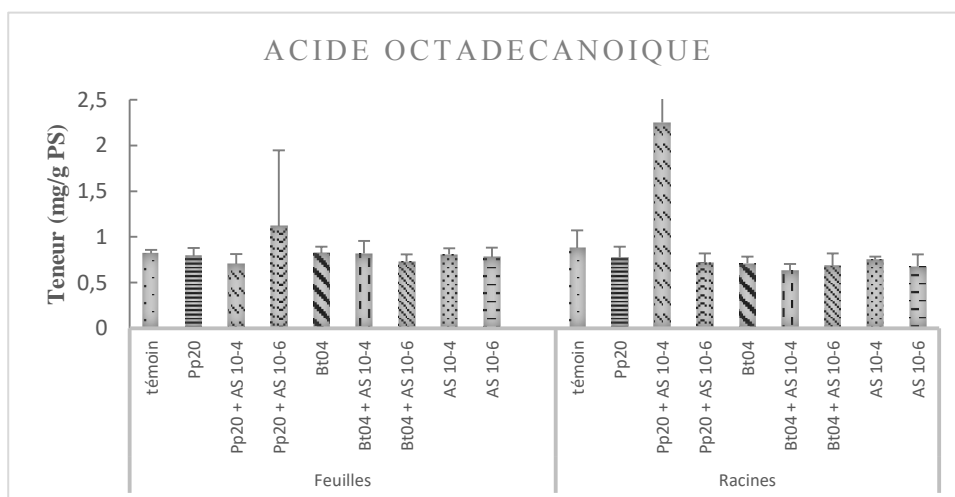
1



2



3



**Figure 60 :** Teneur en acides gras dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (1) l'acide hexadécanoïque, (2) acide hexanoïque, (3) acide octadécanoïque.

#### 4. Teneur en acides organiques

D'après les résultats, *Datura innoxia* renferme 29 acides organiques (10 acides plus que chez *Datura stramonium*): l'**acide 4-hydroxyphenyl-acétique**, l'**acide cis-aconitique**, l'**acide benzoïque**, l'**acide 3,4-dihydroxy-benzoïque**, l'**acide 2,4-dihydroxy-butanoïque**, l'**acide 4-dihydroxy-butanoïque**, l'**acide citrique**, l'**acide 2-méthyl-citrique**, l'**acide fumarique**, l'**acide glutarique**, l'**acide 2-hydroxy-glutarique**, l'**acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique**, l'**acide glycolique**, l'**acide isocitrique**, l'**acide lactique**, l'**acide 3-phényl-lactique**, l'**acide maléamique**, l'**acide malique**, l'**acide 2-isopropyl-malique**, l'**acide 2-méthyl-malique**, l'**acide malonique**, l'**acide oxalique**, l'**acide 2 carboxylique-pipéridine**, l'**acide pyruvique**, l'**acide shikimique**, l'**acide subérique**, l'**acide succinique**, l'**acide sulfurique** et l'**acide vanillique** (Fig.61).

Les teneurs en acides organiques varient en fonction de l'organe et du traitement. Les racines ne contiennent pas d'**acide 2-méthyl-malique** ni l'**acide sulfurique** et contiennent peu d'**acide 2-méthyl-citrique**, d'**acide oxalique** et d'**acide maléamique** sous forme de traces (Fig.61 20, 28, 8, 22, 17). Alors que, les feuilles ne contiennent pas d'**acide oxalique** et contiennent l'**acide lactique** et l'**acide 3-phényl-lactique** (Fig.61 22, 15, 16).

La figure 61 montre l'effet de l'inoculation par les PGPRs, l'élicitation par l'AS et les combinaisons (PGPR+AS) sur les teneurs en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia*. Dans les feuilles, la souche Pp20 a augmenté les teneurs en **acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique**, **acide 3,4-dihydroxy-benzoïque**, **acide 4-hydroxyphenyl-acétique**, **acide 2-méthyl-citrique** et en **acide sulfurique** de **115%**, **50%**, **44%**, **41%** et **32%** respectivement par rapport aux témoins (Fig.61 12, 4, 1, 8, 28). Cependant, dans les racines, elle a amélioré les teneurs en **acide 3,4 dihydroxy-Benzoïque**, **acide 3-phényl-lactique**, **acide glutarique** et en **acide benzoïque** de **536%**, **102%**, **96%** et **48%** respectivement (Fig.61 4, 16, 10, 3).

En outre, la souche Bt04 a amélioré dans les feuilles les teneurs en plusieurs acides organiques : l'**acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique**, l'**acide 2-méthyl-malique**, l'**acide succinique**, l'**acide 2-hydroxy-glutarique**, l'**acide benzoïque**, l'**acide cis-aconitique**, l'**acide 2-méthyl-citrique**, l'**acide 4-hydroxyphenyl-acétique**, l'**acide malique**, l'**acide shikimique** de **118%**, **108%**, **100%**, **93%**, **91%**, **67%**, **65%**, **56%**, **53%** et **42%** respectivement (Fig.61 12, 20, 27, 11, 3, 2, 8, 1, 18, 25). Par contre, dans les racines, cette souche n'a pas influencé les teneurs en acides organiques, sauf pour l'**acide 3,4-dihydroxy-benzoïque**, l'**acide 3-phényl-lactique** et l'**acide glutarique** avec des améliorations de **157%**, **68%** et **60%** respectivement.



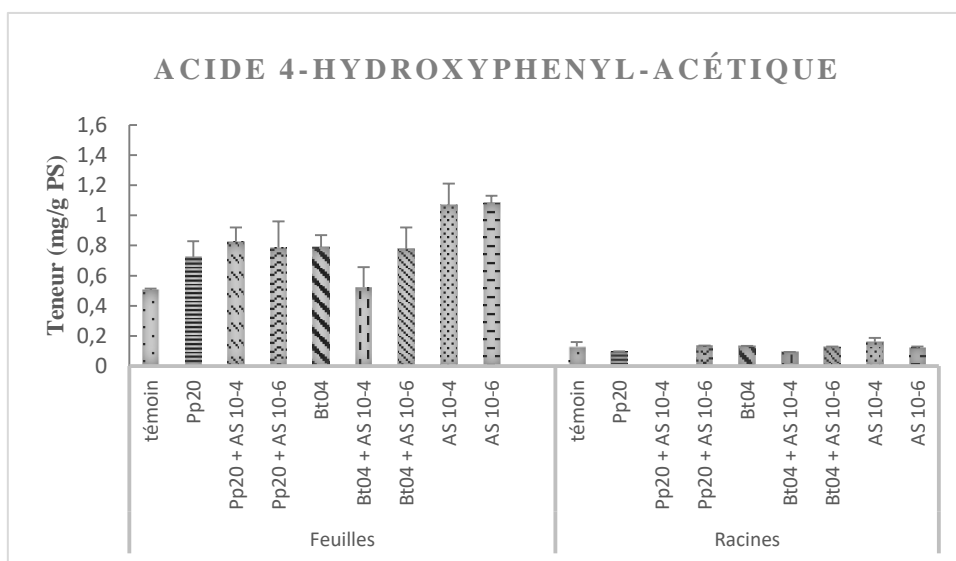
Les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS, ont augmenté les teneurs en tous les acides organiques, dans les feuilles, sauf avec **l'acide glutarique, l'acide 2-isopropyl-malique, l'acide malonique et l'acide sulfurique**. Pour la concentration  $10^{-4}$  M d'AS, les meilleures améliorations ont été enregistrées dans les feuilles avec **l'acide succinique, l'acide 2-méthyl-citrique, l'acide benzoïque, l'acide 2-méthyl-malique, l'acide 2-hydroxy-glutarique et l'acide 4-dihydroxy-butanoïque** de 300%, 173% , 169%, 162%, 121% et 120% respectivement (**Fig.61** 27, 8, 3, 20, 11, 6). Et dans les racines avec **l'acide 3,4-dihydroxy-benzoïque, l'acide 3-phényl-lactique et l'acide glutarique** de 231%, 191% et 145% respectivement (**Fig.61** 4, 16, 10). Alors que, par la concentration  $10^{-6}$  M d'AS les meilleures teneurs dans les feuilles ont été enregistrées pour **l'acide succinique, l'acide 2-méthyl-malique, l'acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique, l'acide malique et pour l'acide 4-hydroxyphenyl-acétique** avec 253%, 164%, 160%, 135% et 116% respectivement (**Fig.61** 27, 20, 12, 18, 1). Cependant, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en **acide 3-phényl-lactique, acide subérique et en acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique** de 134%, 90% et 27% respectivement (**Fig.61** 16, 26, 12).

Avec les combinaisons (PGPRs+AS), on a révélé des augmentations pour la majorité des acides organiques, dans les feuilles et les racines.

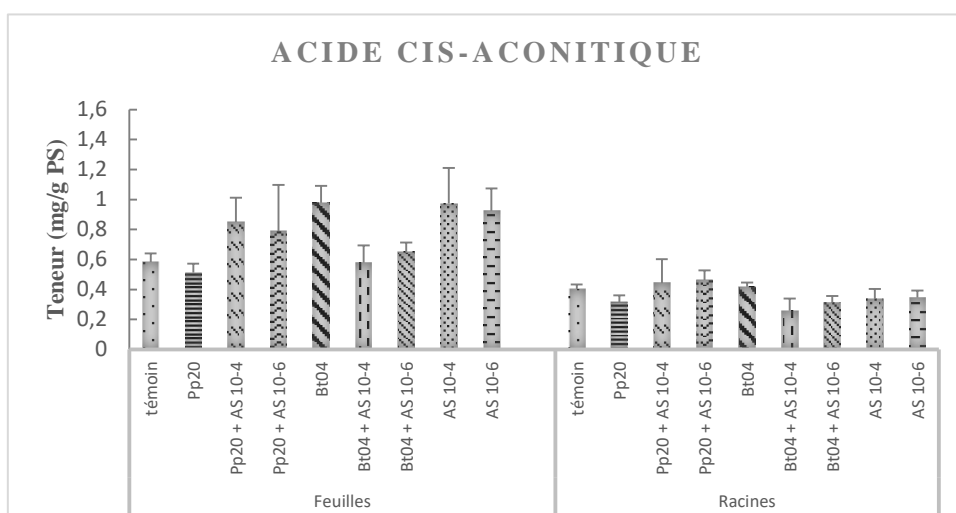
Les combinaisons (Pp20+AS) ont amélioré les teneurs en plusieurs acides organiques, à l'exception dans les feuilles de **l'acide glutarique, l'acide malonique et l'acide sulfurique** (**Fig.61** 10, 21, 28) et dans les racines de **l'acide 4-hydroxyphenyl-acétique, l'acide 2,4 dihydroxy-butanoïque, l'acide 4-dihydroxy-butanoïque, l'acide 2-méthyl-citrique, l'acide fumarique, l'acide glycolique, l'acide lactique, l'acide shikimique et l'acide succinique** (**Fig.61** 1, 5, 6, 8, 9, 13, 15, 25, 27).

Pour les combinaisons (Bt04+AS), les meilleures augmentations ont été enregistrée dans les feuilles avec **l'acide 4-hydroxyphenyl-acétique, l'acide 4-dihydroxy-butanoïque, l'acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique, acide malique, l'acide 2-méthyl-malique, l'acide succinique et l'acide vanillique** (**Fig.61** 1, 6, 12, 18, 20, 27, 29), et dans les racines avec **l'acide 3,4-dihydroxy-benzoïque, l'acide 3-phényl-lactique** (**Fig.61** 4, 16).

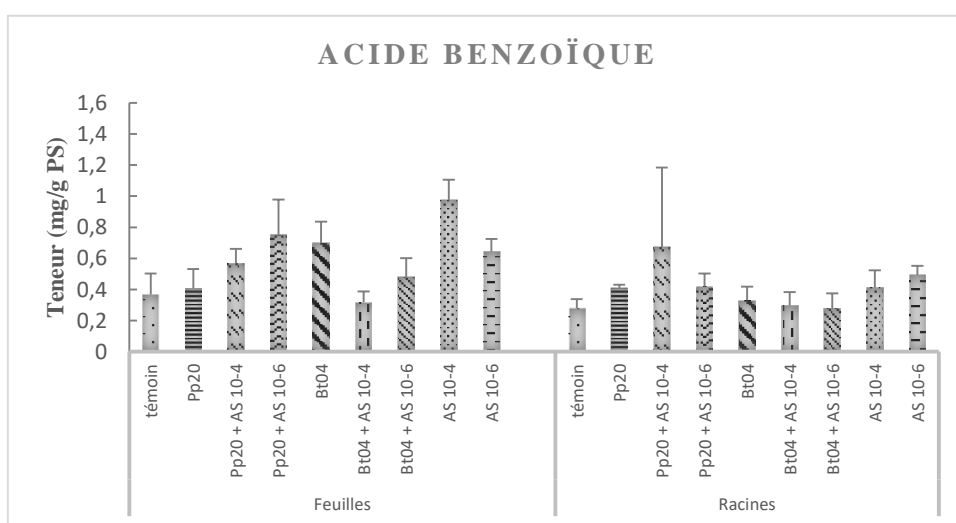
1



2

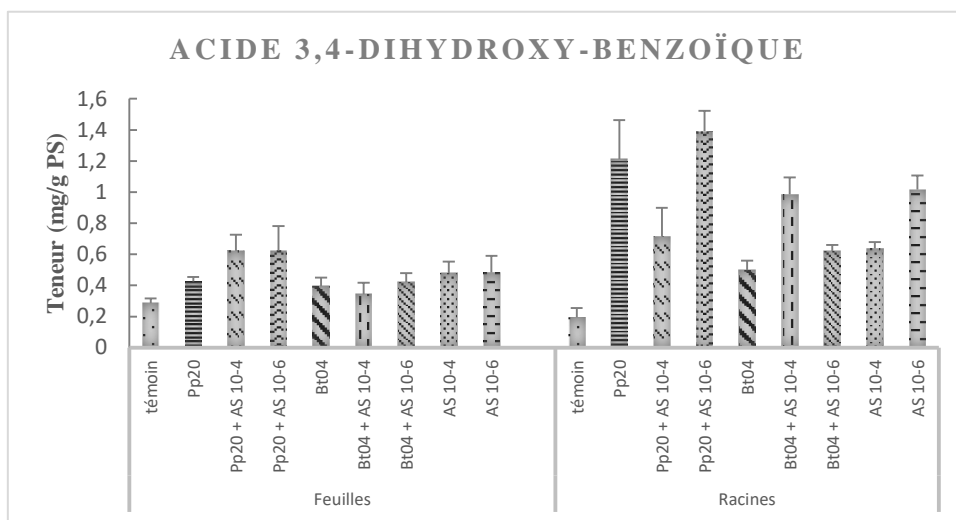


3

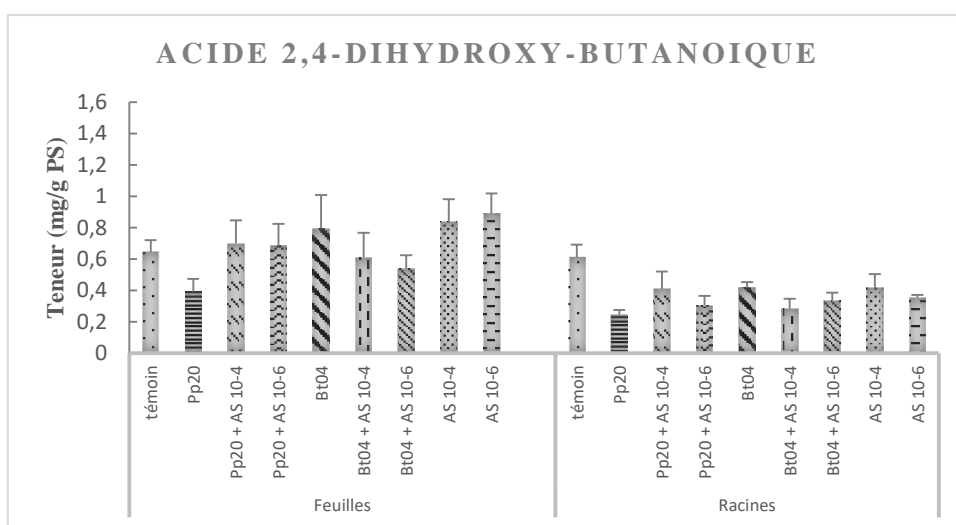


**Figure 61 :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 (1) acide 4-hydroxyphenyl-acétique, (2) acide cis- aconitique, (3) acide benzoïque.

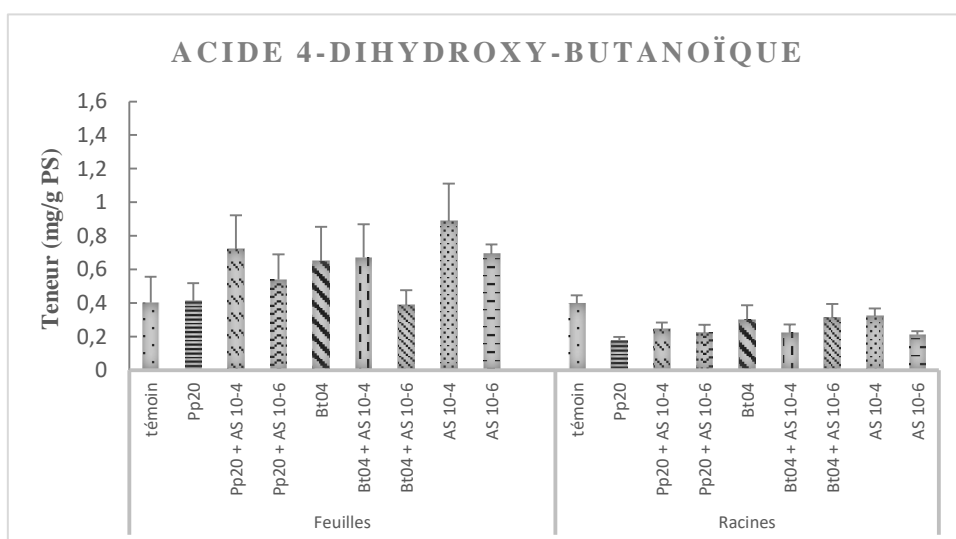
4



5

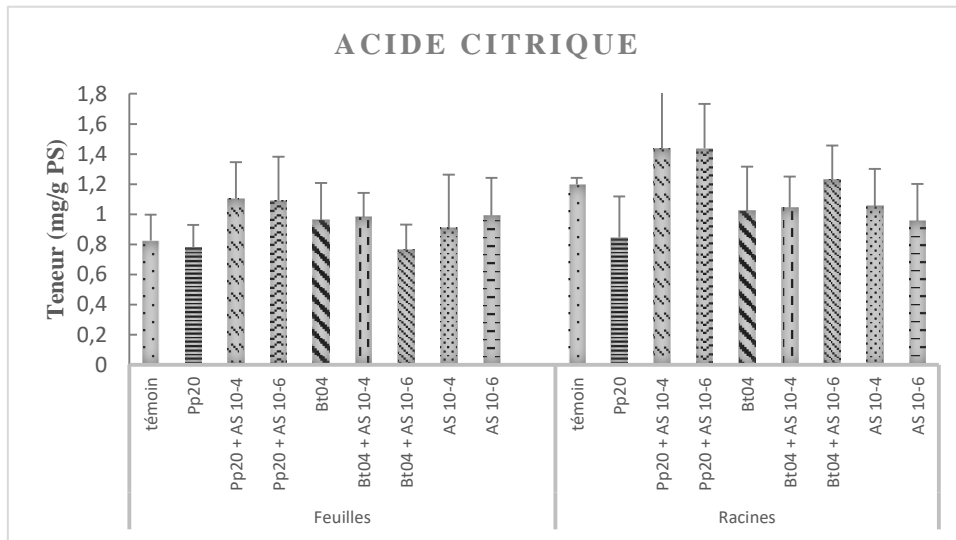


6

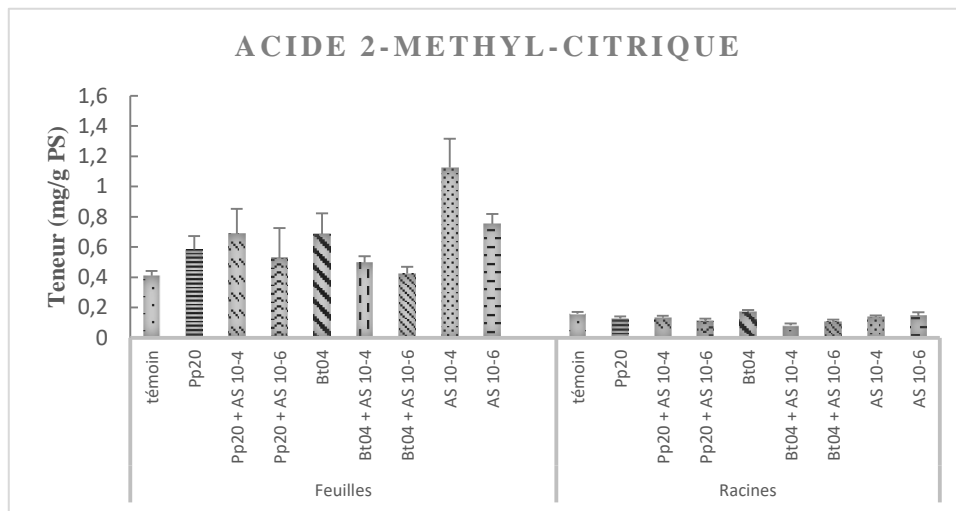


**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(4) acide 3,4-dihydroxy-benzoïque, (5) acide 2,4-dihydroxy-benzoïque, (6) l'acide 4-dihydroxy-butanoïque.

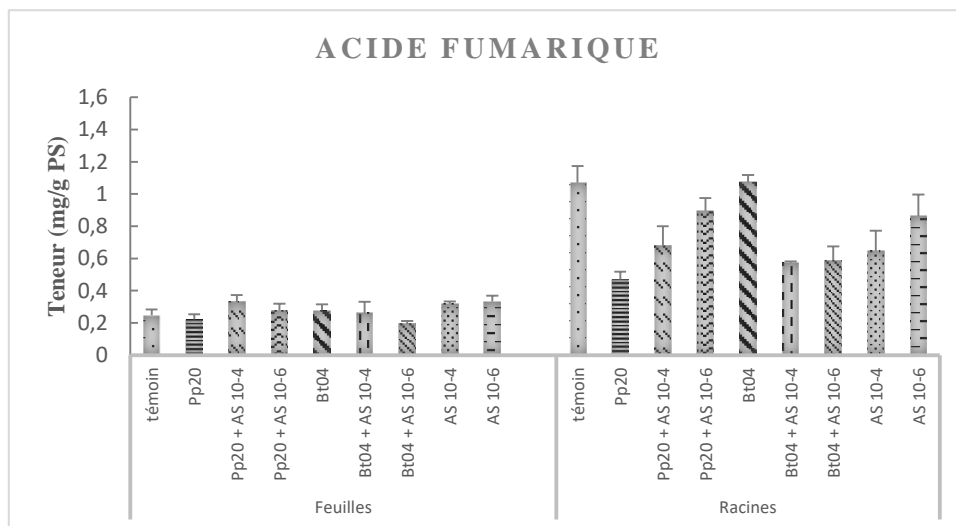
7



8

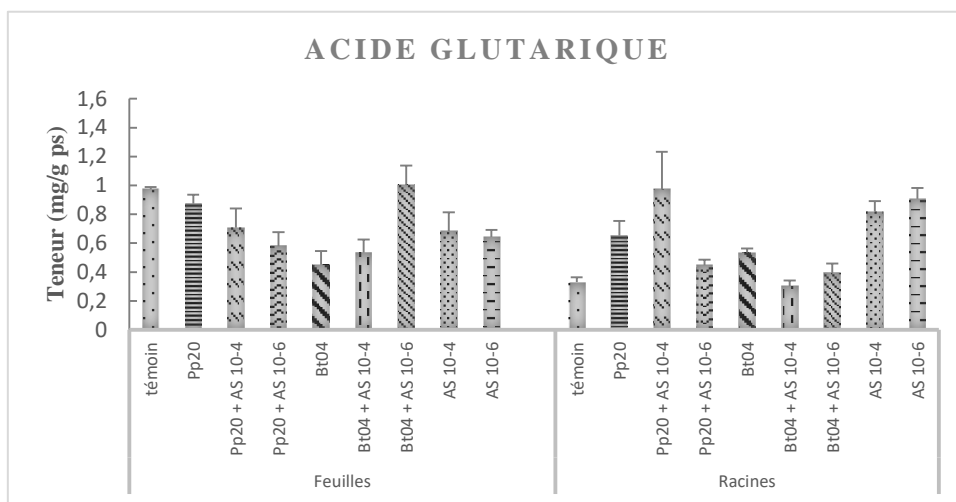


9

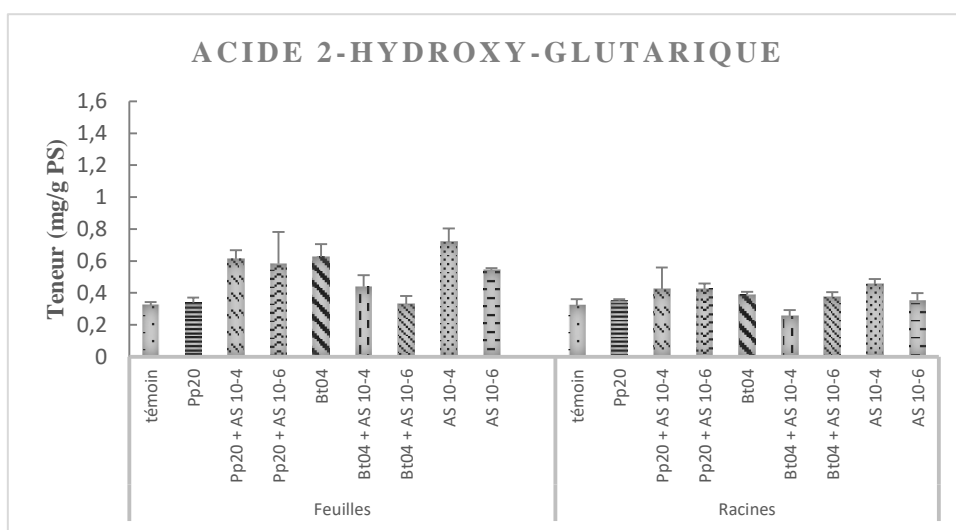


**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(7) acide citrique, (8) acide 2-méthyl-citrique, (9) acide fumarique.

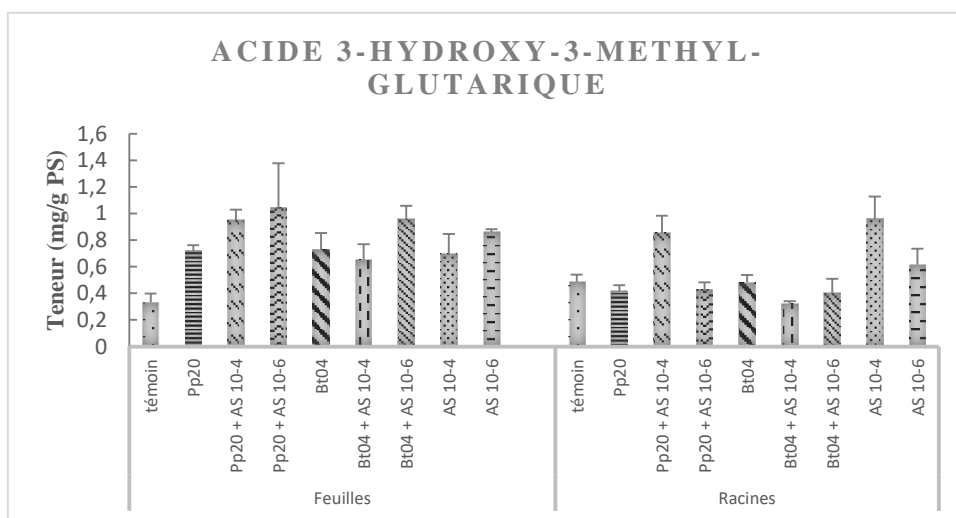
10



11



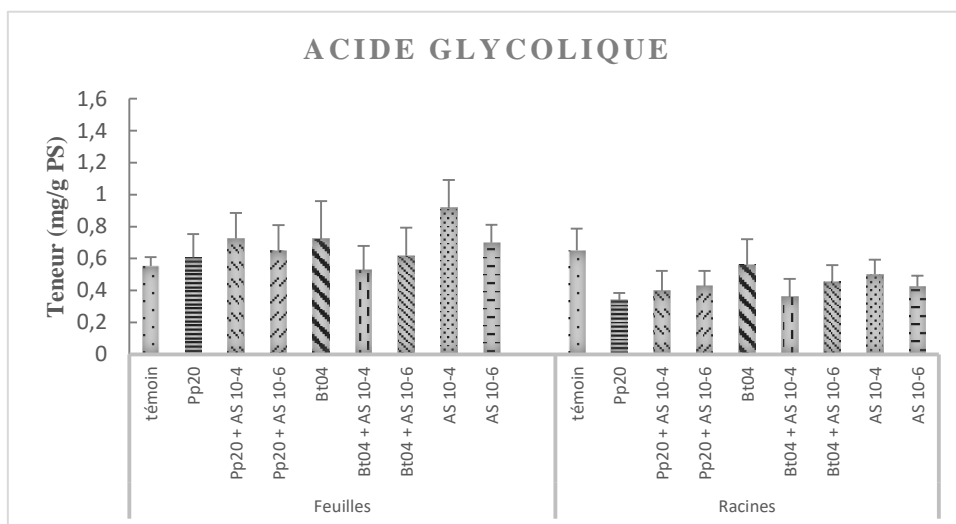
12



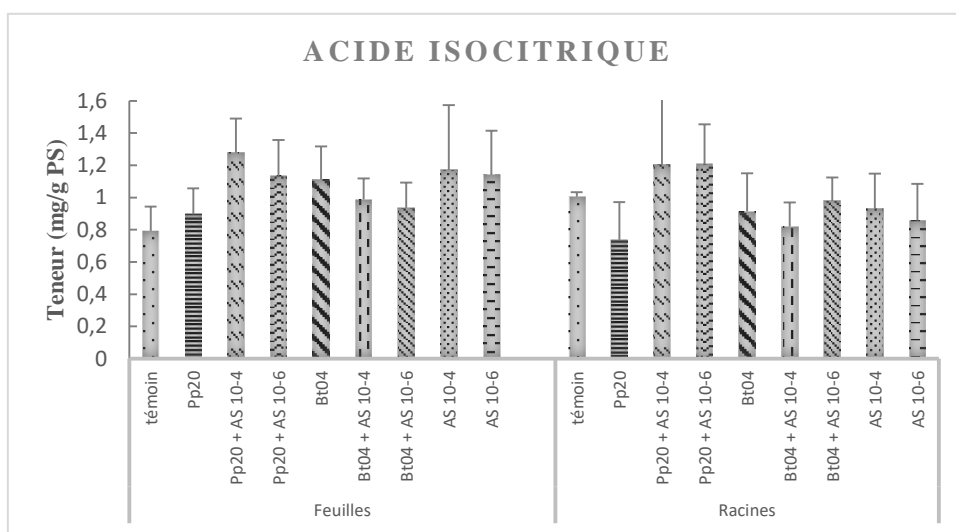
**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation n par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(10) acide glutarique, (11) acide2-hydroxy-glutarique, (12) acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique.

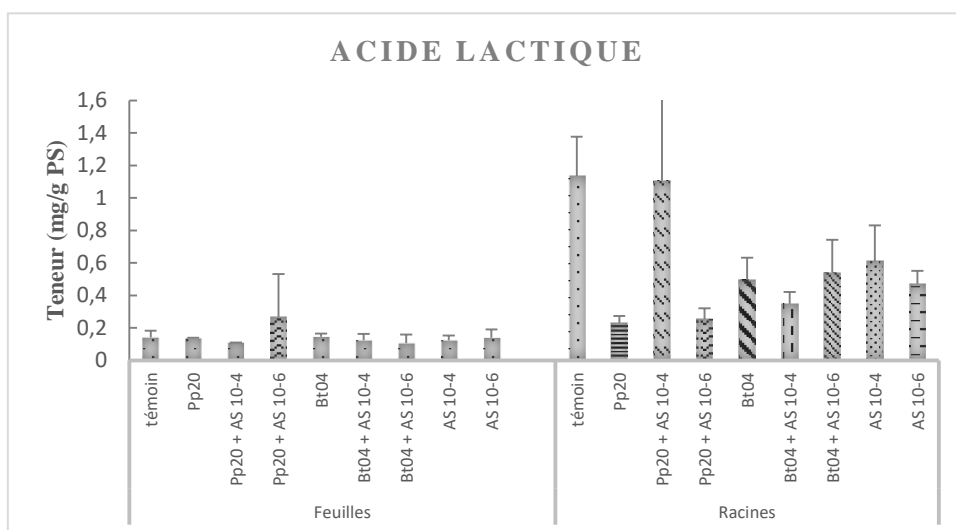
13



14



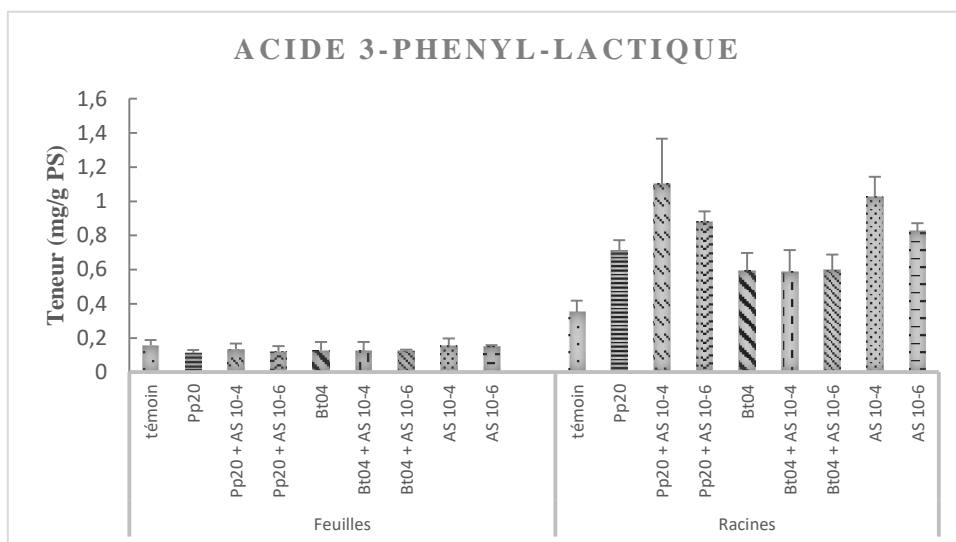
15



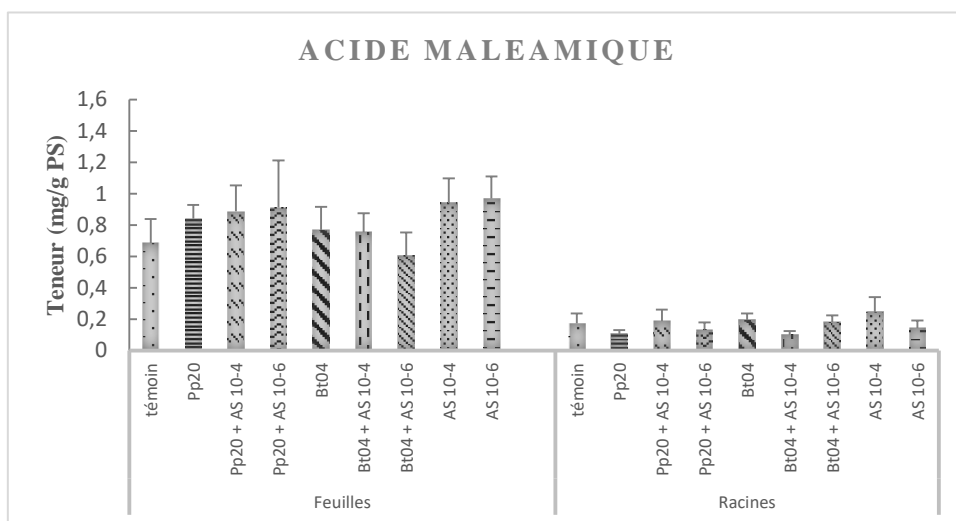
**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 0 2 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(13) acide glycolique, (14) acide isocitrique, (15) acide lactique.

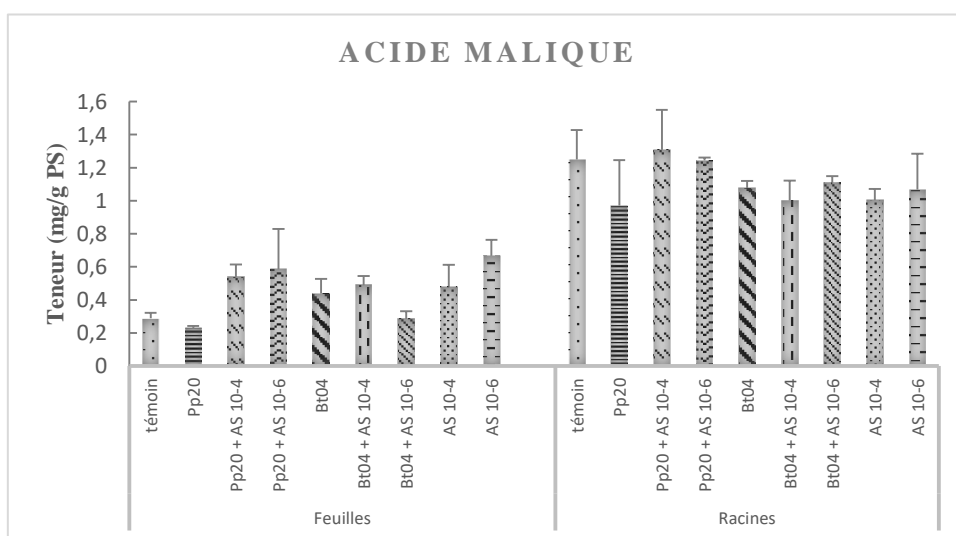
16



17



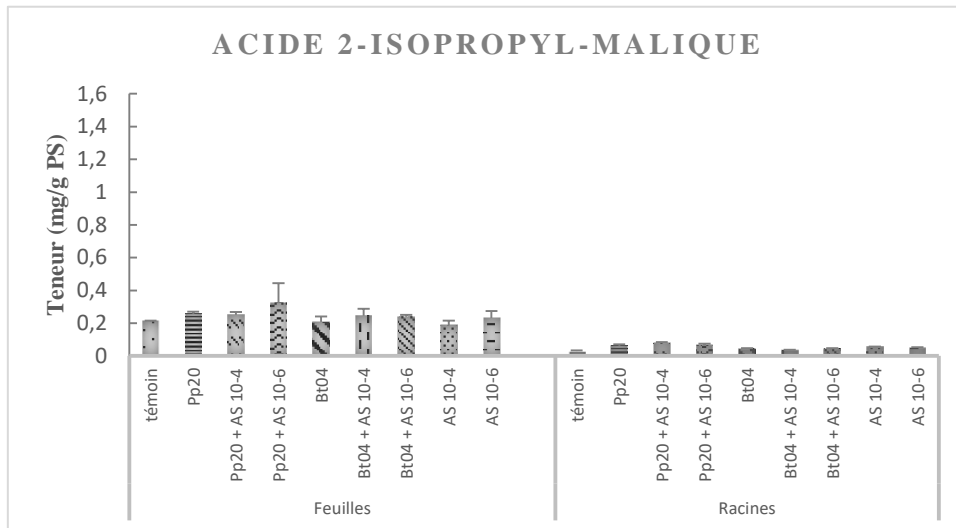
18



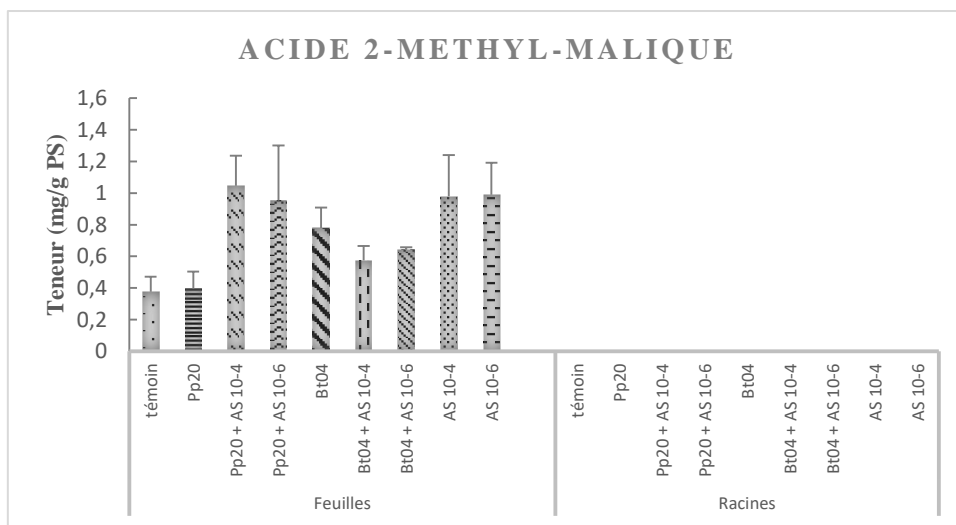
**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

(16) acide 3-phényl-lactique, (17) acide maléamique, (18) acide malique.

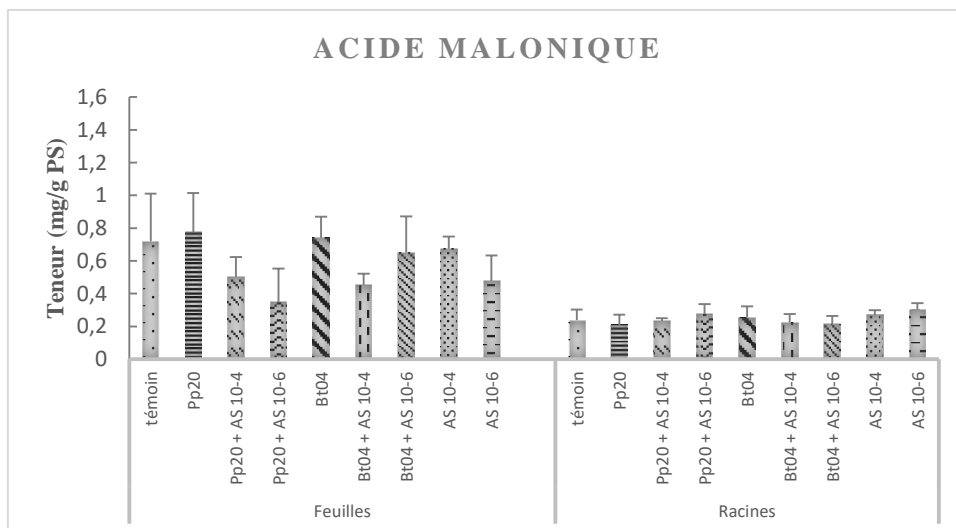
19



20



21

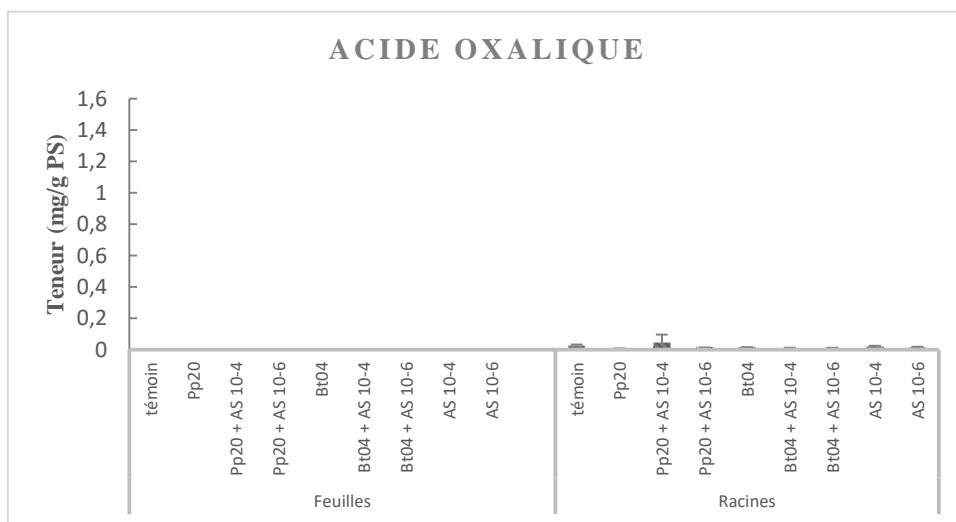


**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

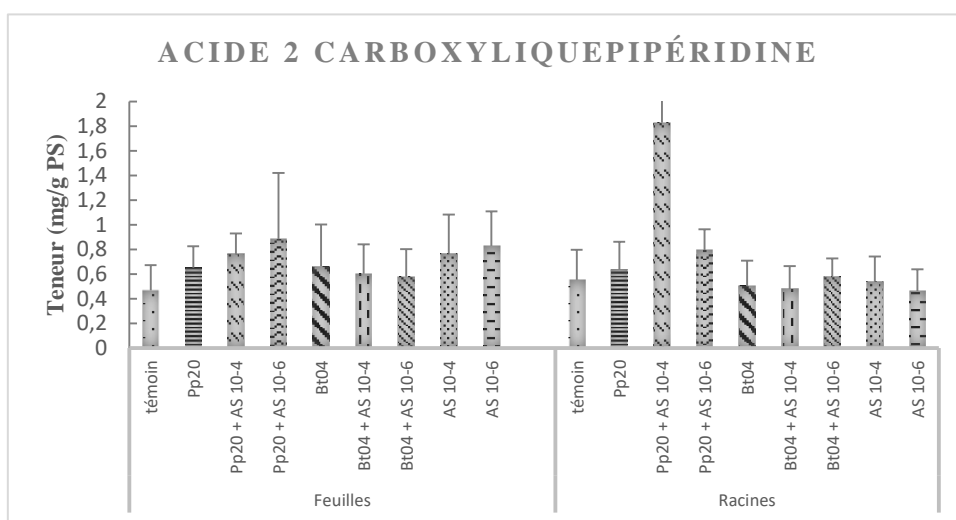
(19) acide 2-isopropyl-malique, (20) acide 2-méthyl-malique, (21) acide malonique.



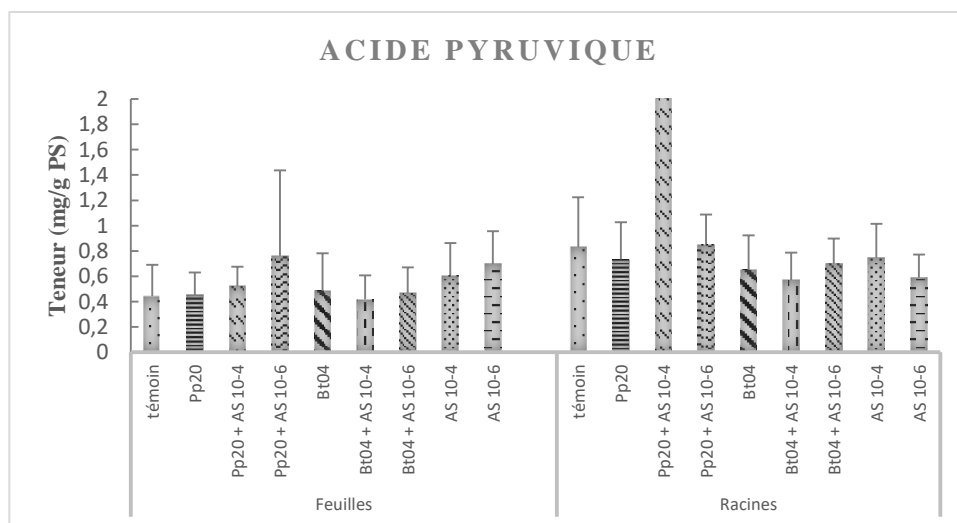
22



23

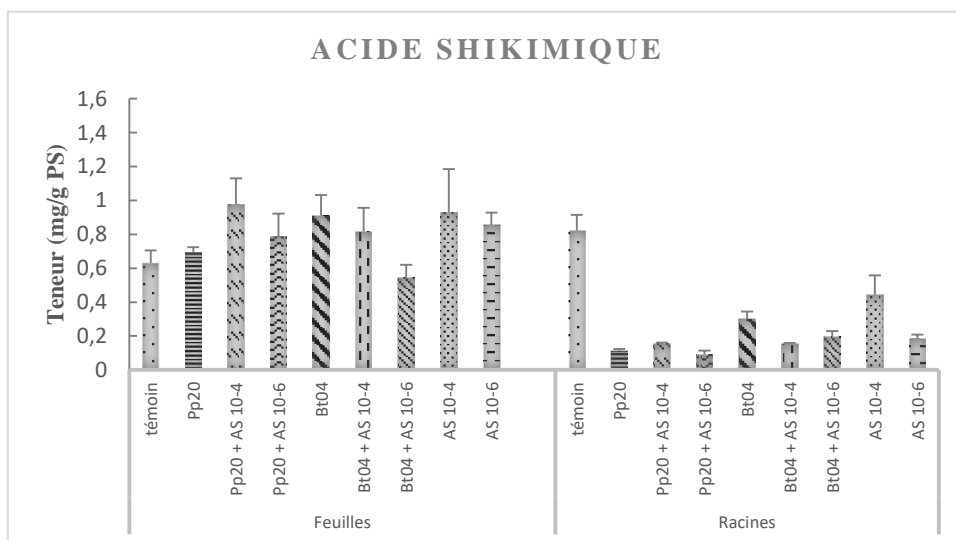


24

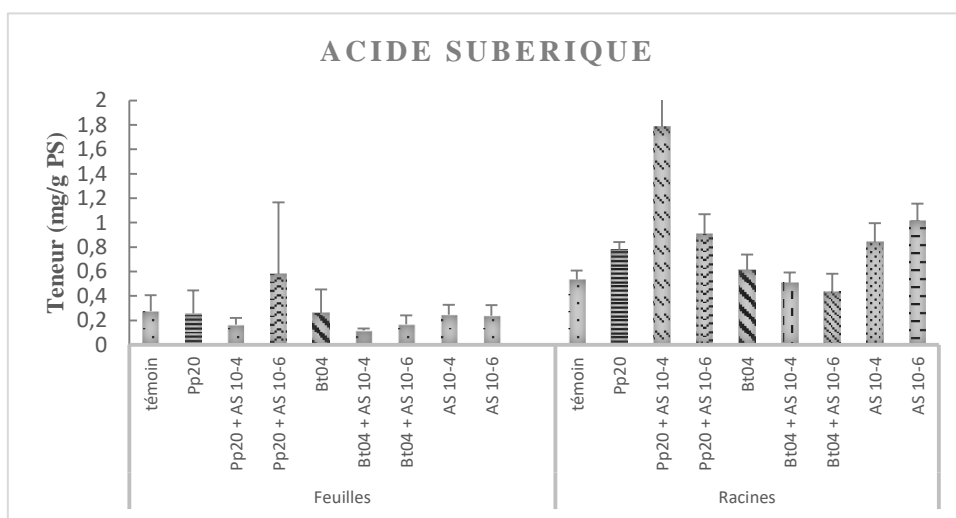


**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(22) acide oxalique, (23) acide 2 carboxylique-pipéridine, (24) acide pyruvique.

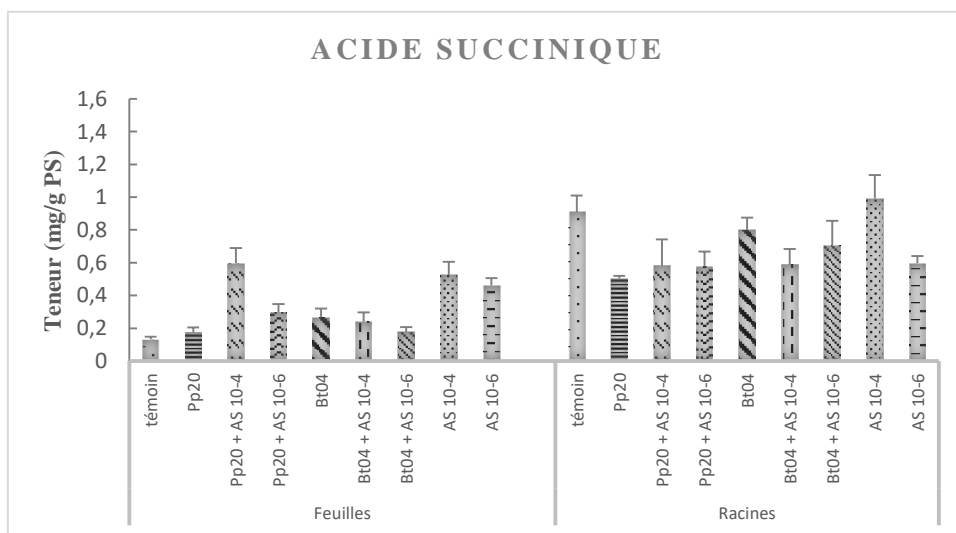
25



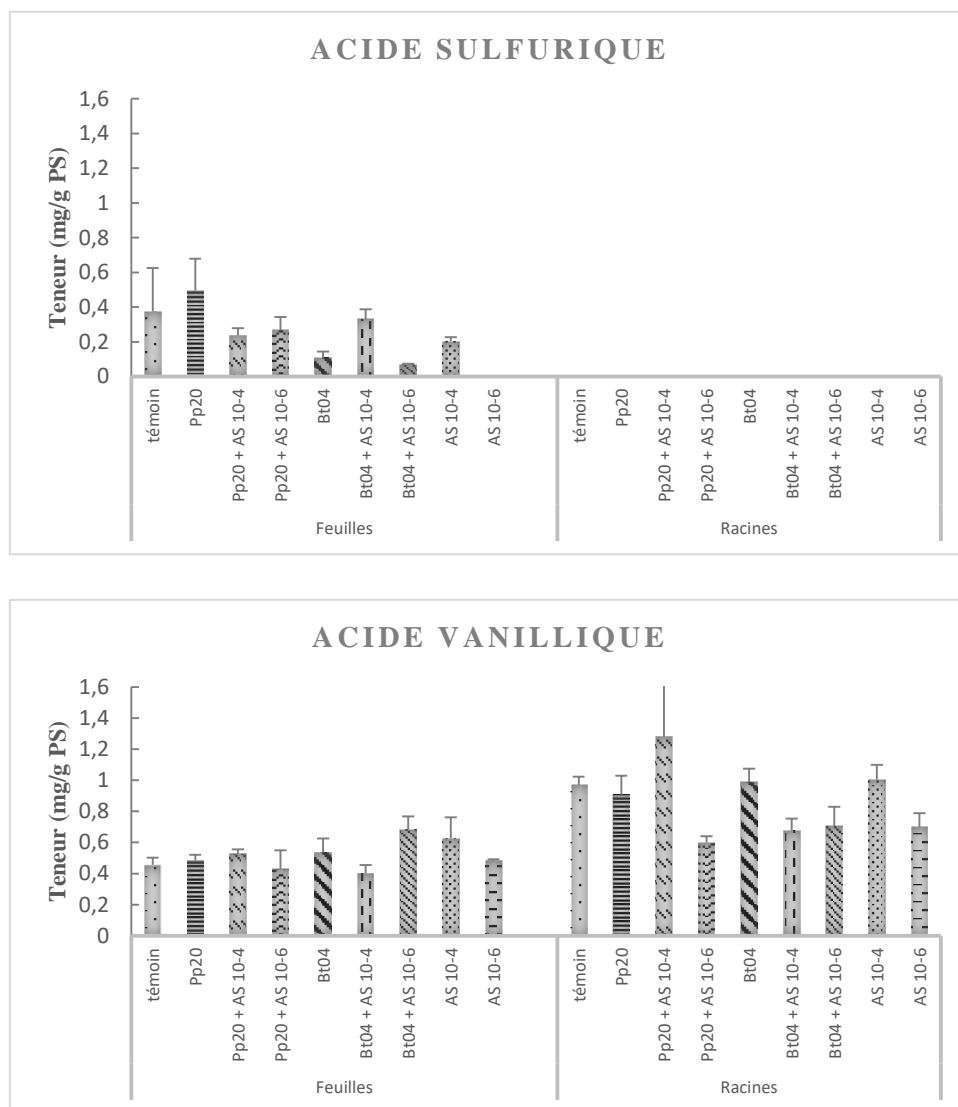
26



27



**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(25) acide shikimique, (26) acide suberique, (27) acide succinique.



29

**Figure 61 (suite) :** Teneur en acides organiques dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(28) acide sulfurique, (29) acide vanillique.

## 5. Teneur en dérivés de phosphate

Les résultats obtenus ont montré l'existence de 05 métabolites dans cette famille, le **glycérol-3-phosphate**, le **glycérophosphoglycérol**, le **myo-inositol-phosphate**, l'**acide phosphorique** et l'**ester monométhyle de l'acide phosphorique**.

En effet, on a observé que les teneurs en dérivés de phosphate dans les racines sont supérieures à celles dans les feuilles (**Fig.62**).

Pour cette famille et comme chez la famille précédente, à l'exception de quelques combinaisons (PGPR+AS), les autres traitements ont montré des diminutions des teneurs.

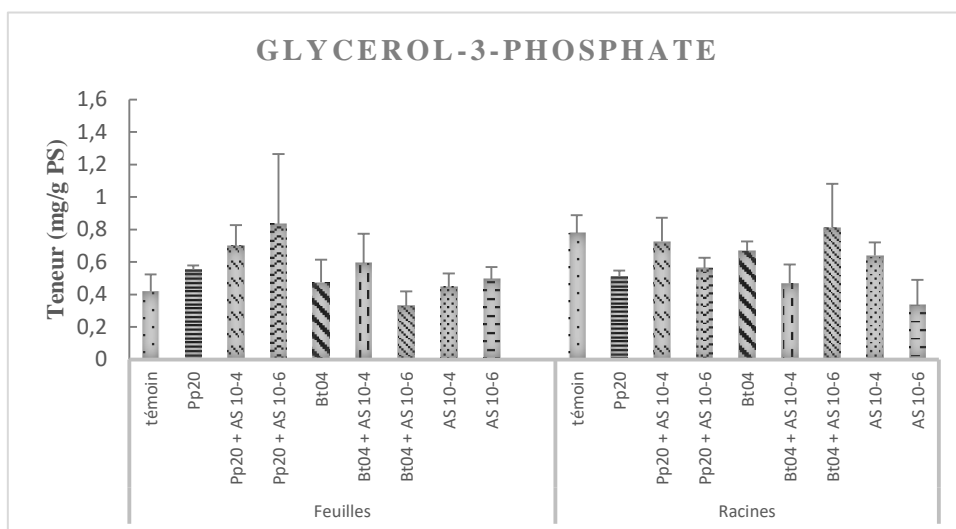
La souche Pp20 a augmenté les teneurs dans les feuilles en **ester monométhyle de l'acide phosphorique (214%)**, **glycérol-3-phosphate (34%)** et en **acide phosphorique (10%)** (**Fig.62** 4, 1, 5). Alors que, dans les racines, elle n'a pas influencé les teneurs en dérivés de phosphate.

De même, la souche Bt04 a montré des faibles améliorations dans les feuilles du **glycérol-3-phosphate (14%)**, du **myo-inositol-phosphate (31%)** et de l'**ester monométhyle de l'acide phosphorique (57%)** (**Fig.62** 1, 3, 5).

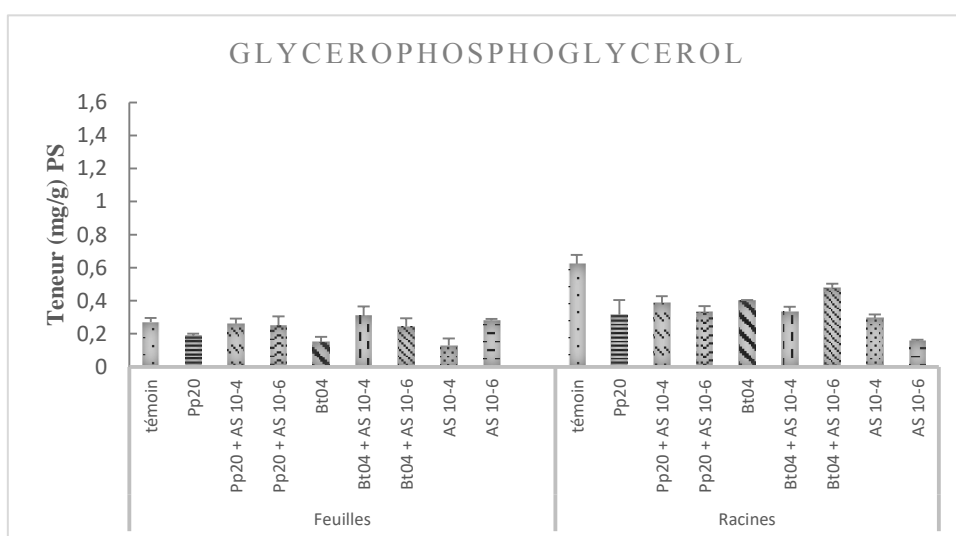
Pour les 2 concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS, des augmentations ont été enregistrées dans les feuilles avec le **glycérol-3-phosphate** ( $10^{-6}$  M d'AS (19%)), l'**acide phosphorique** ( $10^{-4}$  M d'AS (15%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (6%)), et l'**ester monométhyle de l'acide phosphorique** ( $10^{-4}$  M d'AS (215%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (240%)) (**Fig.62** 1, 4, 5).

Par ailleurs, les combinaisons Pp20+AS ont augmenté, dans les feuilles, les teneurs en **glycérol-3-phosphate** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (68%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (102%)), **myo-inositol-phosphate** (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (400%)), **acide phosphorique** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (31%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (37%)) et en **ester monométhyle de l'acide phosphorique** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (157%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (128%)) (**Fig.62** 1, 3, 4, 5). Cependant, dans les racines, elle a amélioré la teneur en **acide phosphorique** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (78%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (38%)) (**Fig.62** 4). En outre, les combinaisons Bt04+AS ont amélioré dans les feuilles les teneurs en **glycérol-3-phosphate** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (43%)), **acide phosphorique** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (28%)) et en **ester monométhyle de l'acide phosphorique** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (200%) ; Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (128%)) (**Fig.62** 1, 4, 5).

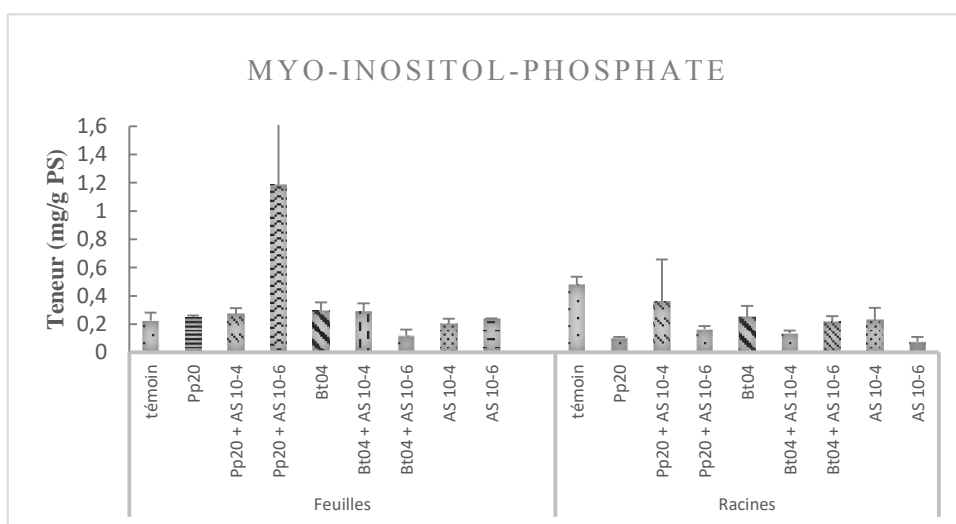
1



2

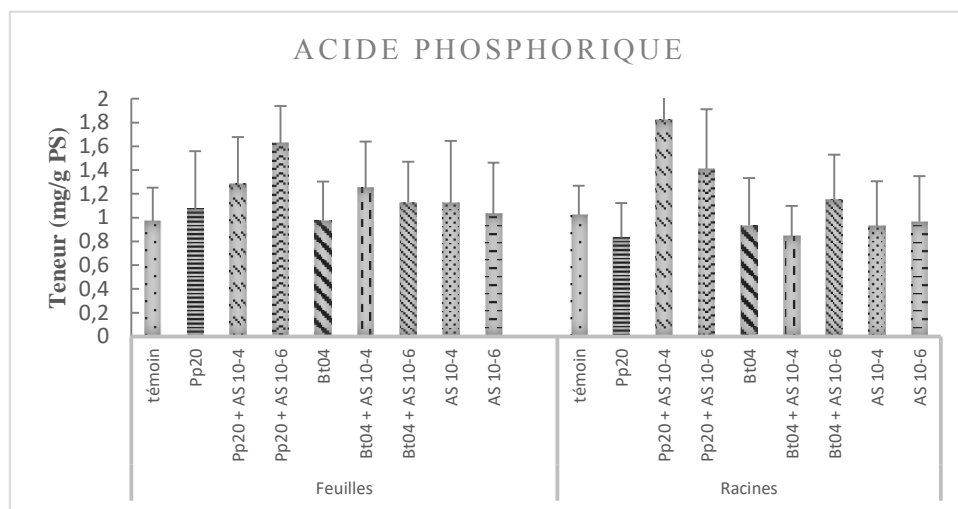


3

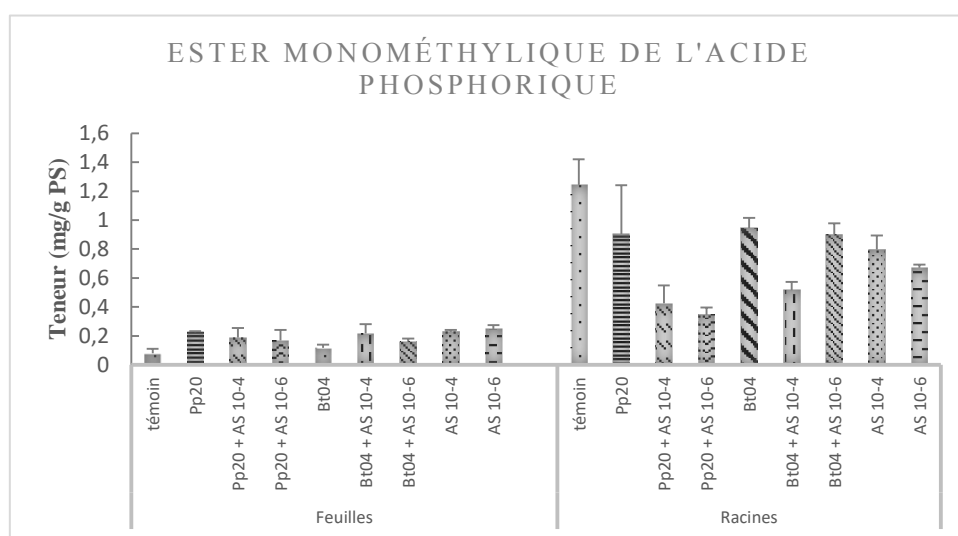


**Figure 62 :** Teneur en dérivés de phosphate dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(1) glycérol-3-phosphate, (2) glycérophosphoglycérol, (3) myo-inositol-phosphate.

4



5



**Figure 62 (suite) :** Teneur en dérivés de phosphate dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(4) acide phosphorique, (5) ester monométhyle de l'acide phosphorique.

## 6. Teneur en polyols

Selon les résultats obtenus, *Datura innoxia* contient 10 polyols : **l'arabitol, l'érythritol, le galactitol, le glycérol, le mannitol, le myo-inositol, le ribitol, le sorbitol, le thréitol et le xylitol (Fig.63).**

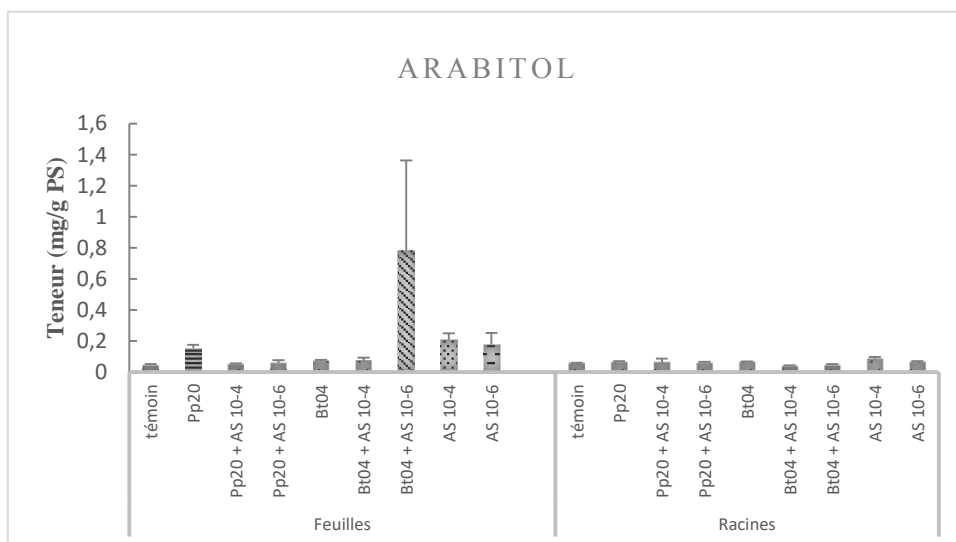
Les feuilles contiennent de faibles teneurs en **arabitol** et en **mannitol (Fig.63 1, 5)**. Alors que, les racines comportent peu d'**arabitol, d'érythritol et de mannitol** et pas de **thréitol (Fig.63 1, 2, 5, 9)**.

La souche Pp20, a augmenté les teneurs, dans les feuilles, en **arabitol (240%), galactitol (18%), ribitol (10%), xylitol (18%)** et surtout en **mannitol (500%) (Fig.63 1, 3, 7, 10)**. Alors que, dans les racines, elle n'a augmenté que la teneur en **mannitol (84%)** et légèrement la teneur en **arabitol (12%)** et en **glycérol (9%) (Fig.63 5, 1, 4)**. Cependant, la souche Bt04, a augmenté, dans les feuilles, les teneurs en **xylitol (161%), galactitol (127%), sorbitol (123%)** et en **arabitol (59%) (Fig.63 10, 3, 8, 1)**. Mais dans les racines, elle n'a influé que légèrement la teneur en **arabitol** et en **galactitol** de 16% et 11% respectivement (**Fig.63 1, 3**).

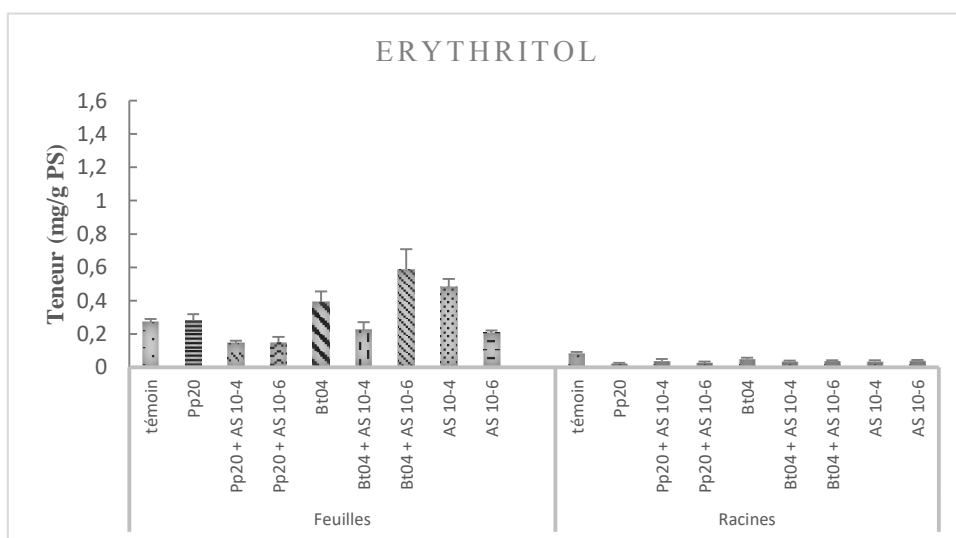
De même, avec les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS les teneurs dans les feuilles en polyols ont été augmentées dans les feuilles, à l'exception du **myo-inositol** et du **sorbitol**, surtout pour **l'arabitol ( $10^{-4}$  M d'AS (364%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (294%)) (Fig.63 6, 8, 1)**. Cependant, dans les racines, elles ont augmenté les teneurs en **mannitol** (28% avec  $10^{-6}$  M d'AS) et en **xylitol** (104% avec  $10^{-4}$  M d'AS) (**Fig.63 5, 10**).

Par ailleurs, la combinaison (Bt04+ $10^{-6}$  M AS) a augmenté significativement les teneurs dans les feuilles en **arabitol (1631%), mannitol (490%), érythritol (117%)** et en **ribitol (39%) (Fig.63 1, 5, 2, 7)**, et dans les racines en **galactitol (78%)**. De même, les combinaisons (Pp20+ $10^{-6}$  M AS), ont influencé, dans les feuilles, les teneurs en **xylitol, mannitol** et en **glycérol** de **199%, 30% et 27%** respectivement (**Fig.63 10, 5, 4**), et dans les racines en **mannitol** et en **glycérol** de **124% et 19%** respectivement (**Fig.63 5, 4**).

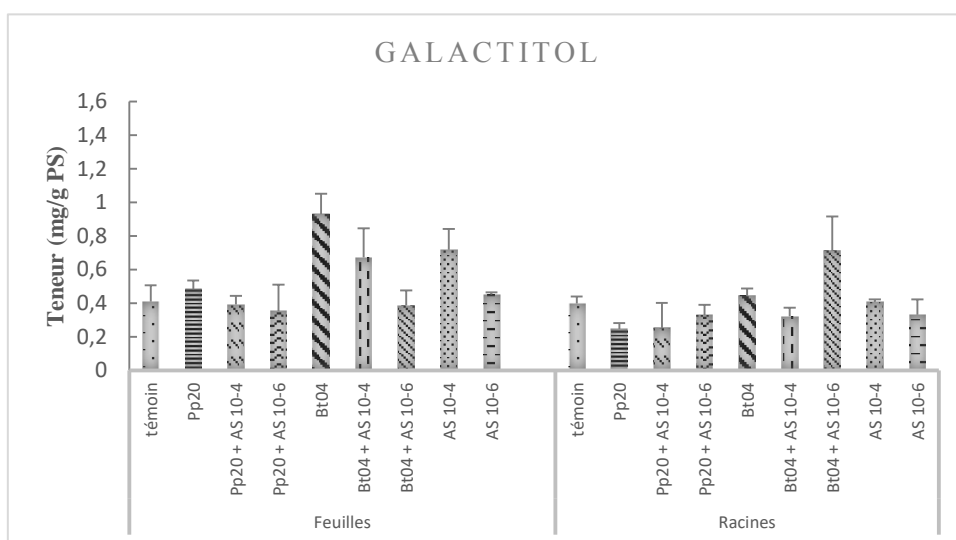
1



2



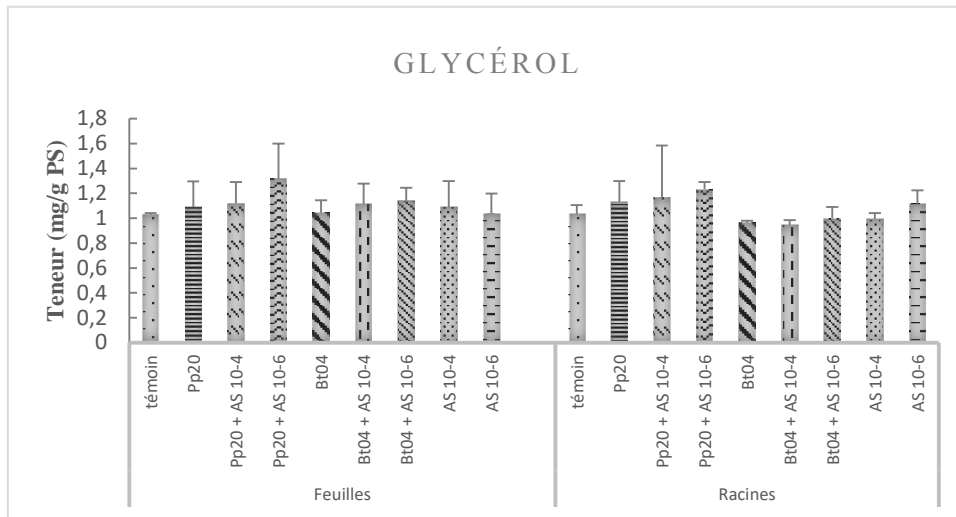
3



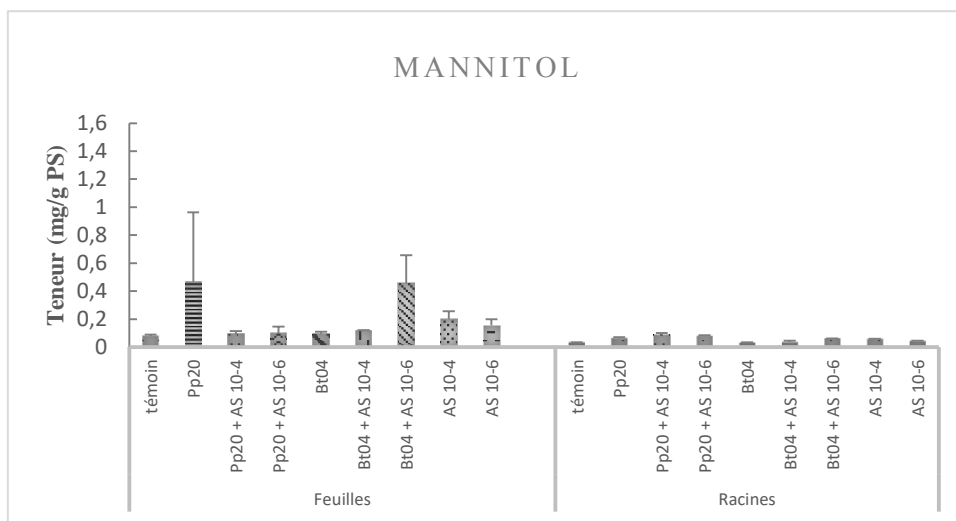
**Figure 63 :** Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. (1) arabitol, (2) érythritol, (3) galactitol.



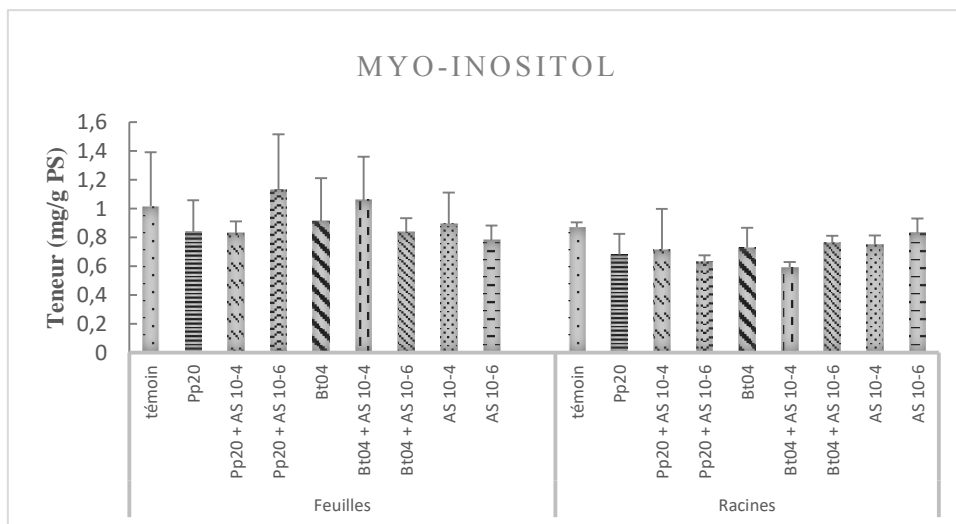
4



5

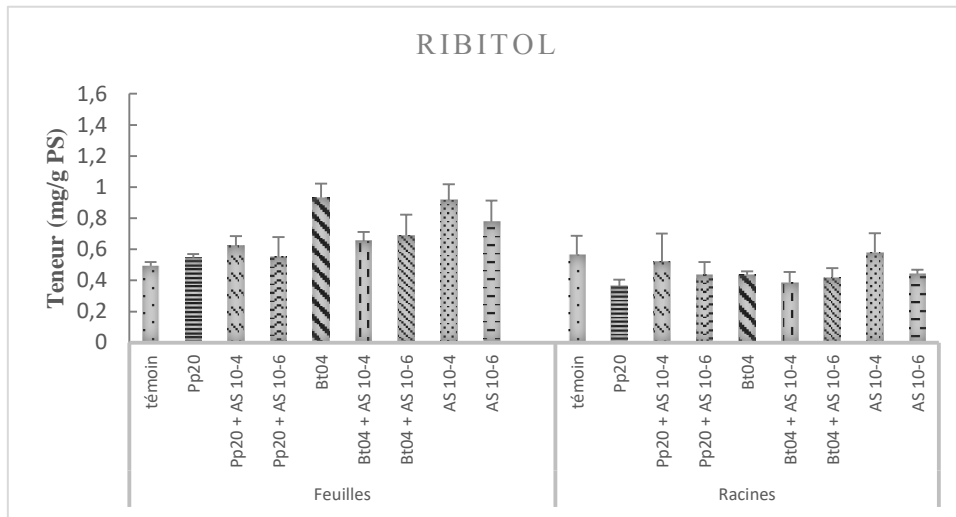


6

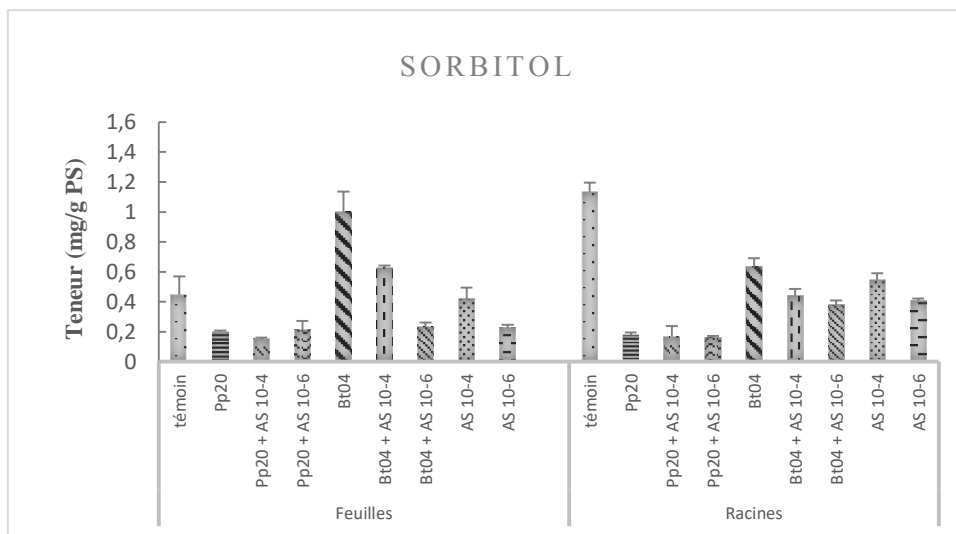


**Figure 63 (suite) :** Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(4) glycérol, (5) mannitol, (6) myo-inositol.

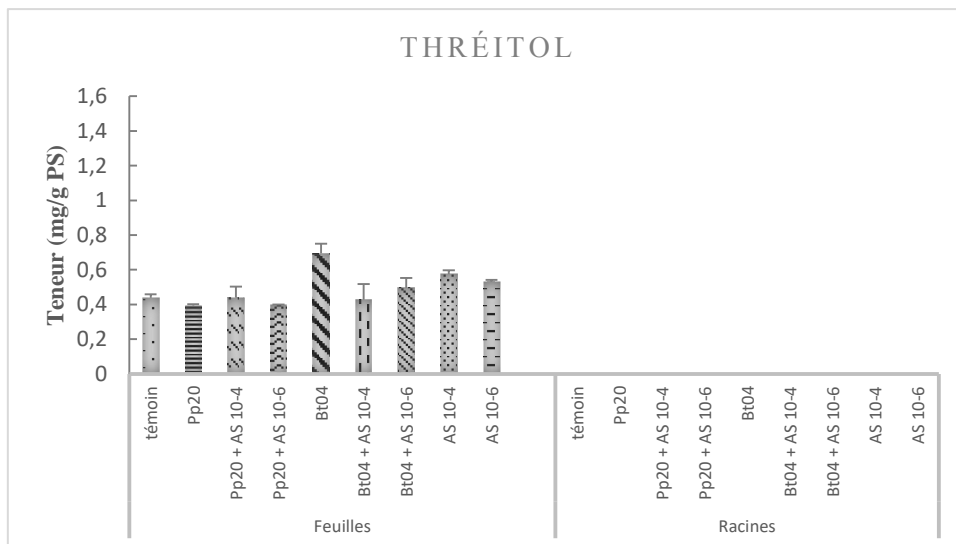
7



8



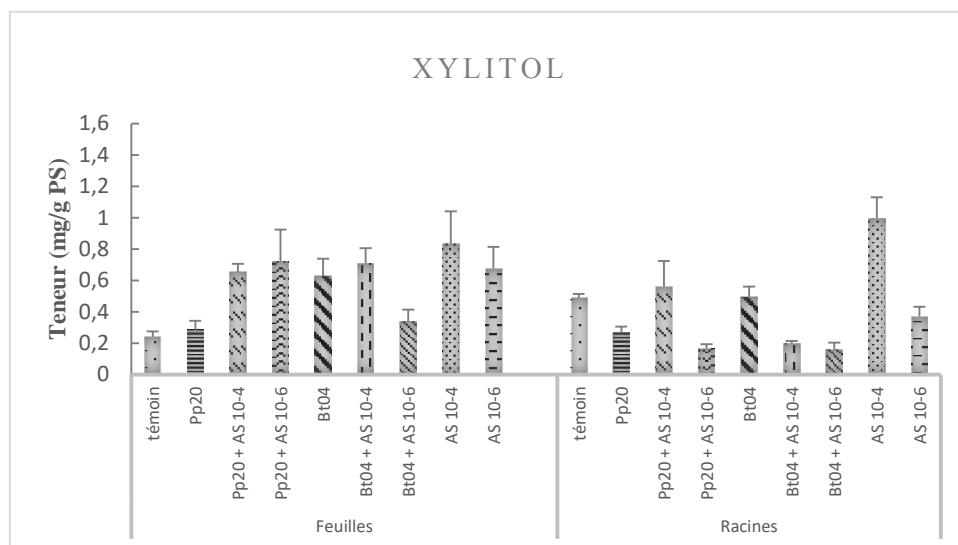
9



**Figure 63 (suite) :** Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(7) ribitol, (8) sorbitol, (9) thréitol.

10



**Figure 63 (suite) :** Teneur en polyols dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(10) xylitol.

## 7. Teneur en composés de l'azote

Les résultats ont montré que *Datura innoxia* renferme 29 molécules considérés comme composés de l'azote : l'adénine, l'acide 2, 4-imidazolidone-carboxylique, l'allantoïne, la cytidine, l'éthanolamine, la N-acétylglucosamine, la 2-amino-2-deoxy-glucose, la guanine, la guanosine, la 2'-deoxy-guanosine, l'inosine, l'acide nicotinique, l'octopamine, la phényléthylamine, l'acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propanoïque, la putrescine, la 2,3-dihydroxy-pyridine, la 2-hydroxy-pyridine, la 3-hydroxy-pyridine, l'acide pyrrole-2-carboxylique, la saccharopine, la thymine, la tyramine, l'uracile, l'acide urique, l'uridine, l'acide 5-amino-valérique, la xanthine et la xanthosine (Fig.64).

Ainsi, on a constaté que, les racines sont dépourvues d'acide 2,4-imidazolidone-carboxylique, acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propanoïque, saccharopine et d'acide 5-amino-valérique (Fig.64 2, 15, 21, 27). Elles renferment la putrescine, l'acide pyrrole-2-carboxylique, l'uracile et la xanthosine en très faibles teneurs (Fig.64 16, 20, 25, 29).

A l'exception de la cytidine, l'acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propanoïque, la 2,3-dihydroxy-pyridine, la 3-hydroxy-pyridine, l'acide urique et la xanthosine (Fig.64 4, 15, 17, 19, 25, 29), la souche Pp20 a amélioré les teneurs dans les feuilles pour tout le reste des molécules, surtout pour la 2'-deoxy-guanosine (289%), la guanine (132%) et la saccharopine (126%) (Fig.64 10, 8, 21). Alors que, dans les racines, elle n'a augmenté que les teneurs en éthanolamine, N-acétylglucosamine, 2'-deoxy-guanosine, l'acide nicotinique, octopamine, phényléthylamine, thymine, tyramine et surtout en guanine (150%) (Fig.64 5, 6, 10, 12, 13, 14, 22, 23, 8).

Cependant, la souche Bt04, dans les feuilles, a augmenté les teneurs en cytidine, N-acétylglucosamine, guanine, guanosine, inosine, acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propanoïque, acide pyrrole-2-carboxylique, saccharopine, tyramine, uracile, acide 5-amino-valérique et surtout en xanthine (302%), 2-amino-2-deoxy-glucose (194%), 2'-deoxy-guanosine (179%) et thymine (125%) (Fig.64 4, 6, 8, 9, 11, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28, 7, 10, 22). Alors que, dans les racines, elle a augmenté les teneurs en N-acétylglucosamine, 2-amino-2-deoxy-glucose, 2'-deoxy-guanosine, thymine, xanthosine et surtout en guanine (84%) (Fig.64 6, 7, 10, 22, 29, 8).

Avec les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS on a révélé des augmentations de la teneur de tous les composés de l'azote, dans les feuilles, sauf avec l'adénine, l'acide 2, 4-imidazolidone-carboxylique, la cytidine, la 2-hydroxy-pyridine, la tyramine, l'acide urique et l'uridine (Fig.64 1, 2, 4, 18, 23, 25, 26). Les augmentations les plus élevées ont été

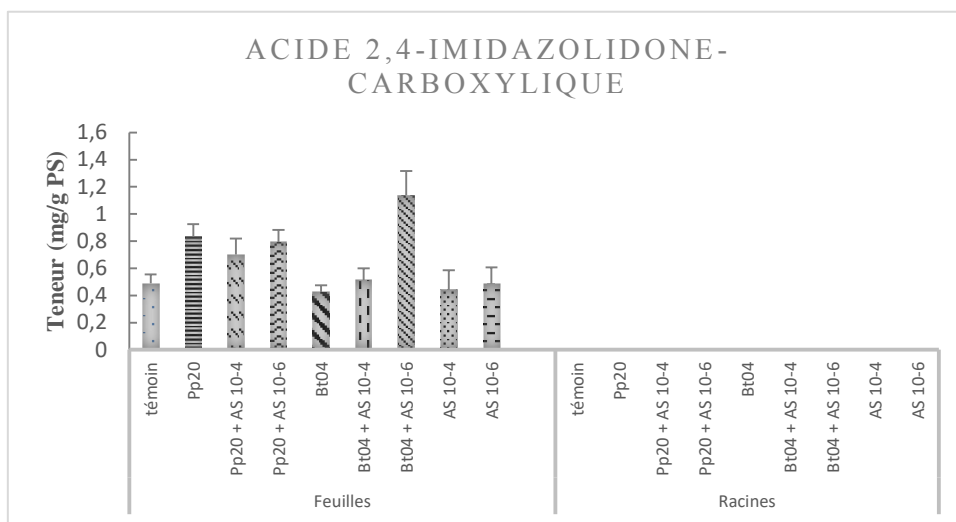
enregistrées pour **la xanthine** ( $10^{-4}$  M d'AS (720%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (438%)), **la thymine** ( $10^{-4}$  M d'AS (405%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (281%)) (**Fig.64** 28, 22). Cependant, dans les racines, elles ont augmenté, les teneurs en **éthanolamine, N-acétylglucosamine, 2-amino-2-deoxy-glucose, guanine, 2'-deoxy-guanosine, acide nicotinique, octopamine, thymine, tyramine, uracile et en xanthine** (**Fig.64** 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 22, 23, 24, 28). Les augmentations les plus élevées ont été enregistrées pour la **guanine** ( $10^{-4}$  M d'AS (254%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (347%)) et **la 2'-deoxy-guanosine** ( $10^{-4}$  M d'AS (220%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (118%)) (**Fig.64** 8, 10).

En outre, des variations importantes ont été obtenues avec les combinaisons (PGPRs+AS) où des augmentations ont été obtenues surtout dans les feuilles,

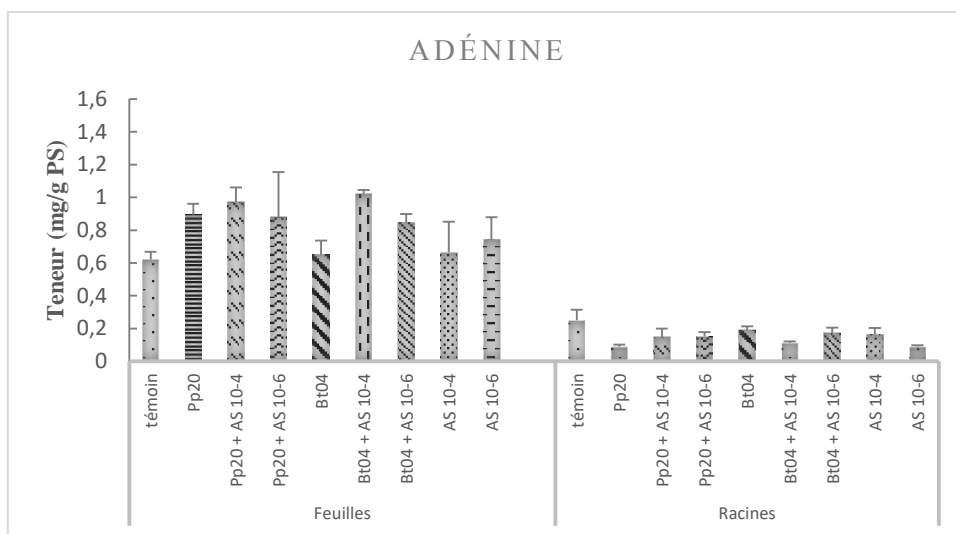
Avec la combinaison (Pp20+AS) les augmentations les plus élevées dans les feuilles ont été enregistrées pour **la xanthine** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (448%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (401%)), **la 2'-deoxy-guanosine** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (664%)) et **l'acide pyrrole-2-carboxylique** (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (303%)) (**Fig.64** 28, 10, 20). Alors que, dans les racines des améliorations des teneurs ont été obtenues pour **la 2-amino-2-deoxy-glucose** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (329%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (279%)), **la tyramine** (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (216%)) et **la guanosine** (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (165%)) (**Fig.64** 7, 23, 9).

Ainsi, avec la combinaison (Bt04+AS) les augmentations les plus élevées dans les feuilles ont été enregistrées pour **la xanthine** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (99%) ; Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (250%)), **la 2'-deoxy-guanosine** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (420%)) et **l'uracile** (Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (220%)) (**Fig.64** 28, 10, 24). Cependant, dans les racines les meilleures améliorations ont été révélées pour la **guanine** (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (63%) ; Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (197%)) et **la 2-amino-2-deoxy-glucose** (Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (119%)) (**Fig.64** 8, 7).

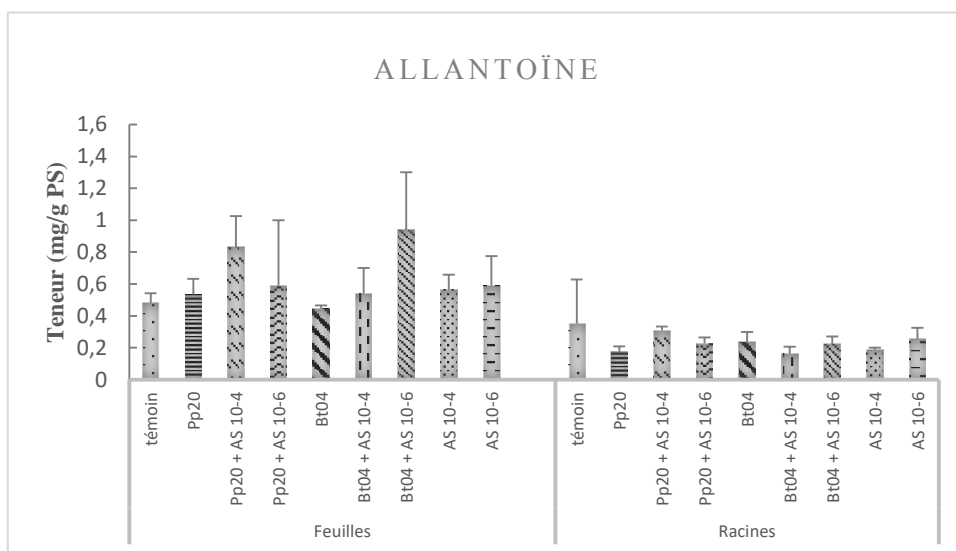
1



2



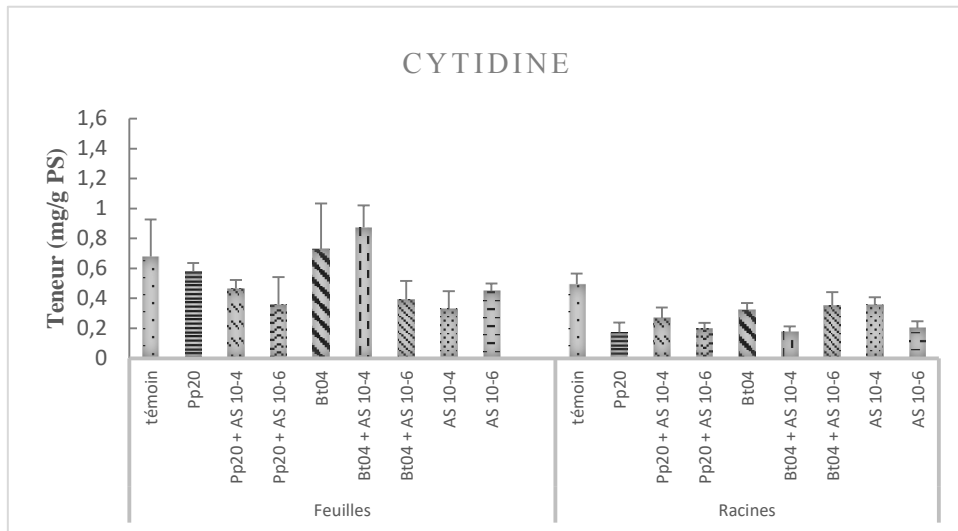
3



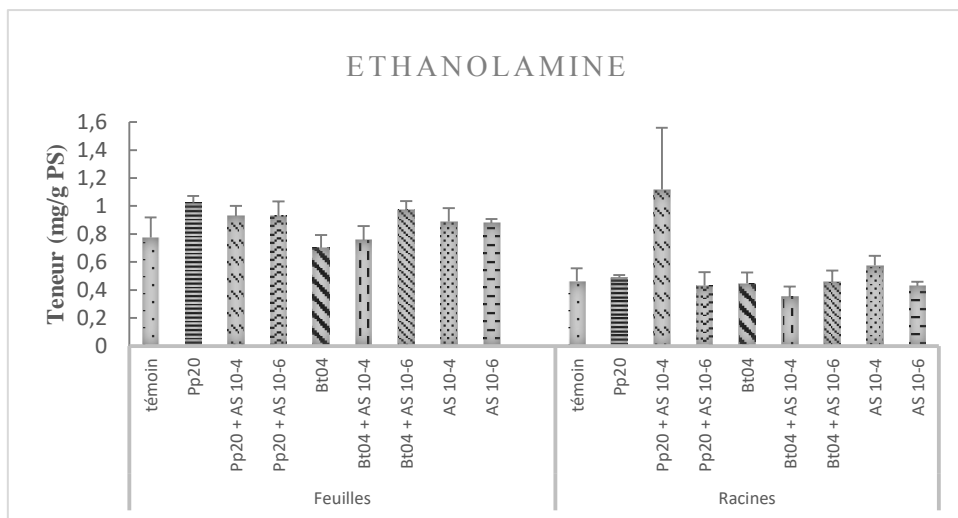
**Figure 64 :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(1) adénine, (2) acide 2, 4-imidazolidone-carboxylique, (3) allantoïne.

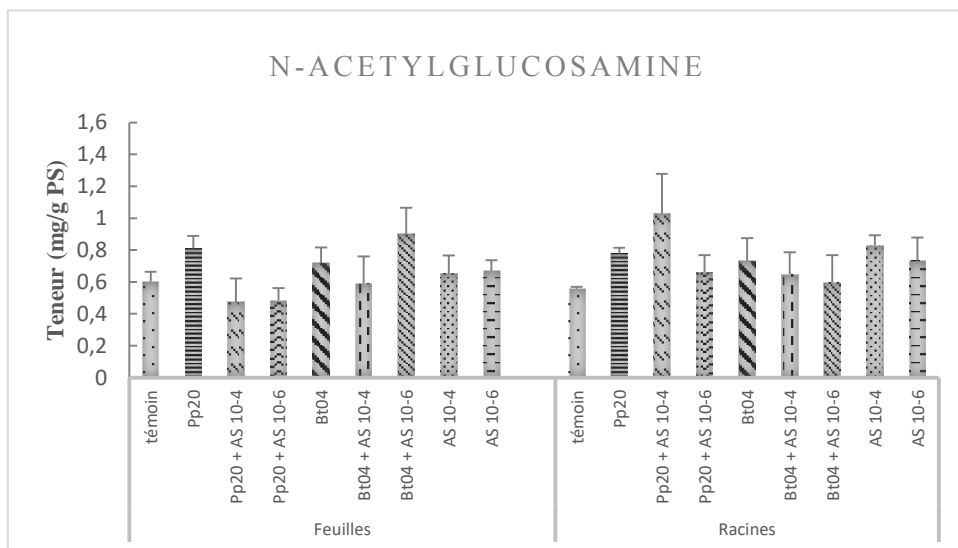
4



5

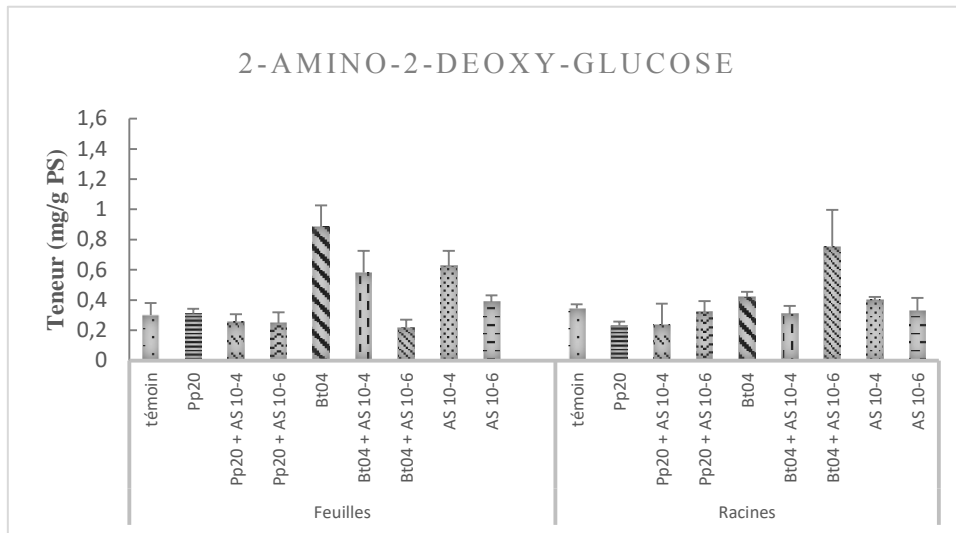


6

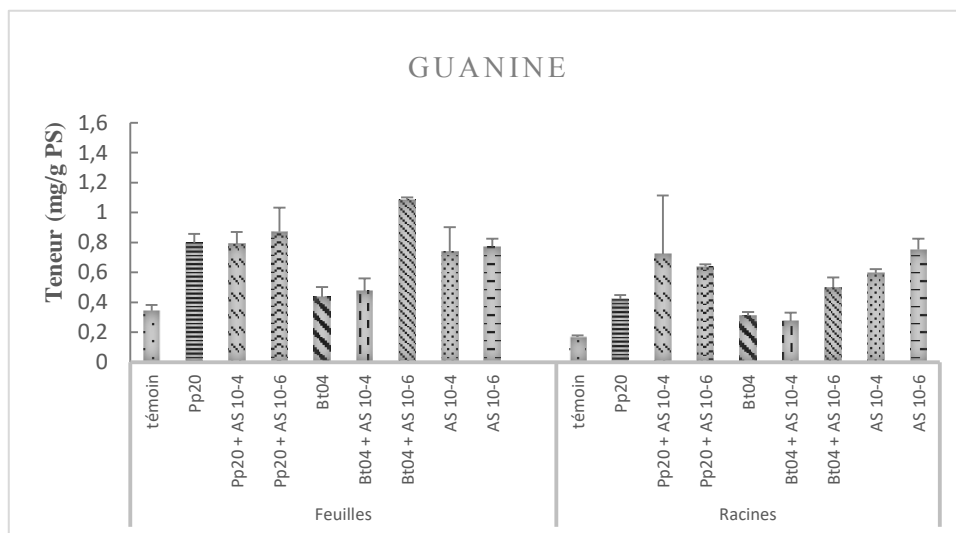


**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(4) cytidine, (5) éthanolamine, (6) N-acétylglucosamine.

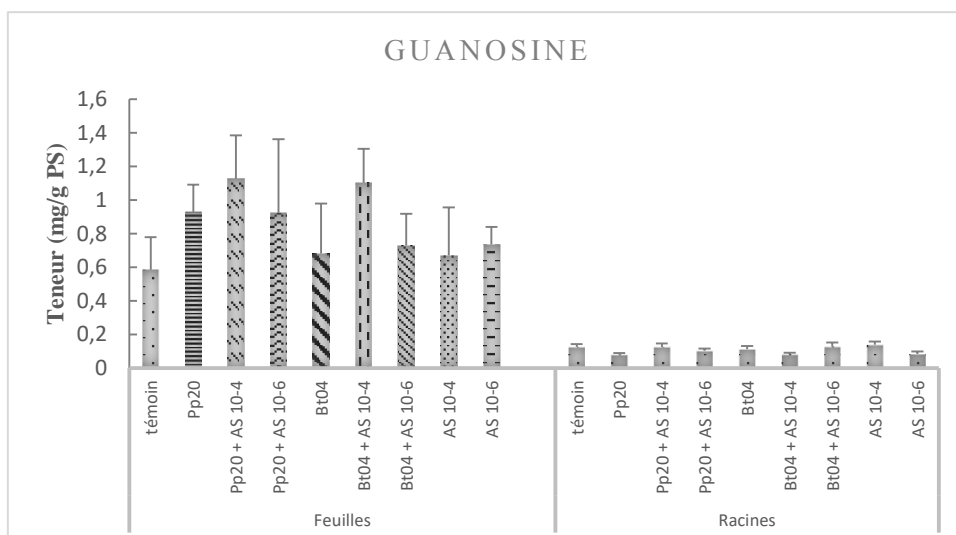
7



8



9

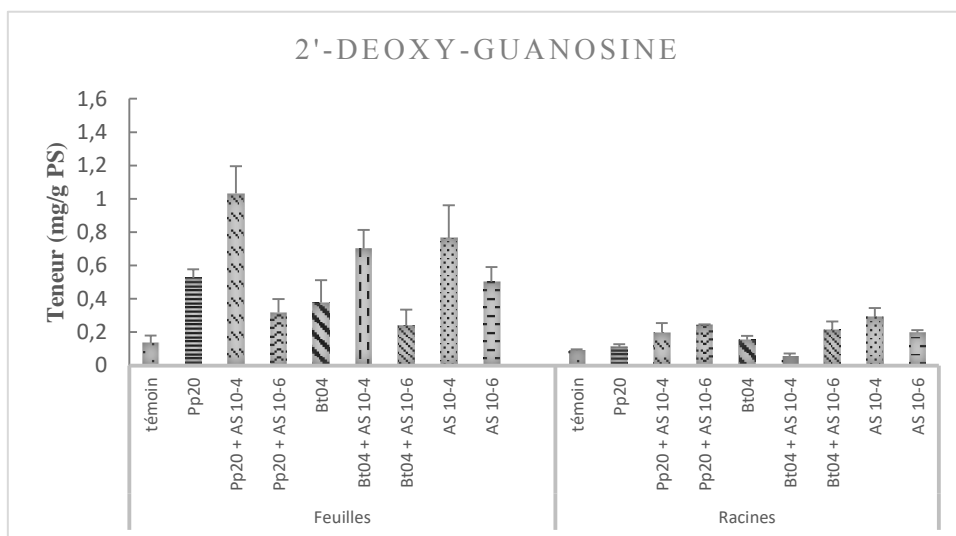


**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

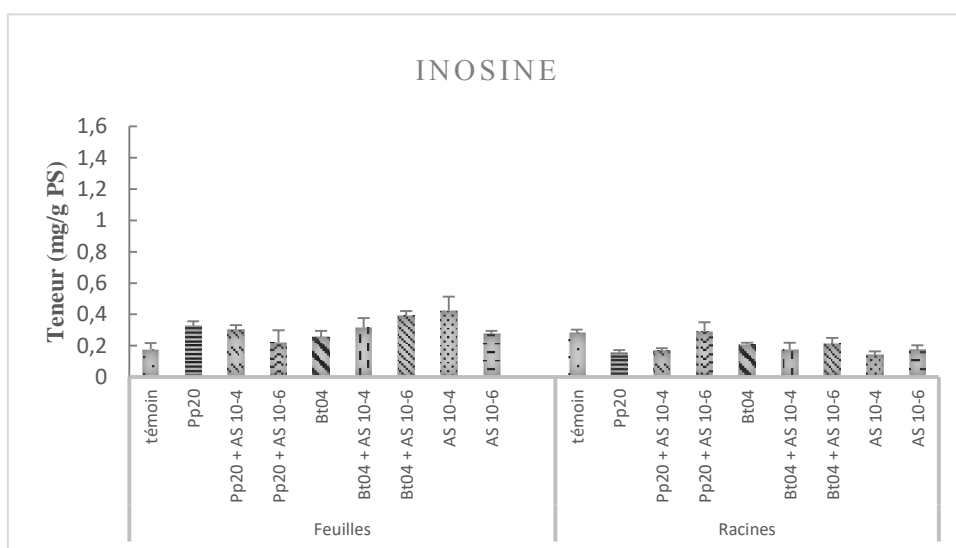
(7) 2-amino-2-deoxy-glucose, (8) guanine, (9) guanosine.



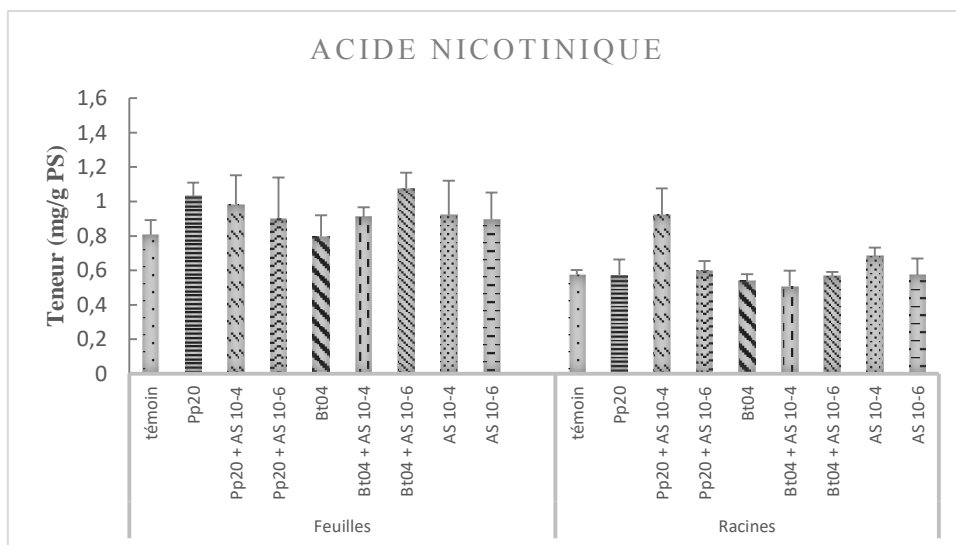
10



11

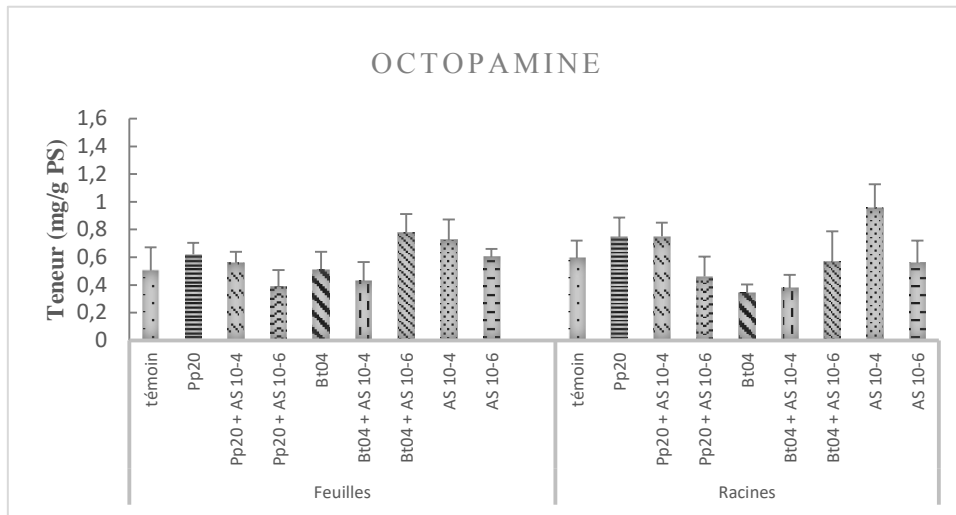


12

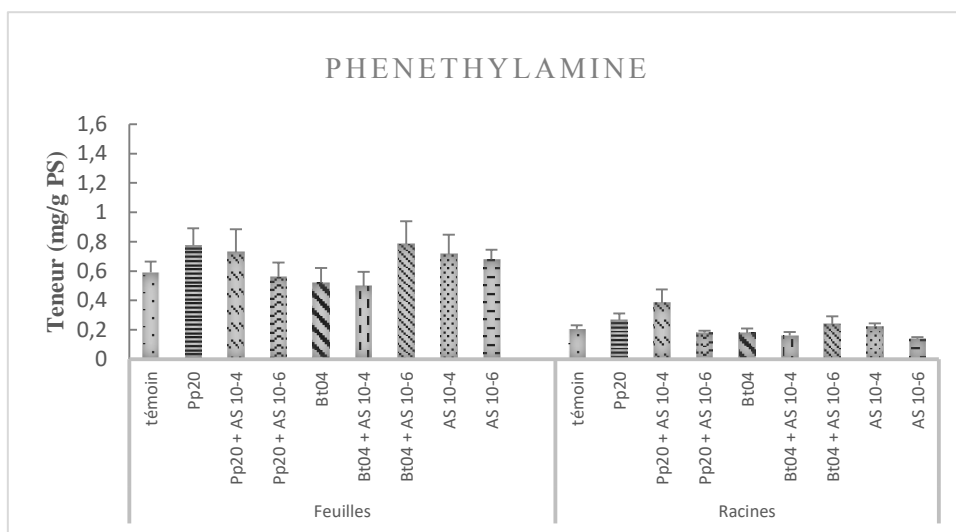


**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
 (10) 2'-deoxy-guanosine, (11) inosine, (12) acide nicotinique.

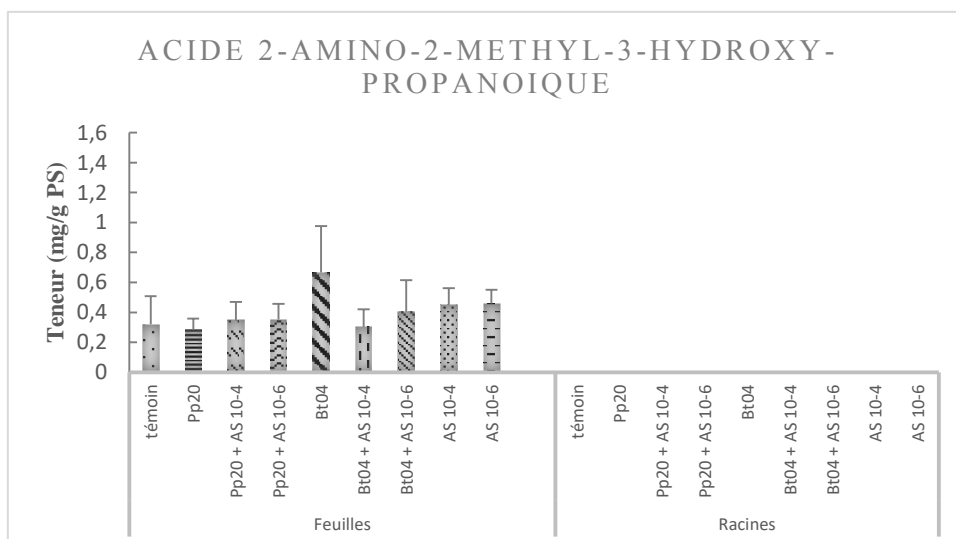
13



14



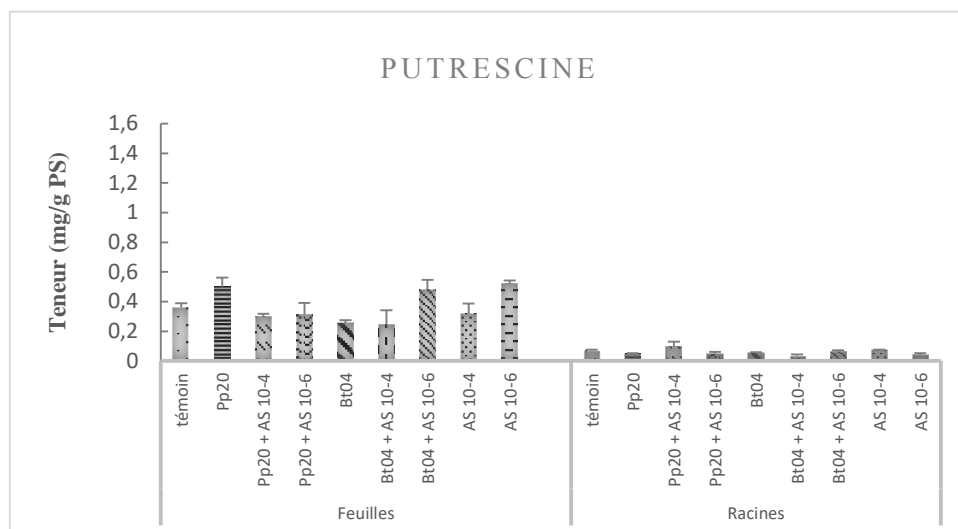
15



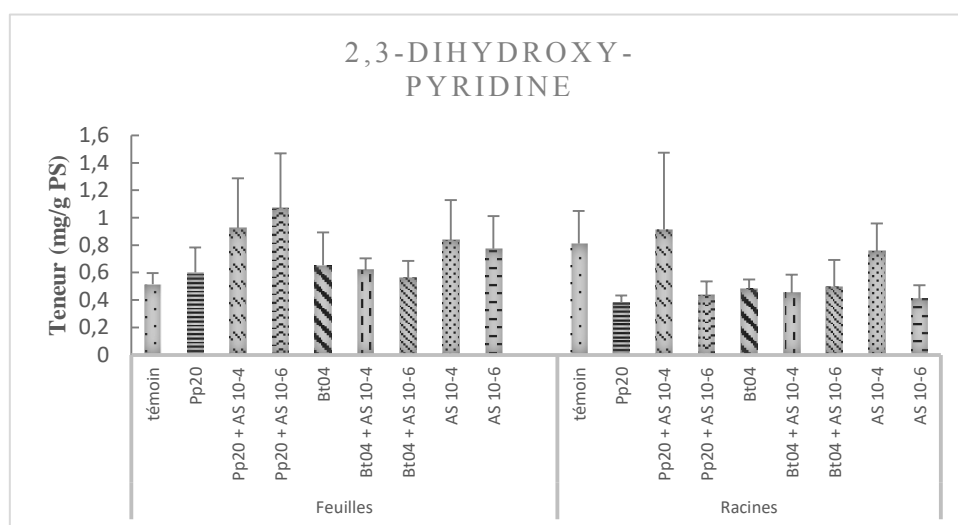
**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(13) octopamine, (14) phényléthylamine, (15) acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propénoïque.

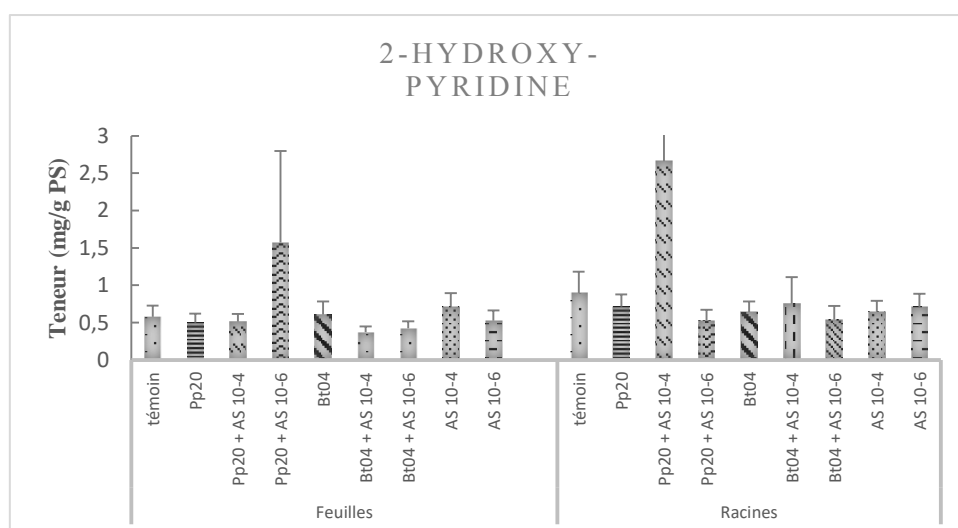
16



17



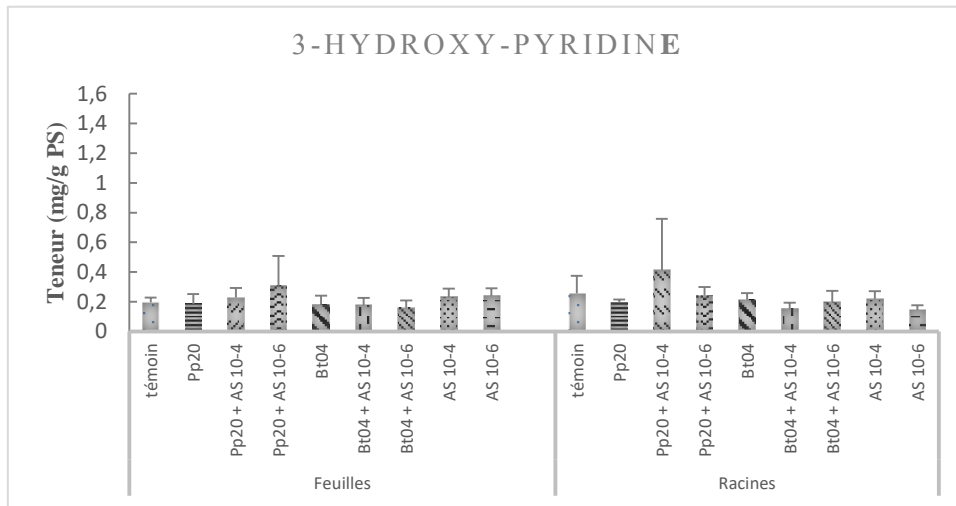
18



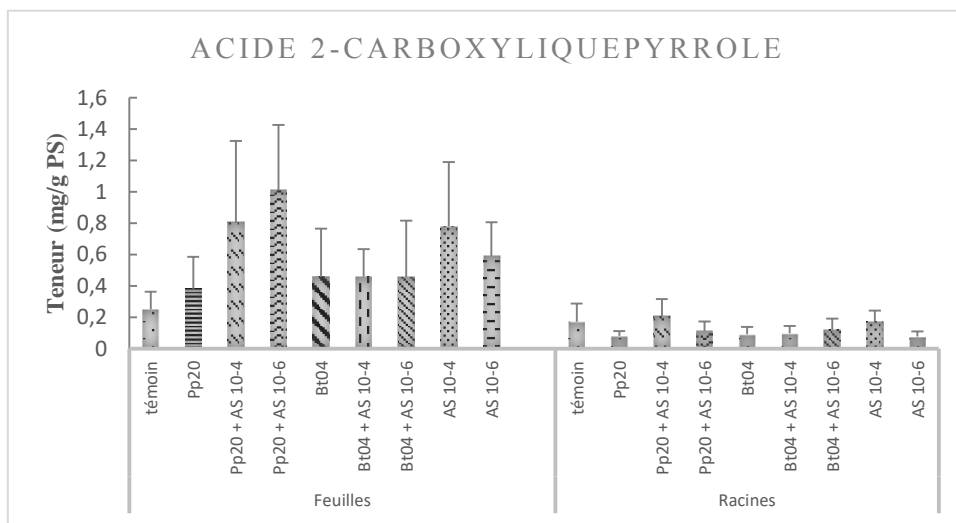
**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M, et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

(16) putrescine, (17) 2,3-dihydroxy-pyridine, (18) 2-hydroxy-pyridine.

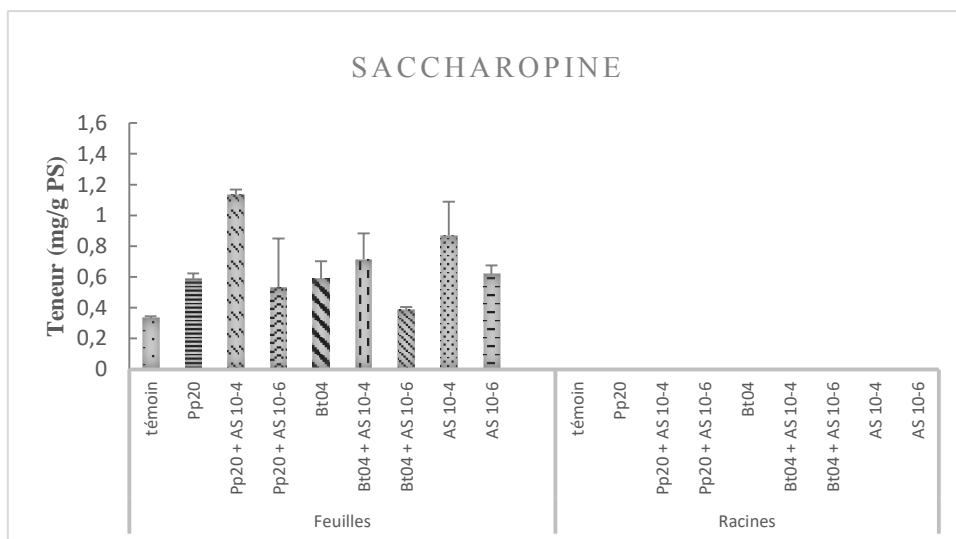
19



20



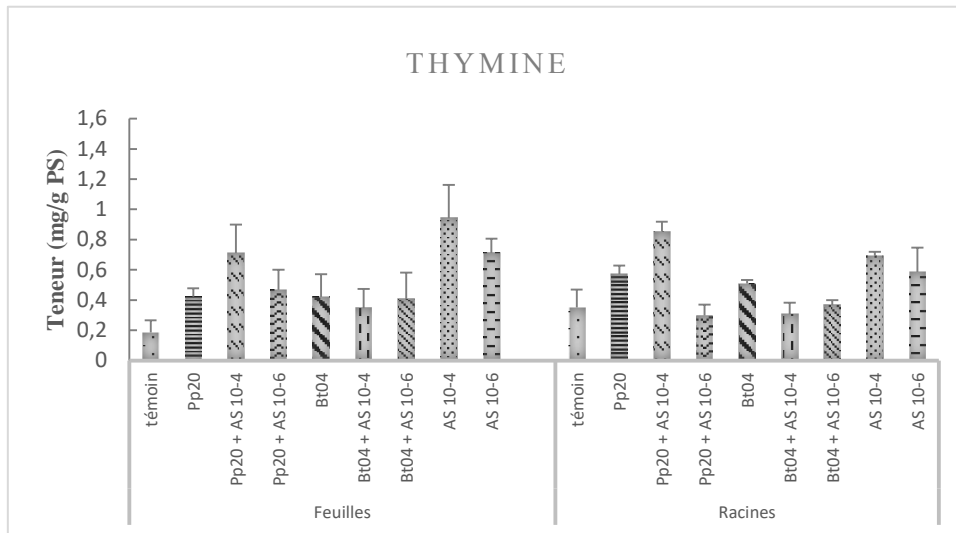
21



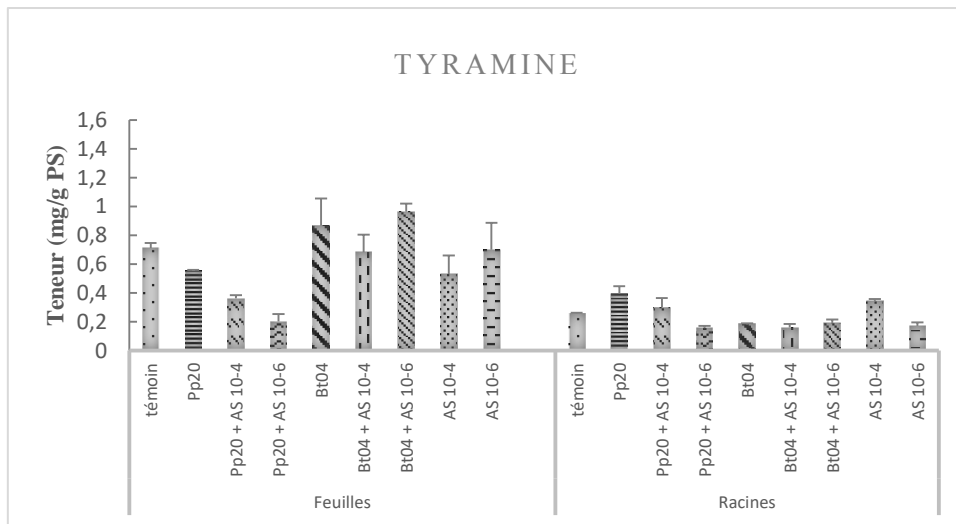
**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

(19) 3-hydroxy-pyridine, (20) acide pyrrole-2-carboxylique, (21) saccharopine.

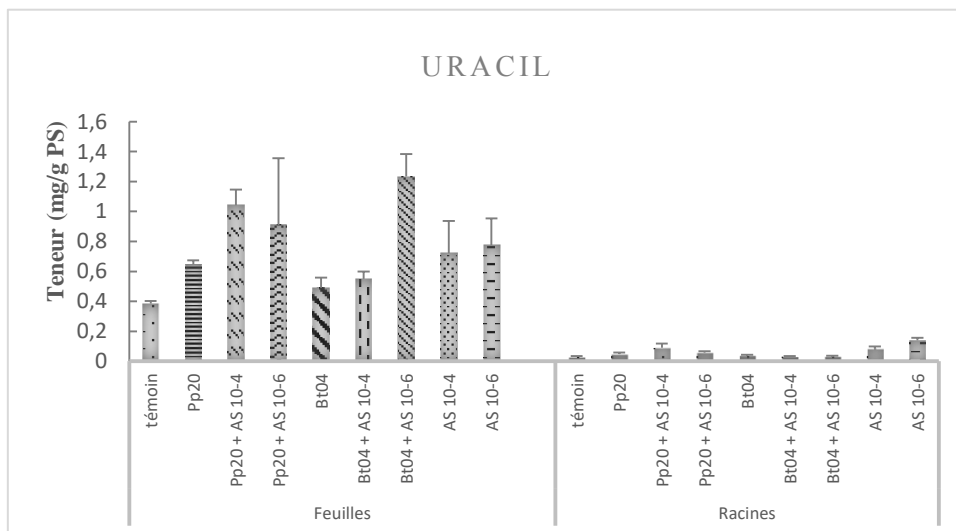
22



23



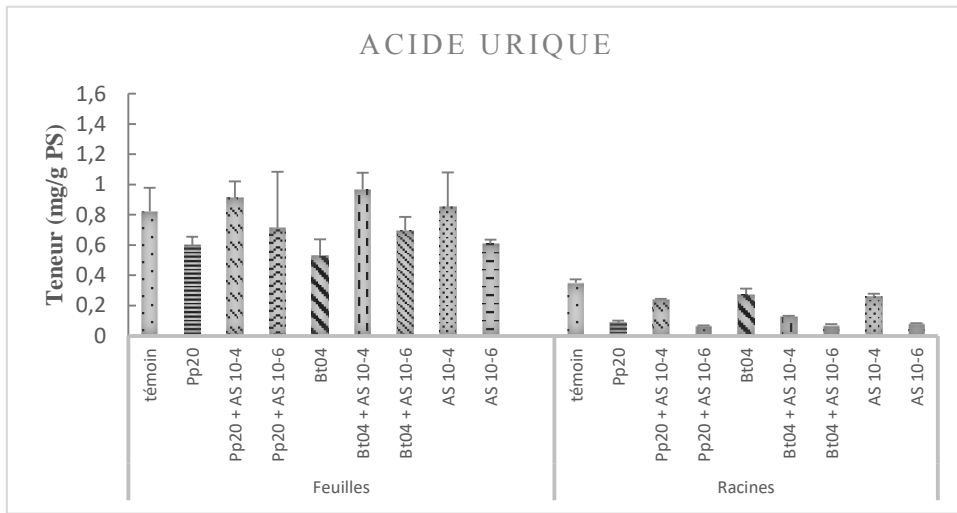
24



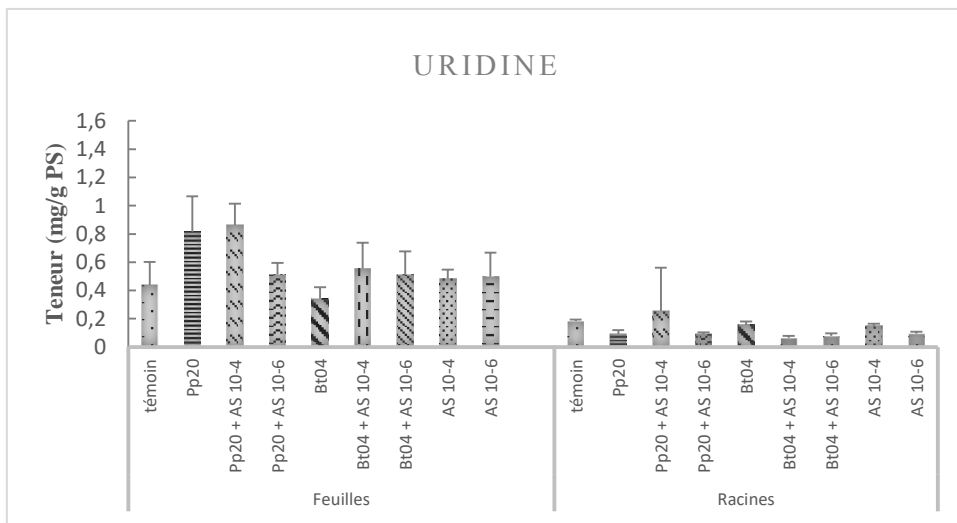
**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

(22) thymine, (23) tyramine, (24) uracile.

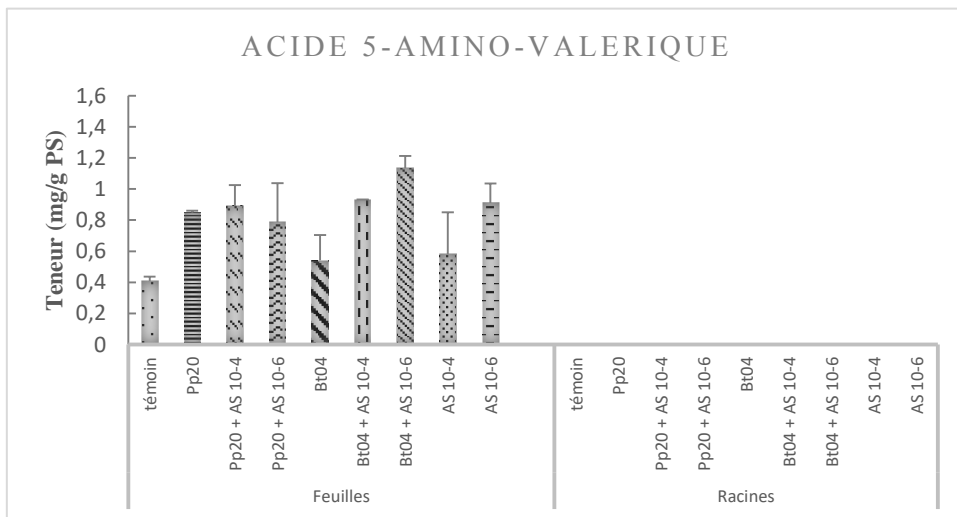
25



26

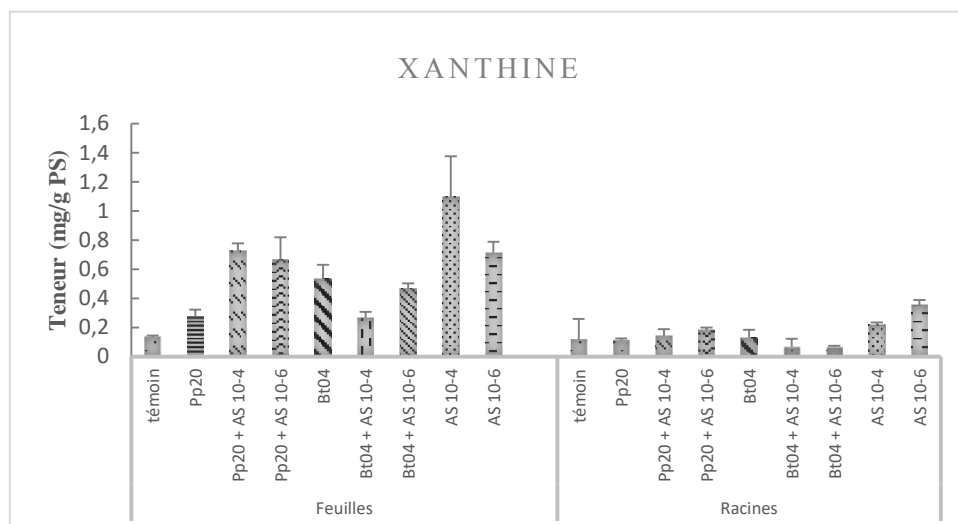


27

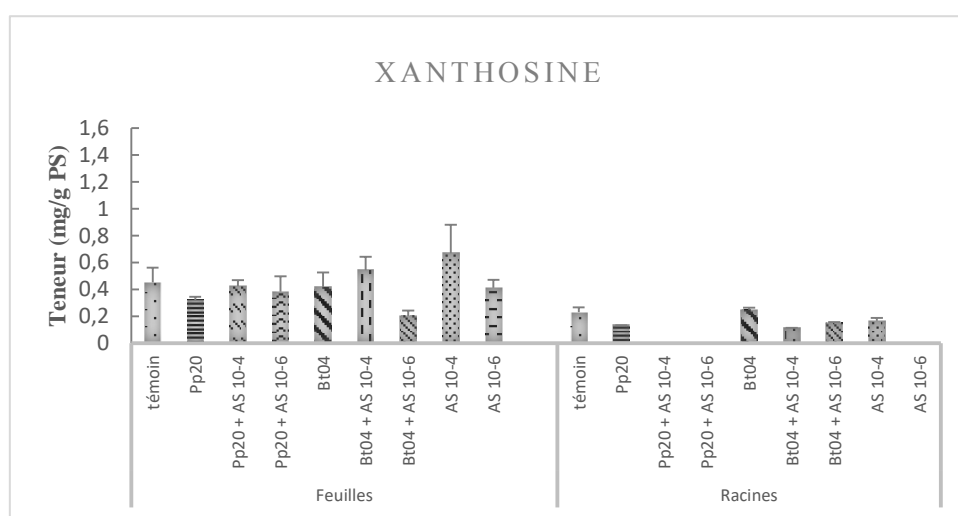


**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(25) l'acide urique, (26) uridine, (27) acide 5-amino-valérique.

28



29



**Figure 64 (suite) :** Teneur en composés de l'azote dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(28) xanthine, (29) xanthosine.

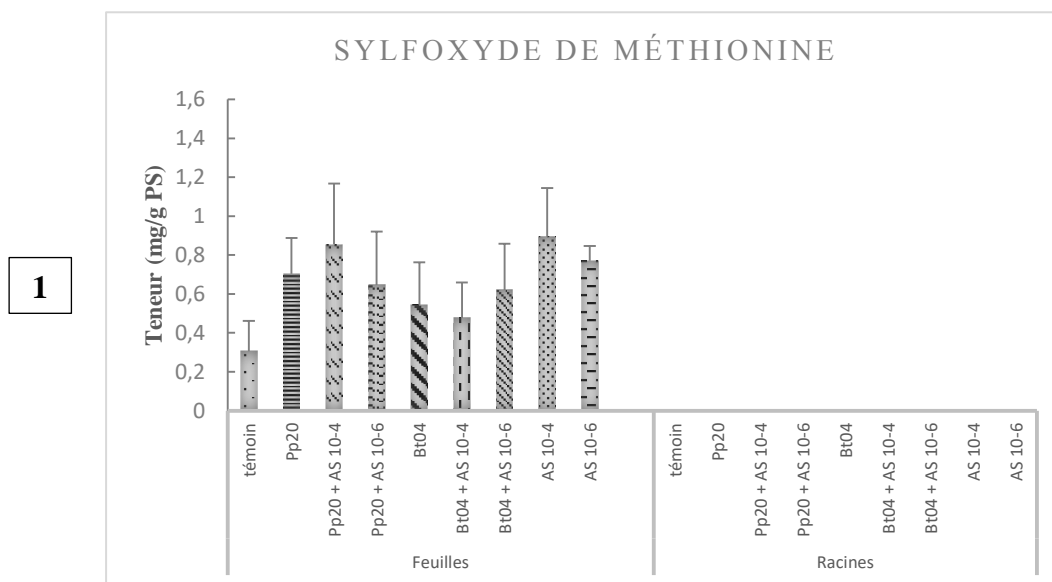
## 8. Teneur en composés du soufre

Après les analyses réalisées par la GC-TOF-MS, les résultats obtenus ont montré que *Datura innoxia* contient une famille de métabolites qui n'existe pas chez *Datura stramonium*. Cette famille appelée les composés ou les dérivés du soufre.

Elle contient une molécule **la sylfoxyde de méthionine** qui se trouve seulement dans les feuilles de la plante.

La sylfoxyde de méthionine, est un dérivé oxydé de la méthionine qui joue un rôle particulier dans la biosynthèse des protéines, puisque toutes les chaînes protéiques démarrent par l'incorporation d'une méthionine en position N-terminale.

La teneur de cette molécule a augmenté avec tous les traitements effectués (PGPRs ou AS et les combinaisons (PGPR+AS)) (**Fig.65**).



**Figure 65 :** Teneur en composés du soufre dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.



### 9. Teneur en alcaloïdes

Les teneurs en alcaloïdes ont été mesurées dans les feuilles et dans les racines de la plantes.

Les résultats obtenus ont montré que *Datura innoxia* contient 4 alcaloïdes : la scopolamine, l'hyoscyamine, l'atropine et la pseudotropine (molécule absente chez *Datura stramonium*). Les concentrations obtenues pour chaque alcaloïde varient en fonction des traitements (PGPRs, AS et PGPRs+AS) et en fonction des organes de la plante (feuilles et racines).

Chez tous les témoins, les racines sont les plus riches en alcaloïdes par rapport aux feuilles.

#### 9.1. Teneur en scopolamine

Dans les feuilles, le traitement Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS a donné la teneur la plus élevée en scopolamine (0,77 mg/g PS soit une augmentation de 54% par rapport aux témoins), suivi par la souche Pp20 (0,66 mg/g PS soit une augmentation de 32% par rapport aux témoins).

Dans les racines, des chutes ont été enregistrés avec la majorité des traitements effectués (**Fig.66**).

Cependant, l'analyse de la variance n'a pas montré d'effet significatif entre les différents traitements, ni dans les feuilles, ni dans les racines (**Annexe 49, 50**).

#### 9.2. Teneur en hyoscyamine

Les teneurs en hyoscyamine sont plus faibles dans les feuilles par rapport aux racines.

Dans les feuilles, la teneur en hyoscyamine la plus élevée 0,25 mg/g PS a été enregistrée avec la combinaison Bt04 + 10<sup>-6</sup> M d'AS soit une augmentation de 257% par rapport aux témoins, suivie par la combinaison Pp20 + 10<sup>-6</sup> M AS 0,18 mg/g PS soit une augmentation de 157% (**Fig.67**).

Alors que dans les racines, des diminutions ont été enregistrés avec les différents traitements, à l'exception du traitement Pp20 + 10<sup>-4</sup> M d'AS (1,13 mg/g PS soit une augmentation de 21%) et du traitement 10<sup>-4</sup> M d'AS (0,97 mg/g PS soit une augmentation de 4%) (**Fig.67**).

L'analyse de la variance n'a pas montré d'effet significatif entre les traitements, ni dans les feuilles ni dans les racines (**Annexe 51, 52**).

### 9.3. Teneur en atropine

Pour l'atropine, et comme l'hyoscyamine, les teneurs dans les feuilles sont très faibles par rapport aux racines.

La teneur la plus élevée a été enregistrée avec la souche Bt04 (0,17 mg/g PS soit une augmentation de 112% par rapport aux témoins).

Dans les racines, tous les traitements ont montré des teneurs en atropine plus faible que le témoin (**Fig.68**).

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif entre les traitements dans les feuilles et dans les racines (**Annexe 53, 54**).

Le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 4 groupes homogènes dont deux chevauchent dans les feuilles. Alors que, dans les racines, il a montré l'existence de 4 groupes homogènes dont 3 chevauchent (**Annexe 52, 53**).

### 9.4. Teneur en pseudotropine

La pseudotropine ou  $\beta$ -tropan-3-ol est un dérivé du tropane contenant un groupe alcool.

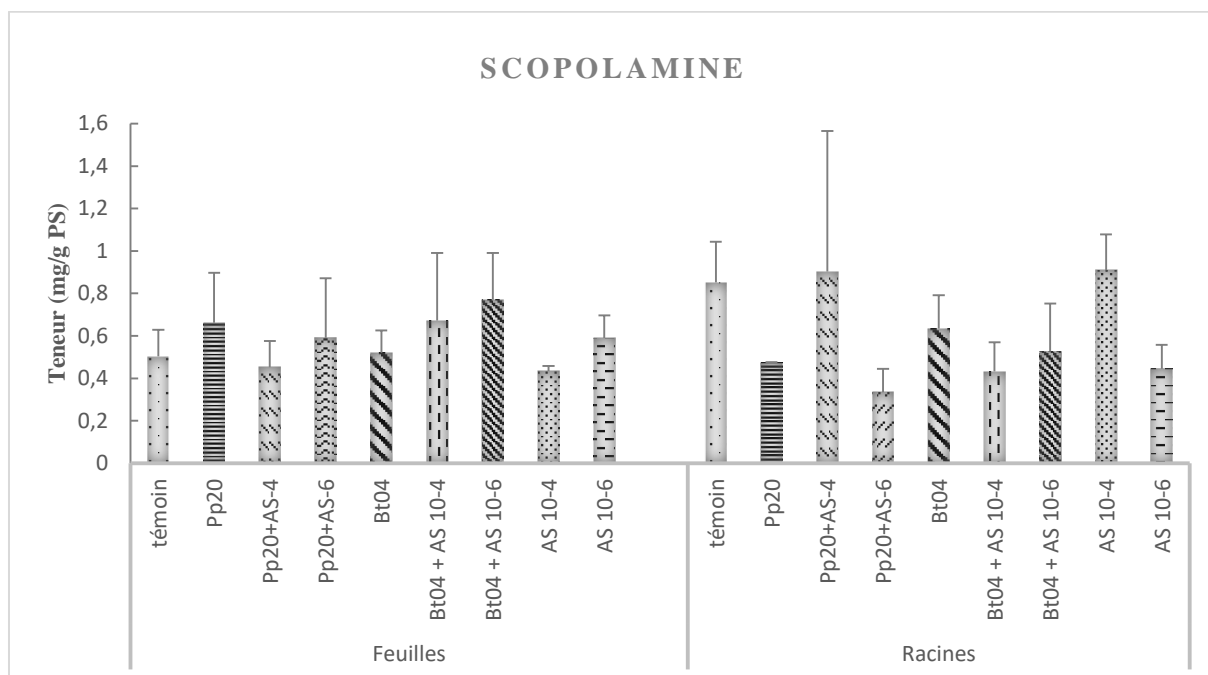
Les analyses réalisées ont montré la présence de cette molécule dans les feuilles et les racines de *Datura innoxia*. Alors qu'elle n'existe pas chez *Datura stramonium*.

Dans les feuilles, tous les traitements ont subi des augmentations significatives par rapport aux témoins, la teneur la plus élevée a été enregistrée avec la concentration  $10^{-4}$  M d'AS et la combinaison Bt04 +  $10^{-6}$  M d'AS (0,46 mg/g PS, soit une augmentation de 76% pour chacune, par rapport aux témoins) (**Fig.69**).

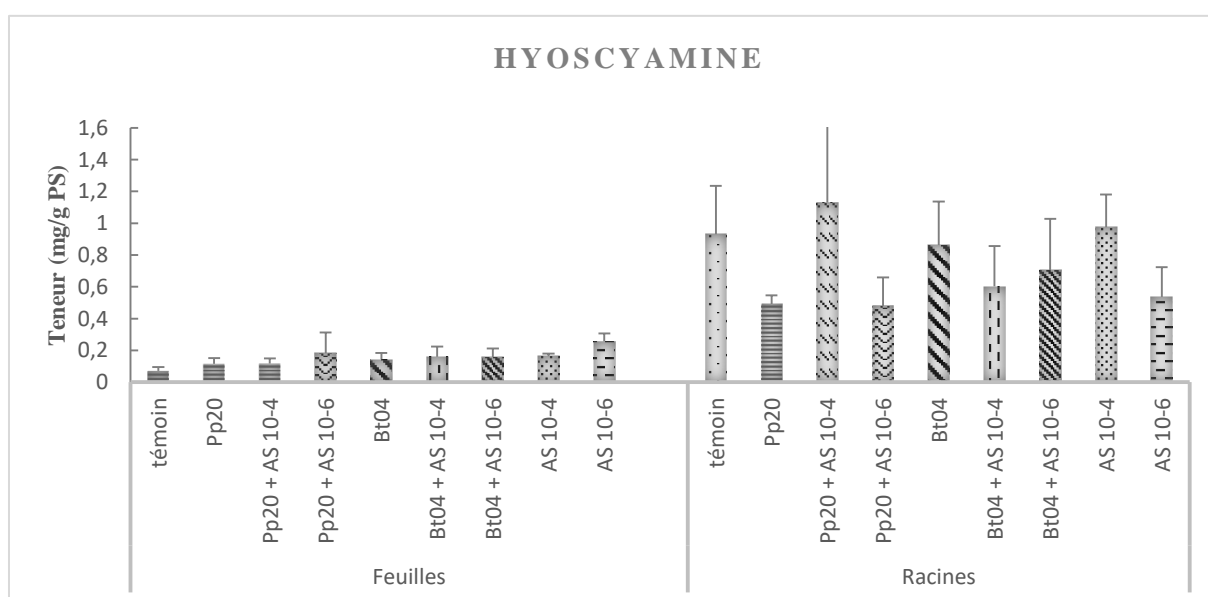
Alors que dans les racines, tous les traitements ont montré des teneurs plus faibles par rapport aux témoins (**Fig.69**).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif entre les différents traitements dans les feuilles et les racines (**Annexe 55, 56**).

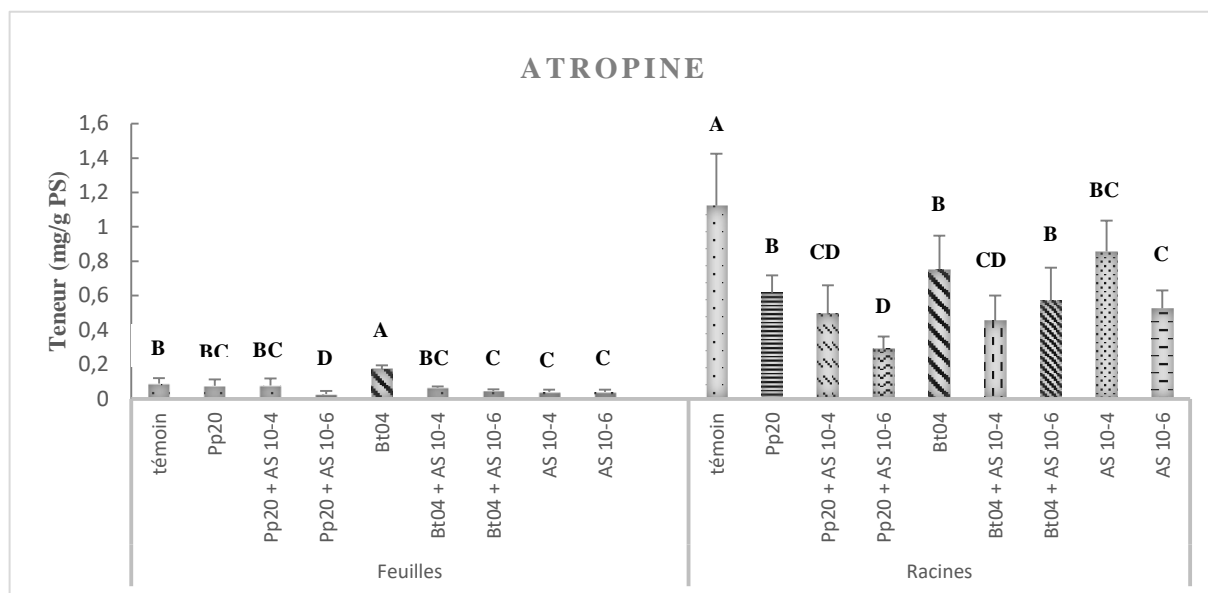
Le test LSD de Fisher a montré la présence de 3 groupes homogènes qui chevauchent dans les feuilles. Alors que, dans les racines, a révélé l'existence de 5 groupes homogènes qui chevauchent (**Annexe 54, 55**).



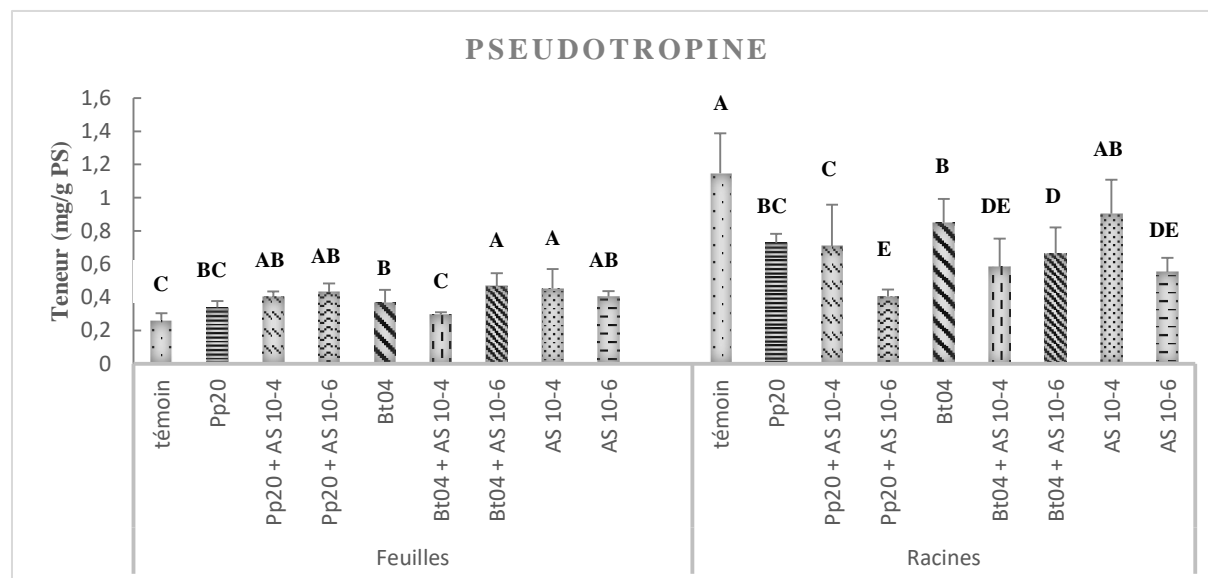
**Figure 66 :** Teneur en scopolamine dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. Ff(8,18) = 0,99 ; P > 0,01 ; Fr(8,18) = 2,14 ; P > 0,01



**Figure 67 :** Teneur en hyoscyamine dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS. Ff(8,18) = 0,96 ; P > 0,01 ; Fr(8,18) = 0,96 ; P > 0,01



**Figure 68 :** Teneur en atropine dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élévation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  $Ff(8,18) = 9,92$  ;  $P < 0,001^{***}$  ;  $Fr(8,18) = 6,05$  ;  $P < 0,001^{***}$



**Figure 69 :** Teneur en pseudotropine dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élévation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  $Ff(8,18) = 3,85$  ;  $P < 0,001^{***}$  ;  $Fr(8,18) = 5,20$  ;  $P < 0,001^{***}$

## 10. Teneur en phénylpropanoïdes

Les analyses ont montré que *Datura innoxia* contient 8 phénylpropanoïdes (03 molécules plus que *Datura stramonium*) : **l'acide cis-caféique, l'acide trans-caféique, l'acide cis-4-hydroxy-cinnamique, l'acide trans-4-hydroxy-cinnamique, l'acide trans-férulique, la lutéoline et la quercétine** (des flavonoïdes), **et l'acide trans-sinapique (Fig.70).**

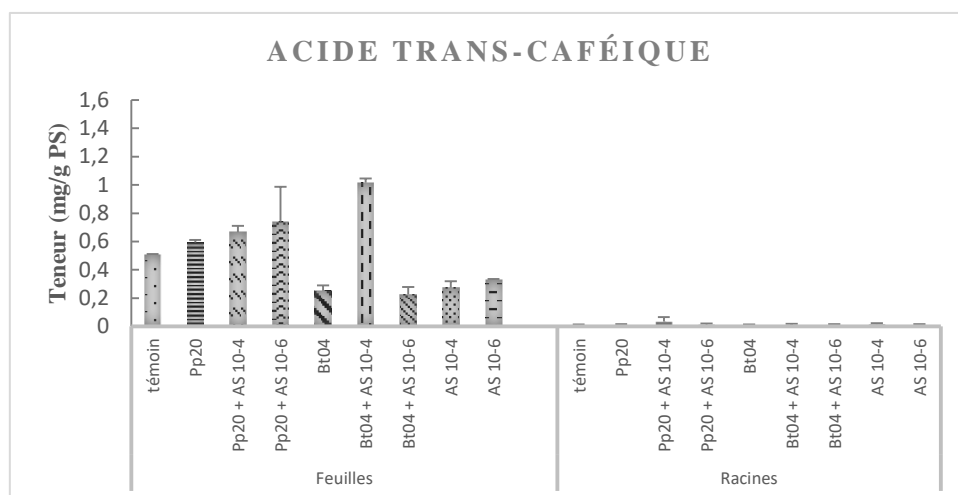
Les feuilles renferment les 08 molécules avec des teneurs plus élevées par rapport aux racines. Alors que, ces dernières ne renferment pas 04 phénylpropanoïdes : **l'acide cis-caféique, la lutéoline, la quercétine et l'acide trans-sinapique.** Aussi, elles comportent de **l'acide trans-caféique et de l'acide trans-férulique** sous forme de traces (Fig.70 2, 6, 7, 8).

La souche Pp20, dans les feuilles à l'exception de **l'acide trans-sinapique**, a augmenté les teneurs de tous les phénylpropanoïdes surtout **l'acide cis-4-hydroxy-cinnamique (86%) et l'acide trans-4-hydroxy-cinnamique (70%) (Fig.70 8, 3, 4).** En outre, dans les feuilles la souche Bt04 a augmenté les teneurs en **lutéoline, quercétine, acide trans-4-hydroxy-cinnamique** et en **acide cis-4-hydroxy-cinnamique** de 38%, 33%, 26% et 13% respectivement (Fig.70 6, 7, 4, 3).

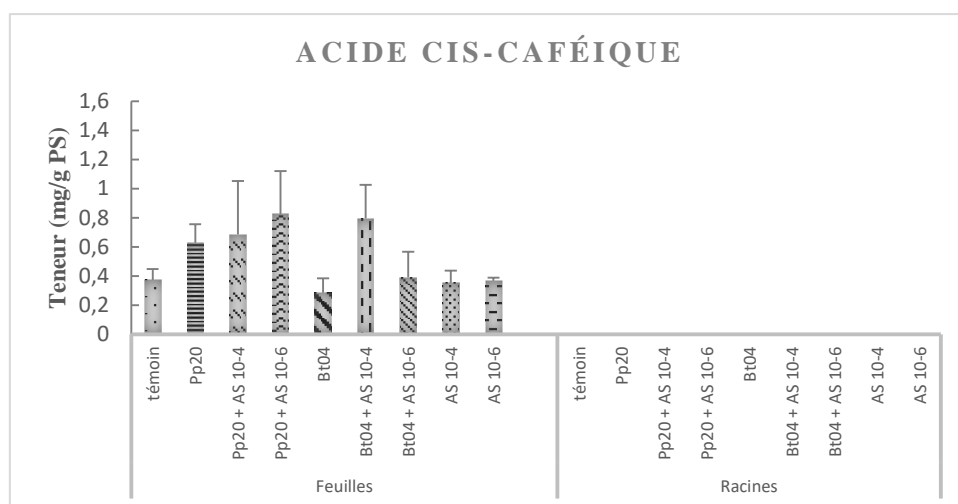
Les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS, ont augmenté dans les feuilles les teneurs en **acide cis-4-hydroxy-cinnamique** ( $10^{-4}$  M d'AS : 19%), **acide trans-4-hydroxy-cinnamique** ( $10^{-4}$  M d'AS : 21% ;  $10^{-6}$  M d'AS : 34%), **lutéoline** (20% avec les deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS) et en **quercétine** ( $10^{-4}$  M d'AS : 18%) de la plante (Fig.70 3, 4, 6, 7).

Les combinaisons (PGPRs + AS) ont montré des variations de teneurs en phénylpropanoïdes, parfois elles les ont augmentées dans les feuilles, comme pour **l'acide cis-caféique** (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (121%) ; Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (113%) ; Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (83%)), **l'acide trans-4-hydroxy-cinnamique** (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (104%) ; Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (107%)), **lutéoline (Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (57%)) (Fig.70 2, 4, 6).** Et parfois elles les ont diminuées, comme la combinaison (Pp20+AS) qui a diminué dans les feuilles les teneurs en **acide trans-férulique et en acide trans-sinapique (Fig.70 5, 8).**

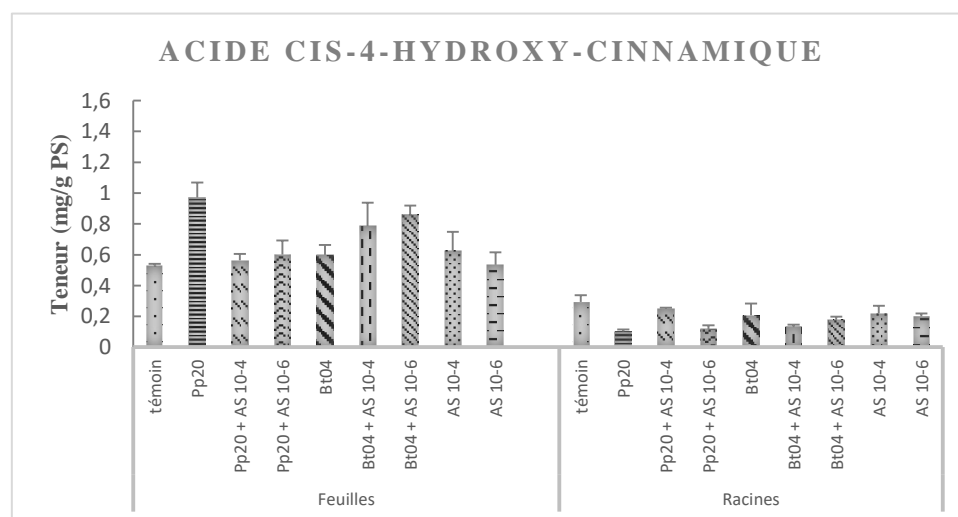
1



2



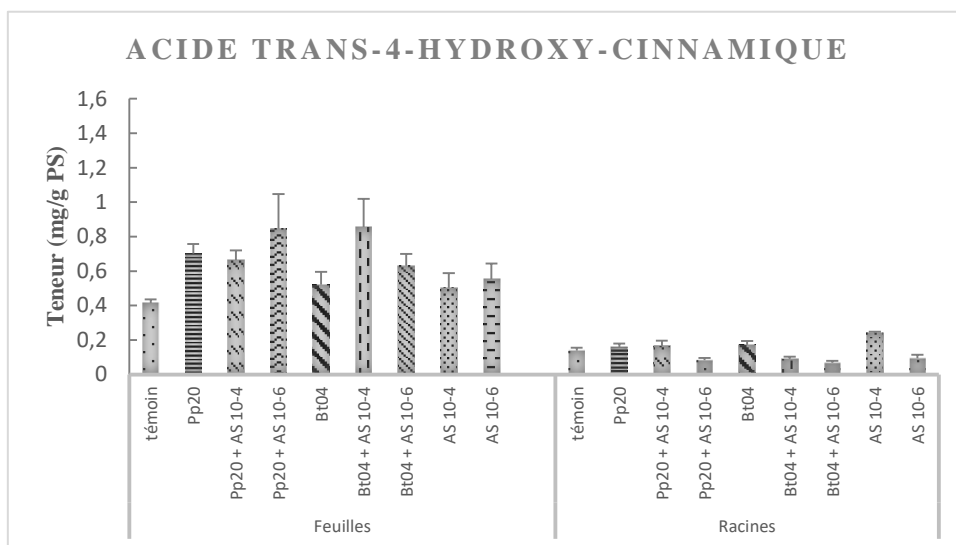
3



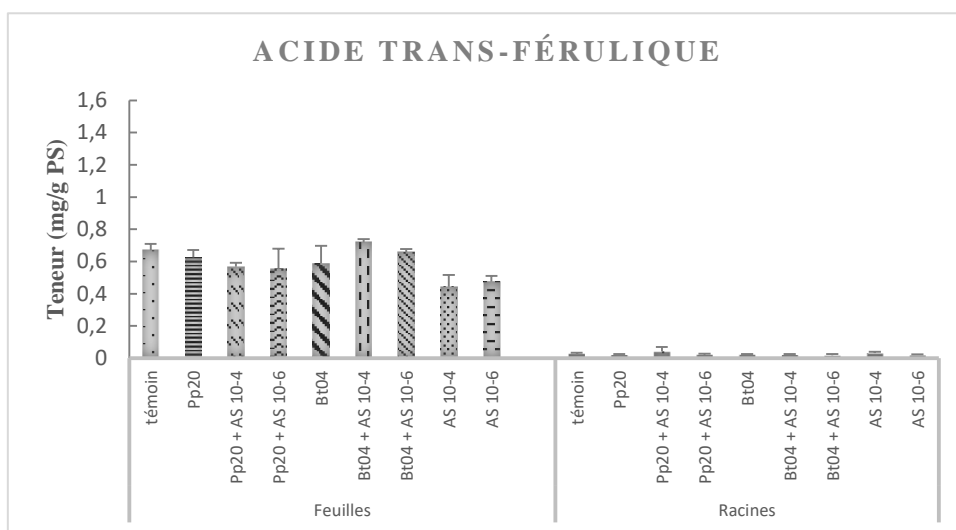
**Figure 70 :** Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.

(1) acide cis-cafféique, (2) acide trans-cafféique, (3) acide cis-4-hydroxy-cinnamique.

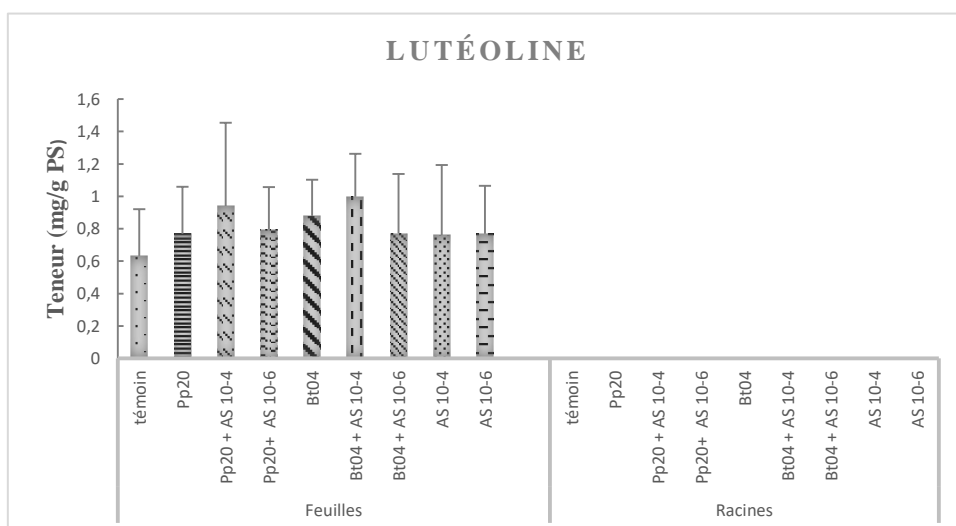
4



5



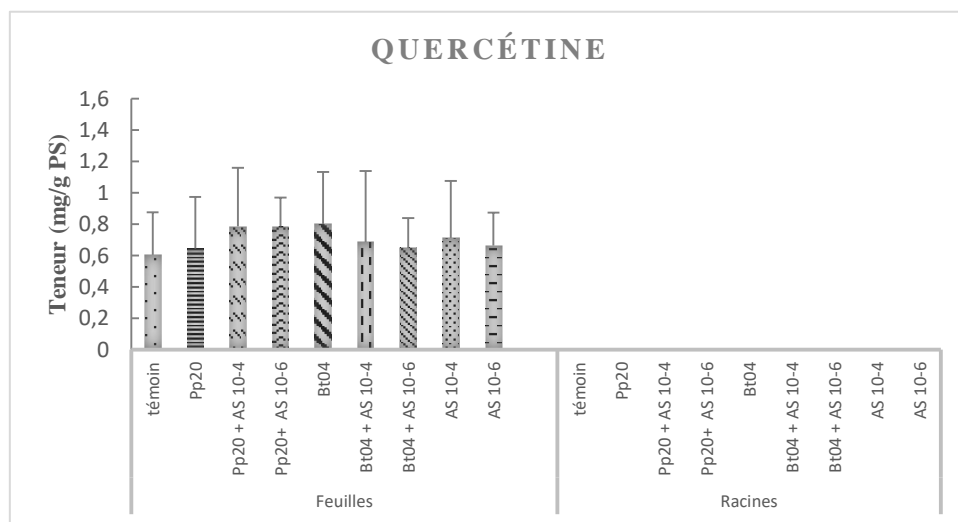
6



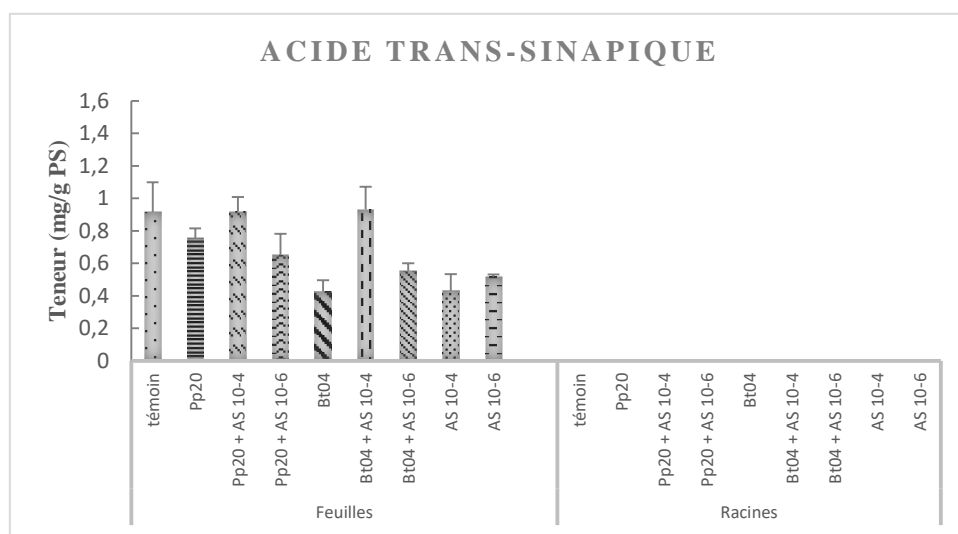
**Figure 70 (suite)** : Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

(4) acide trans-4-hydroxy-cinnamique, (5) acide trans-férulique, (6) lutéoline.

7



8



**Figure 70 (suite) :** Teneur en phénylpropanoïdes dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(7) quercétine, (8) acide trans-sinapique.



## 11. Teneur en acides polyhydroxy

Les analyses de la GC-TOF-MS ont révélé l'existence de 12 acides polyhydroxy : **l'acide 1,4-lactone-arabinonique, l'acide érythronique, l'acide 1,4-lactone-érythronique, l'acide galactarique, l'acide galactonique, l'acide gluconique, l'acide glycérique, l'acide gulonique, l'acide lyxonique, l'acide ribonique, l'acide thréonique et l'acide 1,4-lactone-thréonique (Fig.71).**

Par rapport aux racines, les feuilles contiennent de faibles teneurs en **acide galactarique, acide gluconique, acide gulonique** et en **acide thréonique (Fig.71 1, 6, 8, 11)**. Alors que, les racines comportent de faibles teneurs en **acide érythronique** et en **acide lyxonique** par rapport feuilles (**Fig.71 2, 9**).

La souche Pp20 a augmenté dans les feuilles, les teneurs en **acide 1,4-lactone-arabinonique (78%), acide glycérique (67%), acide ribonique (41%), acide galactonique (38%), acide 1,4-lactone-thréonique (32%)** et en **acide galactarique (23%) (Fig.71 1, 7, 10, 5, 12, 4)**. . Alors que, dans les racines, elle n'a augmenté que les teneurs en **acide gulonique (107%), acide ribonique (79%)** et en **acide galactonique (23%) (Fig.71 8, 10, 5)**.

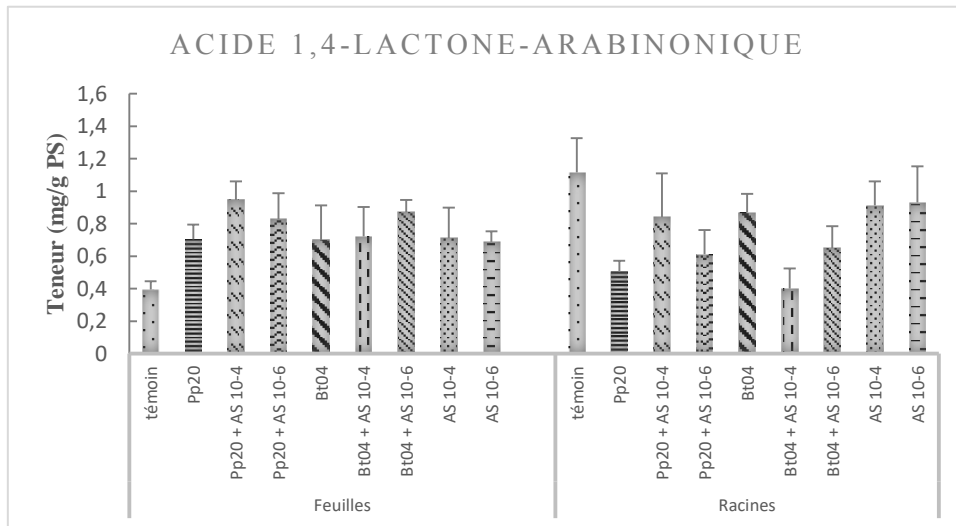
Cependant, la souche Bt04 a amélioré, dans les feuilles, les teneurs de tous les acides polyhydroxy, surtout **l'acide thréonique (187%) et l'acide érythronique (166%) (Fig.71 11, 2)**. Mais, c'est tout à fait le contraire dans les racines où elle n'amélioré que les teneurs en **acide gulonique** et en **acide ribonique** de 53% et 31% respectivement (**Fig.71 8, 10**).

En outre, l'effet des deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS, a été remarquable dans les feuilles, elles ont augmenté les teneurs de tous les acides détectés, surtout **l'acide thréonique ( $10^{-4}$  M d'AS (320%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (310%)), l'acide érythronique ( $10^{-4}$  M d'AS (211%)) et l'acide galactonique ( $10^{-4}$  M d'AS (161%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (110%)) (Fig.71 11, 2, 5)**. Cependant dans les racines, elles n'ont augmenté que les teneurs en **acide gulonique ( $10^{-4}$  M d'AS (175%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (261%)), acide ribonique ( $10^{-4}$  M d'AS (107%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (230%)) et en acide galactonique ( $10^{-4}$  M d'AS (96%) ;  $10^{-6}$  M d'AS (144%)) (Fig.71 8, 10, 5)**.

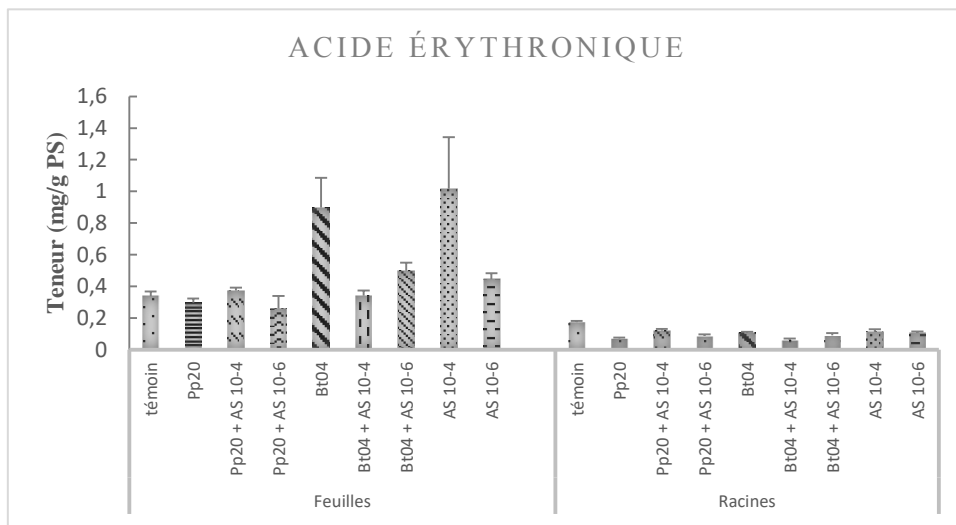
Les combinaisons (PGPRs+AS), ont montré des variations de teneurs en acides polyhydroxy. Dans les feuilles, elles ont augmenté les teneurs de tous les acides polyhydroxy, à l'exception de certaines combinaisons pour **l'acide érythronique et l'acide gluconique (Fig.71 2, 6)**. Les augmentations les plus élevées ont été enregistrées pour **l'acide thréonique (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (146%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (171%) ; Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (118%)) et l'acide 1,4-lactone-arabinonique (Pp20+ $10^{-4}$  M d'AS (139%) ; Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (109%) ; Bt04+ $10^{-6}$  M d'AS (120%)) (Fig.67 11, 1)**. Alors que, dans les racines, les teneurs ont subit des

diminutions, sauf avec **l'acide gulonique** (Pp20+10<sup>-4</sup> M d'AS (155%) ; Pp20+10<sup>-6</sup> M d'AS (111%) ; Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS (63%)), **l'acide galactonique** (Pp20+10<sup>-4</sup> M d'AS (125%) ; Pp20+10<sup>-6</sup> M d'AS (59%) ; Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS (30%)) et **l'acide ribonique** (Pp20+10<sup>-4</sup> M d'AS (56%) ; Pp20+10<sup>-6</sup> M d'AS (53%)) (**Fig.71** 8, 5, 10).

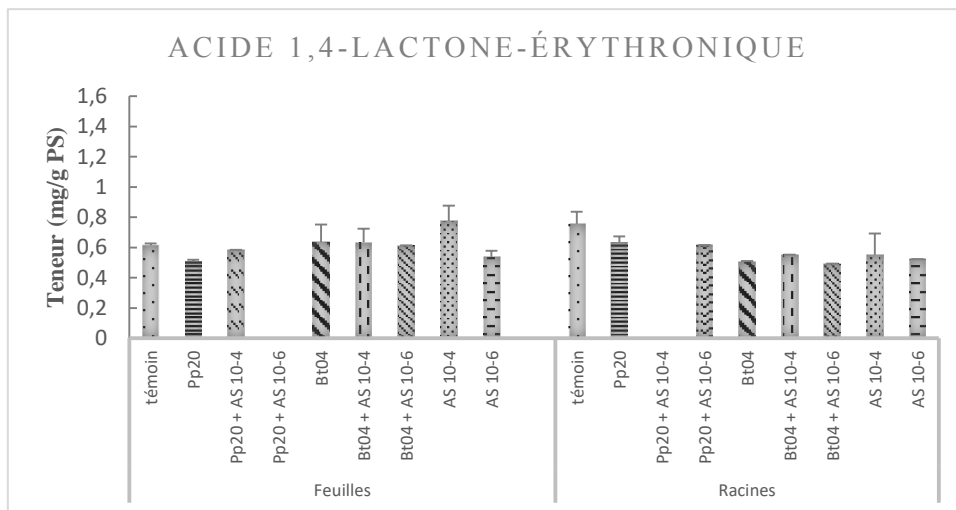
1



2

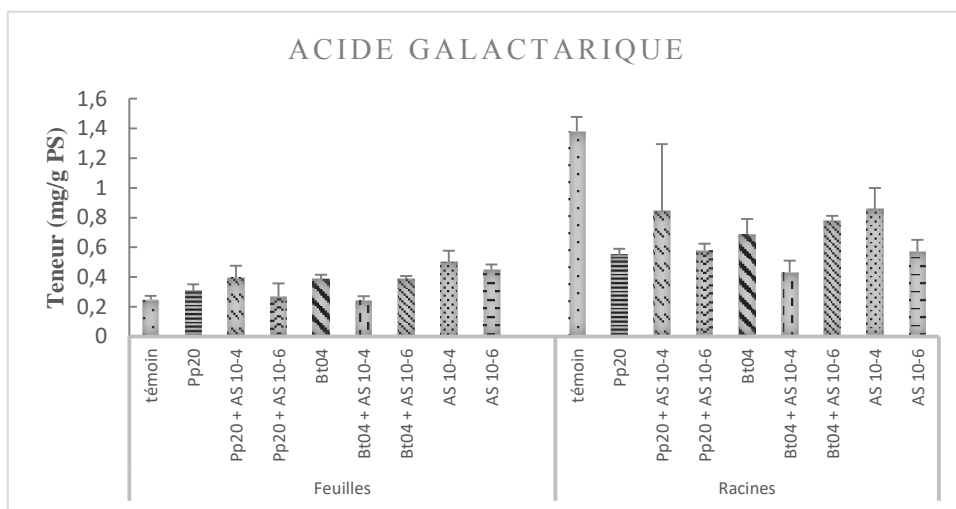


3

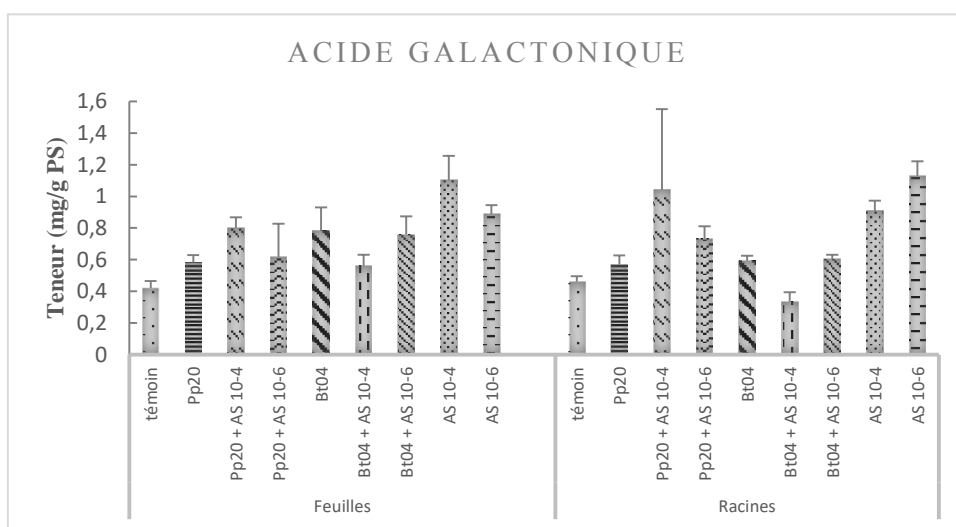


**Figure 71** : Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
 (1) acide 1,4-lactone-arabinonique, (2) acide érythronique, (3) acide 1,4-lactone-érythronique.

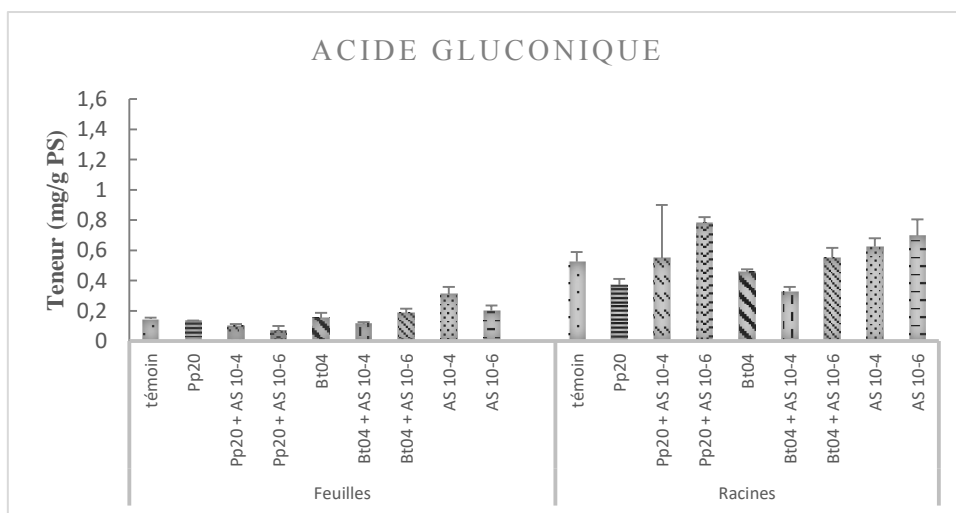
4



5

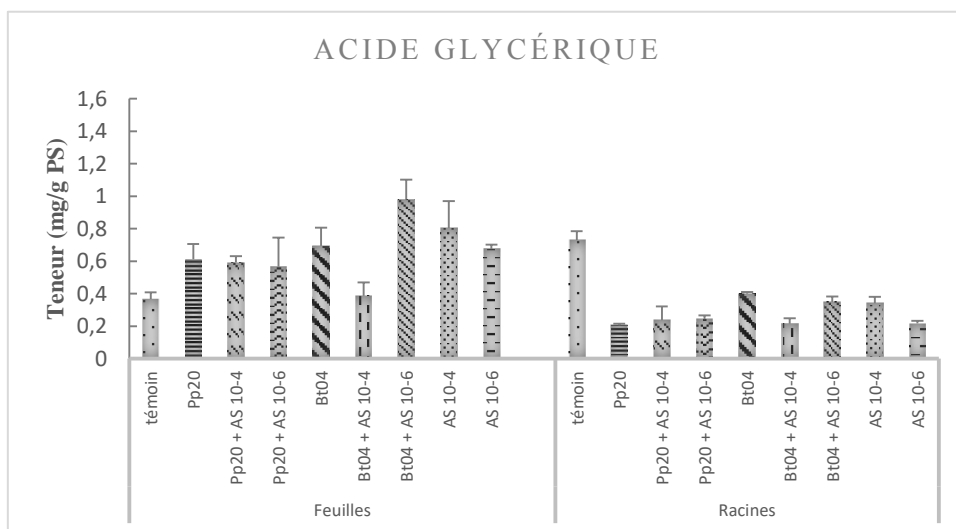


6

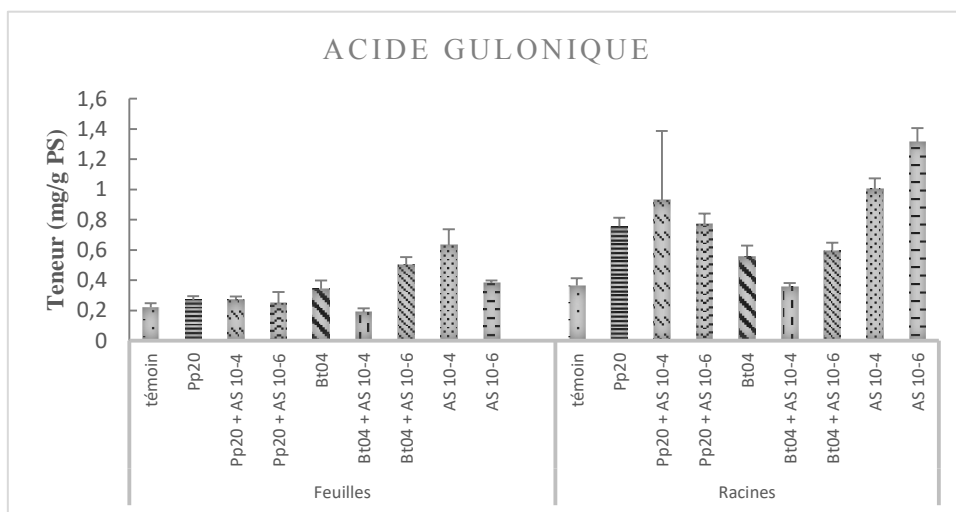


**Figure 71 (suite) :** Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(4) acide galactarique, (5) acide galactonique, (6) acide gluconique.

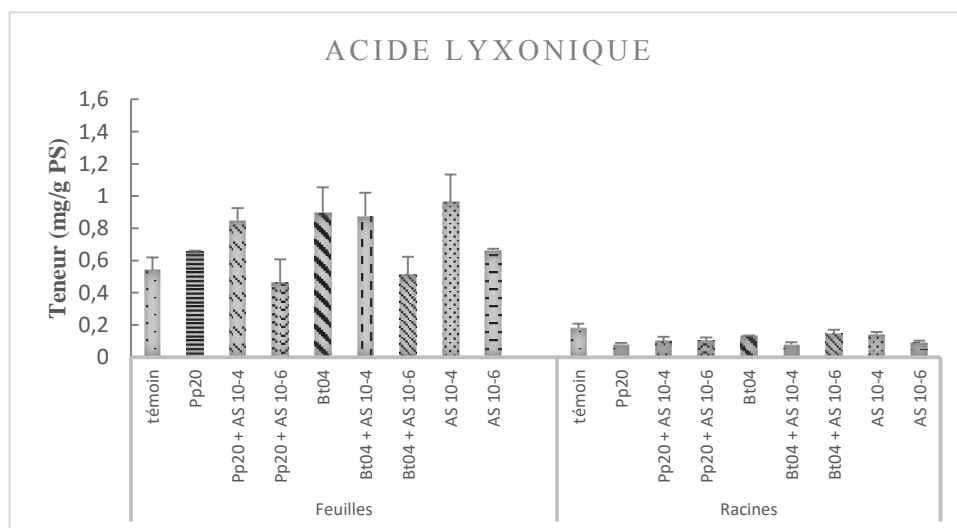
7



8

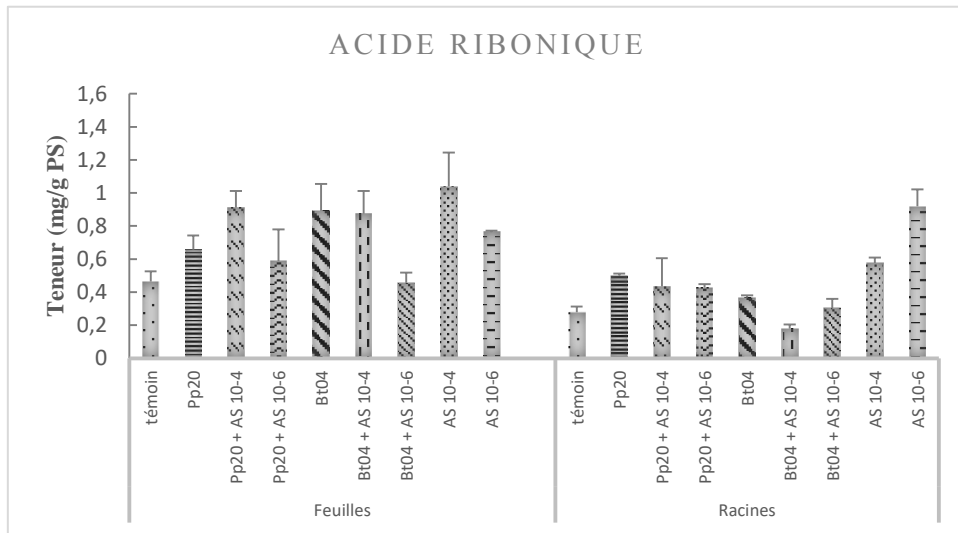


9

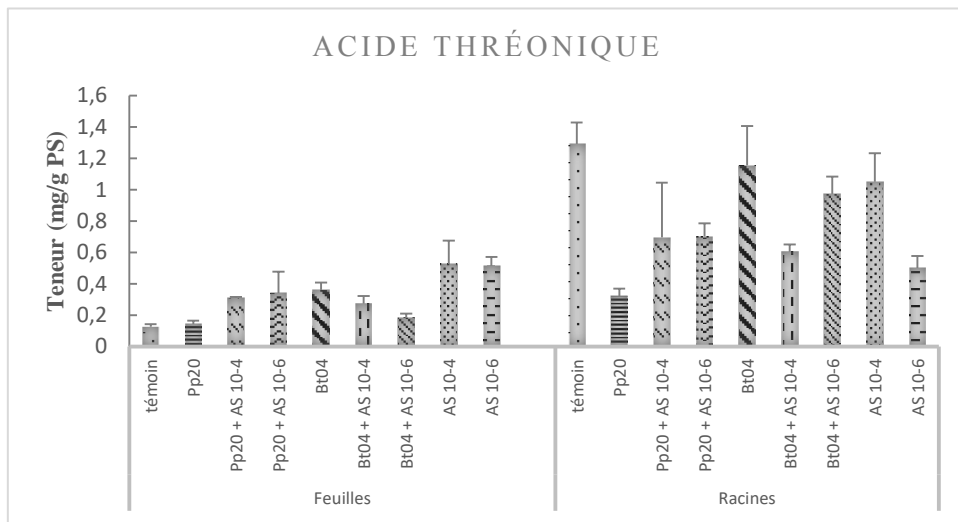


**Figure 71 (suite) :** Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations (10<sup>-4</sup> M et 10<sup>-6</sup> M) d'AS.  
(7) acide glycérique, (8) acide gulonique, (9) acide lyxonique.

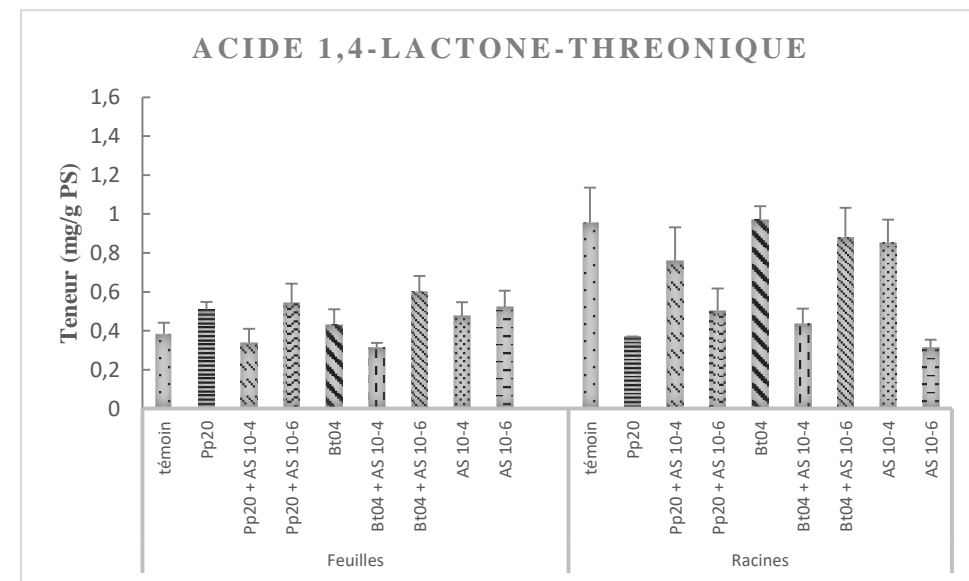
10



11



12



**Figure 71 (suite) :** Teneur en acides polyhydroxy dans les feuilles et les racines du *Datura innoxia* après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.  
(10) acide ribonique, (11) acide thréonique, (12) acide 1,4-lactone-thréonique.

### 12. Teneur des MSTs

Les résultats obtenus, après analyse par la GC-TOF-MS ont montré que *Datura innoxia* contiennent 92 métabolites inconnues ou « **MSTs** » dont deux qui n'existent pas dans les racines de la plante (A139005-101 et A331004-101).

### 13. Schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites chez *D. innoxia*

**La figure 72** représente le schéma global des différentes voies et cycles de biosynthèse des métabolites primaires et secondaire chez *D. innoxia* et leurs variations après inoculation par 02 PGPRs (Pp20 et Bt04) et élicitation par deux concentrations ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M) d'AS.

- blank
- roots, DI, before flowering, P1002
- ErrorBars: Standard Error
- roots, DI, before flowering, P1002 + SA 10-6
- roots, DI, before flowering, P1009
- roots, DI, before flowering, P1009 + SA 10-4
- roots, DI, before flowering, P1009 + SA 10-6
- roots, DI, before flowering, SA 10-4
- roots, DI, before flowering, SA 10-6
- roots, DI, before flowering, control

- blank
- leaves, DI, before vs early flowering, P1002
- leaves, DI, before vs early flowering, P1002 + SA 10-4
- leaves, DI, before vs early flowering, P1002 + SA 10-6
- leaves, DI, before vs early flowering, P1009
- leaves, DI, before vs early flowering, P1009 + SA 10-4
- leaves, DI, before vs early flowering, P1009 + SA 10-6
- leaves, DI, before vs early flowering, SA 10-4
- leaves, DI, before vs early flowering, SA 10-6
- leaves, DI, before vs early flowering, control

● ErrorBars: Standard Error

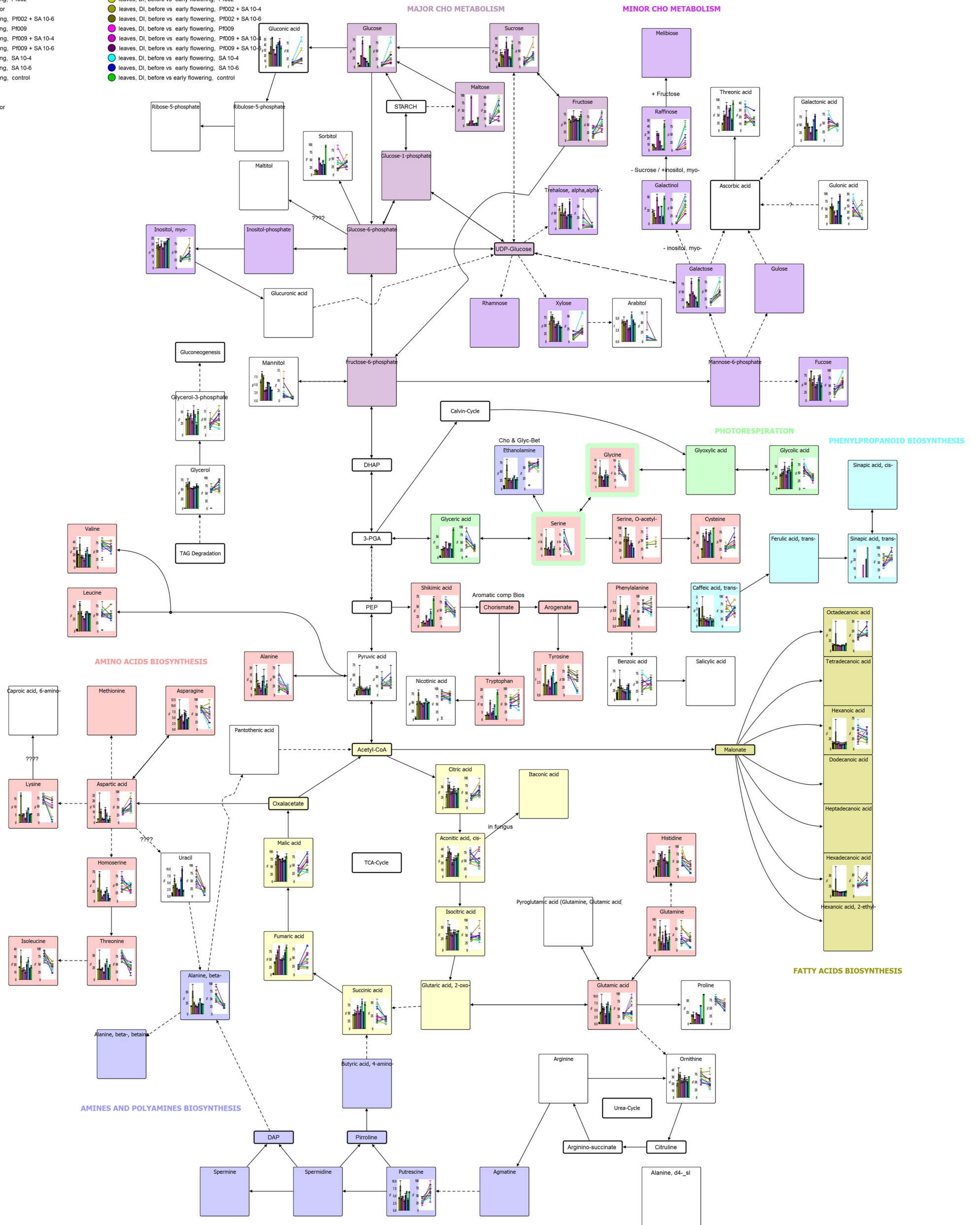


Figure 72 : Différentes voies et cycles de biosynthèse des principaux métabolites primaires et secondaires chez *Datura innoxia* et leurs variations après 4 semaines d'inoculation par 02 PGPR (Pp20 et Bt04) et élévation par deux concentrations d'AS ( $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$ )



# Discussion

Les PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) offrent un moyen efficace pour remplacer les engrais chimiques, les pesticides, etc..., cette qualité a considérablement conduit à leur demande accrue (Cook 2000). Ces bactéries peuvent améliorer la germination des graines, la croissance des racines et des pousses, le rendement, l'absorption des nutriments et la tolérance au stress des plantes et, aussi sont capables de contrôler quelques maladies (Cakmakçi et al. 2006; Egamberdieva et al. 2011).

### 1. Identification des PGPRs

Ainsi, afin d'étudier l'effet de trois PGPRs (qui nous ont été fournis par le laboratoire de phytopathologie du département des Biotechnologies de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Blida 1) sur la croissance et sur les métabolites primaires et secondaires chez *D. stramonium* et *D. innoxia*, il fallait tout d'abord les identifier.

Dans cette étude, le gène ARNr 16S, a été utilisé par PCR pour l'identification des trois souches bactériennes isolées dans 03 régions différentes de l'Algérie. Ces PGPRs ont été identifiés *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20, *Bacillus sp.* souche Bt04, *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89.

#### 1.1. *Pseudomonas plecoglossicida*

Elles sont caractérisées par leurs diversités métaboliques (Moore et al. 1996). Elles possèdent une collection de gènes d'adhésion, des protéines, des composés détoxifiants, des composants volatils et des enzymes telles que la cellulase, la phytase et désaminase (Martínez-García et al. 2015). Aussi, elles ont une respiration mais par un métabolisme fermentaire et présentent une capacité de formation de biofilms (Hall-Stoodley et Stoodley 2009). Jha et al. (2009) ont constaté que ce genre de bactéries peut être utilisé comme biofertilisants ou comme agents de biocontrôle en raison du potentiel inné de la solubilisation du phosphate, de la production de sidérophores, d'AIA, de protéase, de cellulase et de HCN (cyanure d'hydrogène). De même, Dharni et al. (2014) ont constaté que le *P. plecoglossicida* souche PsF610 a augmenté la biomasse sèche du géranium rose parfumée (*Pélargonium graveolens* cv. Bourbon), des tiges de 38%, des racines de 40%, et le rendement en huiles essentielles de 39% et en chlorophylle de 28% par rapport aux témoins non inoculés.

#### 1.2. *Bacillus sp.*

Ils comprennent les espèces d'intérêts industriel, biotechnologique et environnemental, ainsi que des souches cliniquement importantes (Slepecky et Hemphill 2006). En termes de propriétés métaboliques, ils présentent un groupe très diversifié, car ils peuvent dégrader divers

substrats et produire de nombreuses molécules, y compris les biosurfactants lipopeptidiques, les antibactériens, les antifongiques et les antiviraux (Saharan et Verma 2014). Ils sont couramment utilisés dans l'agriculture, la production alimentaire, la chimie, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques (Pacwa-Płociniczak et al. 2015).

### 1.3. *Lysinibacillus fusiformis*

Dans une étude sur *L. fusiformis*, Prabha et al. (2015) ont constaté que la souche AU01 est capable de produire, en même temps, des protéases extracellulaires et des estérases intracellulaires. Les souches *Lysinibacillus* sont, aussi, capables de produire un glycolipide de biosurfactants qui inhibe la formation du biofilms des bactéries pathogènes (Pradhan et al. 2014). Selon Sgroy et al. (2009), la *L. fusiformis* souche ES7 a montré une capacité à se développer dans des conditions dépourvues d'azote et de synthétiser certaines hormones végétales, mais, elle n'a pas pu produire des sidérophores, l'ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) désaminase ou solubiliser le phosphate. De même, Park et al. (2005) ont montré que les souches *L. fusiformis* PM5 et PM24 ont produit 100 µg d'AIA dans le milieu de culture et cela a été considéré comme un indice de l'effet prometteur de ces bactéries sur le développement et la croissance des plantes.

## 2. Effet des trois PGPRs sur la croissance chez *Arabidopsis thaliana*

*Arabidopsis thaliana* (plante modèle) est très recommandée pour l'étude de l'effet des PGPRs sur la croissance et la résistance des plantes contre les pathogènes, dans des différentes conditions (*in vitro*, dans le sol...) (Szymanski 2003).

Après son inoculation par les trois souches Pp20, Bt04 et Lf89, des améliorations significatives de la longueur moyenne des racines, du nombre moyen des racines secondaires, du diamètre moyen de la rosette et du poids sec moyen des racines ont été enregistrées.

Nos résultats rejoignent ceux de Ryu et al. (2003) qui ont étudié l'effet de *Bacillus subtilis* et *Bacillus amyloliquefaciens* GB03 IN937 sur les plantes d'*A. thaliana* cultivées *in vitro*, les résultats ont montré une amélioration significative de la croissance, elles ont augmenté la surface foliaire des plantes de plus de 400% par rapport aux témoins. De même, Zou et al. (2010), ont trouvé, après 15 jours d'inoculation des plantes d'*A. thaliana* par *Bacillus megaterium* souche XTBG34, que le poids frais des plantes a été augmentée presque de 2 fois par rapport au témoin. En outre, Lee et al. (2014), ont étudié l'efficacité de la souche *Bacillus subtilis* 21-1 (BS21-1) sur la stimulation de la croissance et la suppression des maladies chez *A. thaliana* sous deux conditions de sol différentes. Ils ont trouvé que les traitements par

BS21-1 augmentent significativement les différents paramètres de croissance de la plante, tels que, le taux de germination des graines, la longueur des plantes, la largeur des feuilles.

Aussi, l'ensemencement des graines de conifères avec des souches de *Bacillus* a provoqué une augmentation du taux de germination et de la biomasse (Chanway et al. 1991). En outre, Chanway (1997) a mentionné que l'inoculation des semences de *Tsuga heterophylla* par deux souches de *Bacillus polymyxa* (L5 et L6-16R) a conduit à la colonisation du système racinaire et à l'augmentation du taux de germination et de la levée. Kloepper et Schroth (1981) ont rapporté que l'inoculation des plantes du soja et du canola par les rhizobacteria augmente le taux de germination et de la levée des plantes. El Zemrany et al. (2007) ont montré 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.

Les chercheurs ont étudié l'effet des PGPR sur la croissance dans diverses plantes, les céréales, les légumineuses, etc. et ils ont évalué leurs fonctionnalités sur la base de la libération d'enzymes (déshydrogénase du sol, phosphatase, nitrogénase, etc.); des métabolites (sidérophores, antifongiques, HCN, etc.); des promoteurs de croissance (AIA, éthylène) (Rodrigues et al. 2008; Singh 2015). A la base de ces recherches deux groupes de PGPR ont été décrits : le premier groupe est impliqué dans la stimulation des éléments nutritifs et de la croissance des plantes (biofertilisants) (Vessey 2003), et le deuxième groupe est impliqué dans le contrôle biologique des pathogènes des plantes (bio pesticides) (Whipps 2001).

### **3. Effet des PGPRs sur les teneurs en azote, carbone et sur le rapport C/N chez *A. thaliana* et *Datura sp.***

L'azote (N) et le carbone (C) sont les deux éléments principaux pour la nutrition des plantes (Coruzzi and Bush 2001). La teneur en azote est l'un des facteurs les plus importants qui affectent la croissance des cultures et détermine la qualité et la quantité des rendements des cultures (Amâncio et Stulen 2004). L'atmosphère est la principale source d'azote, sous forme diatomique (N<sub>2</sub>) (Sheppard et Wallander 2004), il est rendu disponible pour les plantes par minéralisation liée à l'activité des bactéries (Mengel, 1982). En outre, certains PGPRs facilitent la croissance et le développement des plantes par l'apport d'azote aux plantes par fixation d'azote atmosphérique (Figueiredo et al. 2008).

Dans cette étude, les teneurs en azote ont enregistré des augmentations avec certains PGPRs appliqués chez *Arabidopsis thaliana* et *Datura Stramonium* (avec Pp20 dans les feuilles et toutes les souches dans les racines), mais c'est le contraire chez *Datura innoxia*. Les

meilleures teneurs enregistrées dans les feuilles d'*A. thaliana* (Pp20 (8,99%) ; Bt04 (9,08%), chez *D. stramonium* (dans les feuilles : Pp20 (6,88%) ; dans les racines : Bt04 (5,40%)) et chez *D. innoxia* (dans les racines : Bt04 (2,10%)), Alors que, les teneurs en carbone ont enregistré des diminutions chez *A. thaliana* et des augmentations avec les différents traitements, dans les feuilles et les racines chez *D. innoxia*.

En effet, de nombreux auteurs décrivent que les bactéries consomment 30 fois plus de carbone que l'azote (Riggs et al. 2001). Ceci explique les diminutions des teneurs du carbone dans les traitements par les PGPRs. La fixation d'azote par les bactéries pour les cultures légumineuses est bien connue et étudiée (Barea et al. 2005b; Esitken et al. 2006). Les études montrent que la fixation d'azote se fait principalement par ; *Rhizobium sp.* ; *Pseudomonas Sp.* ; *Azotobacter sp.* ; *Bacillus sp...etc.* (Vogel et al. 2016).

De même, les PGPRs peuvent aussi fixer l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) pour d'autres cultures, les céréales (maïs, riz et blé) et les légumes (laitue et radis) (Antoun et Prévost 2000). Par ailleurs, les *Pseudomonas fluorescens* ont été décrits, depuis longtemps comme stimulateurs de la nodulation chez le pois chiche (Parmar et Dadarwal 1999) et les tomates (Minorsky 2008). Selon Vessey (2003), les *Pseudomonas* favorisent et améliorent la hauteur des plantes, la fructification et la floraison chez les plantes.

Aussi, la capacité des PGPRs de fixer l'azote dans le sol et d'améliorer les rendements des cultures pourrait remplacer l'utilisation d'engrais azotés (Vessey, 2003).

#### **4. Effet des PGPRs sur la croissance végétative chez *Datura sp.***

La recherche sur les plantes médicinales, qui sont des réservoirs de composés biologiquement actifs ayant des propriétés thérapeutiques et qui sont utilisées pour guérir diverses maladies, a suscité une grande importance ces dernières années (Egamberdieva and da Silva 2015). Ces composés actifs sont principalement des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes (Sarker et Nahar 2007). Les *Datura* sont déjà connus comme une source importante d'alcaloïdes tropaniques (Bruneton 1993). Ils sont particulièrement riches en hyoscyamine et en scopolamine (Houmani et Cosson 2000).

Les études scientifiques sur l'effet des PGPRs chez les plantes médicinales sont limitées (Sharma et al. 2015), et leurs effets sur la production des métabolites primaires et secondaires est une zone qui reste négligée (Sekar et Kandavel 2010).

Nos résultats ont montré que les souches bactériennes utilisées ont augmenté la plupart des paramètres de croissances : la longueur moyenne des plantes (de 20% avec Pp20 chez DS et de 10% chez DI), le nombre moyen de feuilles (de 20% avec Pp20 et Bt04 chez DS et de 41

% et 21% avec Bt04 et Pp20 respectivement chez DI) et poids sec moyen (de 300% avec la souche Pp20 dans les feuilles de DS et de 70% avec la même souche dans les racines de DI).

Cela rejoint les résultats de Ghorbanpour et al. (2013), qui ont inoculé des plantules de *Hyoscyamus Niger* avec 20 souches de PGPRs (*Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*), ils ont rapporté que la souche PF-187 a augmenté la longueur des racines et l'allongement des pousses de 73 et 51%, respectivement, par rapport aux témoins non inoculés. Aussi, Lenin and Jayanthi (2012) ont observé que les racines inoculées de *Catharanthus roseus* par plusieurs souches PGPRs (*Azospirillum lipoferum*, *Azotobacter chroococcum*, *P. fluorescens* et *B. megaterium*) ont enregistré une augmentation du taux de chlorophylle et du contenu en éléments nutritifs (N, P et K). Ils ont conclu que la combinaison des PGPRs a un grand potentiel d'augmentation de la croissance de ces plantes. Dans une autre étude, l'inoculation des graines de *Calendula officinalis L.* avec des souches PGPRs a augmenté significativement les paramètres de croissance (la longueur des racines, la longueur des pousses et le poids sec) (Hosseinzadah et al. 2011).

#### **5. Effet des PGPRs sur les teneurs en métabolites primaires et secondaires chez *Datura sp.***

Depuis que le terme métabolite a été proposé (Oliver et al. 1998), la métabolomique (profilage des métabolites) a été développée rapidement dans les aspects des techniques analytiques, analyse des données et leurs applications (Nicholson et Lindon 2008). La métabolomique végétale a été appliquée progressivement à l'étude de la biologie, comme l'étude des gènes de fonction, les voies métaboliques et leurs mécanismes de régulation (Fernie et al. 2004; Naoumkina et al. 2010). Ainsi que dans la sélection végétale (rendements des cultures et composants nutritionnels) (Schauer et Fernie 2006).

Les résultats obtenus après les analyses réalisées par la GC-TOF-MS, ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* contiennent plusieurs familles chimiques appartenant aux métabolites primaires : les sucres (les glucides), les acides aminés, les acides gras, les acides organiques, les dérivés de phosphates, les polyols et les composés azotés, ainsi que des spectres de masse non identifiée (MSTs). Aussi des métabolites secondaires ont été identifiés comme les alcaloïdes, les phénylpropanoïdes et les acides Polyhydroxy.

Chez les *D. innoxia*, les résultats ont révélé l'existence d'une famille (sous forme de trace) absente chez les *D. stramonium*, c'est la famille « des composés de soufre ; des métabolites primaires ».

### 5.1. Les sucres

Les sucres ou les glucides sont les principaux produits de la photosynthèse et servent de source d'énergie et de matériel nécessaire pour la croissance et le développement des organismes (Krasavina et Burmistrova 2013). Il existe deux types de glucides : les glucides simples et les glucides complexes. Le type, le nombre et la teneur des glucides sont très variables d'une espèce à une autre et aussi au sein de la même espèce, elle varie d'une variété à une autre (Klemens et al. 2013).

Les résultats obtenus ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* partagent quelques sucres qui sont : **le fructose, le saccharose, le glucose, le 1-kestose, le psicose, le raffinose, le maltose et l'alpha, alpha' tréhalose**. Aussi, chaque variété renferme des sucres que l'autre espèce ne possède pas. *D. stramonium* contient : le **lyxose, le melezitose, 2-deoxy-ribofuranose et le 2-amino-2-deoxy-glucose**. Par contre, le *D. innoxia* comporte, **l'arabinose, le fucose, le galactose, le 6-kestose, le tagtose et le xylose**.

Dans une étude réalisée par Pant et al. (2015), ont trouvé après analyses par la GC-TOF-MS, que l'*Arabidopsis thaliana* contient 10 sucres : le glucose, le fructose, l'alpha, alpha' tréhalose, le saccharose, le maltose, le 1-kestose, le raffinose, le fucose et le xylose. Cependant, Röhlig et al. (2009), ont montré que les graines du Maïs contiennent 7 sucres, l'arabinose, le fructose, le galactose, le glucose, le saccharose, le tréhalose et le raffinose. Alors que, chez le Riz, Glaubitz et al. (2017), ont détecté 12 sucres : l'arabinose, le fructose, le glucopyranose, le glucose, le beta-1,6-anhydro- glucose, le 1-kestose, le maltose, le psicose, le raffinose, le rhamnose, l'alpha, alpha' tréhalose et le saccharose.

Par ailleurs, les teneurs en sucres ont enregistré une grande variabilité après inoculation par les PGPRs ou bien une stimulation par l'AS dans les feuilles et les racines des deux espèces du *Datura*. Chez *Datura stramonium*, la souche Bt04 a augmenté les teneurs en maltose, raffinose de 141% et de 113% respectivement dans les feuilles et la teneur en raffinose de 142% dans les racines. De même, la souche Pp20 a amélioré de 92% la teneur dans les racines en raffinose. Aussi les souches A4 et konm6 ont augmenté les teneurs dans les feuilles en alpha-alpha' tréhalose et en raffinose de 57% et 720% respectivement. Alors que, chez *Datura innoxia* les souches Pp20 et Bt04 ont augmenté les teneurs dans les feuilles en alpha, alpha'-tréhalose de 550% et 330% respectivement, dans les racines en xylose et en maltose de 57% et 286% respectivement.

Selon Tomczyk et al. (2002), les changements dans la teneur des sucres peuvent être induits par la présence de rhizobactéries dans le système racinaire des plantes. Aussi l'inoculation par des rhizobactéries a inhibé la diminution des sucres dans les feuilles du

cucumber infestées par les acariens. En outre, Subramanian et al. (1997), ont montré que, le stress hydrique a réduit les teneurs en sucres des parties aériennes du maïs, de 50% à 66% chez les plants non-mycorhizés mais seulement de 30 à 32% chez les plants mycorhizés, ce montre que les microorganismes augmentent la teneur des sucres totaux chez la plante.

Par ailleurs, au cours des dernières années, une série d'observations ont montré que l'accumulation des sucres dans les cellules et les tissus végétaux dépend de l'acide salicylique (Shaaban et al. 2011). La pulvérisation des feuilles de plants et parfois des plantes adultes avec une solution contenant l'AS a modifié significativement la teneur des sucres (Krasavina et Burmistrova 2013). Il augmente surtout la teneur des sucres solubles, du saccharose, du glucose et du fructose (Mathur et Vyas 2000; Dai et al. 2011; Khan et al. 2012). Les augmentations des teneurs en sucre ont été corrélées directement avec la croissance accélérée des plantes (Jayalakshmi et al. 2010).

## 5.2. Les acides aminés

Les acides aminés jouent un rôle essentiel dans la physiologie et le développement de toutes les cellules vivantes (Bardócz 1995). Dans les végétaux, ils sont impliqués dans la division cellulaire, le développement et la réponse aux stress (Wu 2009). Les AA jouent un rôle important dans les processus de signalisation entre les plantes et les microorganismes symbiotiques et peuvent affecter ces interactions (Frankenberger Jr et al. 1995; Williams 2013). Par exemple, le tryptophane est un précurseur de la biosynthèse de l'acide indol-3-acétique (AIA) synthétisé par de nombreux PGPRs (Kravchenko et al. 2004; Kamilova et al. 2006).

Les résultats obtenus ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* comportent en commun 18 acides aminés standard : l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'aspartate, le glutamate, la glutamine, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la phénylalanine, la proline, la sérine, la thréonine, le tryptophane, la tyrosine et la valine. En outre, *D. innoxia* contient la cystéine qui est absente chez *D. stramonium*. Par ailleurs, les deux espèces partagent quelques dérivés d'acides aminés, la 3-cyano-alanine, la bêta-alanine, l'acide 4-amino-butanoïque, la butyro 1,4-lactam, l'homocystéine, l'homoserine, la N-carboxyglycine, la N-acétyl-valine, le ornithine 1,5-lactam.

Cependant, *D. stramonium* contient l'ornithine et l'acide pyroglutamique qui sont absents chez *D. innoxia*, alors que, cette dernière contient **l'acide 2-amino-adipique, l'acide 2-amino-butanoïque, la gamma-glutamylvaline, la N-acétyl-valine, la N-carboxyglycine, la O-acétyl-serine, la N-acétyl-serine, l'allo-thréonine et la triméthyllysine.**



Dans des travaux réalisés en 1984 par Gupta (Gupta 1984) a trouvé que *D. innoxia* possède 16 acides aminés : l'acides aspartique, la thréonine, la serine, l'acides glutamique, la proline, la glycine, l'alanine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, la leucine, la tyrosine, la phénylalanine, l'histidine, la lysine et l'arginine. En outre, Pant et al. (2015), ont trouvé qu'*Arabidopsis thaliana* porte 28 acides aminés (l'alanine, l'arginine, l'acide 3-hydroxy-3-methyl-glutarique, l'homoserine, l'ornithine, la O-acétyle-serine, l'asparagine, la lysine, l'acide glutamique, la phénylalanine, la thréonine, la tyrosine, l'acide pyroglutamique, la glutamine, la valine, l'acide aspartique, l'acide 4-amino-butanoïque, la glycine, la sérine, la méthionine, le tryptophane, l'isoleucine, la proline, l'histidine, la ornithine 1,5-lactam, la leucine, l'acide 2-amino-adipique, l'allo- thréonine). Cependant, Röhlig et al. (2009), ont trouvé 29 acides aminés dans les graines de maïs. En outre, Glaubitz et al. (2017), ont détecté 18 acides aminés chez le riz.

Nos résultats ont montré que les PGPRs et l'AS ont influencé significativement les teneurs en acides aminés chez *Datura sp.* Chez *Datura stramonium*, les quatre souches Bt04, Pp20, A4 et Konm6 ont augmenté les teneurs dans les feuilles en alanine de 247%, 215%, 189% et 131% respectivement et les teneurs en histidine dans les racines de 90%, 50%, 65% et 145% respectivement. De même, chez *Datura innoxia* les souches Pp20 et bt04 ont augmenté les teneurs dans les feuilles en homocystéine et en alanine de 246% et de 153% respectivement.

La détermination de la composition en acides aminés est une tâche fastidieuse et inexacte, et donc la connaissance de la composition des protéines végétales est rudimentaire (Fowden 2001). De nombreux acides aminés, peuvent être facilement utilisés comme nutriments par de nombreuses bactéries, y compris les PGPRs (Weert and Bloemberg 2006). Les PGPRs et en particulier les *Pseudomonas*, peuvent stimuler l'exsudation des acides aminés en modifiant les concentrations de ces composés dans la rhizosphère (Phillips et al. 2004; Naher et al. 2009). Selon Naher et al. (2008), l'inoculation du riz par *Corynebacterium sp.* ou *Rhizobium sp.* a diminué la sécrétion des acides aminés par les racines de la plante, et elle a inhibé, aussi l'absorption des acides aminés par les racines de la luzerne, du maïs et du blé (Phillips et al. 2004).

### **5.3. Les acides gras**

La plupart des acides gras présents dans la nature sont sous forme d'esters de glycérol (communément appelés triglycérides ou des triacylglycérols). Ces esters se trouvent dans la plupart des organismes vivants et jouent un rôle primordial dans le stockage d'énergie (Browse et Somerville 1991). Les acides gras sont également stockés sous forme de phospholipides,

glycolipides et de cires, ou converties en alcools, aldéhydes, oléfines, hydrocarbures, composés acétyléniques, et d'autres métabolites secondaires (den Besten et al. 2013). Tous les acides gras sont des métabolites primaires ; ils sont, ainsi impliqués dans le stockage de l'énergie et sont présents dans les plantes, parmi ceux-ci l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoléique (Seigler 2012b).

Les résultats obtenus ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* contiennent 03 acides gras insaturés. **L'acide hexadécanoïque** est un métabolite commun entre les deux espèces. Cependant, *D. stramonium* comporte **l'acide hydroxy-hexanedioïque et l'acide stéarique**, alors que les *D. innoxia* renferme **l'acide hexanoïque et l'acide octadécanoïque**.

Pant et al. (2015) ont trouvé que l'*A. thaliana* contient un seul acide gras c'est l'acides octadécanoïque. Alors que, Tsydendambaev et al. (2004), ont détecté 55 acides gras chez quatre plantes alpines, *Oxygraphis glacialis*, *Primula macrophylla*, *Rhodiola pamirolaica*, et *Swertia marginata*. Selon, Glaubitz et al. (2017), le riz renferme 2 acides gras, l'acide hexadécanoïque et l'acide Octadécanoïque.

Les analyses de la GC-TOF-MS ont montré que les PGPRs n'ont pas eu d'un grand effet sur les teneurs en acides gras chez *Datura sp.* Chez *D. stramonium* les souches A4, Pp20 et Konm6 ont augmenté les teneurs dans les racines en acide hydroxy-hexanedioïque de 65%, 21% et 13% respectivement. Cependant, chez *D. innoxia*, la souche Bt04 a amélioré dans les feuilles de 47% la teneur en acide hexanoïque.

#### 5.4. Les acides organiques

Les acides organiques sont une classe hétérogène de métabolites à faible poids moléculaire, ils contiennent au moins un groupe acide carboxylique (Nuttall and Guzman 2001). Les plantes contiennent une grande variété d'acides organiques qui sont essentiellement contenus dans les fruits. Parmi ces acides, les plus connus sont : l'acide citrique, l'acide malique, l'acide salicylique et l'acide oxalique (Calvel 2001).

Nos résultats ont montré que *D. innoxia* possède 29 acides organiques, 10 acides plus que chez *D. stramonium*. Certains ont été détectés dans seulement l'une des deux espèces, alors que d'autres sont communs pour les deux.

Les acides organiques trouvées chez les deux espèces sont : l'acide 4-hydroxyphényl-acétique, l'acide cis-acétonique, l'acide benzoïque, l'acide 2,4-dihydroxy-butanoïque, l'acide citrique, l'acide 2-hydroxy-glutarique, l'acide 2-oxo -glutarique, l'acide glycolique, l'acide lactique, l'acide 3-phényl-lactique, l'acide malique, l'acide 2-isopropyl-malique, l'acide 2-

méthyl-malique, l'acide malonique, l'acide oxalique, l'acide 2-carboxylique-pipéridine, l'acide pyruvique, l'acide succinique.

En outre, *D. stramonium* possède l'acide 2,4-hydroxy-benzoïque. Alors que, *D. innoxia* possède : l'acide 3,4-dihydroxy-benzoïque, l'acide 4-dihydroxy-butanoïque, l'acide 2-méthyl-citrique, l'acide fumarique, l'acide glutarique, l'acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique, l'acide isocitrique, l'acide maleamique, l'acide shikimique, l'acide subérique, l'acide sulfurique et l'acide vanillique.

Pant et al. (2015), ont montré que l'*A. thaliana* contient 13 acides organiques (l'acide citrique, l'acide malique, l'acide maléique, l'acide fumarique, l'acide shikimique, l'acide glycolique, l'acide arabinonique, l'acide 2,4-dihydroxy-butanoïque, l'acide 2-hydroxy-glutarique, l'acide glyoxylique, l'acide salicylique, l'acide glucopyranoside-salicylique et l'acide pantothénique). Alors que, Röhlig et al. (2009), ont identifié 21 acides organiques dans les graines du maïs. Cependant, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé que le riz contient 22 acides organiques.

Par ailleurs, les PGPRs ont enregistré des augmentations importantes pour la majorité des acides organiques chez les deux espèces. Chez *Datura stramonium*, les 4 souches Konm6, Bt04, A4 et Pp20, ont augmenté les teneurs dans les feuilles en acide 2-oxo-glutarique de 300%, 350%, 230% et 133% respectivement. Aussi, la souche Pp20 a amélioré de 270% la teneur en acide 2-isopropyl-malique dans les racines. De même, chez *Datura innoxia*, les deux souches Pp20 et Bt04 ont augmenté de 115% et 118% respectivement les teneurs dans les feuilles en acide 3-hydroxy-3-méthyl-glutarique.

### 5.5. Les dérivés de phosphate

Le phosphate est un nutriment essentiel pour les plantes et un composant structurel des membranes lipidiques et des acides nucléiques. Il agit également comme un élément essentiel du métabolisme énergétique, et des intermédiaires actives dans la photosynthèse et tout au long du cycle du métabolisme primaire (Poirier and Bucher 2002).

Les analyses réalisées par la GC-TOF-MS, ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* possèdent des dérivés de phosphates, 04 éléments chez DS et 05 chez DI. Les deux variétés partagent les 04 métabolites : le **glycerol-3-phosphate**, l'**acide phosphorique** l'**ester monométhylique de l'acide phosphorique** et le **phosphoglycérol de glycérol**. Cependant on a trouvé le **myo-inositol-phosphate** chez *D. innoxia* uniquement.

Dans les travaux de pant et al. (2015), ont trouvé que l'*A. Thaliana* porte 10 éléments appartient à cette famille : le fructose-6-phosphate, le glucose-6-phosphate, le glycerol-3-

phosphate, le myo-inositol-phosphate, l'acide phosphorique, le galactose-6-phosphate, le phosphoglycérol de glycérol, l'acide glycerique-3-phosphate, la monomethyl phosphate et la mannose-6-phosphate. Alors que, chez le riz, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé 13 dérivés de phosphates : l'éthanolaminephosphate, le 6-phosphate-fructose, l'acide 6-phosphate-gluconique, le 6-phosphate-glucose, l'acide 2-phosphate-glycerique, l'acide 3-phosphate-glycerique, le 3-phosphate-glycerol, le glycerophosphoglycerol, le myo-inositol-3-phosphate, le myo-inositol-1-phosphate, l'acide Phosphoenolpyruvique, l'acide Phosphorique et l'ester monométhylque de l'acide phosphorique.

Par ailleurs, les teneurs en dérivés de phosphates ont montré une grande variabilité après l'inoculation par les PGPRs. En outre, chez *D. stramonium* l'ester monométhylque de l'acide phosphorique a été amélioré par la souche Pp20 de 172% et de 38% dans les feuilles et les racines respectivement. La même souche a augmenté la teneur dans les feuilles en ester monométhylque de l'acide phosphorique de 214%, chez *D. innoxia*.

Les PGPRs peuvent modifier la physiologie et certaines propriétés nutritionnelles des plantes. Elles augmentent l'absorption d'éléments nutritifs tels que le phosphore par les plantes grâce à la stimulation de la pompe ATPase (Mantelin et Touraine 2004). Karlidag et al. (2007), ont rapporté que l'inoculation de *Malus domestica* par des souches de *Bacillus* améliore l'absorption de phosphore par les plantes. Cette augmentation de l'absorption des phosphates par les plantes pourrait être expliquée par la production élevée des acides organiques par les plantes et les PGPRs, ceci augmente la teneur en phosphates (Barea et al. 2005a).

### 5.6. Les polyols

Un polyol, appelé aussi polyalcool ou glycol, est un carbohydrate avec un groupe carbonyle (Goossens et Roper 1994). C'est un composé chimique utilisé principalement dans l'industrie alimentaire. Les polyols les plus trouvés chez les plantes sont, le mannitol, le sorbitol, le galactitol et le myo-inositol (Noiraud et al. 2001).

Chez *D. stramonium*, on a trouvé 5 polyols : **l'arabitol, l'érythritol, le glycérol, le myo-inositol et le sorbitol**. Alors que, chez *D. innoxia* on a trouvé 10 polyols, les 5 existants chez *D. stramonium*, plus 05 autres : **le galactitol, le mannitol, le ribitol, le threitol et le xylitol**.

D'après pant et al. (2015), l'*A. thaliana* possède 05 polyols, le myo-inositol, l'érythritol, le glycérol, le ribitol et le galactitol. Par ailleurs, Röhlig et al. (2009), ont détecté 6 polyols dans les graines du maïs, le glycérol, l'érythritol, le ribitol, le sorbitol, le mannitol et l'inositol. En outre, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé 7 polyols chez le riz. On outre, Tu et al. (1992), ont

isolé 3 polyols chez *Celastrus angulatus*. Chez la même espèce, Zhang et al. (2014), ont isolé 4 autres nouveaux polyols.

Par ailleurs, les PGPRs ont influencé significativement les teneurs en polyols chez *Datura sp.*. Chez *D. stramonium*, les souches A4, konm6, bt04 et pp20 ont augmenté les teneurs dans les racines en **érythritol** de 276%, 273%, 161% et de 130% respectivement. Cependant, chez *D. innoxia*, la souche Pp20 a augmenté dans les feuilles de 500% la teneur en mannitol et la souche Bt04 a augmenté la teneur en xylitol de 161%.

### 5.7. Les composés de l'azote

L'azote est l'un des principaux éléments nutritifs des plantes, devenant un facteur limitant dans les écosystèmes agricoles en raison de leur lourde perte par les pluies ou la lixiviation des minerais (Rentsch et al. 2007). L'azote est un élément essentiel pour toutes les formes de vie, une base nécessaire à la synthèse des acides nucléiques, protéines et d'autres composés organiques azotés tel que l'Adénine, la Cytidine... (Merbach et al. 1999).

Les résultats de la GC-TOF-MS ont montré que les *Datura* contient plusieurs composés de l'azote, chez *D. stramonium*, il existe 18 métabolites, cependant chez *D. innoxia*, il en existe 30. Les deux espèces partagent : **l'adénine, l'allantoïne, la cytidine, l'éthanolamine, la guanine, la guanosine, l'acide nicotinique, la putrescine, la 2-hydroxy-pyridine, la 3-hydroxy-pyridine, la thymine, la tyramine, l'uracile, l'acide urique et la xanthine.** Cependant, *D. stramonium* comportent 02 éléments qui n'existent pas chez les *D. innoxia* : la **cytosine et la 5-méthyl-cytosine.** Alors que, *D. innoxia* renferme l'**acide 2-imidazolidone-4-carboxylique, la glucosamine, la N-acétylglucosamine, l'amino-2-deoxy-glucose, la guanosine, la 2'-deoxy-inosine, l'octopamine, la phenethylamine, l'acide propénoïque, l'acide 2-amino-2-méthyl-3-hydroxy propanoïque, la 2,3-dihydroxy-pyridine, l'acide 2-carboxylique-pyrrole, la saccharopine, l'uridine, l'acide 5-amino-valérique et la xanthosine.**

Selon Pant et al. (2015), l'*A. thaliana* ne contient que 7 composés de l'azote, c'est à dire que les *Datura* sont plus riches en azote. De même, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé 9 composés de l'azote chez le riz.

En outre, nos résultats ont montré que plusieurs composés de l'azote ont subi des augmentations significatives après inoculation par les PGPRs et/ou élévation par l'acide salicylique. Chez *Datura stramonium*, la souche Pp20 a augmenté les teneurs dans les feuilles en guanine de 146% et en nicotianamine de 240% dans les racines. De même, la souche Bt04, a amélioré de 175% la teneur en nicotianamine, dans les racines. Cependant, chez *Datura*

*innoxia*, la souche Pp20 a amélioré les teneurs dans les feuilles pour la majorité des molécules détectées, surtout pour la 2'-deoxy-guanosine (289%) et la guanine (132%). Aussi, la souche Bt04 a augmenté la teneur en xanthine de 302%. De même, les concentrations d'AS ont amélioré les teneurs en composés de l'azote jusqu'à 405% pour la thymine dans les feuilles.

Prasad et al. (2012), ont observé que la croissance des plantes a augmenté, l'absorption du phosphore et la teneur en azote dans les pousses et les racines de *chrysanthème indicum L.* inoculé avec *Glomus mosseae*, *Acaulospora laevis*, et *Pseudomonas fluorescens*. Des résultats similaires ont été obtenus par Singh et al. (2013), où l'absorption de N, P et K des plantes de *Coléus forskohlii* a augmenté de manière significative (26%, 60% et 43%, respectivement) suite à l'inoculation par *Pseudomonas monteilii* et *Glomus fasciculatum*. De même, des augmentations significatives de 20% et de 52% des taux d'azote dans les racines et les pousses de *Galega orientalis*, ont été observées après inoculation par *Pseudomonas trivialis* (Egamberdieva et al. 2010).

### 5.8. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes tropaniques sont fréquemment utilisés en médecine en raison de leurs précieuses activités pharmacologiques (Mulder et al. 2016). A ce groupe appartiennent l'hyoscyamine, son racémate l'atropine et la scopolamine (Shoji 2016).

Bien que la stimulation de la croissance après l'inoculation par les PGPRs a été démontrée chez *Datura stramonium* et *Datura innoxia*, on a obtenu une grande variation dans la teneur en alcaloïdes par gramme de poids sec dans les racines et les feuilles.

Les résultats de la GC-TOF-MS ont montré que les feuilles et les racines du *Datura innoxia* contiennent 4 alcaloïdes qui sont, la scopolamine, l'hyoscyamine, l'atropine et la pseudotropine, alors que *Datura stramonium* renferme 03 alcaloïdes (pas de pseudotropine). Selon Oksman-Caldentey et Arroo (2000), vingt-huit alcaloïdes tropaniques ont été rapportés dans toute les espèces de *Datura*. De même, Philipov et Berkov (2002) ont montré que les graines du *Datura stramonium* d'origine bulgare contiennent environ Vingt-neuf alcaloïdes détectés par la GC-MS qui sont tous caractérisées par un noyau tropaniques. Mais, El Bazaoui et al. (2011), ont trouvé que les plantes *Datura stramonium* contiennent 67 alcaloïdes et dérivés d'alcaloïdes dont 9 ont été détectés pour la première fois.

Il est bien connu que la racine est le lieu de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques dans les plantes de la famille des Solanacées, mais ils peuvent être transportés vers les parties aériennes où ils s'accumulent (Zárate et al. 1997).

Par ailleurs, les teneurs en alcaloïdes et leur composition chez *Datura sp.* peuvent varier selon :

- L'espèce et la partie étudiée (Miraldi et al. 2001) ;
- Le stade phénologique (Afsharypuor et al. 1995) ;
- Le lieu de croissance (Berkov et al. 2006).

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en scopolamine chez le témoin dans les feuilles du *Datura sp.* sont supérieures à celles dans les racines. Alors que, c'est le contraire pour les teneurs en hyoscyamine, atropine et en pseudotropine chez *Datura innoxia*.

Pa ailleurs, les teneurs en alcaloïdes (les 3 communs) des témoins diffèrent d'une espèce à une autre :

- Scopolamine : 0,54 mg/g PS et 0,29 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. stramonium* ; 0,009 mg/g PS et 0,93 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. innoxia*.
- Hyoscyamine : 0,35 mg/g PS et 0,85 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. stramonium* ; 0,50 mg/g PS et 0,80 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. innoxia*.
- Atropine : 0,05 mg/g PS et 0,87 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. stramonium* ; 0,04 mg/g PS et 1,12 mg/g PS dans les feuilles et les racines respectivement chez *D. innoxia*.

Dans la présente étude, les feuilles du *Datura stramonium* sont plus riches en scopolamine par rapport aux racines, alors que, c'est le contraire pour *Datura innoxia*. Par ailleurs, les teneurs en hyoscyamine et en atropine sont très élevées dans les racines par rapport aux feuilles chez les deux espèces.

Iranbakhsh et al. (2006) ont étudié la distribution de l'atropine et la scopolamine dans les feuilles et les racines dans le stade végétative du *Datura stramonium*. Ils ont trouvé que les feuilles contiennent 0,03% d'atropine et 0,09% de scopolamine, alors que les racines contiennent 0,04% d'atropine et 0% de scopolamine. De même Miraldi et al. (2001) ont rapporté que le taux d'alcaloïdes tropaniques (hyoscyamine et scopolamine) dans les racines du *Datura stramonium* est plus faible par rapport aux organes aériens.

Les mêmes résultats ont été obtenus par (Chollet et al. 2010) qui ont rapporté que les teneurs en atropine et en scopolamine sont plus importantes dans les feuilles par rapport aux racines chez *Datura stramonium* et *Datura tatula*.

Alors que, pour Afsharypuor et al. (1995), les racines accumulent plus d'atropine et d'hyoscyamine chez *Datura metel*. Les mêmes résultats ont été obtenus dans les travaux réalisés par Pramod et al. (2010) pour les teneurs en scopolamine et en hyoscyamine chez *Datura metel*.

Quant à l'effet des bactéries sur les teneurs en alcaloïdes chez les deux espèces traitées, on a remarqué une grande variabilité, parfois les teneurs sont supérieures à celles des témoins, surtout avec les souches A4 et Bt04, mais parfois elles sont inférieures. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec la souche A4, qui a augmentée de 90 % les teneurs en scopolamine et de 72% celle en hyoscyamine par rapport aux témoins dans les feuilles du *Datura stramonium*. En outre, la souche Bt04 a augmenté de 112% et de 38% les teneurs en atropine et en pseudotropine respectivement dans les feuilles du *Datura innoxia*.

Dans les travaux de Vu, (2008), l'inoculation, des plantes du *Datura innoxia* cultivées en hydroponie, par des souches d'*Agrobacterium rhizogenes*, a conduit à des améliorations significatives de la croissance des plantes et de la biosynthèse et l'accumulation d'hyoscyamine et de scopolamine (teneurs d'environ de 0,7% MS, soit 6-7 fois plus que le témoin). De même, Ghorbanpour et Hatami (2013), ont trouvé que les taux d'hyoscyamine et de scopolamine dans les graines d'*Hyoscyamus niger* sont significativement influencés par inoculation par des souches de *Pseudomonas* combinées à un stress hydrique, ils ont enregistré des teneurs de 0.271% pour l'hyoscyamine et de 0.135% pour la scopolamine avec la souche PF-187. Selon Ghorbanpour et al. (2013), les teneurs en hyoscyamine et en scopolamine dans les feuilles et les racines d'*Hyoscyamus niger* ont été augmentés après inoculation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*.

En effet, les bactéries ont été classées dernièrement comme éliciteurs biotiques des métabolites chez les plantes médicinales (Jaleel et al. 2009), elles produisent des régulateurs de croissance qui agissent comme éliciteurs sur la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques, ce qui entraîne l'augmentation de leurs teneurs (Ghorbanpour et Hatami 2013). Les différents types de stress appliqués sur les plantes ; généralement, augmentent les taux des acides aminés, des protéines solubles et des hydrates de carbone ; sont parmi les facteurs contribuant à l'augmentation des teneurs en alcaloïdes (Mattson et Haack 1987). Plusieurs souches de *Pseudomonas* ont été révélées produire des éliciteurs tels que l'acide salicylique (Viswanathan et Samiyappan 2004), ce qui favorise la croissance et la production des métabolites secondaires des plantes et augmente l'immunité en activant les systèmes de défense (Ping et Boland 2004).



### 5.9. Les phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont des métabolites secondaires, ce sont de petites molécules phénoliques, qui sont des éléments clés dans de nombreuses herbes et espèces importantes, comme les clous de girofle, la cannelle, le basilic et l'estragon (Tahsili et al. 2012). Ces composés sont synthétisés et stockés dans les glandes à la surface des feuilles, des tiges et des fleurs (Iijima et al. 2004). La biosynthèse des phénylpropanoïdes est suivie la voie du shikimate et est régulée par plusieurs réactions enzymatiques (Dixon et al. 1992). Tous les phénylpropanoïdes sont des dérivés de l'acide cinnamique ou p-coumarique (Achnine et al. 2004).

Les flavonoïdes sont les produits de la voie des phénylpropanoïdes. Après leur biosynthèse, les flavonoïdes sont généralement stockés sous forme de sucres conjugués dans les vacuoles des plantes (Aoki et al. 2000). Ils jouent un rôle clé dans la spécificité de nodulation. Plus de 4000 flavonoïdes sont connus pour exister, avec la quercétine et le kaempférol. La quercétine étant couramment le flavonoïde le plus récent et présente près de 70% des flavonoïdes totaux dans les plantes (Panda et Kar 2007).

Chez les phénylpropanoïdes, aussi bien que chez les familles précédentes, les analyses ont révélé que *D. innoxia* contient plus de molécules que *D. stramonium*.

Les deux variétés comportent les deux flavonoïdes, **lutéoline** et **quercétine**, en plus de deux phénylpropanoïdes : **l'acide trans-caféique**, **l'acide trans-férulique**. En outre, *D. innoxia* contient **l'acide cis-caféique**, **l'acide 4-hydroxy-cis-cinnamique**, **l'acide 4-hydroxy-, trans-cinnamique** et **l'acide trans-sinapique**. Alors que, *D. stramonium* comporte **l'acide dihydrofolique**, un phénylpropanoïde absent chez les *D. innoxia*.

Selon Pant et al. (2015), l'*Arabidopsis thaliana* ne contient que 02 phénylpropanoïdes, l'acide cis-sinapique et l'acide trans-férulique. Alors que, Glaubitz et al. (2017), ont montré que le riz possède 4 phénylpropanoïdes, l'acide trans-4-hydroxy-cinnamique, l'acide trans-5-cafféoyl-quinique et l'acide cis-sinapique. Cela montre bien la richesse des *Datura sp.* en phénylpropanoïdes.

Nos résultats, ont montré que l'inoculation du *D. stramonium* et *D. innoxia* par les PGPR augmente significativement les teneurs en PHPR, surtout la lutéoline et la quercétine dans les feuilles et les racines. Chez *D. stramonium*, l'acide trans-caféique a été augmenté de 91%, 82% et de 16% avec A4, Bt04 et Konm6 respectivement. Dans les racines de la plante, la quercétine a été améliorée de 45%, 42% et de 31% avec A4, Konm6 et Bt04 respectivement. Cependant chez *D. innoxia*, des effets bénéfiques des PGPRs et de l'AS ont été enregistrés sur les PHPR. Dans les feuilles, les meilleures augmentations ont été enregistrées pour l'acide cis-4-hydroxy-

cinnamique (86% avec Pp20), la lutéoline (20% avec les deux concentrations  $10^{-4}$  et  $10^{-6}$  M d'AS) et la quercétine ( $10^{-4}$  M d'AS : 18%), l'acide trans-4-hydroxy-cinnamique (Pp20+ $10^{-6}$  M d'AS (104%) et Bt04+ $10^{-4}$  M d'AS (107%)).

Des travaux ont montré que les PGPRs peuvent provoquer des changements remarquables dans les activités des enzymes impliquées dans la production de métabolites, en particulier les flavonoïdes, conduisant à des changements dans la structure de l'exsudation racinaire (Shaw et al. 2006). Selvaraj et Sumithra (2011), ont trouvé que l'inoculation des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. par *Glomus aggregatum*, *Bacillus coagulans* et *Trichoderma harzianum* augmente la teneur des flavonoïdes et des alcaloïdes. De même, dans les travaux de Tajpoor et al. (2013), la teneur la plus élevée en flavonoïdes, dans l'huile essentielle d'*Anethum graveolens* L. a été obtenue après inoculation par *Pseudomonas putida* combiné avec un vermicompost. En outre, Nasrollahi et al. (2014), ont montré que le stress hydrique augmente les teneurs de méthylchavicol, méthyléugénol,  $\beta$ -myrcène et  $\alpha$ -bergamotène chez *Ocimum basilicum*. En outre, Chen et al. (2006) ont enregistré une accumulation significative de phénylpropanoïdes chez les Baies de raisin traitées par l'AS. De même, chez le persil, le traitement des cellules avec l'AS a amélioré la teneur en phénylpropanoïdes (Thulke et Conrath 1998). Aussi, Pastírová et al. (2004), ont indiqué que l'application de l'AS induit à l'accumulation de phénylpropanoïdes (les coumarines).

### 5.10. Les acide polyhydroxy

Les plantes sont connues par la production des acides polyhydroxy (Lee et al. 2008). En raison de leurs caractéristiques chimiques particulières, les acides poly hydroxyliques sont utilisés dans une large gamme de produits, y compris les résines, les cires, les nylons, les plastiques, les inhibiteurs de corrosion, les cosmétiques et les revêtements (Jain et al. 2016).

Nos résultats ont montré que *D. stramonium* et *D. innoxia* contiennent 10 acides polyhydroxy. *D. stramonium* est caractérisé par l'acide érythronique qui est absent chez *D. innoxia*, ce dernier renferme : l'acide 1,4-lactone érythronique et l'acide 1,4-lactone thréonique. Cependant, les deux espèces partagent : l'acide arabinonique, l'acide galactarique, l'acide galactonique, l'acide gluconique, l'acide glycérique, l'acide gulonique, l'acide xylonique, l'acide ribonique et l'acide thréonique.

Pant et al. (2015), ont montré que l'*Arabidopsis thaliana* possède 9 acides Polyhydroxy : l'acide ascorbique, l'acide érythronique, l'acide gluconique, l'acide glycérique, l'acide thréonique, l'acide 1,5-lactone-gluconique, l'acide galactonique, l'acide 1,4-lactone thréonique et l'acide ribonique. Yan et al. (2008), ont isolé 5 acides Polyhydroxy chez *Diphasiastrum*

*complanatum*. Alors que, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé 13 acides Polyhydroxy chez le riz : l'acide ascorbique, l'acide dimer-déhydroascorbique, l'acide érythronique, l'acide galactarique, l'acide galactonique, l'acide glycérique, l'acide lyxonique, l'acide 1,4-lactone lyxonique, l'acide ribonique, l'acide gamma-lactone-ribonique, l'acide Saccharique, l'acide thréonique et l'acide 1,4-lactone thréonique.

Par ailleurs, chez *D. stramonium*, les PGPRs ont influé positivement les teneurs en PHA dans les feuilles à l'exception de la souche Pp20. Dans les racines, les souches A4, Konm6, Pp20 et Bt04 ont augmenté les teneurs en acide galactonique de 258%, 175%, 150% et 150%. Cependant, chez *D. innoxia*, la souche Pp20 a amélioré de 78% la teneur dans les feuilles en acide 1,4-lactone-arabinonique. De même, la souche Bt04a a augmenté la teneur dans les feuilles en acide thréonique de 187% et en acide gulonique de 53%, dans les racines.

En effet, il existe quelques travaux qui portent sur la production des acides mono/polyhydroxy en utilisant des souches microbiennes (Hou et al. 1998). En outre, la conversion de l'acide oléique à un nouveau acide di hydroxy insaturé par *Pseudomonas aeruginosa* PR3 a été démontrée par Hou, 1991 et Hou, 1993 (Hou 2000).

### 5.11. Les MSTs

Dans nos travaux, sur 158 métabolites détectés chez *D. stramonium*, et 242 détectés chez *D. innoxia*, 56 et 91, respectivement, ont été considérés comme métabolites inconnus ; c'est-à-dire que leurs spectres en correspondance avec aucuns spectres dans la base de données métabolomique de Golm (MPI de Potsdam). A l'heure actuelle, il est impossible de les affecter à une catégorie (famille) chimique ou une fonction spécifique avec les techniques appliquée actuellement. Il est clair, cependant, que parmi ces composés inconnus il y a des métabolites qui apparaissent dans des tissus spécifiques ou dans des conditions de culture spécifiques. Les composés inconnus qui ont été précédemment détectés dans les feuilles ou les racines d'*Arabidopsis thaliana*, *Solanum tuberosum*, *Nicotiana sp.* ou les métabolites identifiés dans cette étude pourrait fournir plutard des indications et des informations supplémentaires sur l'évolution et la biosynthèse des voies métaboliques chez les plantes.

Par ailleurs, les travaux de Pant et al. (2015), ont montré que *A. thaliana* contient 118 métabolites inconnus. En outre, Glaubitz et al. (2017), ont trouvé 49 MSTs chez le riz.

## 6. Effet de l'acide salicylique sur la croissance végétative et sur les teneurs en alcaloïdes chez *Datura innoxia*

Chez le *Datura innoxia*, l'élicitation par deux concentrations  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'acide salicylique, a induit à des augmentations significatives des taux des alcaloïdes dans les feuilles

et dans les racines de la plante. La scopolamine a été augmentée, dans les feuilles, de 16% après élicitation avec la concentration  $10^{-6}$  M d'AS. De même, dans les feuilles de la plante, les teneurs en hyoscyamine ont été augmentées de 128% et 250% avec  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS respectivement et les teneurs en pseudotropine de 73% et 53% avec  $10^{-4}$  M et  $10^{-6}$  M d'AS respectivement. Alors que, l'atropine n'a montré aucune augmentation avec l'AS. Alors que, dans les racines les deux concentrations d'AS n'ont montré aucune influence sur les teneurs en alcaloïdes chez *Datura innoxia*.

Dans des travaux réalisés en 1996, il a été signalé que l'application de l'acide salicylique sur de jeunes pousses de soja affecte de manière significative la taille de la racine (Gutiérrez-Coronado et al. 1998). D'autres travaux ont reproduit des résultats semblables avec *Tagetes erecta* en utilisant de très faibles concentrations en AS (Sandoval Yepiz 2004).

Par ailleurs, les acides salicylique, acétylsalicylique et jasmonique ont été utilisés pour l'élicitation des alcaloïdes tropaniques des chevelus racinaires de quelque plantes médicinales ; *Brugmansia candida* (Pitta-Alvarez et al. 2000), *Brugmansia suaveolens* (Zayed et Wink, 2004) et *Datura tatula* (Khelifi et al. 2011). Selon Khelifi et al. 2011, les meilleures teneurs en hyoscyamine (6.2 mg/g MS, soit une amélioration de 260% par rapport au témoin chez *Datura tatula* ont été obtenues aux concentrations de  $10^{-6}$  M d'AS.

En outre, Ajungla et al. (2009) ont constaté que l'acide salicylique peut agir comme éliciteur abiotique stimulant la production en vitroculture d'hyoscyamine et de scopolamine dans les racines du *Datura metel*. Ils ont obtenu après élicitation des taux d'hyoscyamine et de scopolamine 5 fois plus que le témoin non élicité. Belabbassi et al. (2016), ont mentionné que l'élicitation des chevelus racinaires du *Datura stramonium* par  $10^{-4}$  M d'AS a augmenté significativement la teneur en hyoscyamine (279% par rapport au témoin). Les mêmes résultats ont été obtenus par Kang et al. (2004) qui ont élicité les chevelus racinaire de *Scopolia parviflora* par l'AS (0,1 mM). Ces résultats rejoignent ceux de : Pitta-Alvarez et al. 2000 sur *Brugmansia candida* et Kang et al. (2006) sur *Ginkgo biloba*.

Les réponses positives de la culture à l'élicitation peuvent être dues au fait que l'AS est l'un des principaux signaux endogènes impliqués dans l'activation des réponses de défense végétale et sa capacité à produire des protéines anti-pathogènes dans les plantes, même en absence d'organisme pathogène (Hayat et al. 2007). Les différentes hormones impliquées dans les mécanismes de défense des plantes ont des relations positives ou négatives avec l'AS, les niveaux d'ABA augmentent dans plusieurs espèces lorsqu'elles sont exposées à des conditions de stress (Janowiak et al. 2002). Les chercheurs ont constaté que le traitement des plantes avec

l'AS a provoqué l'accumulation d'ABA et d'acide indolacétique (IAA), mais n'a pas influencé la teneur de la cytokinines (CK) (Sakhabutdinova et al. 2003).

En outre, les combinaisons PGPR+AS ont influencé les teneurs en alcaloïdes chez *Datura innoxia*, la combinaison Bt04+AS a augmenté de 115% et de 55% les teneurs en hyoscyamine et scopolamine respectivement dans les feuilles de la plante. De même, la combinaison Pp20+AS a amélioré de 65% la teneur en pseudotropine dans les feuilles du *Datura innoxia*.

Selon Vasconsuelo et Boland (2007) l'interaction entre les éliciteurs améliore la production de métabolites secondaires. De même, Wiktorowska et al. (2010) ont trouvé que l'élicitation des cellules de *Calendula officinalis* par une combinaison entre l'acide jasmonique et la chitosane a augmenté de 5 fois la teneur en acide oléanolique. Dans les travaux de Krzyzanowska et al. (2012) ont trouvé que l'utilisation de deux éliciteurs (l'acide jasmonique + le jasmonate de méthyle) a amélioré la croissance et l'accumulation d'acide rosmarinique dans une culture de cellule de *Mentha piperita*.

# Conclusion

Notre étude renferme trois volets : l'identification des PGPRs, l'effet des PGPRs sur la croissance chez *A. thaliana*, *D. stramonium* et *D. innoxia*, l'effet des PGPRs sur les teneurs en métabolites primaires et secondaires (dont les alcaloïdes, les flavonoïdes et les antioxydants), dans les feuilles et les racines du *D. stramonium* et enfin, l'effet des PGPRs et ou de l'AS sur les teneurs en métabolites primaires et secondaires dans les feuilles et les racines du *D. innoxia*.

Dans la première partie, l'identification et la caractérisation des souches bactériennes isolées, a fait l'objet d'une publication. 03 genres différents ont été identifiés pour les 03 souches isolées qui sont : *Pseudomonas plecoglossicida*, *Bacillus sp.* et *Lysinibacillus fusiformis*. Ces trois souches ont été enregistrées dans la base de données NCBI GenBank nucléotidique sous les noms suivants : *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20, *Bacillus* souche Bt04 et *Lysinibacillus Fusiformis* souche Lf89. Sous des numéros d'accès KU321233 pour la souche Pp20, KU321234 pour la souche Bt04 et KU321235 pour la souche Lf89.

L'étude des courbes de croissances pour les 03 souches a montré que la croissance de Pp20 est plus rapide que celle des autres souches. Elle a été suivie par Bt04. Alors que Lf89 a une croissance lente.

Dans la deuxième partie, pour confirmer l'effet positif des bactéries sur la croissance des plantes, une plante modèle a été utilisée c'est l'*Arabidopsis thaliana*. Les graines d'*A. thaliana* ont été inoculées par les PGPRs, puis cultivées dans des boîtes Pétri contenant le milieu MS solide, en condition contrôlées de phytotron, pendant 3 semaines de culture.

Les résultats obtenus ont montré que, les 03 souches favorisent la croissance d'*A. thaliana*, elles ont présenté une augmentation pour tous les paramètres de croissance étudiés, la longueur moyenne des racines (de 90% avec la souche Bt04), le nombre moyen de feuilles (de 7.22 avec la souche Pp20), le diamètre moyen de la rosette (de 42% avec la souche Bt04) et le nombre moyen des racines secondaires (de 142% avec Lf89), mais avec des pourcentages variables d'une souche à une autre et pour chaque paramètre.

En outre, la mesure des teneurs en azote, carbone et en hydrogène, dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, les feuilles et les racines du *D. stramonium* et *D. innoxia* en utilisant la Vario EL III Element Analyzer, a révélé l'existence d'une variation des teneurs de ces éléments après inoculation par les PGPRs, Bt04 et Pp20 ont augmenté les teneurs en azote (de 9,08% et 8,99% respectivement) et ont diminué les teneurs en carbone chez *A. thaliana*.

Alors que, chez *D. stramonium* les 4 PGPRs ont amélioré, dans les racines, les teneurs en azote et en carbones. Cependant, dans les feuilles, seule la souche Pp20 a influencé les teneurs en azote et en carbone.

En outre, chez *D. innoxia* les teneurs en azote ont été diminuées dans les feuilles et les racines avec les différents traitements. Alors que, les teneurs en carbones ont été augmentées dans les feuilles et les racines avec les différents traitements.

Ce chapitre met en évidence le rôle positif des PGPRs dans la promotion de la croissance des plantes inoculées et de l'absorption des nutriments dans différentes conditions climatiques. La plupart des travaux sur les PGPRs ont montré des augmentations significatives de la longueur des racines, des pousses, du poids des plantes entières et de l'absorption des nutriments.

Et enfin la troisième partie où on a étudié la composition chimique (le profilage des métabolites) de chaque espèce *Datura*, ainsi que l'effet des PGPRs sur les métabolites obtenus chez *D. stramonium*, et l'effet des PGPRs et/ou de l'AS sur les métabolites obtenus chez *D. innoxia*.

Les résultats ont montré que *D. stramonium* contient 158 métabolites, dont 106 sont connus, par nom et par formule chimique et le reste sont inconnus, appelés MSTs. Ces métabolites appartiennent à onze familles chimiques : les sucres (12 métabolites dont le **glucose**, le **fructose**, le **maltose** et le **saccharose**), les acides aminés et leurs dérivés (27 métabolites), les acides gras (03 métabolites), les acides organiques (19 métabolites), les dérivés de phosphate (04 métabolites), les polyols (05 métabolites), les composés azotés (18 métabolites), les alcaloïdes (03 métabolites : **scopolamine**, **hyoscyamine** et **atropine**), les phénylpropanoïdes (05 métabolites dont 2 flavonoïdes : **lutéoline** et **quercétine**), les acides polyhydroxy (10 métabolites : ce sont d'excellents antioxydants.) et les MSTs (52 métabolites).

Par ailleurs, des améliorations importantes ont été enregistrées pour chaque famille avec les PGPRs : pour les sucres (dans les racines, la teneur en raffinose 721% avec la souche Konm6) ; pour les acides aminés et leurs dérivés (dans les feuilles, la teneur en alanine 247% avec la souche Bt04) ; pour les acides gras (dans les racines, la teneur en acide hydroxy-hexanedioïque 65% avec la souche A4) ; pour les acides organiques (dans les racines, la teneur en acide 2-isopropyl-malique 480% avec la souche Konm6) ; pour les dérivés de phosphate (dans les racines, la teneur en acide phosphorique 172% avec la souche Pp20) ; pour les polyols (dans les racines, la teneur en érythritol 276% avec la souche A4) ; pour les composés de l'azote (dans les racines, la teneur en nicotianamine 450% avec la souche Konm6) ; pour les phénylpropanoïdes (dans les racines, les teneurs en lutéoline et en quercétine 25 et 31% respectivement avec la souche Bt04) et pour les acides polyhydroxy (dans les feuilles, la teneur en acide ribonique 131% avec la souche Bt04).



En outre, *D. innoxia* renferme 242 métabolites dont 150 sont connus et 92 métabolites MSTs. Cela a montré que *D. innoxia* contient 84 métabolites plus que *D. stramonium*. Ces métabolites appartiennent à douze familles chimiques : les sucres (14 métabolites), les acides aminés et leurs dérivés (35 métabolites), les acides gras (03 métabolites), les acides organiques (29 métabolites), les dérivés de phosphate (05 métabolites), les polyols (10 métabolites), les composés azotés (29 métabolites), les composés du soufre (01 métabolites), les alcaloïdes (04 métabolites **scopolamine, hyoscyamine, atropine et pseudotropine**), les phénylpropanoïdes (08 métabolites dont 2 flavonoïdes : **lutéoline et quercétine**), les acides polyhydroxy (12 métabolites), ainsi que les MSTs (92 métabolites).

Par ailleurs, des augmentations importantes ont été enregistrées pour chaque famille avec les PGPRs (Pp20 et Bt04) et/ou avec l'AS : pour les sucres (dans les feuilles, la teneur en alpha, alpha'-tréhalose 550% avec la souche Pp20) ; pour les acides aminés et leurs dérivés (dans les racines, la teneur en acide 2-amino-adipique 473% avec la combinaison Pp20+10<sup>-4</sup> M) ; pour les acides gras (dans les racines, la teneur en acide hexadécanoïque 271% avec la combinaison Pp20+10<sup>-4</sup> M d'AS) ; pour les acides organiques (dans les racines, la teneur en acide 3,4 dihydroxy-Benzoïque 536% avec la souche Pp20) ; pour les dérivés de phosphate (dans les feuilles, la teneur en acide phosphorique 214% avec la souche Pp20) ; pour les polyols (dans les feuilles, la teneur en mannitol 490% avec la combinaison Bt04+10<sup>-6</sup> M AS)) ; pour les composés de l'azote (dans les feuilles, les teneurs en xanthine 720% et 302% avec la concentration 10<sup>-4</sup> M d'AS et la souche Bt04 respectivement) ; pour les phénylpropanoïdes (dans les feuilles, la teneur en acide cis-caféique 121 % avec la combinaison Pp20+10<sup>-6</sup> M d'AS) et pour les acides polyhydroxy (dans les feuilles, la teneur en acide thréonique 320% avec la concentration 10<sup>-4</sup> M d'AS).

Dans cette partie on s'est intéressé particulièrement à l'étude de l'effet des PGPR Pp20, Bt04, A4 et Konm6 sur les teneurs en alcaloïdes chez *D. stramonium*, et l'effet des PGPRs (Pp20 et Bt04) et/ou l'AS sur les teneurs en alcaloïdes chez *D. innoxia*. Tout d'abord, on a remarqué que *D. stramonium* renferme trois alcaloïdes, la scopolamine, l'hyoscyamine et l'atropine. Alors que les *D. innoxia* comporte quatre alcaloïdes, les 3 cités précédemment, plus la pseudotropine. Chez *D. stramonium*, les meilleures augmentations ont été enregistrées pour la scopolamine, dans les feuilles, de 90% avec la souche A4, pour l'hyoscyamine, dans les feuilles, de 72% avec la souche A4 et pour l'atropine, dans les feuilles, de 180% avec la souche Bt04. Cependant Chez *D. innoxia*, les meilleures améliorations ont été enregistrées pour la scopolamine, dans les feuilles, de 54% avec la combinaison Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS, pour l'hyoscyamine, dans les feuilles, de 257% avec la combinaison Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS, pour

l'atropine, dans les feuilles, de 112% % avec la souche Bt04 et pour la pseudotropine, dans les feuilles, de 76% avec la concentration  $10^{-4}$  M d'AS et la combinaison Bt04 +  $10^{-6}$  M d'AS.

Ce travail a donc permis d'identifier trois souches bactériennes rhizosphériques isolées en Algérie, et de révéler les compositions chimiques détaillées chez deux variétés de *Datura*, ainsi que l'effet bénéfique de certains PGPRs sur ces composants. Notamment pour l'amélioration de la production d'alcaloïdes, des flavonoïdes, des antioxydants (acide polyhydroxy)...

Ainsi, dans la perspective d'approfondir ce travail et afin d'optimiser la production des métabolites secondaires, il serait judicieux de :

- Tester d'autres types de stress tel que : la température, l'hypoxie, la lumière, les métaux lourds et les combinaisons de ces éliciteurs avec les PGPRs ;
- Améliorer les conditions de culture des plantes, en utilisant surtout des systèmes hydroponiques moderne et sophistiqués ;
- Installer des serres contrôlées afin de maîtriser les paramètres climatiques ;
- Importer la nouvelle technologie de profilage des métabolites des plantes afin de créer notre propre base de données de métabolites, pour protéger notre patrimoine et nos ressources génétiques surtout les plantes médicinales indigènes de l'Algérie.
- Isoler de nouvelles souches bactériennes surtout celles qui tolèrent les conditions difficiles comme les températures élevées ou basses, la salinité...et les appliquer aux cultures à grande échelle.
- Séquencer nos propres souches bactériennes, et les déposer dans le NCBI, pour les protéger contre les vols.
- Isoler des souches bactériennes à partir de la rhizosphère du *Datura* et comparer leurs effets avec nos résultats.

# Références bibliographiques

## Référence bibliographique

1. Abdelouahab B, Nadia M, Nabila K (2011) Acute toxicity study of alkaloids of *Datura stramonium* seeds in rat.
2. Achnine L, Blancaflor EB, Rasmussen S, Dixon RA (2004) Colocalization of L-phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase for metabolic channeling in phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell* 16:3098–3109.
3. Afsharypuor S, Mostajeran A, Mokhtary R (1995) Variation of scopolamine and atropine in different parts of *Datura metel* during development. *Planta Med* 61:383–384.
4. Agerberth B, Lee J-Y, Bergman T, et al (1991) Amino acid sequence of PR-39. *Eur J Biochem* 202:849–854.
5. Agrawal AA, Weber MG (2015) On the study of plant defence and herbivory using comparative approaches: how important are secondary plant compounds. *Ecol Lett* 18:985–991.
6. Ajungla L, Patil PP, Barmukh RB, Nikam TD (2009) Influence of biotic and abiotic elicitors on accumulation of hyoscyamine and scopolamine in root cultures of *Datura metel* L.
7. Amâncio S, Stulen I (2004) Nitrogen acquisition and assimilation in higher plants. Springer.
8. Amdoun R, Khelifi L, Khelifi-Slaoui M, et al (2009) Influence of minerals and elicitation on *Datura stramonium* L. tropane alkaloid production: modelization of the *in vitro* biochemical response. *Plant Sci* 177:81–87.
9. Amdoun R, Khelifi L, Khelifi-Slaoui M, et al (2010) Optimization of the culture medium composition to improve the production of hyoscyamine in elicited *Datura stramonium* L. hairy roots using the response surface methodology (RSM). *Int J Mol Sci* 11:4726–4740.
10. Amdoun R, Khelifi-Slaoui M, Amroun S, Khelifi L, (2005b) L'élucitation: Outil incontournable pour optimiser la production des alcaloïdes tropaniques *in vitro*. Actes du séminaire international sur l'amélioration des productions végétales. Alger, Éd. Khelifi. p.p. : 156-157.
11. An C, Mou Z (2011) Salicylic acid and its function in plant immunity. *J Integr Plant Biol* 53:412–428.
12. Anger J-P, Villain M, Baert A, Kintz P (2005) Le datura: une plante abandonnée de la pharmacopée mais qui semble aujourd'hui de plus en plus plébiscitée par les jeunes. *J Médecine Légale Droit Méd* 48:185–197.
13. Antoun H, Prévost D (2000) PGPR activity of Rhizobium with nonleguminous plants. In: Proceedings of the 5 th International PGPR workshop. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p 62.

14. Aoki T, Akashi T, Ayabe S (2000) Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *J Plant Res* 113:475–488.
15. Ashihara H, Sano H, Crozier A (2008) Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry* 69:841–856.
16. Ashutosh K (2007) *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. New Age Int Publ New Delhi 5–7.
17. Babalola OO (2010) Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett* 32:1559–1570.
18. Baldini RL, Starkey M, Rahme LG (2014) Assessing *Pseudomonas* virulence with the nonmammalian host model: *Arabidopsis thaliana*. *Pseudomonas Methods Protoc* 689–697.
19. Banchio E, Bogino PC, Zygadlo J, Giordano W (2008) Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochem Syst Ecol* 36:766–771.
20. Bardócz S (1995) Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends Food Sci Technol* 6:341–346.
21. Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C (2005a) Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Springer, pp 195–212.
22. Barea J-M, Pozo MJ, Azcon R, Azcon-Aguilar C (2005b) Microbial co-operation in the rhizosphere. *J Exp Bot* 56:1761–1778.
23. Bartwal A, Mall R, Lohani P, et al (2013) Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *J Plant Growth Regul* 32:216–232.
24. Belabbassi O, Khelifi-Slaoui M, Zaoui D, et al (2016) Effets synergiques de la polyploïdisation et de l'élicitation sur la biomasse et le contenu en hyoscyamine des chevelus racinaires de *Datura stramonium*. *Biotechnol Agron Société Environ* 20:408–416.
25. Benhizia Z (1989) Contribution à l'étude d'une plante médicinale algérienne, *Datura stramonium* L.
26. Berg AH, Combs TP, Scherer PE (2002) ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 13:84–89.
27. Berkov S, Pavlov A (2004) A rapid densitometric method for the analysis of hyoscyamine and scopolamine in solanaceous plants and their transformed root cultures. *Phytochem Anal* 15:141–145.
28. Berkov S, Zayed R, Doncheva T (2006) Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia* 77:179–182.

29. Bhatt SM, Gupta RK (2015) Bread (composite flour) formulation and study of its nutritive, phytochemical and functional properties.
30. Biabiany M (2011) Recherche et développement d'extraits antifongiques issus de la flore guadeloupéenne: caractérisations phytochimiques, pharmacologiques et formulation. Lille 2.
31. Birmes P, Chounet V, Mazerolles M, et al (2002) Intoxication volontaire par *Datura stramonium*: 3 observations. *Presse Médicale* 31:69–72.
32. Bishop CT, Jennings HJ, Aspinall GO (1982) The Polysaccharides. GO Aspinall Ed 10:292.
33. Böck A, Forchhammer K, Heider J, et al (1991) Selenocysteine: the 21st amino acid. *Mol Microbiol* 5:515–520.
34. Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E (2001) Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci* 161:839–851.
35. Briskin DP (2000) Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiol* 124:507–514.
36. Browse J, Somerville C (1991) Glycerolipid synthesis: biochemistry and regulation. *Annu Rev Plant Biol* 42:467–506.
37. Bruneton J (1993) *Plantes Médicinales: Phytochimie, Pharmacognosie*. 2<sup>ème</sup> Ed.
38. Bruneton J (1996) *Plantes toxiques: végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. Lavoisier Tec & Doc.
39. Bruneton J, Barton DHR (1987) *Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie*. Technique et documentation.
40. Bruneton J, others (1999) *Toxic plants dangerous to humans and animals*. Intercept Limited.
41. Bruneton J, others (1995) *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. Lavoisier publishing.
42. Cakmakçi R, Dönmez F, Aydın A, Şahin F (2006) Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biol Biochem* 38:1482–1487.
43. Calabrò S (2015) Plant secondary metabolites. In: *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution*. Springer, pp 153–159.
44. Calvel R (2001) Organic Acids. In: *The Taste of Bread*. Springer, pp 49–54.
45. Chakraborty U, Chakraborty B, Basnet M (2006) Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *J Basic Microbiol* 46:186–195.
46. Chakravorty S, Helb D, Burday M, et al (2007) A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods* 69:330–339.

47. Chalut-Carpentier A, Pataky Z, Golay A, Bobbioni-Harsch E (2015) Involvement of dietary fatty acids in multiple biological and psychological functions, in *morbidly obese* subjects. *Obes Surg* 25:1031–1038.
48. Chanway CP (1997) Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. *For Sci* 43:99–112.
49. Chanway CP, Radley RA, Holl FB (1991) Inoculation of conifer seed with plant growth promoting *Bacillus* strains causes increased seedling emergence and biomass. *Soil Biol Biochem* 23:575–580.
50. Chaunu M (2009) Dépistage du cannabis dans la salive: étude comparative avec les autres matrices biologiques.
51. Chen J-Y, Wen P-F, Kong W-F, et al (2006) Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biol Technol* 40:64–72.
52. Chen Z, Zheng Z, Huang J, et al (2009) Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal Behav* 4:493–496.
53. Cheng M, Zhang H, Zhang J, et al (2015) *Lysinibacillus fluoroglycofenilyticus* sp. nov., a bacterium isolated from fluoroglycofen contaminated soil. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107:157–164.
54. Chicooree N, Unwin RD, Griffiths JR (2015) The application of targeted mass spectrometry-based strategies to the detection and localization of post-translational modifications. *Mass Spectrom Rev* 34:595–626.
55. Chiou A, Karathanos VT, Mylona A, et al (2007) Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chem* 102:516–522.
56. Chollet S, Papet Y, Mura P, Brunet B (2010) Détermination des teneurs en atropine et scopolamine de différentes espèces sauvages et ornementales du genre *Datura*. In: *Annales de Toxicologie Analytique*. EDP Sciences, pp 173–179.
57. Clarridge JE (2004) Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 17:840–862.
58. Colley KJ, Baenziger JU (1987) Identification of the post-translational modifications of the core-specific lectin. The core-specific lectin contains hydroxyproline, hydroxylysine, and glucosylgalactosylhydroxylysine residues. *J Biol Chem* 262:10290–10295.
59. Cook RJ (2000) Advances in plant health management in the twentieth century. *Annu Rev Phytopathol* 38:95–116.
60. Coruzzi G, Bush DR (2001) Nitrogen and Carbon Nutrient and Metabolite Signaling in Plants. *Plant Physiol* 125:61–64. doi: 10.1104/pp.125.1.61.

61. Costa MMR, Hilliou F, Duarte P, et al (2008) Molecular cloning and characterization of a vacuolar class III peroxidase involved in the metabolism of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiol* 146:403–417.
62. Cushnie TT, Cushnie B, Lamb AJ (2014) Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents* 44:377–386.
63. Csapody V, (1961) Magyarország kulturflórája. Budapest, 92 P.
64. Dai N, Cohen S, Portnoy V, et al (2011) Metabolism of soluble sugars in developing melon fruit: a global transcriptional view of the metabolic transition to sucrose accumulation. *Plant Mol Biol* 76:1–18.
65. Damianakos H, Jeziorek M, Pietrosiuk A, Chinou I (2014) The chemical profile of pyrrolizidine alkaloids from selected greek endemic Boraginaceae plants determined by gas chromatography/mass spectrometry. *J AOAC Int* 97:1244–1249.
66. De Paepe D, Valkenburg D, Noten B, et al (2015) Variability of the phenolic profiles in the fruits from old, recent and new apple cultivars cultivated in Belgium. *Metabolomics* 11:739–752.
67. Debelmas A-M, Delaveau P (1983) Guide des plantes dangereuses. Maloine.
68. Deepthi S, Satheeshkumar K (2016) Enhanced camptothecin production induced by elicitors in the cell suspension cultures of *Ophiorrhiza mungos* Linn. *Plant Cell Tissue Organ Cult PCTOC* 124:483–493.
69. Del Rosario Cappellari L, Santoro MV, Nievas F, et al (2013) Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl Soil Ecol* 70:16–22.
70. Den Besten G, van Eunen K, Groen AK, et al (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* 54:2325–2340.
71. Deng D, Deng G, Smith MF, et al (2002) Simultaneous detection of CpG methylation and single nucleotide polymorphism by denaturing high performance liquid chromatography. *Nucleic Acids Res* 30:e13–e13.
72. Dewick PM (2001) Alkaloids. *Med Nat Prod Biosynthetic Approach Second Ed* 291–403.
73. Dharni S, Srivastava AK, Samad A, Patra DD (2014) Impact of plant growth promoting *Pseudomonas monteilii* PsF84 and *Pseudomonas plecoglossicida* PsF610 on metal uptake and production of secondary metabolite (monoterpenes) by rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* cv. bourbon) grown on tannery sludge amended soil. *Chemosphere* 117:433–439.
74. Diker D, Markovitz D, Rothman M, Sendovski U (2007) Coma as a presenting sign of *Datura stramonium* seed tea poisoning. *Eur J Intern Med* 18:336–338.



75. Dixon RA, Choudhary AD, Dalkin K, et al (1992) Molecular biology of stress-induced phenylpropanoid and isoflavonoid biosynthesis in alfalfa. In: Phenolic metabolism in plants. Springer, pp 91–138.
76. Dräger B (2006) Tropinone reductases, enzymes at the branch point of tropane alkaloid metabolism. *Phytochemistry* 67:327–337.
77. Dräger B (2002) Analysis of tropane and related alkaloids. *J Chromatogr A* 978:1–35.
78. Drake LR, Lin S, Rayson GD, Jackson PJ (1995) Chemical modification and metal binding studies of *Datura innoxia*. *Environ Sci Technol* 30:110–114.
79. Dumas J-B (1831) Note sur diverses combinaisons de l'hydrogene carbone.
80. Dunn WB, Broadhurst D, Begley P, et al (2011) Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Nat Protoc* 6:1060–1083.
81. Ducroq C., 1994. Genetic transformation in medicinal plant : *Datura innoxia* Mill., by *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rhizogenes* and contribution to the study of secondary metabolites. Th. doctorat de 3ème cycle en physiologie végétale approfondie, Paris, 72 P.
82. Egamberdieva D, Berg G, Chebotar V, et al (2011) Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of Fusarium foot and root rot of tomato (TFRR) in salinated soil. *PLANT GROWTH-Promot RHIZOBACTERIA PGPR Sustain Agric* 75.
83. Egamberdieva D, Berg G, Lindström K, Räsänen LA (2010) Co-inoculation of *Pseudomonas* spp. with *Rhizobium* improves growth and symbiotic performance of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.). *Eur J Soil Biol* 46:269–272.
84. Egamberdieva D, da Silva JAT (2015) Medicinal Plants and PGPR: A New Frontier for Phytochemicals. In: *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*. Springer, pp 287–303.
85. Egamberdieva D, Jabborova D, Wirth S (2013) Alleviation of salt stress in legumes by co-inoculation with *Pseudomonas* and *Rhizobium*. In: *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. Springer, pp 291–303.
86. Egamberdieva D, Lugtenberg B (2014) Use of plant growth-promoting rhizobacteria to alleviate salinity stress in plants. In: *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses, Volume 1*. Springer, pp 73–96.
87. El Bazaoui A, Bellimam MA, Soulaymani A (2011) Nine new tropane alkaloids from *Datura stramonium* L. identified by GC/MS. *Fitoterapia* 82:193–197.
88. Elad Y, Baker R (1985) The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75:1053–1059.
89. El Zemrany H, Czarnes S, Hallett PD, et al (2007) Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1. *Plant Soil* 291:109–118.

90. Erban A, Schauer N, Fernie AR, Kopka J (2007) Nonsupervised construction and application of mass spectral and retention time index libraries from time-of-flight gas chromatography-mass spectrometry metabolite profiles. *Metabolomics Methods Protoc* 19–38.
91. Esitken A, Pirlak L, Turan M, Sahin F (2006) Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. *Sci Hort* 110:324–327.
92. Fernie AR, Trethewey RN, Krotzky AJ, Willmitzer L (2004) Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:763–769.
93. Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al (2000) Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol* 18:1157–1161.
94. Fiehn O, Robertson D, Griffin J, et al (2007) The metabolomics standards initiative (MSI). *Metabolomics* 3:175–178.
95. Figueiredo MVB, Martinez CR, Burity HA, Chanway CP (2008) Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *World J Microbiol Biotechnol* 24:1187–1193.
96. Firm R (2010) *Nature's chemicals: the natural products that shaped our world*. Oxford University Press on Demand.
97. Fowden L (2001) Plant amino acid research in retrospect: From Chibnall to Singh. *Amino Acids* 20:217–224.
98. Frankenberger Jr WT, Arshad M, others (1995) *Phytohormones in soils: microbial production and function*. Marcel Dekker Inc.
99. Furze JM, Rhodes MJ, Parr AJ, et al (1991) Abiotic factors elicit sesquiterpenoid phytoalexin production but not alkaloid production in transformed root cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell Rep* 10:111–114.
100. Garreta-Lara E, Campos B, Barata C, et al (2016) Metabolic profiling of *Daphnia magna* exposed to environmental stressors by GC–MS and chemometric tools. *Metabolomics* 12:1–14.
101. Georgiev V, Marchev A, Berkov S, Pavlov A (2013) Plant in vitro systems as sources of tropane alkaloids. In: *Natural Products*. Springer, pp 173–211
102. Gertsch J (2008) Immunomodulatory lipids in plants: plant fatty acid amides and the human endocannabinoid system. *Planta Med* 74:638–650.
103. Ghorbanpour M, Hatami M (2013) PGPR strains affect seedling vigor index and seed secondary metabolites accumulation of black henbane under water stress. *Trakia J Sci* 2:135–143.
104. Ghorbanpour M, Hatami M, Khavazi K (2013) Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turk J Biol* 37:350–360.

105. Giri A, Narasu ML (2000) Transgenic hairy roots: recent trends and applications. *Biotechnol Adv* 18:1–22.
106. Glaubitz U, Li X, Schaedel S, et al (2017) Integrated analysis of rice transcriptomic and metabolomic responses to elevated night temperatures identifies sensitivity-and tolerance-related profiles. *Plant Cell Environ* 40:121–137.
107. Gontier E, Clément A, Tran TLM, et al (2002) Hydroponic combined with natural or forced root permeabilization: a promising technique for plant secondary metabolite production. *Plant Sci* 163:723–732.
108. Gontier E, Sangwan BS, Barbotin JN (1994) Effects of calcium, alginate, and calcium-alginate immobilization on growth and tropane alkaloid levels of a stable suspension cell line of *Datura innoxia* Mill. *Plant Cell Rep* 13:533–536.
109. Goossens J, Roper H (1994) Erythritol: a new sweetener.
110. Gordon RE, Haynes WC, Pang CH-N (1973) The genus bacillus. *US Dep Agric Handb* 109–26.
111. Griffin WJ, Lin GD (2000) Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* 53:623–637.
112. Guirimand G, Courdavault V, St-Pierre B, Burlat V (2010) Biosynthesis and regulation of alkaloids. In: *Plant developmental biology-biotechnological perspectives*. Springer, pp 139–160.
113. Gupta A, Meyer JM, Goel R (2002) Development of heavy metal-resistant mutants of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. NBRI 4014 and their characterization. *Curr Microbiol* 45:323–327.
114. Gupta R (1984) *Halobacterium volcanii* tRNAs. Identification of 41 tRNAs covering all amino acids, and the sequences of 33 class I tRNAs. *J Biol Chem* 259:9461–9471.
115. Gutiérrez-Coronado MA, Trejo-López C, Larqué-Saavedra A (1998) Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol Biochem* 36:563–565.
116. Hahlbrock K, Scheel D (1989) Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annu Rev Plant Biol* 40:347–369.
117. Hall-Stoodley L, Stoodley P (2009) Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 11:1034–1043.
118. Han XY (2006) Bacterial identification based on 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. In: *Advanced techniques in diagnostic microbiology*. Springer, pp 323–332.
119. Harfi B (2009) Induction de chevelus racinaires par *Agrobacterium rhizogenes* chez *Datura* sp. 2009.
120. Hartmann T (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* 207:483–495.

121. Hashimoto T, Hayashi A, Amano Y, et al (1991) Hyoscyamine 6 beta-hydroxylase, an enzyme involved in tropane alkaloid biosynthesis, is localized at the pericycle of the root. *J Biol Chem* 266:4648–4653.
122. Hayat S, Ali B, Ahmad A (2007) Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In: *Salicylic acid: A plant hormone*. Springer, pp 1–14.
123. Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Ahmad A (2014) Salicylic acid enhances the efficiency of nitrogen fixation and assimilation in *Cicer arietinum* plants grown under cadmium stress. *J Plant Interact* 9:35–42.
124. Hayden AL, Brigham LA, Giacomelli GA (2004) Aeroponic cultivation of ginger (*Zingiber officinale*) rhizomes. In: VII International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Production, Pest Management and Global Competition 659. pp 397–402.
125. Hegnauer R (1984) Bedeutung der Chemotaxonomie für die Pharmazeutische Biologie. In: *Biogene Arzneistoffe*. Springer, pp 157–175.
126. Hopkins WG (2003) *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
127. Horváth E, Szalai G, Janda T (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *J Plant Growth Regul* 26:290–300.
128. Hosseinzadah F, Satei A, Ramezanpour MR (2011) Effects of Mycorrhiza and Plant Growth Promoting Rizobacteria on Growth, Nutrients Uptake and Physiological Characteristics in *Calendula officinalis* L. *Middle-East J Sci Res* 8:947–953.
129. Hou CT (2000) Biotransformation of unsaturated fatty acids to industrial products. *Adv Appl Microbiol* 47:201–220.
130. Hou CT, Gardner H, Brown W (1998) Production of polyhydroxy fatty acids from linoleic acid by *Clavibacter* sp. ALA2. *J Am Oil Chem Soc* 75:1483–1487.
131. Houmani Z (1999) Quelques plantes algériennes à alcaloïdes tropaniques, effet du stress salin et hydrique sur la production d'alcaloïdes, variation de leurs teneurs au cours du stockage. Th Dr INA Alger 124.
132. Houmani Z, Cosson L (2000) Quelques espèces algériennes à alcaloïdes tropaniques. *Ethnopharmacol Genova Italy* 205–214.
133. Houmani Z, Cosson L, Corbineau F, Côme D (1994a) Etude de la teneur en hyoscyamine et scopolamine d'une population sauvage de *Datura stramonium* L. en Algérie. *Acta Bot Gallica* 141:61–66.
134. Houmani Z, Cosson L, Corbineau F, Côme D (1994b) Etude de la teneur en hyoscyamine et scopolamine d'une population sauvage de *Datura stramonium* L. en Algérie. *Acta Bot Gallica* 141:61–66.
135. Hounsome N, Hounsome B, Tomos D, Edwards-Jones G (2008) Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *J Food Sci* 73:R48–R65.

- 136.** Hummel J, Strehmel N, Selbig J, et al (2010) Decision tree supported substructure prediction of metabolites from GC-MS profiles. *Metabolomics* 6:322–333.
- 137.** Hyde AJ, Parisot J, McNichol A, Bonev BB (2006) Nisin-induced changes in *Bacillus* morphology suggest a paradigm of antibiotic action. *Proc Natl Acad Sci* 103:19896–19901.
- 138.** Ibiene AA, Agogbua JU, Okonko IO, Nwachi GN (2012) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizer: Effect on growth of *Lycopersicon esculentum*. *J Am Sci* 8:318–324.
- 139.** Iijima Y, Davidovich-Rikanati R, Fridman E, et al (2004) The biochemical and molecular basis for the divergent patterns in the biosynthesis of terpenes and phenylpropenes in the peltate glands of three cultivars of basil. *Plant Physiol* 136:3724–3736.
- 140.** Iranbakhsh A, Oshaghi MA, Majd A (2006) Distribution of atropine and scopolamine in different organs and stages of development in *Datura stramonium* L.(Solanaceae). Structure and ultrastructure of biosynthesizing cells. *Acta Biol Cracoviensia Ser Bot* 48:13–18.
- 141.** Jain S, Chattopadhyay S, Singh H (2016) Hybrid Semi-Synthetic Polyhydroxy Acid Based-Biomaterials. *Front Biomater Unfolding Biopolym Landsc* 2:143.
- 142.** Jaleel CA, Gopi R, Gomathinayagam M, Panneerselvam R (2009) Traditional and non-traditional plant growth regulators alters phytochemical constituents in *Catharanthus roseus*. *Process Biochem* 44:205–209.
- 143.** Janda JM, Abbott SL (2007) 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol* 45:2761–2764.
- 144.** Janek T, Lukaszewicz M, Rezanka T, Krasowska A (2010) Isolation and characterization of two new lipopeptide biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* BD5 isolated from water from the Arctic Archipelago of Svalbard, *Bioresour. Technol* 101: 6118–6123.
- 145.** Janowiak F, Maas B, Dörffling K (2002) Importance of abscisic acid for chilling tolerance of maize seedlings. *J Plant Physiol* 159:635–643.
- 146.** Jayalakshmi P, Suvarnalatha Devi P, Prasanna ND, et al (2010) Morphological and physiological changes of groundnut plants by foliar application with salicylic acid. *The Bioscan* 5:193–195.
- 147.** Jha BK, Pragash MG, Cletus J, et al (2009) Simultaneous phosphate solubilization potential and antifungal activity of new fluorescent pseudomonad strains, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. plecoglossicida* and *P. mosselii*. *World J Microbiol Biotechnol* 25:573–581.
- 148.** Jones Jr JB (1982) Hydroponics: its history and use in plant nutrition studies. *J Plant Nutr* 5:1003–1030.

149. Jousse C, Vu TD, Le Minh Tran T, et al (2010) Tropane alkaloid profiling of hydroponic *Datura innoxia* Mill. plants inoculated with *Agrobacterium rhizogenes*. *Phytochem Anal* 21:118–127.
150. Kamilova F, Kravchenko LV, Shaposhnikov AI, et al (2006) Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol Plant Microbe Interact* 19:250–256.
151. Kang S-M, Jung H-Y, Kang Y-M, et al (2004) Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. *Plant Sci* 166:745–751.
152. Kang S-M, Min J-Y, Kim Y-D, et al (2006) Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of bilobalide and ginkgolides in cell cultures of *Ginkgo biloba*. *Vitro Cell Dev Biol-Plant* 42:44–49.
153. Karlidag H, Esitken A, Turan M, Sahin F (2007) Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Sci Hortic* 114:16–20.
154. Karlovsky P (2008) Secondary metabolites in soil ecology. In: *Secondary metabolites in soil ecology*. Springer, pp 1–19
155. Karthikeyan B, Jaleel CA, Lakshmanan GA, Deiveekasundaram M (2008) Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids Surf B Biointerfaces* 62:143–145.
156. Kaushik P, Goyal P (2008) In vitro evaluation of *Datura innoxia* (thorn-apple) for potential antibacterial activity. *Indian J Microbiol* 48:353–357.
157. Kazemi M, Hadavi E, Hekmati J (2011) Role of salicylic acid in decreases of membrane senescence in cut carnation flowers. *Am J Plant Physiol* 6:106–112.
158. Khalil A (2017) Role of Biotechnology in Alkaloids Production. In: *Catharanthus roseus*. Springer, pp 59–70.
159. Khan SU, Bano A, Gurmani AR, others (2012) Abscisic acid and salicylic acid seed treatment as potent inducer of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.).
160. Khaosaad T, Vierheilig H, Nell M, et al (2006) Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum sp.*, Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16:443–446.
161. Khelifi L, Zarouri B, Amdoun R, et al (2011) Effects of elicitation and permeabilization on hyoscyamine content in *Datura stramonium* hairy roots. *Adv Env Biol* 5:329–334.
162. Khelifi-Slaoui M, Rezine R, Amroun S, et al (2005) Embryons somatiques et bourgeons néoformés induit sur explants issus de vitrosemis de *Datura stramonium* L. d'origine algérienne.
163. King EO, Ward MK, Raney DE (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J Lab Clin Med* 44:301–307.

- 164.** King LA, QC RF, Ujvary I, et al (2014) Scopolamine: Useful medicine or dangerous drug? *Sci Justice* 54:321–322.
- 165.** Kitajima M, Takayama H (2016) Chapter Four-Monoterpenoid Bisindole Alkaloids. *Alkaloids Chem Biol* 76:259–310.
- 166.** Klemens PA, Patzke K, Deitmer J, et al (2013) Overexpression of the vacuolar sugar carrier AtSWEET16 modifies germination, growth, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 163:1338–1352.
- 167.** Kloepper JW, Schroth MN (1981) Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 71:642–644.
- 168.** Kloepper JW, Schroth MN (1978) Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria*. pp 879–882.
- 169.** Kluger B, Bueschl C, Neumann N, et al (2014) Untargeted Profiling of Tracer-Derived Metabolites Using Stable Isotopic Labeling and Fast Polarity-Switching LC–ESI–HRMS. *Anal Chem* 86:11533–11537.
- 170.** Kluger B, Lehner S, others (2015) Metabolomics and secondary metabolite profiling of filamentous fungi. In: *Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites, Volume 2*. Springer, pp 81–101
- 171.** Kopka J (2006) Current challenges and developments in GC–MS based metabolite profiling technology. *J Biotechnol* 124:312–322.
- 172.** Kopka J, Schauer N, Krueger S, et al (2005) GMD@ CSB. DB: the Golm metabolome database. *Bioinformatics* 21:1635–1638.
- 173.** Krasavina MS, Burmistrova NA (2013) Impact of salicylic acid on the transport and distribution of sugars in plants. In: *Salicylic Acid*. Springer, pp 83–117
- 174.** Kravchenko LV, Azarova TS, Makarova NM, Tikhonovich IA (2004) The effect of tryptophan present in plant root exudates on the phyto stimulating activity of rhizobacteria. *Microbiology* 73:156–158.
- 175.** Krzyzanowska J, Czubacka A, Pecio L, et al (2012) The effects of jasmonic acid and methyl jasmonate on rosmarinic acid production in *Mentha piperita* cell suspension cultures. *Plant Cell Tissue Organ Cult Pctoc* 108:73–81.
- 176.** Lafon JP, Tharaud-prayer C, Levy C, (1996) *Biologie des plantes cultivées, physiologie de développement, génétique et amélioration*. TII. Ed. ARPEPS. 93p.
- 177.** Lambert C, Thomas G, Leger D, et al (1988) Utilisation de la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* pour améliorer la rhizogenèse d'arbres fruitiers. In: *Colloque Arboriculture fruitière*. pp 1–12.
- 178.** Lane DJ (1991) 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic Acid Tech Bact Syst* 125–175.

- 179.** Lê CL, Thomas D, Nowbuth L (2002) Conservation des pommes de terre *in vitro* et caractérisation des variétés cultivées en Suisse. Rev SUISSE Agric 133–136.
- 180.** Lee H-I, León J, Raskin I (1995) Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proc Natl Acad Sci 92:4076–4079.
- 181.** Lee S-W, Lee S-H, Balaraju K, et al (2014) Growth promotion and induced disease suppression of four vegetable crops by a selected plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus subtilis* 21-1 under two different soil conditions. Acta Physiol Plant 36:1353–1362.
- 182.** Lee W-H, Loo C-Y, Nomura CT, Sudesh K (2008) Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate copolymers from mixtures of plant oils and 3-hydroxyvalerate precursors. Bioresour Technol 99:6844–6851.
- 183.** Lenin G, Jayanthi M (2012) Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on enhancement of growth, yield and nutrient content of *Catharanthus roseus*. Int J Res Pure Appl Microbiol 2:37–42.
- 184.** Lhuillier A (2007) Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Institut National Polytechnique de Toulouse.
- 185.** Lisec J, Schauer N, Kopka J, et al (2006) Gas chromatography mass spectrometry–based metabolite profiling in plants. Nat Protoc 1:387–396.
- 186.** Liu Y-M, Sun Z-H, Ni Y, et al (2008) Isolation and identification of an arginine deiminase producing strain *Pseudomonas plecoglossicida* CGMCC2039. World J Microbiol Biotechnol 24:2213–2219.
- 187.** Lorence A, Nessler CL (2004) Camptothecin, over four decades of surprising findings. Phytochemistry 65:2735–2749.
- 188.** Luckner M (2013) Secondary metabolism in microorganisms, plants and animals. Springer Science & Business Media.
- 189.** Luedemann A, Strassburg K, Erban A, Kopka J (2008) TagFinder for the quantitative analysis of gas chromatography—mass spectrometry (GC-MS)-based metabolite profiling experiments. Bioinformatics 24:732–737.
- 190.** Maarouf A, (2000) Dictionnaire de botanique .54 p.
- 191.** Makkar HPS, Francis G, Becker K (2007) Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems.
- 192.** Mantelin S, Touraine B (2004) Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. J Exp Bot 55:27–34.



- 193.** Martínez-García PM, Ruano-Rosa D, Schilirò E, et al (2015) Complete genome sequence of *Pseudomonas fluorescens* strain PICF7, an indigenous root endophyte from olive (*Olea europaea* L.) and effective biocontrol agent against *Verticillium dahliae*.
- 194.** Máthé Á (2015) Introduction: Utilization/Significance of Medicinal and Aromatic Plants. In: Medicinal and Aromatic Plants of the World. Springer, pp 1–12.
- 195.** Mathur N, Vyas A (2000) Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production, nutrient uptake and physiological changes in *Ziziphus mauritiana* Lam. under water stress. *J Arid Environ* 45:191–195.
- 196.** Mattson WJ, Haack RA (1987) The role of drought in outbreaks of plant-eating insects. *Bioscience* 37:110–118.
- 197.** Mengel K E, Kirby. 1982. Principles of plant nutrition.
- 198.** Merbach W, Mirus E, Knof G, et al (1999) Release of carbon and nitrogen compounds by plant roots and their possible ecological importance+. *J Plant Nutr Soil Sci* 162:373–383.
- 199.** Minorsky PV (2008) On the inside. *Plant Physiol* 146:1455–1456.
- 200.** Miraldi E, Masti A, Ferri S, Comparini IB (2001) Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia* 72:644–648.
- 201.** Miwa H, Ahmed I, Yokota A, Fujiwara T (2009) *Lysinibacillus parviboronicapiens* sp. nov., a low-boron-containing bacterium isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:1427–1432.
- 202.** Moon H-J, Jeya M, Kim I-W, Lee J-K (2010) Biotechnological production of erythritol and its applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 86:1017–1025.
- 203.** Moore ER, Mau M, Arnscheidt A, et al (1996) The Determination and Comparison of the 16S rRNA Gene Sequences of Species of the Genus *Pseudomonas* (sensu stricto and Estimation of the Natural Intrageneric Relationships. *Syst Appl Microbiol* 19:478–492.
- 204.** Morard P. (1995). Les cultures végétales hors sol. Publications Agricoles Agen, 304p.
- 205.** Mulder PP, Nijs M, Castellari M, et al (2016) Occurrence of tropane alkaloids in food.
- 206.** Muniz MN (2006) Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la-camptothécine. Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- 207.** Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473–497.
- 208.** Murthy HN, Lee E-J, Paek K-Y (2014) Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue Organ Cult PCTOC* 118:1–16.

- 209.** Naher UA, Othman R, Shamsuddin ZH, et al (2009) Growth enhancement and root colonization of rice seedlings by *Rhizobium* and *Corynebacterium* spp. *Int J Agric Biol* 11:586–590.
- 210.** Najda A, Dyduch J, Świca K, et al (2015) Identification and Profile of Furanocoumarins from the Ribbed Celery (*Apium Graveolens* L Var. Dulce Mill./Pers.). *Food Sci Technol Res* 21:67–75.
- 211.** Nakajima K, Hashimoto T (1999) Two tropinone reductases, that catalyze opposite stereospecific reductions in tropane alkaloid biosynthesis, are localized in plant root with different cell-specific patterns. *Plant Cell Physiol* 40:1099–1107.
- 212.** Nakanishi T, Turner RJ, Burg MB (1989) Osmoregulatory changes in myo-inositol transport by renal cells. *Proc Natl Acad Sci* 86:6002–6006.
- 213.** Namdeo AG, others (2007) Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev* 1:69–79.
- 214.** Naoumkina MA, Zhao Q, GALLEGO-GIRALDO L, et al (2010) Genome-wide analysis of phenylpropanoid defence pathways. *Mol Plant Pathol* 11:829–846.
- 215.** Nasrollahi V, Mirzaie-asl A, Piri K, et al (2014) The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of triterpenoid saponins in liquorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Phytochemistry* 103:32–37.
- 216.** Nicholson JK, Lindon JC (2008) Systems biology: metabonomics. *Nature* 455:1054–1056.
- 217.** Noiraud N, Maurousset L, Lemoine R (2001) Transport of polyols in higher plants. *Plant Physiol Biochem* 39:717–728.
- 218.** Nozeran R, Bancilhon L (1972) cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche de problemes poses par l'amelioration des plantes.
- 219.** Nuttall KL, Guzman NA (2001) Organic Acids. In: *Clinical and Forensic Applications of Capillary Electrophoresis*. Springer, pp 193–208.
- 220.** Oksman-Caldentey K-M (2007) Tropane and nicotine alkaloid biosynthesis-novel approaches towards biotechnological production of plant-derived pharmaceuticals. *Curr Pharm Biotechnol* 8:203–210.
- 221.** Oksman-Caldentey KM, Arroo R (2000) Regulation of tropane alkaloid metabolism in plants and plant cell cultures. In: *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Springer, pp 253–281.
- 222.** Oksman-Caldentey K-M, Vuorela H, Strauss A, Hiltunen R (1987) Variation in the tropane alkaloid content of *Hyoscyamus muticus* plants and cell culture clones. *Planta Med* 53:349–354.
- 223.** Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F (1998) Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol* 16:373–378.
- 224.** Olsen GJ, Woese CR (1993) Ribosomal RNA: a key to phylogeny. *FASEB J* 7:113–123.

225. Ono NN, Tian L (2011) The multiplicity of hairy root cultures: prolific possibilities. *Plant Sci* 180:439–446.
226. Pacwa-Płociniczak M, Piotrowska-Seget Z, Brigmon R, Król E (2015) Characterization of *Bacillus* strains producing biosurfactants. In: *Environmental Sustainability*. Springer, pp 173–183.
227. Palazón J, Navarro-Ocaña A, Hernandez-Vazquez L, Mirjalili MH (2008) Application of metabolic engineering to the production of scopolamine. *Molecules* 13:1722–1742.
228. Pan Q, Mustafa NR, Tang K, et al (2016) Monoterpenoid indole alkaloids biosynthesis and its regulation in *Catharanthus roseus*: a literature review from genes to metabolites. *Phytochem Rev* 15:221–250.
229. Panda S, Kar A (2007) Antidiabetic and antioxidative effects of *Annona squamosa* leaves are possibly mediated through quercetin-3-O-glucoside. *Biofactors* 31:201–210.
230. Pant B-D, Pant P, Erban A, et al (2015) Identification of primary and secondary metabolites with phosphorus status-dependent abundance in *Arabidopsis*, and of the transcription factor PHR1 as a major regulator of metabolic changes during phosphorus limitation. *Plant Cell Environ* 38:172–187.
231. Paris M, Hurabielle M (1981) *Abrégés de matière médicale: Pharmacognosie (1) Généralités-Monographies*.
232. Park M, Kim C, Yang J, et al (2005) Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol Res* 160:127–133.
233. Parmar N, Dadarwal KR (1999) Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria. *J Appl Microbiol* 86:36–44.
234. Parr AJ, Payne J, Eagles J, et al (1990) Variation in tropane alkaloid accumulation within the Solanaceae and strategies for its exploitation. *Phytochemistry* 29:2545–2550.
235. Pastírová A, Repčák M, Eliašová A (2004) Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. *Plant Sci* 167:819–824.
236. Patel H, Krishnamurthy R (2013) Elicitors in plant tissue culture.
237. Patras A, Choudhary P, Rawson A (2017) Recovery of Primary and Secondary Plant Metabolites by Pulsed Electric Field Treatment. *Handb Electroporation* 1–21.
238. Philipov S, Berkov S (2002) GC-MS investigation of tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Z Für Naturforschung C* 57:559–561.
239. Phillips DA, Fox TC, King MD, et al (2004) Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots. *Plant Physiol* 136:2887–2894.
240. Phillipson JD (2001) *Phytochemistry and medicinal plants*. *Phytochemistry* 56:237–243.

241. Pierson III LS, Thomashow LS (1992) Cloning and Heterologous Expression of the Phenazine Biosynthetic. *Mol Plant Microbe Interact* 5:330–339.
242. Ping L, Boland W (2004) Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci* 9:263–266.
243. Pirian K, Piri K, Hamedan I (2012) Effect of methyl jasmonate and salicylic acid on noradrenalin accumulation in hairy roots of *Portulaca oleracea L*. *Int Res J Appl Basic Sci* 3:213–218.
244. Pitta–Alvarez SI, Spollansky TC, Giulietti AM (2000) The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme Microb Technol* 26:252–258.
245. Plank K-H, Wagner KG (1986) Determination of hyoscyamine and scopolamine in *Datura innoxia* plants by high performance liquid chromatography. *Z Für Naturforschung C* 41:391–395.
246. Poirier Y, Bucher M (2002) Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis*. *Arab Book* e0024.
247. Prabha MS, Divakar K, Priya JDA, et al (2015) Statistical analysis of production of protease and esterase by a newly isolated *Lysinibacillus fusiformis* AU01: purification and application of protease in sub-culturing cell lines. *Ann Microbiol* 65:33–46.
248. Pradhan AK, Pradhan N, Sukla LB, et al (2014) Inhibition of pathogenic bacterial biofilm by biosurfactant produced by *Lysinibacillus fusiformis* S9. *Bioprocess Biosyst Eng* 37:139–149.
249. Pramod KK, Singh S, Jayabaskaran C (2010) Expression of hyoscyamine 6 $\beta$ -hydroxylase in the root pericycle cells and accumulation of its product scopolamine in leaf and stem tissues of *Datura metel L*. *Plant Sci* 178:202–206.
250. Prasad K, Aggarwal A, Yadav K, Tanwar A (2012) Impact of different levels of superphosphate using arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* on *Chrysanthemum indicum L*. *J Soil Sci Plant Nutr* 12:451–462.
251. Quezel PS, others (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
252. Radman R, Saez T, Bucke C, Keshavarz T (2003) Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnol Appl Biochem* 37:91–102.
253. Rahmoune B, Morsli A, Khelifi-Slaoui M, et al (2017) Isolation and characterization of three new PGPR and their effects on the growth of *Arabidopsis* and *Datura* plants. *J Plant Interact* 12:1–6.
254. Rajasekar S, Elango R (2011) Effect of microbial consortium on plant growth and improvement of alkaloid content in *Withania somnifera* (Ashwagandha).

- 255.** Rao GV, Manoharachary C, Rao BR (2002) Beneficial influence of arbuscular mycorrhizal fungal association on growth, yield and nutrient uptake of rose-scented geranium (*Pelargonium* species). *Philipp J Sci* 131:49–58.
- 256.** Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annu Rev Plant Biol* 43:439–463.
- 257.** Reddy PP (2014) Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop protection. Springer
- 258.** Reller LB, Weinstein MP, Petti CA (2007) Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clin Infect Dis* 44:1108–1114.
- 259.** Rentsch D, Schmidt S, Tegeder M (2007) Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants. *FEBS Lett* 581:2281–2289.
- 260.** Reynaud J, (2002) La flore de pharmacien. Edition tec et doc, Paris, pp196-197.
- 261.** Riggs PJ, Chelius MK, Iniguez AL, et al (2001) Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Funct Plant Biol* 28:829–836.
- 262.** Rios JL, Recio MC (2005) Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 100:80–84.
- 263.** Roach WA, Neve R, Vanstone FH, et al (1957) A method of growing apple trees by spraying their roots with nutrient solution. *J Hortic Sci* 32:85–98.
- 264.** Roberts MF (2013) Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.
- 265.** Roberts SC, Shuler ML (1997) Large-scale plant cell culture. *Curr Opin Biotechnol* 8:154–159.
- 266.** Robert D, Dumas C, Bayon C, (1998) La reproduction .Edt .Doun initiatives santé pp 373.
- 267.** Robin P, others (1998) Horticulture sans sol: histoire et actualité. *Cah Déconomie Sociol Rural* 46–47.
- 268.** Rodrigues EP, Rodrigues LS, de Oliveira ALM, et al (2008) Azospirillum amazonense inoculation: effects on growth, yield and N<sub>2</sub> fixation of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil* 302:249–261.
- 269.** Roessner U, Wagner C, Kopka J, et al (2000) Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography–mass spectrometry. *Plant J* 23:131–142.
- 270.** Röhlig RM, Eder J, Engel K-H (2009) Metabolite profiling of maize grain: differentiation due to genetics and environment. *Metabolomics* 5:459–477.
- 271.** Rouessac F, Rouessac A (2013) Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques. John Wiley & Sons

- 272.** Rossignol JL, Berger R, Deutsch J, Fellous M, Lamour-Isnard C, Ozier- Kalogeropoulos O, Picard M, De Vienne D, (2004) Génétique : gène et génome. Ed. Dunod, Paris, 231 p.
- 273.** Ryan SM, DeBoer KD, Hamill JD (2015) Alkaloid production and capacity for methyljasmonate induction by hairy roots of two species in Tribe Anthocercideae, family Solanaceae. *Funct Plant Biol* 42:792–801.
- 274.** Ryu C-M, Farag MA, Hu C-H, et al (2003) Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci* 100:4927–4932.
- 275.** Saharan BS, Verma S (2014) Potential plant growth promoting activity of *Bacillus licheniformis* UHI (II) 7. *Int J Microb Resour Technol* 2:22–27.
- 276.** Sakhabutdinova AR, Fatkhutdinova DR, Bezrukova MV, Shakirova FM (2003) Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulg J Plant Physiol* 29:314–319.
- 277.** Sandoval Yepiz M del R (2004) Reguladores de Crecimiento XXIII: Efecto del ácido salicílico en la biomasa del Cempazúchitl (*Tagetes erecta* L.).
- 278.** Sarker S, Nahar L (2007) Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry. John Wiley & Sons.
- 279.** Sasson A (1992) Production of useful biochemicals by higher-plant cell cultures: biotechnological and economic aspects. *Biotechnol Econ Soc Asp* 81–109.
- 280.** Savvas D (2001) Nutritional management of vegetables and ornamental plants in hydroponics. *Crop Manag Postharvest Handl Hortic Prod* 1:37–87.
- 281.** Scharf DH, Heinekamp T, Brakhage AA (2014) Human and plant fungal pathogens: the role of secondary metabolites. *PLoS Pathog* 10:e1003859.
- 282.** Schauer N, Fernie AR (2006) Plant metabolomics: towards biological function and mechanism. *Trends Plant Sci* 11:508–516.
- 283.** Schauer N, Steinhauser D, Strelkov S, et al (2005) GC–MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. *FEBS Lett* 579:1332–1337.
- 284.** Schwachtje J, Karojet S, Thormählen I, et al (2011) A naturally associated rhizobacterium of *Arabidopsis thaliana* induces a starvation-like transcriptional response while promoting growth. *PLoS One* 6:e29382.
- 285.** Seigler DS (2012a) Plant secondary metabolism. Springer Science & Business Media.
- 286.** Seigler DS (2012b) Plant secondary metabolism. Springer Science & Business Media.
- 287.** Sekar S, Kandavel D (2010) Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants—new avenues for phytochemicals.
- 288.** Selvaraj T, Sumithra P (2011) Effect of *Glomus aggregatum* and plant growth promoting rhizomicroorganisms on growth, nutrition and content of secondary metabolites in *Glycyrrhiza glabra* L. *Indian J Appl Pure Biol* 26:283–290.

- 289.** Senthilkumar P, Jonathan EI, Samiyappan R (2008) Bioefficacy of *Pseudomonas fluorescens* on burrowing nematode, *Radopholus similis* in banana. *Indian J Nematol* 38:46–52.
- 290.** Sgroy V, Cassán F, Masciarelli O, et al (2009) Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:371–381.
- 291.** Shaaban MM, Abd EL, Aal AM, Ahmed FF (2011) Insight into the effect of salicylic acid on apple trees growing under sandy saline soil. *Res J Agric Biol Sci* 7:150–156.
- 292.** Shahzad A, Akhtar R (2016) Secondary Metabolite Enhancement in Medicinal Climbers Through the Intervention of Abiotic and Biotic Elicitors. In: *Biotechnological strategies for the conservation of medicinal and ornamental climbers*. Springer, pp 311–323.
- 293.** Sharma S, Singh V, Kumar V, et al (2015) Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Emergence and Future Facets in Medicinal Plants. In: *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*. Springer, pp 109–131.
- 294.** Shaw LJ, Morris P, Hooker JE (2006) Perception and modification of plant flavonoid signals by rhizosphere microorganisms. *Environ Microbiol* 8:1867–1880.
- 295.** Sheppard LJ, Wallander H (2004) Atmospheric Nitrogen-Pollutant or Fertiliser? In: *Nitrogen acquisition and assimilation in higher plants*. Springer, pp 65–98.
- 296.** Shirley BW (1996) Flavonoid biosynthesis: “new” functions for an “old” pathway. *Trends Plant Sci* 1:377–382.
- 297.** Shoji T (2016) Alkaloid biosynthesis and regulation in plants.
- 298.** Sibi M (1981) Hérité de variants épigéniques obtenus par culture de tissus *in vitro* chez les végétaux supérieurs.
- 299.** Siddiqui K, Yakai F, Talla E, et al (2016) Termiglaucescin, a new polyhydroxy triterpene glucoside from *Terminalia glaucescens* with antioxidant and anti-inflammatory potential.
- 300.** Siddiqui ZH, Mujib A, Ahmad MM, Ali A (2010) Fungal elicitors: A potent approach for enhancing secondary metabolites in cultured cells. *Fungal Biochem Biotechnol Lap Lambert Acad Publ AG CO KG Ger* 88–104.
- 301.** Singh JS (2015) Microbes: the chief ecological engineers in reinstating equilibrium in degraded ecosystems. *Agric Ecosyst Environ* 203:80–82.
- 302.** Singh R, Soni SK, Kalra A (2013) Synergy between *Glomus fasciculatum* and a beneficial *Pseudomonas* in reducing root diseases and improving yield and forskolin content in *Coleus forskohlii* Briq. under organic field conditions. *Mycorrhiza* 23:35–44.
- 303.** Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA (2003) *Principes d’analyse instrumentale*. De Boeck Supérieur.

304. Slepecky RA, Hemphill HE (2006) The genus *Bacillus*—nonmedical. In: *The prokaryotes*. Springer, pp 530–562
305. Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M (2004) Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit Rev Microbiol* 30:205–240.
306. Sontakke S, Cadenas MB, Maggi RG, et al (2009) Use of broad range 16S rDNA PCR in clinical microbiology. *J Microbiol Methods* 76:217–225.
307. Sridhar V, Vinesh LS, Mani M (2016) Medicinal Plants. In: *Mealybugs and their Management in Agricultural and Horticultural crops*. Springer, pp 535–542.
308. Srivastava S, Pandey R, Kumar S, Nautiyal CS (2014) Correspondence between flowers and leaves in terpenoid indole alkaloid metabolism of the phytoplasma-infected *Catharanthus roseus* plants. *Protoplasma* 251:1307–1320.
309. Stackebrandt E, Ludwig W, Weizenegger M, et al (1987) Comparative 16S rRNA oligonucleotide analyses and murein types of round-spore-forming bacilli and non-spore-forming relatives. *Microbiology* 133:2523–2529.
310. Steenkamp PA, Harding NM, Van Heerden FR, Van Wyk B-E (2004) Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 145:31–39.
311. Steinhauser D, Kopka J (2007) Methods, applications and concepts of metabolite profiling: primary metabolism. In: *Plant Systems Biology*. Springer, pp 171–194.
312. Strehmel N, Hummel J, Erban A, et al (2008) Retention index thresholds for compound matching in GC–MS metabolite profiling. *J Chromatogr B* 871:182–190.
313. Suau R, Cabezudo B, Rico R, et al (2002) Direct determination of alkaloid contents in *Fumaria* species by GC-MS. *Phytochem Anal* 13:363–367.
314. Subramanian KS, Charest C, Dwyer LM, Hamilton RI (1997) Effects of arbuscular mycorrhizae on leaf water potential, sugar content, and P content during drought and recovery of maize. *Can J Bot* 75:1582–1591.
315. Szymanski D (2003) *Arabidopsis thaliana*: The premier model plant.
316. Tahsili J, Sharifi M, Behmanesh M, et al (2012) Expression of 4 genes in *Ocimum basilicum* and their relationship with phenylpropanoids content. *J Med Plants -Prod* 1:23–34.
317. Tajpoor N, Moradi R, Zaeim AN (2013) Effects of various fertilizers on quantity and quality of dill (*Anethum graveolens* L.) essential oil. *Int J Agric Crop Sci* 6:1334.
318. Tao J, Li L (2006) Genetic transformation of *Torenia fournieri* L. mediated by *Agrobacterium rhizogenes*. *South Afr J Bot* 72:211–216.
319. Thulke O, Conrath U (1998) Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley. *Plant J* 14:35–42.



- 320.** Thurzova L, (1981) Les plantes-santé qui poussent autour de nous. Bordas. Pp : 88-89.
- 321.** Tomczyk NH, Nettleship JE, Baxter RL, et al (2002) Purification and characterisation of the BIOH protein from the biotin biosynthetic pathway. *FEBS Lett* 513:299–304.
- 322.** Tomlinson TR, Akerele O (2015) Medicinal plants: their role in health and biodiversity. University of Pennsylvania press.
- 323.** Tong S, Yan J, Lou J (2005) Preparative Isolation and Purification of Alkaloids from *Corydalis yanhusuo* WT Wang by High Speed Counter-Current Chromatography. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 28:2979–2989.
- 324.** Tourte Y, Bordonneau M, Henry M, Tourte C (2005) Le monde des végétaux: organisation, physiologie et génomique. Dunod.
- 325.** Trivedi PC (2006) Medicinal plants: traditional knowledge. IK International Pvt Ltd
- 326.** Tsydendambaev VD, Christie WW, Brechany EY, Vereshchagin AG (2004) Identification of unusual fatty acids of four alpine plant species from the Pamirs. *Phytochemistry* 65:2695–2703.
- 327.** Tu YQ, Hu YJ, Wu WJ, et al (1992) Sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus*. *Phytochemistry* 31:3633–3634.
- 328.** Vaillant N, Monnet F, Hitmi A, et al (2005) Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere* 59:1005–1013.
- 329.** Van Wyk B-E, Oudtshoorn B van, Gericke N, others (1997) Medicinal Plants of South Africa. Briza.
- 330.** Vasconsuelo A, Boland R (2007) Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Sci* 172:861–875.
- 331.** Vessey JK (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255:571–586.
- 332.** Vidalie H, Auge R, Beauchesne G, others (1989) Les biotechnologies en horticulture: possibilites et perspectives. *Cult Vitro Ses Appl Horti* 3ème Éd Rev Corrigée Augment Tech Doc Lavoisier 91–131.
- 333.** Viladomat F, Bastida J (2015) General Overview of Plant Secondary Metabolism. In: *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, pp 539–568.
- 334.** Viswanathan R, Samiyappan R (2004) Production of secondary metabolites by strains of *Pseudomonas* spp. antagonistic to *Colletotrichum falcatum* causing red rot disease in sugarcane. *Acta Phytopathol Entomol Hung* 39:29–38.
- 335.** Vitale AA, Acher A, Pomilio AB (1995) Alkaloids of *Datura ferox* from Argentina. *J Ethnopharmacol* 49:81–89.

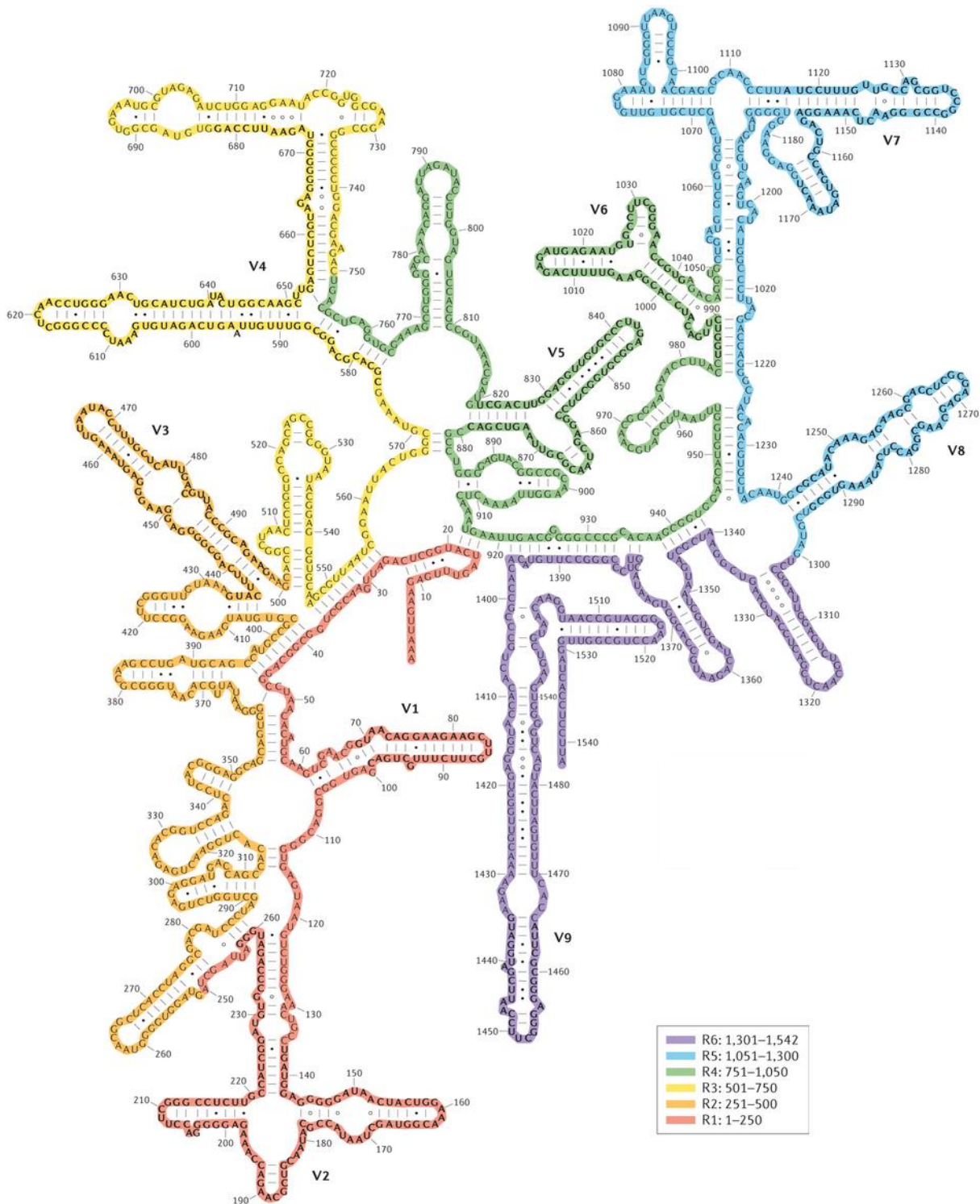
- 336.** Vogel GF, Martinkoski L, Jadoski SO, Fey R (2016) Effects to the combination of *Azospirillum brasilense* with fungicides in wheat development. *Appl Res Agrotechnology* 8:73–80.
- 337.** Vu TD (2008) Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. cultivé en conditions hors sol; impact des facteurs biotiques et abiotiques. Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.
- 338.** Vu TD, Tran TLM, Biteau F, et al (2006) Improvement of secondary metabolites production in hydroponic cultures by mechanical and biological processes. In: *Proceedings of international workshop on biotechnology in agriculture*. pp 195–200.
- 339.** Vyvyan MC, Travell GF (1953) A method of growing trees with their roots in a nutrient mist. *Ann Rep East Malling Res Sta* 95–98.
- 340.** Wagner C, Sefkow M, Kopka J (2003) Construction and application of a mass spectral and retention time index database generated from plant GC/EI-TOF-MS metabolite profiles. *Phytochemistry* 62:887–900.
- 341.** Wang W, Xia H, Yang X, et al (2014) A novel 5-enolpyruvoylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase transgene for glyphosate resistance stimulates growth and fecundity in weedy rice (*Oryza sativa*) without herbicide. *New Phytol* 202:679–688.
- 342.** Weathers PJ, Zobel RW (1992) Aeroponics for the culture of organisms, tissues and cells. *Biotechnol Adv* 10:93–115.
- 343.** Weert S, Bloemberg G (2006) Rhizosphere competence and the role of root colonization in biocontrol. *Plant-Assoc Bact* 317–333.
- 344.** Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ (1991) 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 173:697–703.
- 345.** Weisshaar B, Jenkins GI (1998) Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation. *Curr Opin Plant Biol* 1:251–257.
- 346.** Whipps JM (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J Exp Bot* 52:487–511.
- 347.** Wiktorowska E, Długosz M, Janiszowska W (2010) Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. *Enzyme Microb Technol* 46:14–20.
- 348.** Wildermuth MC (2006) Variations on a theme: synthesis and modification of plant benzoic acids. *Curr Opin Plant Biol* 9:288–296.
- 349.** Williams RM (2013) *Synthesis of optically active alpha-amino acids*. Elsevier.
- 350.** Wu G (2009) Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* 37:1–17.
- 351.** Yan J, Yi P, Chen B, et al (2008) Polyhydroxyserratane triterpenoids from *Diphasiastrum complanatum*. *Phytochemistry* 69:506–510.

352. Yun D-J, Hashimoto T, Yamada Y (1992) Metabolic engineering of medicinal plants: transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition. *Proc Natl Acad Sci* 89:11799–11803.
353. Zárate R, Hermosin B, Cantos M, Troncoso A (1997) Tropane alkaloid distribution in *Atropa baetica* plants. *J Chem Ecol* 23:2059–2066.
354. Zayed R, Wink M (2004) Induction of tropane alkaloid formation in transformed root cultures of *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). *Z Für Naturforschung C* 59:863–867.
355. Zhang H-Y, Zhao T-Z, Dong J-J, et al (2014) Four new sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus*. *Phytochem Lett* 7:101–106.
356. Zhang L, Ding R, Chai Y, et al (2004) Engineering tropane biosynthetic pathway in *Hyoscyamus niger* hairy root cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:6786–6791.
357. Zhao J, Davis LC, Verpoorte R (2005) Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv* 23:283–333.
358. Zou C, Li Z, Yu D (2010) *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. *J Microbiol* 48:460–466.

# Annexes

**Annexe 1:** Structure secondaire de l'ARN ribosomique 16S d'*Escherichia coli*.

Source : [http://rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosome\\_images.html](http://rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosome_images.html).



## **Annexe 2: Extraction d'ADN des souches bactériennes**

### **Lyse des cellules bactériennes**

- Mixer 0,5 ml de la culture bactérienne (pour chaque souche) avec 100 µl du tampon R4 (tampon de suspension) qui contient de l'ARNase et bien homogénéiser avec le vortex.
- Mettre 100 µl du mélange précédent, dans un nouveau tube et ajouter 5 µl de la solution de lysozyme (50 mg / ml) et homogénéiser, plusieurs fois.
- Incuber les échantillons à 37 °C pendant 10 mn.
- Pendant l'incubation, préparer un mélange de 500 µl du tampon de lyse (L14) et 10 µl de protéinase K, pour chaque échantillon.
- Ajouter 500 µl du mélange pré préparé, aux échantillons incubés et inverser le tube bouché 6 fois pour mélanger l'échantillon
- Enfin, Incuber les échantillons pendant 1 à 1,5 heures à 80 °C

### **Liaison d'ADN**

- Vortexer le tube contenant les billes magnétiques pour uniformiser la distribution des billes dans le tampon de stockage.
- Ajouter 40 µl des billes magnétiques aux échantillons de l'étape finale du protocole de lyse cellulaire (après incubation à 80 °C pendant 1 à 1,5 heures).
- Pipeter en homogénéisant légèrement pour bien mélanger la solution sans former de bulles.
- Ajouter 300 µl du tampon de liaison (B8).
- Incuber les échantillons à une température ambiante (25 °C) pendant une minute.
- Placer les échantillons sur la Grille Magnétique (MagnaRack), pendant 1 minute.
- Sans enlever les tubes Eppendorf du MagnaRack, retirer soigneusement et jeter le surnageant sans perturber le culot de perles en inclinant la pipette.

### **Lavage d'ADN**

- Retirer les tubes de l'étape précédente.
- Ajouter 1 ml du tampon de lavage (W12)
- Placer les échantillons sur la Grille Magnétique pendant 1 minute.
- Sans enlever les tubes du MagnaRack, retirer soigneusement et jeter le surnageant sans perturber le culot de perles.
- Retirer les tubes du MagnaRack.

- Ajouter 1 ml du tampon de lavage pour chaque tube et mélanger les solutions en pipetant doucement 3 fois à l'aide d'une pipette de 1 ml.
- Placer les échantillons sur la MagnaRack pendant 1 minute.
- Sans enlever les tubes du MagnaRack, retirer soigneusement et jeter le surnageant sans perturber le culot de perles.

#### **Élution d'ADN**

- Ajouter 200 µl du tampon d'élution (E5) (10 ml de Tris-HCl ; pH 8,5). Et homogénéiser.
- Incuber pendant 5 minutes à une température d'élution de 55 °C à 65 °C.
- Placer les échantillons dans la MagnaRack pendant 1 minute.
- Sans enlever les tubes du MagnaRack, retirer délicatement le surnageant contenant l'ADN et mettre le dans un nouveau tube stérile.
- Stocker les tubes contenant l'ADN purifié à -20 °C.

**Annexe 3:** Séquence de *Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20 (GenBank, NCBI) :

Numéro d'accès : KU321233

La séquence d'ADN :

1 gggagcttgc tccttgattc agcggcggac gggtagtaa tgcctaggaa tctgcctggt  
 61 agtgggggac aacgtttcga aaggaacgct aataccgcat acgtcctacg ggagaaagca  
 121 ggggacctc gggccttgcg ctatcagatg agcctaggtc ggattagcta gttggtgggg  
 181 taatggtca ccaaggcgac gatccgtaac tggctgaga ggatgatcag tcacactgga  
 241 actgagacac ggtccagact cctacgggag gcagcagtgg ggaatattgg acaatgggcg  
 301 aaagcctgat ccagccatgc cgcgtgtgtg aagaaggtct tcggattgta aagcacttta  
 361 agttgggagg aagggcagta agctaatacc ttgctgtttt gacgttaccg acagaataag  
 421 caccggctaa ctctgtgcca gcagccgcgg taatacagag ggtgcaagcg ttaatcggaa  
 481 ttactgggcg taaagcgcgc gtaggtggtt cgtaagtgtg gatgtgaaag ccccgggctc  
 541 aacctgggaa ctgcatcaa aactggcgag ctagagtacg gtagagggtg gtggaatttc  
 601 ctgtgtagcg gtgaaatgtagatataag aaggaacacc agtggcgaag gcgaccacct  
 661 ggactgatac tgacactgag gtgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gatacctgg  
 721 tagtccacgc cgtaaactgat gtcaactagc cgttggaatc cttgagattt tagtggcgca  
 781 gctaacgcat taagtgtacc gcctggggag tacggccgca aggttaaaac tcaaatgaat  
 841 tgacgggggc cgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc  
 901 ttaccaggcc ttgacatgca gagaacttc cagagatgga ttggtgcctt cgggaactct  
 961 gacacaggtg ctgcatggct gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtccctg  
 1021 aacgagcgca acccttgctc ttagttacca gcacgttatg gtgggcactc taaggagact  
 1081 gccggtgaca aaccggagga aggtggggat gacgtcaagt catcatggcc cttacggcct  
 1141 gggctacaca cgtgctacaa tggtcggtac agagggttgc caagccgca ggtggagcta  
 1201 atctcacaaa accgatgta gtccggatcg cagtctgca ctcgactgcg tgaagtcgga  
 1261 atcgetagta atcgcgaatc agaattgtgc ggtgaatac tccccggcc ttgtacacac  
 1321 cgcccgtcac accatgggag tgggttgcac cagaagtagc tagtctaa.



**Annexe 4:** Séquence de *Bacillus sp.* souche Bt04 (GenBank, NCBI) :

Numéro d'accès : KU321234

La séquence d'ADN :

1 tggattgaga gcttgctctc aagaagttag cggcggacgg gtgagtaaca cgtgggtaac  
61 ctgccataa gactgggata actccgggaa accggggcta ataccggata acattttgaa  
121 ctgcatggtt cgaattgaa aggcggcttc ggctgtcact tatggatgga cccgcgtcgc  
181 attagctagt tggtaggta acggtcacc aaggcaacga tgcgtagccg acctgagagg  
241 gtgatcggcc aactgggac ttagacacgg ccagactcc tacgggaggc agcagtaggg  
301 aatcttccgc aatggacgaa agtctgacgg agcaacgccg cgtgagtgat gaaggcttc  
361 gggctgtaaa actctgttg tagggaagaa caagtctag tgaataagc tggcaccttg  
421 acgtaccta accagaaagc cacggctaac tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg  
481 tggcaagcgt tatccggaat tattgggcgt aaagcgcgcg caggtggttt cftaagtctg  
541 atgtgaaagc ccacggctca accgtggagg gtcattggaa actgggagac ttgagtgcag  
601 aagaggaaag tggaattcca tgtgtagcgg tgaatgcgt agagatatgg aggaacacca  
661 gtggcgaagg cgactttctg gtctgtaact gacactgagg cgcgaaagcg tggggagcaa  
721 acaggattag atacctggt agtccacgcc gtaaacgatg agtgctaagt gttagagggt  
781 ttccgccctt tagtctgaa gttaacgeat taagcactcc gcctggggag tacggccgca  
841 aggtgaaac tcaaaggaat tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat  
901 tcgaagcaac gcgaagaacc ttaccaggtc ttgacatcct ctgaaaacce tagagatagg  
961 gcttctcctt cgggagcaga gtgacagggtg gtgcatggtt gtcgtcagct cgtgtcgtga  
1021 gatgttgggt taagtcccgc aacgagcgca acccttgatc ttagttgcca tcattaagtt  
1081 gggcactcta aggtgactgc cggtgacaaa ccggaggaag gtggggatga cgtcaaatca  
1141 tcatgccctt tatgacctgg gctacacacg tgctacaatg gacggtacaa agagctgcaa  
1201 gaccgcgagg tggagctaat ctataaaac cgttctcagt tcggattgta ggytgcaact  
1261 cgcctacatg aagetggaat cgctagtaat cgcggatcag catgccgcgg tgaatacgtt  
1321 cccgggcctt gtacacaccg cccgtcacac cacgagagtt tgtaacacce gaagtcggtg  
1381 gggtaa

**Annexe 5:** Séquence de *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89 (GenBank, NCBI) :  
Numéro d'accès : KU321235

La séquence d'ADN :

1 agcttgctcc ttcgacgtta gcggcggacg ggtgagtaac acgtgggcaa cctaccttat  
61 agtttgggat aactccggga aaccggggct aataccgaat aatctgttc acctcatggt  
121 gaaacactga aagacggttt cggctgtcgc tataggatgg gcccgcgcg cattagctag  
181 ttggtgaggt aacggctcac caaggcgacg atcgtagcc gacctgagag ggtgatcggc  
241 cacactggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtagg gaattcca  
301 caatgggcga aagcctgatg gagcaacgcc gcgtgagtga agaaggattt cggttcgtaa  
361 aactctgttg taagggaaga acaagtacag tagtaactgg ctgtacctg acggtacctt  
421 attagaaagc cagggctaac tacgtgccag cagcccggt aatacgtagg tggcaagcgt  
481 tgtccggaat tattgggcgt aaagcgcgcg cagtggtttt cttagtctg atgtgaaagc  
541 ccacggctca accgtggagg gtcattgga actgggagac ttgagtgcag aagaggatag  
601 tggaattcca agttagcgg tgaatgcgt agagatttg aggaacacca gtggcgaagg  
661 cgactatctg gtctgtaact gacactgagg cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag  
721 ataccctggt agtccacgcc gtaaacgatg agtgctaagt gttaggggt tccgcccct  
781 tagtgctgca gtaacgcat taagcactcc gcctggggag tacggtcgca agactgaaac  
841 tcaaaggaat tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac  
901 gcgaagaacc ttaccagtc ttgacatccc gttgaccact gtagagatat gtttcccct  
961 tcgggggcaa cggtgacagg tggtgcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttg  
1021 gtaagtccc gcaacgagcg caaccctga tcttagttgc catcatttag ttggcactc  
1081 taagtgact gccggtgaca aaccggagga aggtggggat gacgtcaaat catcatgccc  
1141 cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa tggacgatac aaacggttc caactcgca  
1201 gagggagcta atccgataaa gtcgttctca gttcggattg taggctgcaa ctcgctaca  
1261 tgaagccgga atcgtagta atcgcgatc agcatcccgc ggtgaatacg ttcccggcc  
1321 ttgtacacac ccccgtcac accagagag tttgtaacac ccgaagtcgg tgaggtaa

## Les analyses statistiques

### Effets des PGPRS sur la croissance chez *Arabidopsis thaliana*

**Annexe 6:** Effet des PGPRS sur la longueur moyenne des racines d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 22,46 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	109,939	3	36,646	22,46	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	60,373	36	1,6317			
Total	170,312	39				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	4,83	X
Lf89	7,73	X
Pp20	8,31	XX
Bt04	9,18	X

**Annexe 7:** Effet des PGPRS sur le nombre moyen de feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 2,08 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	5,946	3	1,982	2,08	0,1189	<b>NS</b>
Résiduelle	35,175	36	0,950			
Total	41,122	39				

**Annexe 8:** Effet des PGPRs sur le diamètre moyen de la rosette d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 2,73 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1,983	3	0,661	2,73	0,0570	<b>S</b>
Résiduelle	9,453	36	0,242			
Total	11,436	39				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	1,7	X
Lf89	1,746	X
Pp20	2,133	XX
Bt04	2,175	X

**Annexe 9:** Effet des PGPRs sur le nombre moyen des racines secondaires d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 6,02 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1117,37	3	372,457	6,02	0,0026	<b>HS</b>
Résiduelle	1795,6	36	61,917			
Total	2912,97	39				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	10,75	X
Pp20	23,0	X
Bt04	24,3	X
Lf89	25,0	X

**Annexe 10:** Effet des PGPRs sur le poids frais moyen des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 1,83 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,0251	3	0,0083	1,83	0,1585	<b>NS</b>
Résiduelle	0,1643	36	0,0045			
Total	0,1894	39				

**Annexe 11:** Effet des PGPRs sur le poids frais moyen des racines d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 0,78 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,0458	3	0,015	0,78	0,5123	<b>NS</b>
Résiduelle	0,6251	36	0,019			
Total	0,6710	39				

**Annexe 12:** Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 2,24 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,00017	3	0,00005	2,24	0,1012	<b>NS</b>
Résiduelle	0,0009	36	0,00002			
Total	0,001	39				

**Annexe 13:** Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,36) = 3,77 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,00004	3	0,00001	3,77	0,02	<b>S</b>
Résiduelle	0,0001	36	0,000003			
Total	0,0001	39				

#### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	0,001	X
Bt04	0,002	XX
Lf89	0,004	XX
Pp20	0,005	X

**Annexe 14:** Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,8) = 8,88 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,566	3	0,188	8,88	0,0063	<b>HS</b>
Résiduelle	0,170	8	0,0212			
Total	0,736	11				

#### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Lf89	8,561	X
Témoin	8,668	X
Pp20	8,992	X
Bt04	9,083	X

**Annexe 15:** Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,8) = 44,82 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	8,530	3	2,843	44,82	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,507	8	0,063			
Total	9,037	11				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20	35,169	X
Bt04	35,330	X
Témoin	36,924	X
Lf89	36,941	X

**Annexe 16:** Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, après 3 semaines d'inoculation par Pp20, Bt04 et Lf89.

$$F(3,8) = 26,57 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,483	3	0,161	26,57	0,0002	<b>THS</b>
Résiduelle	0,048	8	0,006			
Total	0,531	11				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Bt04	3,889	X
Pp20	3,911	X
Témoin	4,259	X
Lf89	4,336	X

**Annexe 17:** Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, à la fin de la culture.

$$F(3,8) = 9,49 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,102	3	0,034	9,49	0,0052	<b>HS</b>
Résiduelle	0,028	8	0,003			
Total	0,131	11				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Bt04	5,864	X
Témoin	5,933	X
Pp20	5,941	X
Lf89	6,115	X

**Effets des PGPRs sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et le rapport C/N chez *Datura stramonium*.**

**Annexe 18:** Effet des PGPRs sur la longueur moyenne des plantes du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,45) = 11,65 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	165,549	4	41,387	11,65	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	159,914	45	3,553			
Total	325,463	49				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	27,04	X
Konm6	29,75	X
A4	30,21	X
Bt04	31,2	XX
Pp20	32,52	X



**Annexe 19:** Effet des PGPRs sur le nombre moyen de feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,45) = 1,59 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	145,88	4	36,47	2,29	0,0748	<b>NS</b>
Résiduelle	718,2	45	15,96			
Total	864,08	49				

**Annexe 20:** Effet des PGPRs sur le poids total moyen des plantes du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,45) = 1,59 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	669,181	4	167,295	1,59	0,1930	<b>NS</b>
Résiduelle	4730,21	45	105,116			
Total	5399,39	49				

**Annexe 21:** Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de culture.

$$F(4,45) = 3,08 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	106,796	4	26,698	3,08	0,0252	<b>S</b>
Résiduelle	389,976	45	8,666			
Total	496,771	49				

### Test LSD de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	10,06	X
Konm6	10,166	X
Pp20	12,41	XX
A4	12,47	XX
Bt04	13,84	X

**Annexe 22:** Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,45) = 1,43 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	7,209	4	1,802	1,43	0,2394	<b>NS</b>
Résiduelle	56,691	45	1,259			
Total	63,9	49				

**Annexe 23:** Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles des plantes du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 53,30 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,693	4	0,173	53,30	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,032	10	0,003			
Total	0,725	14				

### Test LSD de Fisher

traitements	Moyenne	Groupe homogène
A4	6,245	X
Bt04	6,412	X
Konm6	6,588	X
Témoin	6,624	X
Pp20	6,885	X

**Annexe 24:** Effet des PGPR sur la teneur en azote dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 4,67 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,298	4	0,074	4,67	0,0219	<b>S</b>
Résiduelle	0,159	10	0,015			
Total	0,458	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	5,025	X
Pp20	5,05102	X
Konm6	5,0936	X
A4	5,22948	XX
Bt04	5,40542	X

**Annexe 25:** Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 198,29 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	19,830	4	4,957	198,29	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,250	10	0,025			
Total	20,08	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
A4	37,415	X
Konm6	37,717	X
Bt04	38,752	X
Témoin	39,677	X
Pp20	40,458	X

**Annexe 26:** Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 250,16 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	12,124	4	3,031	250,16	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,121	10	0,012			
Total	12,245	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	35,076	X
A4	35,527	X
Bt04	36,501	X
Pp20	36,836	X
Konm6	37,572	X

**Annexe 27:** Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 22,23 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,194	4	0,048	22,23	0,0001	<b>THS</b>
Résiduelle	0,021	10	0,002			
Total	0,216	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Konm6	5,724	X
Pp20	5,876	X
Témoin	5,989	X
A4	5,990	X
Bt04	6,043	X

**Annexe 28:** Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 7,38 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,968	4	0,242	7,38	0,0049	<b>HS</b>
Résiduelle	0,328	10	0,032			
Total	1,296	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Bt04	6,760	X
A4	6,794	X
Témoin	6,980	XX
Pp20	7,293	XX
Konm6	7,381	X

**Annexe 29:** Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 33,42 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,088	4	0,022	33,42	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,006	10	0,0006			
Total	0,095	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Konm6	6,467	X
A4	6,622	X
Témoin	6,649	XX
Bt04	6,652	XX
Pp20	6,685	X

**Annexe 30:** Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 56,86 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,169	4	0,042	56,86	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,007	10	0,0007			
Total	0,177	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
A4	5,820	X
Témoin	5,886	X
Bt04	6,016	X
Konm6	6,079	X
Pp20	6,085	X

**Annexe 31:** Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 7,28 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,715	4	0,17892	7,28	0,0067	<b>S</b>
Résiduelle	0,221	10	0,0245644			
Total	0,936	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20	0,421	X
Témoin	0,547	XX
konm6	0,607	XX
Bt04	0,852	X
A4	1,038	X

**Annexe 32:** Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 0,46 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,011	4	0,0027	0,46	0,7613	<b>NS</b>
Résiduelle	0,059	10	0,0059			
Total	0,070	14				

**Annexe 33:** Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 140,20 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,014	4	0,003	140,20	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,0002	10	0,00002			
Total	0,015	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20	0,046	X
Témoin	0,058	X
konm6	0,058	X
A4	0,066	X
Bt04	0,148	X

**Annexe 34:** Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 0,82 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,221	4	0,055	0,82	0,5387	<b>NS</b>
Résiduelle	0,670	10	0,067			
Total	0,891	14				

**Annexe 35:** Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les feuilles du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 5,24 ; P < 0,05^*$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,3061	4	0,076	5,24	0,0185	<b>S</b>
Résiduelle	0,1314	10	0,014			
Total	0,4375	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20	0,228	X
konm6	0,295	X
Témoin	0,375	X
Bt04	0,385	X
A4	0,648	X

**Annexe 36:** Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les racines du *Datura stramonium*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 2,44 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,538	4	0,134	2,44	0,1150	<b>NS</b>
Résiduelle	0,551	10	0,055			
Total	1,089	14				

**Effet des PGPRs et/ou de l'AS sur la croissance végétative, les teneurs en azote, carbone, hydrogène et sur le rapport C/N chez *Datura innoxia***

**Annexe 37:** Effet des PGPRs sur la longueur moyenne des plantes du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 0,49 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	63,796	8	7,974	0,49	0,8473	<b>NS</b>
Résiduelle	292,673	18	16,259			
Total	356,47	26				



**Annexe 38:** Effet des PGPRs sur le nombre moyen de feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 0,82 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	220,667	8	27,583	0,82	0,5979	<b>NS</b>
Résiduelle	608,0	18	33,777			
Total	828,667	26				

**Annexe 39:** Effet des PGPRs sur le poids total moyen du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 4,16 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	11179,4	8	1397,43	4,16	0,0057	<b>HS</b>
Résiduelle	6045,8	18	335,878			
Total	17225,2	26				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	149,4	X
Bt04	135,4	XX
Pp20	168,4	XXX
Pp20 + 10 <sup>-4</sup> M AS	174,967	XX
AS10 <sup>-4</sup>	177,833	XX
Bt04 + AS10 <sup>-6</sup>	183,267	XX
AS10 <sup>-6</sup>	188,433	XX
Bt04 + AS10 <sup>-4</sup>	193,267	XX
Pp20 + 10 <sup>-6</sup> M AS	209,967	X

**Annexe 40:** Effet des PGPRs sur le poids sec moyen des racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 4,61 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	14,910	8	1,863	4,61	0,0034	<b>HS</b>
Résiduelle	7,271	18	0,403			
Total	22,181	26				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	2,76	X
Pp20+AS10 <sup>-4</sup>	3,186	XX
Bt04	4,013	XX
Bt04+AS10 <sup>-6</sup>	4,093	XX
Bt04+ AS10 <sup>-4</sup>	4,23	XX
Pp20+AS10 <sup>-6</sup>	4,673	X
Pp20	4,686	X
AS 10 <sup>-4</sup>	4,996	X
As 10 <sup>-6</sup>	5,053	X

**Annexe 41:** Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 163,84 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	4,242	4	0,848	163,84	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,046	10	0,005			
Total	4,288	14				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
AS 10 <sup>-6</sup>	2,222	X
AS 10 <sup>-4</sup>	2,292	X
Bt04	2,309	XX
Pp20	2,521	X
Témoin	3,658	X

**Annexe 42:** Effet des PGPRs sur la teneur en azote dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 22,38 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,245	4	0,061	22,38	0,0001	<b>THS</b>
Résiduelle	0,027	10	0,002			
Total	0,273	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
AS 10 <sup>-6</sup>	1,743	X
Pp20	1,782	X
AS 10 <sup>-4</sup>	1,802	X
Bt04	1,837	X
Témoin	2,102	X

**Annexe 43:** Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 19,53 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	7,351	4	1,470	19,53	0,0001	<b>THS</b>
Résiduelle	0,677	10	0,07			
Total	8,029	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	38,393	X
Bt04	39,065	XX
AS 10 <sup>-4</sup>	39,585	X
Pp20	39,649	X
AS 10 <sup>-6</sup>	40,478	X

**Annexe 44:** Effet des PGPRs sur la teneur en carbone dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 25,96 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	7,155	4	1,788	25,96	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,688	10	0,068			
Total	7,844	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	38,905	X
Bt04	39,809	X
AS 10 <sup>-4</sup>	39,917	X
AS 10 <sup>-6</sup>	40,152	X
Pp20	41,061	X

**Annexe 45:** Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 194,88 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	109,65	4	21,9299	194,88	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	1,01276	10	0,112529			
Total	110,662	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	10,495	X
Pp20	15,743	X
Bt04	16,858	X
AS 10 <sup>-4</sup>	17,271	X
AS 10 <sup>-6</sup>	18,217	X

**Annexe 46:** Effet des PGPRs sur le rapport C/N dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 56,10 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	41,501	4	10,375	56,10	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	1,849	10	0,184			
Total	43,350	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	10,495	X
Bt04	15,743	X
AS 10 <sup>-4</sup>	16,858	X
AS 10 <sup>-6</sup>	17,271	X
Pp20	18,217	X

**Annexe 47:** Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 30,48 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,337	4	0,067	30,48	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,019	10	0,002			
Total	0,357	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	6,290	X
Bt04	6,318	X
Pp20	6,448	X
AS 10 <sup>-4</sup>	6,601	X
AS 10 <sup>-6</sup>	6,692	X

**Annexe 48:** Effet des PGPRs sur la teneur en hydrogène dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(4,10) = 8,53 ; P < 0,005^{**}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,064	4	0,016	8,53	0,0029	<b>HS</b>
Résiduelle	0,018	10	0,001			
Total	0,083	14				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
AS 10 <sup>-4</sup>	6,299	X
Témoin	6,344	XX
Bt04	6,373	XX
AS 10 <sup>-6</sup>	6,395	X
Pp20	6,496	X

**Annexe 49:** Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 0,99 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,296	8	0,037	0,99	0,4784	<b>NS</b>
Résiduelle	0,676	18	0,037			
Total	0,972	26				

**Annexe 50:** Effet des PGPRs sur la teneur en scopolamine dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 2,14 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1,184	8	0,148	2,14	0,0858	<b>NS</b>
Résiduelle	1,245	18	0,069			
Total	2,429	26				

**Annexe 51:** Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 0,96 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,063	8	0,007	2,26	0,0722	<b>NS</b>
Résiduelle	0,063	18	0,003			
Total	0,127	26				

**Annexe 52:** Effet des PGPRs sur la teneur en hyoscyamine dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 0,96 ; P > 0,01$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1,352	8	0,169	0,96	0,4955	<b>NS</b>
Résiduelle	3,170	18	0,176			
Total	4,522	26				

**Annexe 53:** Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 9,92 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,045	8	0,005	9,92	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,010	18	0,0005			
Total	0,055	26				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20+AS <sup>-6</sup>	0,027	X
AS 10 <sup>-6</sup>	0,039	X
AS 10 <sup>-4</sup>	0,040	X
Bt04 + AS 10 <sup>-6</sup>	0,047	X
Bt04 + AS 10 <sup>-4</sup>	0,066	XX
Pp20	0,076	XX
Pp20 + AS <sup>-4</sup>	0,078	XX
Témoin	0,089	X
Bt04	0,172	X

**Annexe 54:** Effet des PGPRs sur la teneur en atropine dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 6,05 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1,471	8	0,183	6,05	0,0008	<b>THS</b>
Résiduelle	0,547	18	0,030			
Total	2,019	26				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20 + AS <sup>-6</sup>	0,289	X
Bt04 + AS 10 <sup>-4</sup>	0,454	XX
Pp20 + AS <sup>-4</sup>	0,493	XX
AS 10 <sup>-6</sup>	0,526	X
Bt04 + AS 10 <sup>-6</sup>	0,570	X
Pp20	0,616	X
Bt04	0,750	X
AS 10 <sup>-4</sup>	0,857	XX
Témoin	1,124	X

**Annexe 55:** Effet des PGPRs sur la teneur en pseudotropine dans les feuilles du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 3,85 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	0,116	8	0,014	3,85	0,0083	<b>THS</b>
Résiduelle	0,068	18	0,003			
Total	0,185	26				



**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Témoin	0,263	X
Bt04 + AS 10 <sup>-4</sup>	0,297	X
Pp20	0,339	XX
Bt04	0,367	X
Pp20+AS <sup>-4</sup>	0,403	XX
AS 10 <sup>-6</sup>	0,404	XX
Pp20+AS <sup>-6</sup>	0,430	XX
AS 10 <sup>-4</sup>	0,452	X
Bt04 + AS 10 <sup>-6</sup>	0,467	X

**Annexe 56:** Effet des PGPRs sur la teneur en pseudotropine dans les racines du *Datura innoxia*, à la fin de la culture.

$$F(8,18) = 5,20 ; P < 0,001^{***}$$

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Traitements	1,148	8	0,143	5,20	0,0018	<b>THS</b>
Résiduelle	0,496	18	0,027			
Total	1,645	26				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupe homogène
Pp20 + AS <sup>-6</sup>	0,403	X
AS 10 <sup>-6</sup>	0,552	XX
Bt04 + AS 10 <sup>-4</sup>	0,583	XX
Bt04 + AS 10 <sup>-6</sup>	0,663	X
Pp20 + AS <sup>-4</sup>	0,708	X
Pp20	0,728	XX
Bt04	0,850	X
AS 10 <sup>-4</sup>	0,903	XX
Témoin	1,147	X

## Résumé

Dans cette étude trois souches bactériennes isolées de rhizosphères de plantes en Algérie (*Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20, *Bacillus sp.* Souche Bt04 et *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89) ont été identifiées après amplification de l'ARNr 16S par PCR et séquençage. En plus de ces trois bactéries, deux autres souches A4 (*Agrobacterium*) et Konm6 (*Rhizobium*) ont été étudiées afin d'évaluer leurs performances en tant que PGPRs sur la croissance et les teneurs en métabolites primaires et secondaires (notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes et les antioxydants) chez *D. stramonium* et *D. innoxia*. Che

z cette dernière l'AS a été aussi étudié comme éliciteur. Pour confirmer l'effet des PGPRs sur la croissance des plantes une plante modelé a été utilisé c'est l'*Arabidopsis thaliana*.

Nos résultats ont montré que toutes les souches utilisées ont amélioré significativement la croissance des plantes testées et ont changé les teneurs en azote, carbone et le rapport C/N. Par ailleurs, près de 158 et 242 métabolites primaires et secondaires ont été détectés par la technique GC-TOF-MS dans les feuilles et les racines du *D. stramonium* et *D. innoxia* respectivement. Ces métabolites appartiennent à onze (pour *D. stramonium*) et douze (pour *D. innoxia*) familles chimiques : sucres, acides aminés, acides gras, acides organiques, dérivé de phosphate, polyols, composés de l'azote, alcaloïdes (**scopolamine, hyoscyamine, atropine et pseudotropine** (Chez DI)), phénylpropanoïdes (flavonoïdes : **lutéoline et quercétine**), acides polyhydroxy, MSTs et Composés de soufre (chez DI uniquement). En outre, l'inoculation des plantes du *Datura sp.* par les PGPRs a eu des effets significatifs sur les teneurs en métabolites primaires et secondaires dans les feuilles et dans les racines.

Par ailleurs, les meilleurs teneurs chez *D. stramonium* : en alcaloïdes : scopolamine (1,03 mg/g PS soit une augmentation de 90% avec la souche A4) et en flavonoïdes : lutéoline (0,77 mg/g PS soit une augmentation de 16% avec la souche A4). Cependant, chez *D. innoxia* : en alcaloïdes : hyoscyamine (0.15 mg/g PS soit une augmentation de 257% avec la combinaison Bt04+10<sup>-6</sup> M d'AS), en flavonoïdes : lutéoline (0,99 mg/g PS soit une augmentation de 57% avec la combinaison Bt04+10<sup>-4</sup> M d'AS).

**Mots clés :** PGPRs, *Arabidopsis thaliana*, *Datura stramonium*, *Datura innoxia*, GC-TOF-MS, métabolites primaires et secondaires, alcaloïdes.

## **Abstract**

In this study, three bacterial strain isolated from plant rhizosphere in Algeria (*Pseudomonas plecoglossicida* strain Pp20, *Bacillus sp.* strain Bt04 and *Lysinibacillus fusiformis* strain Lf89) were identified by the PCR after amplification of the 16S rDNA. In addition of these three bacteria, two other strains A4 (*Agrobacterium*) and Konm6 (*Rhizobium*) were studied to evaluate their performances as a PGPRs on plant growth and the contents in primary and secondary metabolites (notably alkaloids, flavonoids and the antioxidants) in *D. stramonium* et *D. innoxia*. With the latter, salicylic acid was also tested as an elicitor. To confirm the PGPRs effect on plants growth, *Arabidopsis thaliana* was used as a model plant.

Our results revealed that all strains had significantly enhanced plant growth and had changed nitrogen, carbon contents as well as C/N ratio. Furthermore, nearly 158 and 242 primary and secondary metabolites were detected with GC-TOF-MS technic in the leaves and the roots of *D. stramonium* and *D. innoxia* respectively. These metabolites belong to eleven (for *D. stramonium*) and twelve (for *D. innoxia*) chemical families: carbohydrates, amino acids, fatty acids, organic acids, phosphate derivatives, polyols, nitrogen compounds, alkaloids (**scopolamine, hyoscyamine, atropine** and **pseudotropin** (in DI)), phenylpropanoids (flavonoids: **luteolin and quercetin**), polyhydroxy acids, MSTs and sulfur compounds (only in DS). Furthermore, the inoculation of *Datura sp* plants with the PGPRs lead to significant effects on primary and secondary metabolites in the leaves and the roots.

Moreover, the best content in *D. stramonium*: In alkaloids of scopolamine (1,03 mg/g DM, an increase of 90% with the strain A4), in flavonoids of lutéoline (0,77 mg/g DM, an increase of 16% with the strain A4). However, with *D. innoxia*: in alkaloids of hyoscyamine (an increase of 257% with the combination Bt04+10<sup>-6</sup> M of SA), in flavonoids of luteolin (0,99 mg/g DM, an increase of 57% with the combination Bt04+10<sup>-4</sup> M of SA).

**Keywords:** PGPRs, *Arabidopsis thaliana*, *Datura stramonium*, *Datura innoxia*, GC-TOF-MS, primary and secondary metabolites, alkaloids.

## ملخص

في هذه الدراسة ثلاثة سلالات بكتيرية معزولة من تربة بعض النباتات في الجزائر تم تحديدها عن طريق سلسلة تفاعل البوليميراز (PCR) بعد تضخيم الحمض النووي الريبي س16 (*Pseudomonas plecoglossicida* souche Pp20), *Bacillus sp.* Souche Bt04, *Lysinibacillus fusiformis* souche Lf89. بالإضافة إلى هذه البكتيريا الثلاثة، تمت دراسة سلالتين أخرتين هما (*Rhizobium*) Konm6 و (*Agrobacterium*) A4. وتم تقييم أداءها كبكتيريا محفزة على نمو النباتات وكذا مدى تأثيرها على محتويات الأيض الأولية والثانوية (خصوصا القلويدات، الفلافونويد ومضادات الأكسدة) على نباتي (*D. stramonium* و *D. innoxia*). كما تمت دراسة حمض السليسليك مع النبات الأخير كمحفز هو الآخر. ومن أجل تأكيد تأثير البكتيريا استعملنا نبات نموذجي: *Arabidopsis thaliana*.

أظهرت النتائج المتحصل عليها ان كل السلالات البكتيرية المستخدمة حسنت وبشكل ملحوظ نمو النباتات المختبرة كما غيرت محتويات النتروجين والكربون وكذا العلاقة نيتروجين/كربون. علاوة على ذلك، تم الكشف عن قرب 158 و 242 ايض اولي و ثانوي في الأوراق والجذور *D. innoxia* و *D. stramonium* تواليا باستعمال تقنية (GC-TOF-MS). هذه المواد الايضية صنفت حسب خواصها إلى احدى عشر (*D. stramonium*) واثني عشر (*D. innoxia*) عائلة كيميائية: السكريات، الأحماض الأمينية، الأحماض الدهنية، الأحماض العضوية، مشتقات الفوسفات، البوليولات، مركبات النيتروجين، القلويدات (سكوبولامين، هيسيامين، أتروبين و بسودوتروبين هذا الأخير نجده فقط عند *D. innoxia*)، الفينيل بروبانويد (فلافونيدات: كيرسيتين وليتيولين)، احماض متعددة الهيدروكسيد، مركبات الكبريت و المواد الايضية المجهولة. من جهة اخرى، فقد كان لتلقيح النباتات بالبكتيريا آثار كبيرة على مستويات الأيض الاولية والثانوية في أوراق وجذور النباتين.

من ناحية أخرى، فان أفضل التراكيز عند *D. stramonium* في القلويدات: السكوبولامين (1.03 مع/غ وزن جاف، أي بزيادة تقدر ب 16 % مع A4). أما عند *D. innoxia* في القلويدات: (0.16 مع/غ وزن جاف، أي بزيادة تقدر ب 257 % مع Bt04 + 10<sup>-6</sup> مول من حمض سليسليك). في الفلافونيدات: ليتيولين (0.99 مع/غ وزن جاف، أي بزيادة تقدر ب 57 % مع Bt04 + 10<sup>-4</sup> مول من حمض سليسليك).

### الكلمات الرئيسية:

البكتيريا المحفزة للنمو النباتي (PGPR)، المواد الايضية الأولية والثانوية، القلويدات، *D. stramonium*, *D. innoxia*, GC-TOF-MS, *Arabidopsis thaliana*.