



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Telidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par CHENAFI NOURELHOUDA

DOMAINE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE DES SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

**Contribution à l'étude de la biostimulation de blé
dur (*Triticum durum*)
Par des *Pseudomonas Spp. Fluorescents* sous stress
hydrique**

Jury de soutenance :

M^{me} HOUYOU Zohra

M AA

Président

M^{me} MARFOUA Meriem

M AA

Examineur

M^{elle} AMEUR Djamilia

M AA

Rapporteuse

Secession Juin 2023

REMERCIEMENTS

Avant tout, je tiens à remercier **DIEU** tout puissant, De m'avoir accordé
La force, le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail
de

Fin d'études de master.

Je tiens à remercier les membres du jury **M^{me} HOUYOU Zohra et M^{me} MARFOUA
Meriem** pour l'honneur qu'ils ont fait en acceptant de juger mon travail

Je remercie vivement mon encadreur : **M^{elle} AMEUR DJAMILA** pour son aide,
Sa compréhension et ses conseils et ses corrections sérieuses pour ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à tous les Enseignants à la faculté
Des sciences Agronomique, Université Amar Telidji-Laghouat

Mes remerciements les plus sincères aussi aux technicien(n)es du
Laboratoire d'agronomie et à **M^{me} RENANE Zahra** responsable des laboratoires
De La faculté.

Je remercie également toutes les personnes qui m'ont aidé, de près ou de Loin
Pour la réalisation de ce travail en particulier.



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A mon Père

Qui a œuvré pendant des années à notre bien-être et qui a
Consenti de lourds efforts pour nous permettre de mener
À bien nos études. Je tiens à lui témoigner
Ma profonde affection

A ma Mère

Son soutien tout au long de mes études
Sa bienveillance et ses conseils ont été très précieux, je tiens à lui
témoigner
Ma profonde affection et reconnaissance

A mes Frères

A qui je témoigne ma profonde affection, toujours présent, ils
M'ont toujours assisté et cru en moi

A tous,

Ceux Qui m'ont toujours entouré, vraiment aimé et soutenu

A tous mes proches.



SOMMAIRE

SOMMAIRE

- Remerciement	
- Dédicace	
- Listes des tableaux	
- Listes des figures	
- Listes de l'abréviation	
- Résumé	
- Abstract	
- ملخص	
- Introduction	1

Chapitre I

Pseudomonas spp. Fluorescents

I.1. Les Rhizobacteries	4
I.2. Taxonomie	4
I.3. Caractères généraux des <i>Pseudomonas spp</i> fluorescents	5
I.4. <i>Pseudomonas spp.</i> Face au stress abiotique	6
I.5. Les <i>Pseudomonas spp. fluorescents</i> agents de Biocontrôle et de croissance des plantes	6
I.6.1. Stimulation de la croissance des végétaux	7
I.6.2. Les mécanismes de biocontrol	8
I.7 – Les experts appellent à l'utilisation de Rhizobactéries dans les cultures	12

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Matériels biologique	14
II.1.1. Matériels végétale	14
II.1.2. Les souches bactériennes	14

II.2. Préparation des solutions de PEG	14
II.3. Partie 1 : Tolérance des souches bactériennes au stress hydrique	15
II.4. Partie 2 : Essais de la biostimulation de croissance par des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents sur la croissance de blé dur (<i>Triticum durum</i>) sous stress hydrique	15
II.4.1. Désinfection des graines	15
II.4.2. Préparation de l'inoculum bactérien	15
II.4.3. Essai de la stimulation de la croissance racinaire <i>in Vitro</i>	15
II.4.4. Essai de la stimulation de la germination <i>in Vitro</i>	17
II.4.5. Essai de la stimulation de la croissance <i>in Vivo</i>	19
II.5. Analyse statistique	22

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Résultats	24
III.1.1. Partie 1 : La tolérance de bactéries au stress hydrique	24
III.1.2. Partie 2 : Les résultats relatifs à l'essai de la Biostimulation de croissance par des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents sur la croissance blé dur (<i>Triticum durum</i>) sous stress hydrique	24
III.1.2.1. Les résultats relatifs à l'essai de la stimulation de la croissance racinaire <i>in Vitro</i>	24
III.1.2.2. : La viabilité de bactéries au stress hydrique	25
III.1.2.2. Les résultats relatifs à l'essai de la stimulation de la germination <i>in Vitro</i>	26
III.1.2.2.1. Effet sur le taux de germination	26
III.1.2.2.2. Effet sur la fuite d'électrolyte	27
III.1.2.2. Les résultats relatifs à l'effet de stress hydrique et de la bactérisation <i>in Vivo</i>	28
III.1.2.2.1. Teneur relative en eau	28
III.1.2.2.2. Fuite d'électrolytes	29

III.1.1.2.2.3. Taux de chlorophylle	30
III.1.1.2.2.4. Dosage de sucre soluble	31
III.2 Discussion	32
<i>Conclusion</i>	37
<i>Références bibliographiques</i>	40



*LISTES DES
FIGURES*

Listes des figures :

Figure 1. Effet de l'interaction du facteur bactérisation et le facteur de concentration de PEG sur la longueur racinaire in vitro

Figure 2. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration du taux de germination du blé dur

Figure 3. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la fuite (%) d'électrolytes

Figure 4. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la teneur relative en (%) eau

Figure 5. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la fuite d'électrolytes (%) in vivo

Figure 6. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur le taux de chlorophylle in vivo

Figure 7. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur le dosage de sucre soluble in vivo



*LISTES DES
TABLEAUX*

Listes des tableaux :

Tableau1 : Tableau représente les résultats de la tolérance bactérienne
--

Tableau2 : Tableau représente les résultats de la viabilité bactérienne
--



*LISTES DES
ABBREVIATIONS*

Liste des abréviations

- **PEG** : Polyethylene glycol
- **%** : Pourcentage
- **°C** : Degré Celsius
- **RSI** : Résistance systémique induite
- **EPS** : Les exopolysaccharides
- **TNB** : Témoin non bactérisé
- **TG** : Taux de germination
- **TRE** : Teneur relative en eau
- **ABA** : Acide abscissique
- **Cm** : Centimètre
- **Ph** : Potentiel d'hydrogène
- **PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria
- **KB** : king B



RESUME

Résumé:

Le stress abiotique est la contrainte environnementale qui cause le plus de dommage aux Plantes cultivées, il est l'obstacle pour la germination et le développement et le principal Facteur de chute de rendement.

La phase de germination constitue l'une des étapes les plus sensible et endommagée aux Effets engendrés par le stress abiotique.

L'étude porte sur la réponse de blé dur au stress hydrique et la Biostimulation de *Pseudomonas* spp. Fluorescents, en utilisant le polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000 ; 10% ,20%), comme agent de stress hydrique. L'étude s'intéresse sur le taux de Germination, la fuite d'électrolyte, longueur des racines, la teneur relative en eau(TRE), Le taux de chlorophylle et le dosage des sucres solubles.

Les résultats obtenu démontre que, certaines bactéries provenant du sol sont pour but d'améliorés certaines caractéristiques bénéfiques pour les plantes au niveau de l'agumentation de vitesse germinatif , ce genres de bactériens sont regroupés sous le nom de PGPR(Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Les PGPR peuvent influencer la germination des plantes de façon directe ou indirecte.

Les rhizobacteria sont capable d'adapter avec des conditions défavorables comme un stress hydrique sévère et améliorer la germination des plantes via l'accélération de pouvoir germinatif, amélioration des pertes en eau et augmentation des capacités photosynthétiques.

Les PGPR sont donc très important pour l'utilisation en domaine agricole comme Biocontrol, biopesticides et biostimulant.

Mots clés : Stress abiotique, Germination, Chute de rendement, Blé dur, Stress hydrique, La biostimulation , *Pseudomonas* spp. Fluorescents, PEG6000, TRE, les PGPR, Les Rhizobacteria , La fuite d'électrolyte , Longueur des racine , Taux de chlorophylle , dosage de sucre soluble , Capacités photosynthétiques , Biocontrol , Biopesticides , Biostimulant .

-Abstract :

Abiotic stress is the environmental stress that causes the most damage to cultivated plants, it is the obstacle for germination and development and the main factor to declining profitability .

The germination phase is one of the most sensitive and damaged stages to the effects caused by abiotic stress.

The study intrasted on durum wheat's response to water stress and biostimulation of *Pseudomonas* spp. Fluorescent, using polyethylene glycol 6000 (PEG 6000; 10%, 20%), as a water stress agent. The study focuses on germination rate, electrolyte leakage, root length, relative water content (TRE), chlorophyl level and soluble sugar dosage.

The results obtained show that, some bacteria from the soil are intended to improve certain beneficial characteristics for plants at the level of germination rate agmentation, these kinds of bacteria are grouped under the name of PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

PGPR can influence plant germination directly or indirectly. Rhizobacteria are able to adapt with adverse conditions such as severe water stress and improve plant germination through acceleration of germination power, improvement of water losses and increase of photosynthetic capacities.

PGPR are therefore very important for use in agriculture such as Biocontrol, biopesticides and biostimulants.

Keywords: Abiotic stress, Germination, Declining profitability, Durum wheat, water stress, *Pseudomonas* spp. Fluorescents, PEG6000, TRE, PGPR, Rhizobacteria , Biostimulation , Electrolyte leakge , Root lenght , Chlorophyl level , Soluble sugar dosege , Photosynthetic capacities , Biocontrol , Biopesticides , Biostimulants .

ملخص: -

الإجهاد اللاأحيائي هو الإجهاد البيئي الذي يسبب أكبر قدر من الضرر للنباتات المزروعة ، وهو عقبة أمام الإنبات والتطور والعامل الرئيسي في تراجع المردودية .

مرحلة الإنبات هي واحدة من أكثر المراحل حساسية وتضررا للتأثيرات الناجمة عن الإجهاد اللاأحيائي تركز الدراسة على استجابة القمح الصلب للإجهاد المائي والتحفيز الحيوي للبكتيري ، باستخدام البولي إيثيلين جليكول (10 ٪ ، 20 ٪) ، كعامل الإجهاد المائي. تركز الدراسة على معدل الإنبات ، تسرب المنحل بالكهرباء ، طول الجذر ، محتوى الماء النسبي ، مستوى الكلوروفيل وجرعة السكر القابلة للذوبان..

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن بعض البكتيريا من التربة تهدف إلى تحسين بعض الخصائص المفيدة للنباتات على مستوى معدل الإنبات ، ويتم تجميع هذه الأنواع من البكتيريا تحت اسم الجذور المعززة للماء .

يمكن ان تؤثر الجذور المعززة للماء على انبات النبات بشكل مباشر او غير مباشر. الجذور المعززة للماء قادرة على التكيف مع الظروف القاسية مثل الاجهاد المائي الحاد و تحسين انبات النبات من خلال تسريع قوة الإنبات و تحسين خسائر المياه و زيادة قدرات التمثيل الضوئي .

لذلك فان الجذور المعززة للماء مهمة جدا للاستخدام فالزراعة مثل المكافحة الحيوية و المبيدات الحيوية و المنشطات الحيوية.

الكلمات المفتاحية:

الإجهاد اللاأحيائي ، الإنبات ، القمح الصلب ، الإجهاد المائي ، التحفيز الحيوي ، البولي إيثيلين جليكول ، طول الجذر ، تسرب المنحل بالكهرباء ، مستوى الكلوروفيل ، جرعة السكر القابلة للذوبان ، محتوى الماء النسبي ، الجذور المعززة للماء ، التمثيل الضوئي ، تراجع المردودية ، تحفيز الحيوي ، المكافحة الحيوية ، المبيدات الحيوية ، المنشطات الحيوية



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le blé dur est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité. Cette espèce est classée comme la deuxième plus importante céréale du genre *Triticum* après le blé tendre (Feillet, 2000). De nombreux stress biotiques et abiotiques affectent le développement du blé dur dans les principales zones de production. La sécheresse est parmi les contraintes environnementales qui causent de dommage aux rendement et productivité de blé dur. Différents travaux démontrent que le déficit hydrique constitue le principal stress qui réduit significativement le déroulement optimal de la germination où la turgescence constitue l'élément moteur de son déclenchement (Schiefelbein *et al.*, 1997).

Dans l'ensemble, les bactéries ayant un impact positif sur la plante, par le biais d'un effet protecteur ou via une stimulation de sa croissance, ont communément été regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dont appartiennent les *Pseudomonas* spp. fluorescent (Mercado- Blanco *et al.*, 2007). Les rhizobactéries du groupe PGPR ont été utilisées pour lutter contre les maladies d'origine tellurique. Plusieurs études ont montré la capacité des PGPR d'améliorer la croissance des plantes et d'intervenir dans le biocontrôle des agents Phytopathogènes telluriques (Lemanceau, 1992).

Une grande part des recherches réalisées sur les rhizobactéries souligne l'importance et le potentiel du groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents (Cipriano *et al.*, 2018). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent un intérêt scientifique majeur. Ils se caractérisent par une diversité génétique et phénotypique en relation avec leur impact positif sur le fonctionnement de la rhizosphère, en exerçant des actions directes et/ou indirectes sur le développement de la plante. En effet, au cours des dernières décennies, des études ont signalé des augmentations significatives dans la croissance et le rendement des cultures en réponse à l'inoculation avec quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (Taguet *et al.*, 2015 ; Turatto *et al.*, 2018) qui sont des biofertilisants également appelés « biostimulants » ou « phytostimulants » (Faessel *et al.*, 2015).

D'autre part (Van Lonn et Glick, 2004), ces rhizobactéries sont caractérisées par un Arsenal métabolique, s'exprimant par la synthèse de divers métabolites secondaires impliqués dans les aspects trophiques, nutritionnels et de compétition avec les autres Microorganismes (Lemanceau, 1992 ; Weller, 2007 ; Van Lonn, 2007 ; Loper *et al.*, 2011 ; Figueroa-Lopez *et al.*, 2016).

INTRODUCTION

La stimulation de la croissance des plantes bactériées peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance analogues aux phytohormones (Persello-Cartieux et *al.*, 2003 ; Romans et *al.*, 2007). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de synthétiser des siderophores qui sont des molécules chélatrices du fer surtout en condition de carence en cet élément nécessaire à leur croissance (Ongena et *al.*, 2002), Egalement elles peuvent produire une grande variété de composés à activité antimicrobiennes utilisée en tant que systèmes de défense (Dahdah et *al.*, 2015). PGPR produisant des exopolysaccharides peut jouer un rôle important dans le soulagement des stress abiotiques dans les plantes.

Notre travail a pour objectif d'étudier la biostimulation par des *Pseudomonas* spp. fluorescents sous l'effet du stress Hydrique sur quelques paramètres morphologiques (La germination, longueur des racines et physiologiques (teneur relative en eau, La fuite d'électrolytes) et biochimiques (chlorophylle et sucres solubles) sur une seule variété de blé dur.

Ce travail sera divisé en trois chapitres :

- * Le premier chapitre de notre travail est consacré à une synthèse bibliographique sur le *Pseudomonas* spp. Fluorescents.
 - * Le deuxième chapitre de ce mémoire sera consacré à l'expérimentation qui décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude.
 - * Le troisième chapitre portera sur les résultats obtenus ainsi que leur discussion.
- On termine enfin par une conclusion.



CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. *Pseudomonas* Spp Fluorescents

I.1-Les Rhizobacteries

Les bactéries sont les organismes les plus nombreux et représentent en moyenne 6.10⁸ cellules par gramme de sol et un poids de 10000 Kg /ha équivalant à 5% du poids sec des composés organiques du sol. L'abondance des bactéries dans le sol s'explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme sources d'énergies et d'élément nutritifs (Glick, 1995). On définit alors les bactéries associées aux racines des plantes comme les rhizobactéries. Celles-ci sont généralement des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante (Kloepper, 1993). Si la plante libère des composés organiques, à l'inverse elle prélève de l'eau et des éléments minéraux indispensables à son métabolisme. Les échanges entre la plante et le sol sont influencés par les rhizobactéries et ce d'autant plus que leur densité et leur activité sont élevées. Les rhizobactéries sont des hétérotrophes typiques, elles nécessitent donc des composés organiques comme source d'énergie.

Les rhizobactéries utilisent en effet de nombreux substrats provenant de la plante : les cellules corticales et épidermales qui se détachent, les polysaccharides du mucilage racinaire, les sucres et les acides aminés et organiques des exsudats racinaires, etc. (Campbell et Greaves, 1990). Ces rhizobactéries sont considérées comme des concurrents microbiens efficaces dans la zone racinaire. L'effet visible des associations plante-microbe sur la croissance de plantes peut être positif, neutre, ou négatif. Certaines bactéries inhibent la croissance alors que d'autres la stimulent. Ces dernières sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacteria : PGPR) (Kloepper et al., 1989 ; Zahir et al., 2004). Au cours des dernières décennies, un nombre très important de bactéries ont montré une capacité d'améliorer la croissance de la plante (Kloepper, 1992 ; Glick, 1995).

I.2-Taxonomie :

Régne : Bacteria
Embranchement : Bacteria
Classe : Schizomycetes
Ordre : Pseudomonadales
Famille : Pseudomonadaceae
Genre : *Pseudomonas*

- Les *Pseudomonas* appartiennent au groupe de bactéries appelées PGRP (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (Kloepper et schroth, 1978) : ce sont des bactéries capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et /ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (weller, 1988). Ils ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques, et ils sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler en laboratoire. De plus, les bacilles offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes au changement des conditions du milieu avantage aussi pour la formulation du produit (Raaijmakers et al., 2002; Cavaglieri et al., 2005).

La plupart des souches bactériennes PGPR, exploitées comme biopesticides, appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago, 2005).

I.3-Caractères généraux des *Pseudomonas Spp* Fluorescents

Les *Pseudomonas* sont des bactéries que l'on rencontre communément dans l'eau, dans les sols et, en particulier au niveau des rhizosphères (Kanynda et al., 2014). Elles ont une grande capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population.

Il comprend une soixantaine d'espèces. Leurs caractères principaux sont :

- Le génome de cette bactérie a été séquencé en 2000 et a été publié et révélait le plus large génome bactérien séquencé à ce jour. Il possède 6.3 millions paires de bases, codant 5570 cadres de lecture de la souche modèle PAO1 (Stover et al., 2000). La taille du génome du groupe *Pseudomonas* fluorescents varie d'environ 6,4Mb à 7,7Mb (Paulsen et al, 2005, Silby et al, 2009) .

- Toutes les espèces de ce genre ne peuvent pas croître à un pH inférieur à 4.5. Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon et la cellulose (Palleroni, 1984)

- les températures optimales à leur croissance varient entre 4 °C à 42°C (Palleroni, 2008).

- Des bâtonnets droits ou faiblement incurvés de 0,5 à 1µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long (Prescott et al , 2003).

- Ces bactéries contribuent significativement à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques (Latour et Lemanceau, 1997).

- Elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques (Visca et al., 2007) (Euzéby, 2008).

- Les espèces appartenant au genre *Pseudomonas* se cultivent sur des milieux de culture usuels non enrichis et sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme source de carbone et d'énergie.
- La plupart sont saprophytes (Bossis *et al.*, 2000).
- Certaines populations de *Pseudomonas spp fluorescents* ont la possibilité d'assimiler l'azote (Clays-Josserand *et al.*, 1995). Cette assimilation est plus ou moins complète selon le groupe taxonomique considéré (Matsubara et Zumft, 1982).

I.4- *Pseudomonas* spp. Fluorescente face aux stress abiotiques

Divers rhizobactéries, regroupées sous le terme PGPR, ont une capacité à promouvoir la croissance de leur plante hôte par des effets surs : la nutrition, l'architecture racinaire ou la santé de leur partenaire végétal (Grover *et al.*, 2010). Ils peuvent aussi déclencher l'expression des mécanismes de **la tolérance systémique induite (TSI)** vis-à-vis de différents facteurs de stress abiotiques tels la sécheresse, la salinité et les métaux lourds (Yang *et al.*, 2009). L'inoculation de la souche *Pseudomonas* AMK-P6, par exemple, induit une thermotolérance au sorgho (47-50°C) ; ceci est réalisé par une amélioration de sa biomasse végétale ainsi que de sa teneur en chlorophylle, en sucres, en acides aminés et en proline (Ali *et al.*, 2009).

I.5-Les *Pseudomonas spp. Fluorescents* agents de Biocontrôle et de croissance des plantes

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas spp. Fluorescents* sont parmi les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Digat et Gardan, 1987). Les *Pseudomonas fluorescents* sont connus pour leurs aptitude d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan, mais sont aussi mobiles et prototrophes (De Weger *et al.*, 1994), produisent des antibiotiques (Natsch *et al.*, 1994), et des enzymes hydrolytiques (Nielsen et Sorensen, 1999). Les *Pseudomonas spp. fluorescents* sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth *et al.*, 1992). En plus, ce genre d'antagonistes responsable de la suppression des maladies fongiques dans les cultures et stimulent la croissance des plantes comme le riz (Sakthivel et Gnanamanickam, 1987), le blé (Weller et Cook 1983), la pomme de terre (Kloepper *et al.*, 1980), la canne à sucre (Suslow et Schroth 1982), le radis (Kloepper et

Schroth 1978), le coton (Howell et Stipanovic 1980) et le manioc (Hernandez *et al.*, 1986). Différentes espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont été rapportés à la fois comme PGPR (plant growth promoting rhizobactéria), et comme souches de biocontrôle des phytopathogènes (de Salmone *et al.*, 2001). Ces bactéries sont d'excellents compétiteurs vis-à-vis de la microflore fongique et bactérienne du sol (Garbaye, 1994), leur capacité à utiliser les exsudats de plantes comme nutriments (Lugtenberg *et al.*, 2002), et à chélater les ions ferriques (Garbaye, 1994).

Durant la colonisation de système racinaire des plantes, les pseudomonas Fluorescents peuvent agir sur les phytopathogènes par leur actions antagonistes En produisant des substances antimicrobiennes (Hass et Dèfago, 2005) et des Enzymes lytiques des parois des champignons (Didy *et al.*,2005 ; Siddiqui *et al.*, 2005).Comme ils peuvent exécuter leurs actions bénéfiques directement Sur les plantes, en induisant leurs defenses naturelles (Haas et Dèfago, 2005 ;Van Loon *et al.*, 1998)et/ou par la stimulation de leur croissance (Derylo et Skorupska, 1993 ; Park *et al.*, 2009).

I.6.1 - Stimulation de la croissance des végétaux

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents saprophytes habitants des sols agricoles et de la rhizosphère des plantes, sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth *et al.*, 1992).

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents colonisent efficacement la spermosphère et peuvent assurer une bioprotection des semences avant et pendant la germination (Digat, 1992), ainsi certaines souches de *Pseudomonas* peuvent améliorer la germination des semences et la levée des plantules (Klopper *et al.*, 1980), notamment lorsque les conditions d'environnement sont défavorables à leur germination (Compant *et al.*, 2005 ; Haas et defago,2005).

La stimulation de la croissance des plantes bacterisées peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance analogues aux phytohormones (Persello-Cartieux *et al.*, 2003 ; Romans *et al.*, 2007). tels que : l'auxine, l'acide gibberellique, cytokinines et de l'éthylène (Gutierrez-Manero *et al.*, 2001).

Les rhizobactéries sécrètent des substances qui provoquent une amélioration de la nutrition des plantes colonisées par l'absorption de l'ion nitrate par la plante, la solubilisation du phosphate et la chélation du fer (Adjanohoun *et al.*, 2012).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de synthétiser des siderophores qui sont des molécules chélatrices du fer surtout en condition de carence en cet élément nécessaire à leur croissance (Ongena et al., 2002), ces dernières sont impliquées dans la croissance et la sante des plantes (Latour et al., 2009) et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt et al., 2003).

I.6.2 - Les mécanisme de Biocontrôle

a. Production des siderophores

Les siderophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle est de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes (Neilands, 1995). Les siderophores des deux espèces *Pseudomonas fluorescens* et *P.putida* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent appelé « pyoverdine » (Meyer et Abdellah, 1978) ou pseudobactine (Teintze et al., 1980) qui forment avec le fer un complexe : « ferri-pyoverdine ».

Les siderophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux (Guerinot, 1994). Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires. Les siderophore est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crosa et Walsh, 2002). Egalement les bactéries peuvent produire une grande variété de composés à activité antimicrobiennes utilisée en tant que systèmes de défense. La chélation de fer par les bactéries ou champignons est un caractère très recherche et présente un intérêt considérable en agriculture. Cette activité assure d'une part une source de fer assimilable par la plante et d'autre part assure une compétition avec les agents phytopathogènes surtout les champignons, un caractère recherché dans le Biocontrôle des agents phytopathogènes (Dahdah et al., 2015).

b. Production des antibiotiques

Les *Pseudomons* spp. Fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action, sur des agents fongique telluriques. Parmi ces antibiotiques les pyolutéorine (PLT), les phenazines (pcA), les pyrrolnitrines (Prn), le 2,4-diacétyl- phloroglucinol (DAPG), les tropolone et l'oomycine... (Keel et al., 1991, Kloepper et al., 1991).

c. Production de l'HCN

La production d'HCN, été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983), l'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O'Gara, 1992), sa production peut même inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes via la phase gazeuse *in-vitro* (Blummer et Haas, 2000).

d. Solubilisation des phosphates par les *Pseudomonas spp. fluorescents*

Les espèces de *Pseudomonas spp. fluorescents* ont été identifiés comme rhizobactéries solubilisant le phosphate (Bano et Musarat, 2003). Ces bactéries solubilisant le phosphate dans la rhizosphère, cette dernière étant le siège de nombreuses interactions entre les plantes et les divers microorganismes associés. La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Richardson, 2001).

e. Production des EPS

Les exopolysaccharides bactériens (EPS) sont un mélange naturel de polymères de haut poids moléculaire libérés par les bactéries dans leur environnement, sécrétion qui est produite en réponse à une variété de stress externes, y compris la salinité, la sécheresse, la toxicité des métaux lourds et les changements de température (Donot *et al.*, 2012 ; Marvasi *et al.*, 2010). En outre, les EPS sont impliqués dans l'agrégation cellule-cellule qui est cruciale pour l'ancrage des bactéries et l'adhésion aux racines des plantes (Hori et Matsumoto, 2010 ; Fazli *et al.*, 2010). Ces caractéristiques font du SPE un facteur important à exploiter dans la protection des végétaux contre différents types de stress par application bactérienne. Par rapport à d'autres caractéristiques bien connues des bactéries bénéfiques associées aux plantes, les effets des SPE sur l'amélioration du stress abiotique des plantes sont encore sous-explorés.

De nombreux PGPR sont capables de sécréter des substances polymères extracellulaires ou des exopolysaccharides (EPS) qui forment des bio films et facilitent l'adhésion à la surface des racines des plantes. Par conséquent, PGPR produisant EPS peut jouer un rôle important dans le soulagement des stress abiotiques dans les plantes.

Au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont porté sur les effets bénéfiques de la PGPR pour améliorer la croissance des plantes et atténuer les stress biotiques et abiotiques. Cependant, le rôle des SPE bactériennes pour atténuer les stress abiotiques et aider les plantes à s'adapter à leur environnement est encore à l'étude. Cette revue tente de décrire et d'analyser les mécanismes par lesquels l'EPS améliore la tolérance au stress abiotique des plantes. De plus, afin de fournir un aperçu de la tolérance à l'égard du stress abiotique Médie par le SPE du PGPR, nous examinons comment les changements environnementaux externes influencent la composition et la structure du SPE bactérien durant les interactions entre les plantes et les bactéries et leur effet sur l'atténuation du stress (Morcillo *et al.*, 2021)

f. Acide indole acétique (AIA)

L'AIA est une phytohormone puissante produite par les PGPR. Il contrôle un large éventail de processus liés au développement de la plante et de la croissance. En effet, il a un rôle clé dans l'amélioration de la croissance des racines et des poils latéraux et polaires, dans la différenciation des tissus vésiculeuse et dans l'entretien du méristème (Aloni *et al.*, 2006; Fukaki *et al.*, 2007). Selon Tien *et al.* (1979), letryptophane est le principal précurseur de la biosynthèse de l'AIA chez les microorganismes le récupérant à partir des exsudats racinaires. Au moins 5 voies de biosynthèse ont été décrites chez les micro-organismes dont la majorité montrent une similarité avec celles décrites chez les plantes bien que certains intermédiaires peuvent différer (Patten et Glick, 1996 ; Spaepen et Vanderleyden, 2011). D'après ces auteurs, la production de l'AIA à partir du tryptophane impliquerait :

- (1) La formation *via* l'acide indole-3-pyruvique et l'indole-3-acétaldéhyde. C'est le mécanisme le plus commun chez les bactéries comme *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Azospirillum*.
- (2) la transformation du tryptophane en AIA peut emprunter une voie alternative aboutissant à la production de tryptamine. Cette voie est caractéristique de *Pseudomonas* et *Azospirillum*.
- (3) la biosynthèse de cette auxine *via* la formation d'indole-3-acétamide a été observée chez les bactéries phytopathogènes (*Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* et *Erwinia herbicola*), *Pseudomonas* saprophytes (*Pseudomonas putida* et *P. fluorescens*)
- (4) La biosynthèse AIA impliquant la conversion du tryptophane en indole-3-acétonitrile caractérise les cyanobactéries (*Synechocystis* sp.).
- (5) La voie de « tryptophane-indépendant » est la plus commune chez les plantes, mais retrouvée également chez les *Azospirilla* et les cyanobactéries.

Ces auxines influencent les processus physiologiques des plantes et facilitent leur croissance en modifiant l'équilibre hormonal (Kang *et al.*, 2006). D'après (Ahemad et Kibret, 2014), l'AIA :

- affecte la division cellulaire, l'extension et la différenciation,
- stimule la germination des graines des semences et des tubercules
- augmente le taux de xylème et le développement des racines,
- contrôle des processus de croissance végétative stimule la formation des racines latérale et adventives.
- intervient dans les tropismes en réponse à la gravité (gravitropisme) ou à la lumière (phototropisme)

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

g. Résistance Systémique Induite (RSI)

Les plantes peuvent acquérir des mécanismes de défense contre les organismes pathogènes par le phénomène de résistance systémique induite (RSI). En effet, de nombreux composants bactériens (lipopolysaccharides (LPS), flagelles, acide salicylique, sidérophores, lipopeptides cycliques, acétone et 2,3-butanedio) activent les défenses de la plante contre différentes maladies. Lors d'une invasion pathogénique, cette « immunité » s'initie suite à la perception de la plante de molécules dites « éliciteurs » produites par les microorganismes bénéfiques (Jourdan *et al.*, 2008).

Le phénomène (RSI) fait appel à la reconnaissance d'éliciteurs chez l'hôte par l'agent inducteur, ce qui va activer l'expression des mécanismes de défense *sensu stricto* et limiter la pénétration de pathogènes dans les tissus de la plante.

Cette étape nécessite des changements structurels comme la formation de nouveaux obstacles, l'activité accrue des enzymes lytiques, la production des métabolites secondaires et des enzymes extracellulaires (Chen *et al.*, 2009). Ce mécanisme se déroule en trois étapes principaux :

- Elicitation, les PGPR interagissent avec les racines de l'hôte et produisent des éliciteurs qui sont perçus par la plante ;
- après la reconnaissance des déterminants, un signal est véhiculé dans l'ensemble de la plante afin de l'alerter ;
- enfin, lors d'une éventuelle attaque par un agent phytopathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression, elle devient résistante (Jourdan *et al.*, 2008).

I.7 – Les experts appellent à l'utilisation de Rhizobactéries dans les cultures

Les chercheurs confirment que l'utilisation de Rhizobactéries pour améliorer la croissance des plantes contribue de manière significative à atteindre l'autosuffisance et à améliorer la production.

Améliorer sa qualité, en plus de renforcer sa capacité à résister aux changements naturels, étant donné que cette technologie moderne rend les cultures agricoles plus rentables, et développe ainsi l'économie verte en Algérie.

La doctorante Nadia Yakhlef, spécialiste en physiologie végétale et en amélioration des plantes à l'Université Fraternité Mentouri de Constantine, a expliqué que l'utilisation de la technologie des rhizobactéries qui vivent dans les environs de ces organismes améliore la fertilité des sols et aide les plantes à croître, tout en leur faisant gagner du terrain, plus de croissance et résistant à la sécheresse. Ils sont considérés comme des biofertilisants, améliorent la production et préservent l'environnement.

En marge d'une journée d'étude organisée par l'Université de Mentouri, la doctorante a ajouté que de nombreuses études ont prouvé que ce groupe de bactéries présentes dans le sol et les légumineuses peuvent être isolées et exploitées en les incorporant aux racines de d'autres plantes comme le blé. Yekhlef a déclaré que des études et des cultures expérimentales réalisées dans des laboratoires internationaux, nationaux et même locaux comme le Laboratoire de Biotechnologie Végétale de l'Université de Mentouri ont prouvé l'efficacité de ces bactéries sur le terrain, car elles améliorent les rendements agricoles et accélèrent la croissance des plantes et augmentent leur productivité.

Yekhlef a souligné que ce type de bactérie, naturellement présentes dans le sol, est abondante dans les racines des légumineuses, raison pour laquelle cette méthode était traditionnellement utilisée pour augmenter la fertilité des sols. D'autre part, le professeur a confirmé que les chercheurs dans ce domaine aspirent à utiliser la technologie des bactéries des racines à un niveau plus large que les zones agricoles du pays.



CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

Ce travail comporte trois parties, la première est de tester la tolérance des isolats bactériens au stress hydrique, la deuxième est la mise en évidence de l'effet de *Pseudomonas* spp. Fluorescents sur la croissance blé dur (*Triticum durum*) sous stress hydrique, cette dernière est subdivisée en trois essais, le premier essai est réalisé *in vitro* en boîte de Pétri pour estimer la croissance racinaire, le deuxième est réalisé en boîtes en plastique transpirant pour estimer la germination de blé, en fin le dernier essai est réalisé dans des alvéoles contenant du sol agricole.

II.1. Matériels biologique

II.1.1. Matériels végétale

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé une seule variété (Vitron) de blé dur (*Triticum durum*). La semence de campagne agricole 2022, a été récupérée de L'OAIC de Laghouat.

II.1.2. Les souches bactériennes

Dans notre étude, nous avons utilisées quatre souches (P212 ; P12 ; P429 et R2) de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces souches bactériennes utilisées dans ce travail ont été isolées et identifiées à l'Université Ammar Thelidji. Les souches bactériennes ont été régénérées dans le milieu de culture KB à 28°C.

II.2. Préparation des solutions de PEG

Nous avons utilisé polyéthylène glycol (PEG) 6000 comme facteur stressant. Le PEG est un polymère non ionique hydrosoluble non perméable pour les cellules. Il est utilisé pour induire un déficit hydrique car il réduit la disponibilité en eau sans causer de dommage physique aux plantes (Romo *et al* , 2001).

Des solutions de PEG 6000 à des concentrations croissantes 10%, et 20%, induisant des potentiels hydriques (Ψ_H) décroissants, ont été utilisées pour induire les différents niveaux de stress osmotique testés d'après Michel et Kaufmann (1973).

II.3. Partie 1 : Tolérance des souches bactériennes au stress hydrique

Dans le milieu de culture king B liquide additionné de différentes concentrations de PEG 6000 à 0% ; 10% ; 20% ont été utilisé pour étudier l'effet de stress hydrique sur les souches bactériennes testés. Ces milieux ont été inoculé avec des suspension bactériennes d'une concentration de 10^8 CFU/ml.

Après 24h et 48h d'incubation à une température de 28C°, la croissance des souches sur différents concentration de PEG a été déterminée par observation de trouble observé à l'œil nu.

II.4. Partie 2 : Essais de la biostimulation de croissance par des *Pseudomonas* spp fluorescents sur la croissance blé dur (*Triticum durum*) sous stress hydrique

Afin d'étudier l'influence des *Pseudomonas* spp fluorescents sur la croissance du blé dur sous stress hydrique, nous avons réalisé trois essai, le premier pour estimer la croissance racinaire, le deuxième pour estimer la germination, et le troisième pour estime leurs effets sur croissance des plantules.

II.4.1. Désinfection des graines

Pour les trois essais, les grains choisis doivent être saines. Elles ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme. La désinfection a été réalisé par le trempage des graines de blé dans une solution de HgCl₂ (0.1%) pendant 1min, puis rinces plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile, ensuite sécher avec le papier absorbant.

II.4.2. Préparation de l'inoculum bactérien

La suspension bactérienne utilisé dans les trois essais a été préparé par le raclage de la crème bactérienne des cultures jeune âge de 24h, cette crème bactérienne été mise dans l'eau distillé stérile, nous avons ajusté la concentration de cette suspension à 10^8 UFC/ml,

II.4.3. Essai de la stimulation de la croissance racinaire *in Vitro*

Dans cet essai nous avons basé note étudier sur l'estimation de la croissance du système racinaire.

II.4.3. 1. Préparation des boîtes de Pétri

Nous avons coulé le gel d'agarose stérile à 1% dissous dans l'eau distillée après solidification nous avons versé au-dessus du PEG à 10 et 20%, pour le témoin nous avons versé de l'eau distillée stérile, une fois le PEG et l'eau sont absorbés, nous avons enlevé 1/3 du gel.

II.4.3.2. Désinfection de la semence du blé

La désinfection de la semence a été réalisée en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf. II. 4.1).

II.4.3.3 Préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de la suspension bactérienne des quatre isolats de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte, a été réalisée en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf. II. 4.2).

II.4.3.4. Bactérisation des graines

Après la désinfection des grains, elles ont été trempées dans les suspensions bactériennes respectives (P212. P12. R2 et. P429.), le témoin non bactérisé a été trempé dans l'eau distillée stérile, ces préparations ont été laissées pendant 3 h à une température de 24°C.

II.4.3.5. Dispositif expérimental

Après 3 h de bactérisation,, les grains ont été mis sur papier absorbant stérile pour les sécher, puis repiqués dans des boîtes de Pétri et déposés verticalement dans un incubateur à une température de 28°C. Nous avons opté pour une randomisation totale à deux facteurs étudiés :

- Facteur 1 : représente la bactérisation avec Cinq niveaux soit les souches bactériennes la souche P212. P12. R2 et. P429 et le témoin non bactérisé (TNB).
- Facteur 2 : représente la concentration du facteur stressant soit le PEG avec 3 niveaux pour le stress hydrique 0 ; 10 ; 20 %.

Nous avons 15 traitements qui sont ;

- T1, T2, T3 : correspond à une bactérisation par P212 et la concentration respective de 0 ; 10 ; 20 % de PGE.

- T4, T5, T6, : correspond à une bactérisation par R2 et la concentration respective de 0 ; 10 ; 20 % de PGE.
- T7 ; T8. T9 : correspond à une bactérisation par P12 et la concentration respective de 0 ; 10 ; 20 % de PGE.
- T10, T11, T12 : correspond à une bactérisation par P429 et la concentration respective de 0 ; 10 ; 20 % de PGE.
- T13. T14, T15 : correspond au témoin non bactérisé et la concentration respective de 0 ; 10 ; 20 % de PGE.

II.4.3.6. Paramètres étudiés

a. Longueur de système racinaire

Ce caractère indique le développement de système racinaire à travers la longueur des racines qui ont été prises en (cm) à l'aide d'une règle, au stade de germination sous l'effet de stress hydrique, et comment les racines sont dispersées.

b. Teste de viabilité de bactérie

À la fin de cet essai, nous avons fait un test de viabilité des souches bactériennes testées ; nous avons les racines de différentes concentrations de PEG (10% ; 20%), puis nous les avons déposés sur KB. Après avoir fermé les boîtes pétries et les mettre dans l'incubateur à 28°C. Après 24h le mode d'analyse sera par l'apparition des colonies bactériennes fluorescente déterminer à l'œil nu.

II.4.4. Essai de la stimulation de la germination *in Vitro*

Dans cet essai nous avons basé note étudier sur l'estimation du taux de germination et la fuite d'électrolytes dans le feuillage.

II.4.4. 1. Désinfection de la semence du blé

La désinfection de la semence a été réalisé en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf. II. 4..1) .

II.4.4. 2. préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de la suspension bactérienne des quatre isolats de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte, a été réalisé en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf II.4.2).

II.4.4. 3. Bactérisation des graines

La Bactérisation de la semence par la suspension bactérienne des quatre isolats de *Pseudomonas* spp. Fluorescents saprophyte, a été réalisé en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf. II.4.3.4.).

II.4.4. 4. Dispositif expérimental

Après bactérisation, les grains ont été mises sur papier absorbant stérile pour les sécher, puis repiqués à raison de 15 graines par boîtes ; dans des boîtes en plastique d'une capacité de 500ml contenant 50ml de l'agarose 1% (eau -agarose) additionnées après solidification avec des solutions stériles de PEG à une concentration de 10 et 20%, pour le témoin nous avons ajouté de l'eau distillée stérile, puis incubé à une température de 28°C. Nous avons opté pour une randomisation totale à quatre répétition à deux facteurs étudiés :

- Facteur 1 : représente la bactérisation avec Cinq niveaux soit les souches bactériennes la souche P212. P12. R2 et. P429 et le témoin non bactérisé (TNB).
- Facteur 2 : représente la concentration du facteur stressant soit le PEG avec 3 niveaux pour le stress hydrique 0 ; 10 ; 20 %.

Nous obtenons 15 traitements les même que l'essai **II.4.3.**

II.4.4. 5. Paramètres étudiés

Nous avons réalisé ce test pour déterminer l'effet des souches rhizobactériennes sous stress hydrique L'évaluation de la stimulation de la germination des graines a été effectuée sur les paramètres suivants :

a. Taux de germination (TG)

Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines

Sur l'essai de germination ont été déterminé le pourcentage définitif de germination (G%) selon la formule suivante (Doran et Gunn, 1986) selon l'équation suivante :

:

$$TG (\%) = n/N * 100$$

n: nombre de graines germées

N: nombre de graine totale

b. Fuite d'électrolytes (%)

Pour estimer la fuite d'électrolytes (Mesure de l'intégrité membranaire des cellules végétale) nous avons mesuré la conductivité (Us/cm) des feuilles, nous avons rincé à l'eau distillé 10 sagement foliaires de 1cm, et placés les dans 20 ml d'eau distillé dans un erlenmeyer, après agitation pendant une heure, nous avons réalisé la première mesure de conductivité électrique en μ Siemens ; ensuite les placés dans un Bain-marie à 95C° pour une destruction totale des membranes, après une durée de 30 min ; nous avons mesuré la conductivité totale (2ème mesure) après retour des mélange à la T° ambiante, L'évaluation des fuites d'électrolytes (%) a été effectuée selon l'équation suivante :

$$\text{Fuite d'électrolytes (\%)} = \left(\frac{\text{première mesure de conductivité électrique}}{\text{conductivité totale}} \right) * 100$$

II.4.5. Essai de la stimulation de la croissance in Vivo

Nous avons réalisé ce test pour déterminer l'effet des souches rhizobactériennes sous stress hydrique sur des plantules de blé

II.4.5.1. Désinfection de la semence du blé

La désinfection de la semence a été réalisé en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf. II. 4..1).

II.4.5.2. Préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de la suspension bactérienne des quatre souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte, a été réalisé en utilisant le même protocole que celui utilisé pour le premier essai (cf II. 4..2).

II.4.5.3. Le sol

Le sol utiliser a été prélevé, à Chargiya, la région de l'Asafiya, de la wilaya de Laghouat. Les échantillons du sol sont prélevés à partir de la couche sous-jacente à une profondeur de 10 à 15 cm. Puis tamisés à travers un tamis de 2 mm de diamètre et séchés à l'aire libre, ensuite stérilisé à double autoclavage à 120°C pendant 45 min, à un intervalle de 24 h. le sol ainsi stérilisé a été conditionné dans des alvéoles à raison de 100g du sol/alvéole.

II.4.5.4. Bactérisation du sol

La bactérisation du sol par les quatre suspensions bactériennes soit (P212. P12. R2 et. P429) a été réalisé par arrosage n à raison de 20 ml/pot, et le témoin non bactérisé (TNB)a été arrosé par l'eau distillée ; .24 h jours avant le semis.

II.4.5.5. Mise en culture

Après 24h de l'arrosage avec les suspensions bactériennes, Les graines préparées sont directement semées dans les alvéoles à une profondeur de 1 cm. Les alvéoles sont arrosés jour après jour durant 23 jours. Les alvéoles sont mises à la lumière avec une photo période de 16h et 8h d'obscurité et avec une T° ambiante.

II.4.5.6. Application de stress

Les alvéoles ont reçu la même quantité d'eau d'arrosage jour après jour de semis jusqu'à le stade trois feuilles, la contrainte hydrique est appliquée 15 ml de PEG pour une fois, selon les deux régimes testés 10% ; 20%. Les témoins d'eau sont irrigués régulièrement. Ces traitements sont appliqués pendant 7 jours.

II.4.5.7. Dispositif expérimental

Nous avons opté pour une randomisation totale a six répétition à deux facteurs étudiés :

- Facteur 1 : représente la bactérisation avec Cinq niveaux soit les souches bactériennes la souche P212. P12. R2 et. P429 et le témoin non bactérisé (TNB).
- Facteur 2 : représente la concentration du facteur stressant soit le PEG avec 3 niveaux pour le stress hydrique 0 ; 10 ; 20 %.

Nous obtenons 15 traitements les même que l'essai **II.4.3**.

II.4.5.8. Paramètres étudiés

L'évolution de l'effet de *Pseudomonas spp fuorescent* sur la croissance blé dur (*Triticum durum*) sous stress hydrique par des mensurations sur des paramètres ci-dessous :

a. Mesure de la teneur relative en eau

Pour l'estimation de la teneur relative en eau, nous avons prélevé les plantes entières, séparés la partie aérienne de la partie souterraine, Les différents organes ont été pesés à l'aide d'une balance de précision pour déterminer le poids frais en gramme, Après séchage dans l'étuve à une température de 60° C, nous les avons pesés pour déterminer le poids sec en gramme en utilisant la même balance de précision. L'évaluation la teneur relative en eau (TRE %) a été effectuée selon l'équation suivante :

$$\text{TRE \%} = (\text{PF} - \text{PS}) * 100 / (\text{PT} - \text{PS})$$

TRE % : teneur relative en eau

PF : poids de la matière végétale fraîche,

PS : poids de la matière végétale sèche

b. Fuite d'électrolytes (%)

Pour l'estimation de la fuite d'électrolytes nous avons utilisé le protocole réalisé dans l'essai **(II.4.4. 5.b)**

c. Dosage de sucre soluble

Pour Le dosage de sucre nous avons mis 100 mg de matière fraîche (racine et feuille) placés dans des tubes à essais, en présence de 3 ml d'éthanol à 80%. Puis ils sont placés à température ambiante 48h à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube nous avons ajouté 20ml d'eau distillée à l'extrait sec. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, nous avons mis 2ml de la solution à analyser, nous avons ajouté 1 ml de phénol à 5% ; nous avons ajouté rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96%, après homogénéisation de la

solution au vortex. Ensuite ils sont placés au bain-marie pour 10 à 20min à une température de 30°C. Les mesures d'absorbances sont effectuées par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 485.

d. Taux de chlorophylle

Pour l'estimation du taux de chlorophylle nous avons mis 100mg de matière fraîche (feuille) placées dans des tubes à essais, en présence de 2 ml d'acétone à 85%. Laisser pour macération à la température ambiante 48h à l'obscurité. Les mesures d'absorbances sont effectuées par spectrophotomètre à des longueurs d'ondes de 645, 663. L'évaluation le taux de chlorophylle a été effectuée selon l'équation suivante :

$$\text{Chl a } (\mu\text{g / ml}) = 12.7 \times \text{DO663} - 2.7 \times \text{DO645}$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g / ml}) = 22.9 \times \text{DO645} - 4.7 \times \text{DO663}$$

$$\text{Chl a} + \text{Chl b} = \text{Chl totale } (\mu\text{g / ml}) = 20.2 \times \text{DO645} + 8.02 \times \text{DO663}$$

II.5. Analyse statistique

Les résultats sont analysés par le logiciel stat box végétal 6.9 version d'essai, l'ANOVA en considérant l'essai aléatoire. C'est une analyse à deux facteurs de variation qui consistent en la bacterisation et la concentration de PGE que soit pour l'essai réalisé *in vitro* ou *in vivo*. L'analyse est complétée par le test de Newman et Keuls lorsqu'une variation significative avec un seuil d'erreur de 5 % a été révélée. Avec ce test, nous avons effectué la comparaison des moyennes.



CHAPITRE 3

*RESULTATS ET
DISCUSSION*

III.1. Résultats

Les résultats présentés dans cette partie sont issus des essais effectués sur des graines du blé dur pour mettre en évidence l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la germination du blé dur sous stress abiotiques ;stress hydrique.

Les analyses statistiques des résultats ont montré des différences très hautement significatives pour l'ensemble des paramètres étudiés que ce soit pour facteur bactérisation le facteur concentration de stress hydrique, ou pour leurs interactions.

III.1.1. Partie 1 : La tolérance de bactéries au stress hydrique

D'après les résultats obtenus, la croissance des souches bactériennes à 10% et 20% par rapport à celle de 0% nous avons remarqué que pour la concentration 10% les souches bactériennes P12 ; P429 ; et P704 ont présenté la meilleure tolérance que les souches bactériennes P212 ; R2 ; T32 ; P108 ; et ASO2 mais pour la concentration 20% la souche bactérienne (R2) a la meilleure tolérance par rapport aux autres souches bactériennes (Tableau1).

Tableau 1 : Tableau représente les résultats de la tolérance bactérienne

Souches	P12	P212	P429	R2	T32	P704	P108	AS02
0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	++	+++	++	++	+++	++	++
20	++	++	++	+++	++	++	++	++

(*) Concentration de Polyéthylène glycol (PEG) 6000

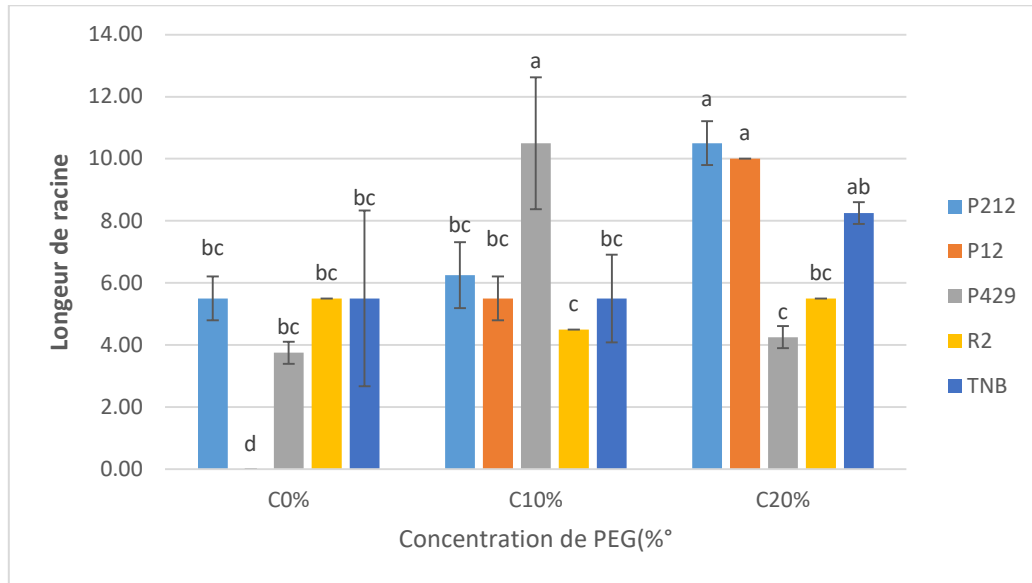
III.1.2. Partie 2 : Les résultats relatifs à l'essais de la Biostimulation de croissance par des *Pseudomonas* spp. Fluorescents sur la croissance blé dur (*Triticum durum*) sous stress hydrique

III.1.2.1. Les résultats relatifs à l'essais de la stimulation de la croissance racinaire *in Vitro*

L'analyse de la variance a révélé une différence hautement signification pour L'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que les traitements P429 à 10% , P212 à 20% , P12 à 20% ont donnés la

Résultats et discussion

meilleure moyenne de l'ordre de 10.50 cm et classés dans le groupe (a), suivi par le traitement TNB à 20% classé dans le groupe intermédiaire (ab) avec une moyenne de 8.25cm, puis les traitements P212 à 10% ,P212 à 0% ,P12 à 10% , TNB à 10% ,R2 à 20% ,R2 à 0% ,TNB à 0% ,R2 à 10% sont classés dans le groupe (bc), Les traitements P429 à 20% ,P429 à 0% sont classés dans le groupe (c), en fin le Traitement P12 à 0% avec une moyenne de 0.000cm est classé dans le groupe (d) (Figure 1).



Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
TNB : témoin non bacterisé
0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 1. Effet de l'interaction du facteur bactérisation et le facteur de concentration de PEG sur la longueur racinaire *in vitro*

III.1.2.2. : La viabilité de bactéries au stress hydrique

D'après les résultats obtenus, la viabilité des souches bactériennes à 10% et 20% par rapport à celle de 0% nous avons remarqué que pour la concentration 10% la souche bactérienne R2 a présenté la meilleure viabilité que les souches bactériennes P212 ; P12 et P429 ; mais pour la concentration 20% les souches bactériennes P212 ; P12 et P429 ont la meilleure viabilité par rapport à la souche bactérienne R2 (Tableau2).

Tableau 2 : Tableau représente les résultats de la viabilité bactérienne

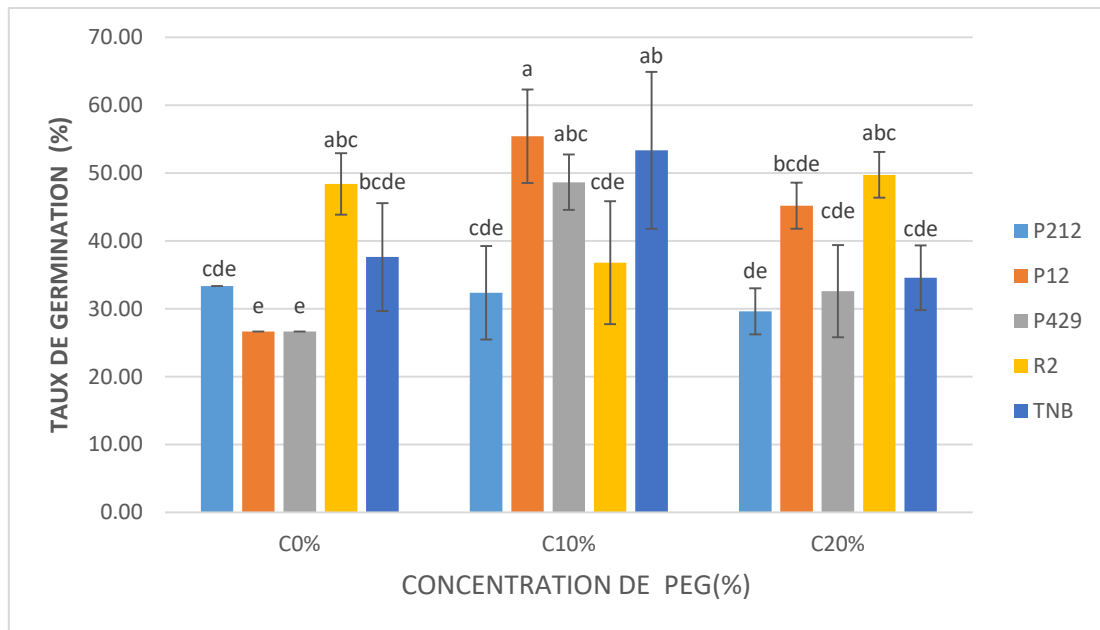
Souches %PEG*	P12	P212	P429	R2
0	+++	+++	+++	+++
10	++	++	++	+++
20	+++	+++	+++	++

(*) Concentration de Polyéthylène glycol (PEG) 6000

III.1.2.2. Les résultats relatifs à l'essai de la stimulation de la germination *in Vitro*

III.1.2.2.1. Effet sur le taux de germination

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement signification pour L'interaction entre le facteur de Bactérisation et facteur concentration ($P=0.000$), Nous avons noté que le traitement P12 à 10% a donné la meilleur moyenne de l'ordre de 55.39% est classé dans le groupe (a) , suivi par le traitement TNB à 10% Classé dans le groupe intermédiaire (ab) avec de moyenne de 53.33% ,puis les Traitements R2 à 20% ,429 à 10% ,R2 à 0% et P12 à 20% et TNB à 0%, sont classé Dans le groupe(abc), et classé dans le groupe(abcd) et dans le groupe (bcde),les Traitements R2 à 10% ,TNB à 20% ,P212 à 0% , P429 à 20% , P212 à 10% et P212 à 20% sont classé dans le groupe(cde) et classé dans le groupe(de), en fin les Traitements P429 à 0% et P12 à 0% avec une moyenne d'ordre de 26.66% sont Classés dans le groupe (e) (Figure 2).



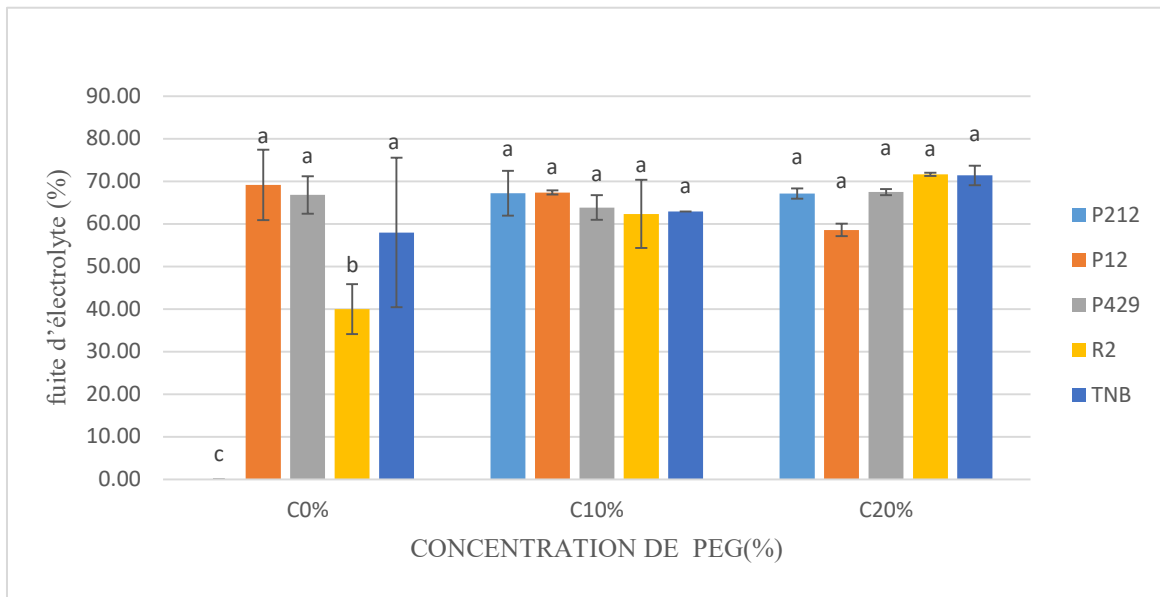
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 2. Effet de l'interaction entre le facteur Bactérisation et le facteur concentration du taux de germination du blé dur

III.1.2.2.2. Effet sur la fuite d'électrolyte

L'analyse de la variance a révélé une différence hautement signification l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que l'ensemble les traitements sont classés dans le groupe (a) avec des moyennes qui varie entre 67.22 à 71.64 %, à l'exception du traitement R2 à 0% de PEG avec une moyenne de 39.98 % qui a été classé dans le groupe homogène (b) et traitement P212 à 0% de PEG avec une moyenne de 0 % qui a été classé dans le groupe homogène (c) (Figure 3).



Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

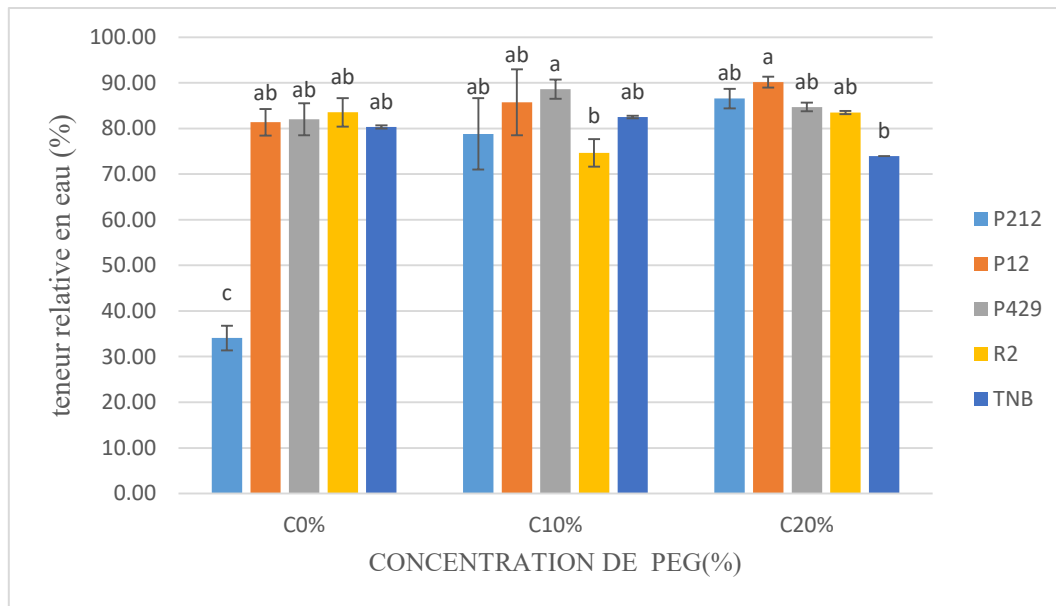
P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 3. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la fuite d'électrolytes (%)

III.1.2.2. Les résultats relatifs à l'effet de stress hydrique et de la bactérisation *in Vivo*

III.1.2.2.1. Teneur relative en eau

Concernant la teneur relative en eau l'analyse de la variance a révélé une différence hautement signification pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que les traitements P12 à 20% ,P429 à 10% ont donnés les meilleurs moyennes de l'ordre de 90.17% ,et 88.61% sont classés dans le groupe (a), suivi par les traitements P212 à 20% ,P12 à 10% ,P429 à 20% ,R2 à 0% ,R2 à 20% ,TNB à 10% ,P429 à 0% ,P12 à 0% ,TNB à 0% ,P212 à 10% sont classé dans le groupe intermédiaire (ab), puis les traitements R2 à 10% ,TNB à 20% sont classés dans le groupe (b), en fin le traitement P212 à 0% avec une moyenne d'ordre de 34.07% est classé dans le groupe (c) (Figure 4).



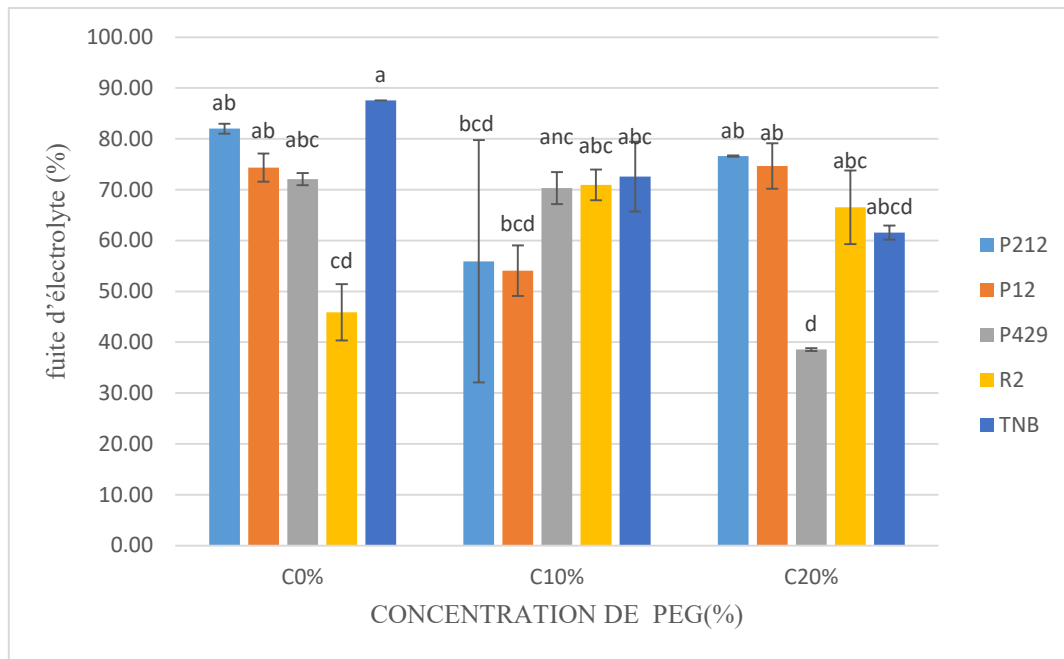
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 4. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la teneur relative en eau (%)

III.1.2.2.2. Fuite d'électrolytes

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement signification pour L'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que le traitement TNB à 0% a donné la meilleur moyenne de l'ordre de 87.59% est classé dans le groupe (a), suivi par les traitements P212 à 0% , P212 à 20% ,P12 à 20% ,P12 à 0% PEG classés dans le groupe intermédiaire (ab) , puis Les traitements TNB à 10% , P429 à 0% ,R2 à 10% ,P429 à 10% ,R2 à 20% sont classés Dans le groupe (abc), le traitement TNB à 20% est classé dans le groupe (abcd), Les traitements P212 à 10% ,P12 à 10% et R2 à 0% sont classés dans le groupe (bcd) Et le groupe (cd), en fin le traitement P429 à 20% avec une moyenne d'ordre de 38.55% est classé dans le groupe(d) (Figure 5).



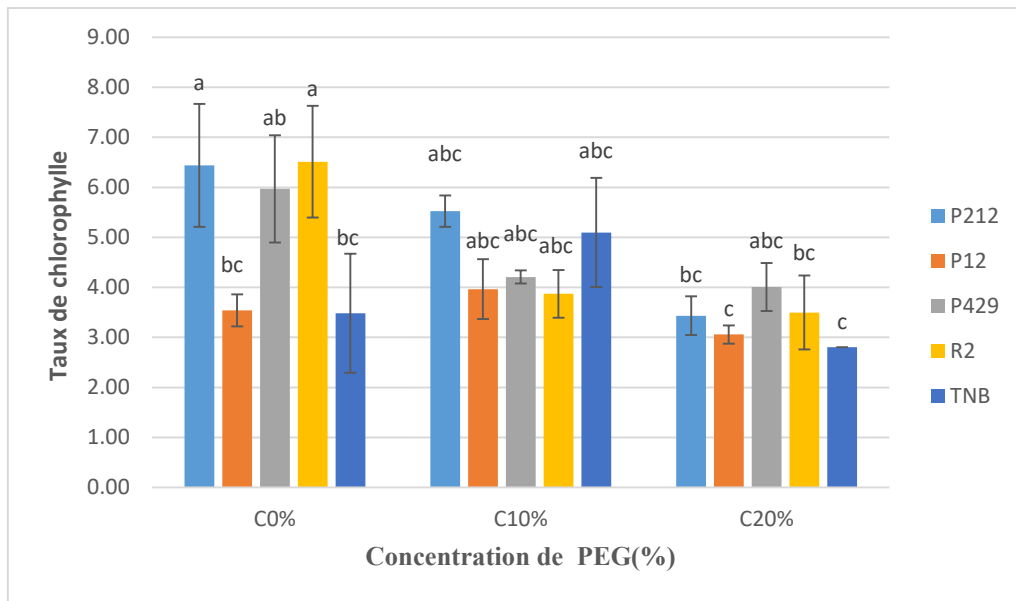
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 5. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur la fuite d'électrolytes (%) *in vivo*

III.1.2.2.3. Taux de chlorophylle

L'analyse de la variance a révélé une différence hautement signification pour L'interaction entre facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que les traitements R2 à 0% ,P212 à 0% ont donnés les meilleurs moyennes et sont classés dans le groupe (a), le traitement P429 à 0% de l'ordre de 5.96 est classé dans le groupe intermédiaire (ab),suivi par les traitements P212 à 10% ,TNB à 10% ,P429 à 10% ,P429 à 20% ,P12 à 10% ,et R2 à 10% sont classés dans le groupe (abc) , puis les traitements P12 à 0% , R2 à 20% ,TNB à 0% ,P212 à 20% sont classés dans le groupe (bc) ,en fin Les traitements P12 à 20% ,TNB à 20% sont classés dans le groupe (c) (Figure 6).

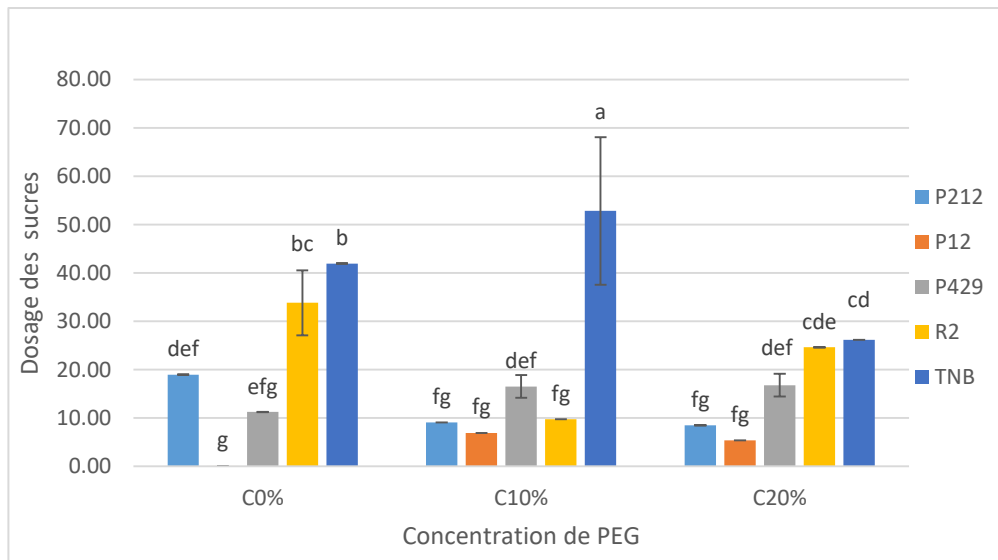


Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).
 P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 6. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur le taux de chlorophylle *in vivo*

III.1.2.2.4. Dosage de sucre soluble

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement signification pour L'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de PEG ($P=0.000$), Nous avons noté que le traitement TNB à 10% a donné la meilleur moyenne est classé dans le groupe (a) , suivi par le traitement TNB à 0% Classé dans le groupe intermédiaire (b), puis le traitement R2 à 0% est classé dans le groupe (bc) , le traitement TNB à 20% est classé dans le groupe (cd), le Traitement R2 à 20% est classé dans le groupe (cde), ensuite les traitements P212 à 0%, P429 à 20% et P429 à 10%, sont classés dans le groupe (def), le traitement P429 à 0% est classé dans le groupe (efg), les traitement R2 à 10%, P212 à 10%, P212 à 20%, P12 à 10%, P12 à 20% sont classés dans le groupe (fg), en fin le traitement P12 à 0% est classé dans le groupe (g) (Figure 7).



Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
 TNB : témoin non bacterisé
 0 ;10 et 20 % Concentrations de PEG

Figure 7. Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de PEG sur le taux de sucre soluble *in vivo*.

III.2 Discussion

Les PGPR représentent un large éventail de bactéries colonisatrices de racines avec une excellente capacité de colonisation racinaire et la capacité de produire un large éventail d'enzymes et de métabolites qui aident les plantes à tolérer les stress biotiques et abiotiques, par la régularisation de l'éthylène, les PGPR approuvent également la croissance des plantes en manipulant et en modifiant la synthèse des phytohormones (cytokinines, auxines ou acide gibbérélique)(Yassen *et al.*, 2019), le développement d'une meilleure architecture racinaire pour augmenter l'absorption d'eau (Kaushal *et al.*, 2016), l'augmentation de l'absorption des nutriments par les racines (Hussain *et al.*, 2018) et la production d'exopolysaccharides (Vanderlinde *et al.*, 2010).

Les résultats obtenus par le test du stress hydrique montrent que tous nos souches testés sont tolérantes au stress d'osmolarité au deux concentration 10 et 20% ce qui concorde avec les résultats de (Manjunatha *et al.*.,2017). La rhizobactéria favorisant la croissance des plantes (PGPR) offre une tolérance aux plantes contre la sécheresse et améliore la productivité des cultures (Saleem *et al.*, 2020 ; Saleem *et al.*, 2020). Les PGPR tolérant la sécheresse offre

une résistance systémique et favorise la croissance des plantes (Kasim *et al.*, 2013 ; Yassen *et al.*, 2019).

Selon Ouvrard *et al.* (1996) La réponse des plantes au déficit hydrique est traduite par des modifications morphologiques, physiologiques et métaboliques. Ainsi que les observations de Sayar *et al.* (2010) confirment l'effet agressif du stress hydrique du milieu sur toutes les phases de croissance et de développement des plantes en particulier la phase de germination en raison de la réduction de l'absorption d'eau par les graines. Les Différents résultats obtenu montre que le stress osmotique réduit la germination de blé dur mais le traitements P12 et P212 à 20% PEG ont enregistré un taux plus élevé et une efficacité par rapport au témoin. Mais plus le stress Dure longtemps, moins il y aura de germination. Sous des conditions de déficit hydrique, Richard et Passioura (1981), ont constaté que l'assimilation de l'eau par la plante est directement liée au degré de développement du système racinaire. Alors qu'un système racinaire long et extensif peut conférer un avantage en augmentant l'apport en eau de la partie aérienne (Matsura *et al.*, 1996).

Les résultats obtenus confirment que le stress hydrique diminue le développement de système racinaire mais le traitement bactérienne influence légèrement le développement de système racinaire. Ngumbi, (2011) a signalé que le traitement des plantes avec PGPR favorise la croissance des racines et modifie l'architecture racinaire. L'IAA facilite la division, l'allongement et la différenciation cellulaires tandis que GA et ABA agissent comme une molécule de signalisation dans les plantes confrontées à, dans des conditions de stress (Sustainability, 2020). La synthèse de ces hormones par des souches bactériennes confère une tolérance au stress chez les plantes [Ghosh *et al.*, 2019]. Une grande variété de PGPR a été signalés pour produire des exopolysaccharides (EPS) et ils aident les plantes cultivées à mieux coloniser les racines, à bien germer les graines et à s'adapter au stress [Etesami *et al.*, 2020], ces exopolysaccharides qui créent un biofilm sur la surface des racines qui pourrait améliorer les nutriments et l'eau [Vanderlinde *et al.*, 2010 ; Hussain *et al.*, 2014].

La fuite d'électrolyte est une caractéristique de la réponse au stress hydrique dans les Cellules végétales intactes. Ce phénomène est largement utilisé comme un test pour Les blessures des tissus des plantes causées par le stress et une mesure de la tolérance du végétal aux stress (Demidchik *et al.*, 2014). Dans notre expérimentation, les résultats du premier essai *in vitro* indiquent qu'il n'a pas de différence significatif entre les traitement bacterisé et non bactrisé à l'exception du R2 et P212 à 0% PEG, qu'ont un taux plus faible que le témoin

Résultats et discussion

non bacterisé. La fuite d'électrolyte dans les feuilles a été augmentée dans les conditions de stress (Saleem *et al.*, 2020; Salem *et al.*, 2020).

Le manque d'eau, induit chez les plantes stressés une diminution du contenu relatif en eau (Albouchit *et al.*, 2000). Les moyennes montrent que le déficit hydrique n'a pas causé vraiment une chute de TRE chez le blé dur. Comparé au témoin l'augmentation de TRE dans les concentrations 10% et 20% est due à des traitements bactériens. À 0% de PEG ; il n'y a pas de différence entre les traitements bactériés et non bactériés. Sauf pour la P212, à 10% de PEG P429 la TRE est supérieure à celle enregistrée par le témoin non bactérié, à 20% de PEG tous les traitements bactériés sont supérieurs au témoin non bactérié. Le traitement par PGPR a entraîné une augmentation de l'absorption d'eau, ce qui a permis aux plantes traitées de tolérer le stress dû à la sécheresse. Ils améliorent la rétention d'eau en maintenant la diffusion des sources de carbone organique [Yasmin *et al.*, 2020]. Ils se composent de polysaccharides, de protéines, de sucres solubles et d'acide uronique.

La chlorophylle des feuilles peut être influencée par plusieurs facteurs (âge et position des feuilles), facteurs environnementaux (lumière, température et disponibilité en eau (Hikosaka *et al.*, 2006). La chute des teneurs en chlorophylle chez le blé dur est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates vis à vis de la contrainte hydrique. Le taux de la chlorophylle totale diminue corrélativement au temps d'évolution de stress, les taux de chlorophylle ont été significativement réduits par l'effet de stress hydrique. Les réductions les plus importantes ont été notées chez la concentration 20%, malgré des taux plus élevés chez les traitements bactériés. Danish *et al.* (2020) ont signalé que, sous stress de sécheresse, les plantes inoculées par PGPR présentaient des teneurs en chlorophylle plus élevées que les plantes non inoculées exposées à la sécheresse.

Afin de se protéger contre les effets négatifs des contraintes environnementales abiotiques, les plantes développent des mécanismes de défense d'adaptation et de résistance à ces contraintes. Selon Tahri *et al.*, (1997) et Benderradji *et al.*, (2016), l'accumulation des sucres solubles est considérée comme l'un des mécanismes les plus adoptés par la plante dans les conditions de stress. Cette accumulation des sucres solubles en conditions de stress joue un rôle d'osmorégulateur important pour l'ajustement osmotique et le maintien de l'intégrité membranaire (Munns *et al.*, (2006). Les résultats obtenus montrent une accumulation des sucres solubles chez le témoin non bactérié où nous avons enregistré le pourcentage le plus

Résultats et discussion

élevé dans la concentration 10% de PEG. les PGPR bénéfiques améliorent la production d'osmolytes et de systèmes de défense antioxydants

Test de viabilité montre que les souches bactériennes testés sont vivantes par l'apparition des colonies bactériennes sur le milieu KB avec une forte intensité et ceci peut être observé à l'œil nu.

Bien que les rôles du PGPR dans la promotion de la croissance des plantes, la gestion des nutriments et la lutte contre les maladies soient bien connus, leurs rôles dans la gestion du stress abiotique tel que la sécheresse ont récemment pris de l'importance (Yang *et al.*, 2009 ; Dimpka et coll., 2009 ; Grover et coll., 2010). Les avantages de l'utilisation du PGPR pour aider les plantes à tolérer le stress comprennent leur capacité à conférer une tolérance à la sécheresse à de nombreuses plantes hôtes telles que les espèces monocotylédones et dicotylédones en rangs et les espèces légumières (Kasim et coll., 2013).



CONCLUSION

Généralement, notre étude a montré que le blé dur est une plante sensible aux contraintes abiotiques qui limitent la germination et la croissance de blé dur.

Le déficit hydrique est le principal facteur environnemental, responsable des faibles rendements et leurs irrégularités chez le blé dur. Cependant, l'impact de ce stress abiotique sur la productivité de cette espèce, est tributaire de son intensité et le temps de sa persévérance. La phase germination est considérée comme l'une des phases critiques sur laquelle repose le départ végétal.

Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer l'effet de stress hydrique à différentes concentration (10% et 20%) sur quelques paramètres de croissance sur le blé dur en raison de la présence de traitements bactériennes. Les résultats indiquent des effets d'interaction 'bacterisation x concentration' très hautement significatifs pour l'ensemble des caractères mesurés morphologiques (la germination, longueur des racines et le poids frais et sec) ; physiologiques (teneur relative en eau, la fuite d'électrolytes), et des paramètres biochimiques (teneur en chlorophylle **totale** et la teneur en sucres solubles).

D'après les résultats obtenus, il est possible de retenir les points essentiels suivants :

- Les souches de *P. spp.* Fluorescents sont tolérantes au stress hydrique.
- Le stress hydrique induit une perturbation et une variation sur la germination, lorsque le degré des stress augment et dure longtemps, la germination est moindre qui peut par la suite finir par la mort de plante.
- Pour la longueur des racines, nous enregistrons une augmentation chez les plantes stressées grâce à l'influence des traitements bactériens.
- Concernant les paramètres physiologiques, une augmentation de la teneur relative e eau (TRE) a été enregistré en période de stress, résultats à l'utilisation des traitements bactériennes, le même avec la fuite électrolytes c'était aussi augmenté.
- Quant à la réponse biochimique, le stress hydrique induit une variabilité dans le taux de Chlorophylle quand le stress est très important. Ceci est un mécanisme de réduction des besoins en eau, et provoque la variabilité du taux de chlorophylle totale.

En perspective, L'étude des effets bénéfiques des *Pseudomonas spp* fluorescents, permettre de réaliser des progrès substantiels dans la connaissance des mécanismes d'actions pour améliorer l'efficacité pratique des rhizobactéries et des conditions d'expression des effets

CONCLUSION

bénéfiques et ouvrir des nouvelles perspectives dans le domaine de la lutte contre les maladies biotiques et abiotiques afin de protéger et améliorée le rendement des cultures.



REFERENCES

Références:

- **Albouchi A., Sebei H., Mezni M.Y. & EL Aouni M. H (2000).** Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'Acacia cyanophylla. Annales de l'INRGREF 121-4:138.
- **Benderradji, L., Hadji, N., Kellou, K., Benniou, R., & Brini F (2016).** Effet du NaCl et PEG 6000 sur le comportement morpho-physiologique et biochimique des variétés de blé dur et tendre cultivées in vitro en milieu hydroponique. Revue Agriculture. Numéro spécial 1, 278-286.
- **Boyer J.S; (1982).** Plant productivity and environment. Sci, New series. 218, p443 - 448.
- **Danish, S.; Zafar-Ul-Hye, M.; Mohsin, F.; Hussain, M.** ACC-deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria and biochar mitigate adverse effects of drought stress on maize growth. PLoS ONE 2020, 4, e0230615. [CrossRef] [PubMed].
- **Dahdah H.,2017.** Etude de l'effet antimicrobien et antioxydant des métabolites secondaires sécrétés par des pseudomonas originaires des conditions extrêmes. Doctorat Abdelhamid Ibn-Badis de Mostaganem .
- **De Salamone, G.I.E., Hynes, R.K, and L.N. Nelson., (2001)-** Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Can. J. Microbiol., 47: 103-113.
- **Derylo M. and Skorupska A., 1993.** Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent pseudomonas plant and soil, 154, pp 211-217.
- **Demidchik V., Straltsoval D., Medvedev S.S, Pozhvanov G.A., Sokolik A. & Yurin V.(2014).** stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺- permeable channels and Involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. Journal of Experimental Botany, 65(5) :1259-1270.

- **Digat, B., Gardan ,L., (1987)-** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Bull OEPP 17, 559-568.
- **Etesami, H.; Adl, S.M.** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Action Mechanisms in Availability of Nutrients to Plants. In Environmental and Microbial Biotechnology; Springer Science and Business Media LLC: Berlin/Heidelberg, Germany, 2020; pp. 147–203.
- **Feillet. 2000.** Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.-
- **Haas D., Defago G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonas. Nature review of Microbiology, 3, pp 307-319.
- **Hernandez-Lucas, C., Royo, J., Paz-Ares, J., Ponz, F., Garcia-Olmedo, F, and P. Carbonero., (1986)-** Polyadenylation site heterogeneity in mRNA encoding the precursor of the barley toxin a hordothionin.
- **Hikosaka K.,** Ishikawa K ., Borjigidai A ., Muller, O. & Onoda Y. (2006). Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. J. Exp. Bot, 57: 291-302.
- **Howell, C.R, and R.D. Stipanovic., (1980)-** Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedling by *P. fluorescens* and its antibiotic, Pyoluteorin. Phytopathol. 70: 712 715.
- **Hussain, M.B.; Zahir, Z.A.; Asghar, H.N.; Mahmood, S.** Scrutinizing rhizobia to rescue maize growth under reduced water conditions. Soil Sci. Soc. Am. J. 2014, 78, 538–545. [CrossRef].
- **Hussain, M.; Farooq, S.; Hasan, W.; Ul-Allah, S.; Tanveer, M.; Farooq, M.; Nawaz, A.** Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternative. Agric. Water Manag. 2018, 201, 152–166. [CrossRef].

- **Ghosh, D.; Gupta, A.; Mohapatra, S.** A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019, 35, 90. [CrossRef].
- **Grover , M.,Ali, S.Z , Sandhya, V . Rasul, A., Venkaceswarlu. B., 2010.**Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses.*World J.Microbiol. Biotechnol.* 27. 1231-1240.
- **Kaushal, M.; Wani, S.P.** Plant-growth-promoting rhizobacteria: Drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann.Microbiol.* 2016, 66, 35–42. [CrossRef].
- **Kasim, W.A.; Osman, M.E.; Omar, M.N.; El-Daim, I.A.A.; Bejai, S.; Meijer, J.** Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. *J. Plant Growth Regul.* 2013, 32, 122–130. [CrossRef].
- **Kloepper, J.W.,et Schroth, M.N., (1978)**-Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. Dans "Proceedings of the fifth international conference on plant pathogenic bacteria", vol. 2. INRA, Angers, France, p 879-882.
- **Kloepper,J.W.,Leong,J.,Teintze,M,andM.N.Schroth.,(1980)**-*Pseudomonas* siderophores:a mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4: 317–320.
- **Lamaze.T, Tusch.D, Sarda.X, Grignon.C, Depigny-This .D, Monneveux .P, Belhassen .E; (1994).**Résistance de plantes a la sécheresse : mécanismes physiologiques. *Le sélectionneur Français*, 45, p75-85.
- **Laberche.J.C; (2004).** La nutrition de la plante In *Biologie Végétale*. Dunod. 2e (éd). Paris, p154 -163.
- **Lemanceau P.,1992.**Effet bénéfiques de rhizobactéries sue les plantes : Exemple de *Pseudomonas* spp. Fluorescents. *Agronomie* 12 , 413-437.

- **Lina Daloul.**, Publié le 24Mai 2022,Quetidien ANNASR. www.annasronline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=199952

- **LoperJ.E.Hassan K.H ., Davis E.W., Mavrodi D., Lim C .et Liam E ., 2011.**Genomic diversity of pseudomonas spp. Isolated from aerial or root surface of plants.Pseudomonas 2011. 13th International Conference abstract book. Pp .10.

- **Lugtenberg, B.J., Chin, A. W.T.F, and G.V.Bloemberg., (2002)-**Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. Antonie Van Leeuwenhoek, 81:373-383.

- **Manjunatha B.S., Bandedpea., Paul S., Aggarwal C et Rathi M.S., 2017.** Characterisation of osmo talerant rhizobacteria for plant growth promotingActivities in vitro and during plant-microbe association under osmotic stress. Indian journal of Experimental Biology.Vol,56,pp :582-589.

- **Mouellef .A; (2010).** caractères physiologiques et biochimiques de tolérances du blé dur (*triticumdurumdessf*) au stress hydrique. Mémoire, université mentouri, constantine Faculté de biologie, Département de Biologie Végétale et Ecologie, p10-11.

- **Munns, R., James, R. A., & Lauchli, A. (2006).** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of experimental botany, 57(5), 1025-1043.

- **Natsch, A., Keel, C., Pfirter, H.A., Haas, D, and G. Défago. , (1994)-** Contribution of the global regulator gene *gacA* to persistence and dissemination of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain CHAO introduced into soil microcosms. Appl. Environ. Microbiol. 60, 2553-2560.

- **Nielsen, T.H., Christophersen, C., Anthoni, U, and J.Sorensen., (1999)-**Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. J. Appl. Microbiol. 87: 80-90.

- **Park K H ., Lee C.Y ., Son H.J ., 2009.**Mechanism of insoluble phosphate solubilization by pseudomonas fluorescent RAF 15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities .Lett Appl Microbiol , 49 (2) , pp 222-228.
- **Sayar. R., Bchini. H., Mosbahi, M., & Ezzine , M. (2010).** Effects of salt and drought Stresses on germination. Emergence and seedling growth of durum wheat. *Triticum durum* Desf).African Journal of Agricultural Research,5 (15). 2008-2016.
- **Saleem, M.H.; Fahad, S.; Adnan, M.; Ali, M.; Rana, M.S.; Kamran, M.; Ali, Q.; Hashem, I.A.; Bhandana, P.;Ali, M.; et al.** Foliar application of gibberellic acid endorsed phytoextraction of copper and alleviates oxidative stress in jute (*Corchorus capsularis* L.) plant grown in highly copper-contaminated soil of China.*Environ. Sci. Pol. Res.* 2020. [CrossRef] [PubMed].
- **Saleem, M.H.; Ali, S.; Kamran, M.; Iqbal, N.; Azeem, M.; Tariq Javed, M.; Ali, Q.; Zulqurnain Haider, M.;.Irshad, S.; Rizwan, M.** Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) Mitigates the Toxic Effect of Excessive Copper Concentrations on Growth, Gaseous Exchange and Chloroplast Ultrastructure of *Corchorus capsularis* L. and Improves Copper Accumulation Capabilities. *Plants* 2020, 9, 756. [CrossRef] [PubMed].
- **Saleem, M.H.; Fahad, S.; Rehman, M.; Saud, S.; Jamal, Y.; Khan, S.; Liu, L.** Morpho-physiological traits, biochemical response and phytoextraction potential of short-term copper stress on kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seedlings. *Peer Journal* 2020, 8, e8321. [CrossRef] [PubMed].
- **Saleem, M.H.; Ali, S.; Rehman, M.; Rizwan, M.; Kamran, M.; Mohamed, I.A.; Bamagoos, A.A.; Alharby, H.F;.Hakeem, K.R.; Liu, L.** Individual and combined application of EDTA and citric acid assisted phytoextraction of copper using jute (*Corchorus capsularis* L.) seedlings. *Environ. Technol. Innov.* 2020, 19, 100895. [CrossRef].
- **Schroth, M.N., Hildebrand, D.C, and N.Panopoulos., (1992)-** Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated

pseudomonads. In: The Prokaryotes (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, 3104-3131.

- **Siddiqui I.A ., Shahid S ., Imtiaz hussain ., Khan A ., 2006** .Role of cyanide production by pseudomonas fluorescent CHA0 in the suppression of root-knot nematode , Meloidogyne javanica in tomato. World journal of microbiology & biotechnology . 22 (6),pp 641-650.

- **Vanderlinde, E.M.; Harrison, J.J.; Muszyński, A.; Carlson, R.W.; Turner, R.J.; Yost, C.K.** Identification of a novel ABC transporter required for desiccation tolerance, and biofilm formation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 3841. FEMS Microbiol. Ecol. 2010, 71, 327–340. [CrossRef].

- **Van Loon L.C ., Bakker P.A.H.M ., and Pieterse C.M.J., 1998.** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu .rev . phytopathol , 36 , 453-483.

- **Van Loon L. C. et Glick B. R., 2004.** Increased plant fitness by rhizobacteria. Mol Ecotoxicol of Plants , 170,177-205.

-**Vansuyt, G., Souche, G., Straczek, A., Briat, J.F, and Jaillard, B., (2007)**-Flux of protons released by wild type and ferritin over-expressor tobacco plants: effect of phosphorus and iron nutrition. Plant Phys. Biochem. 41: 27-33.

- **Van Loon L. C., 2007.** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. Eur J Plant Pathol.119:243-254.

-**Weller, D.M, and R. J. Cook., (1983)**-Suppression of take-all of wheat by seed treatments with *fluorescent pseudomonads*. Phytopathol. 73: 463-469.

- **Weller D . M ., 2007** . Pseudomonas biocontrol agents of soilborne pathogens : Looking back over 30 years. Sumposium : the nature and application of biocontrol microdes : Pseudomonas spp . phytopathology , 97:250-256.

www.annaronline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=199952

- **Yang J_Klopper. J.W.Ryu. C .2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trend Plant Sci.* 14. 1-4.
- **Yaseen, R.; Zafar-ul-Hye, M.; Hussain, M.** Integrated application of ACC-deaminase containing plant growth promoting rhizobacteria and biogas slurry improves the growth and productivity of wheat under drought stress. *Int. J. Agric. Biol.* 2019, 21, 869–878.
- **Yasmin, F.; Othman, R.; Maziz, M.N.H.** Yield and Nutrient Content of Sweet Potato in Response of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Inoculation and N Fertilization. *Jordan J. Biol. Sci.* 2020, 13,117-122.