

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
جامعة عمار تليجي الأغواط
FACULTE DES SCIENCES
كلية العلوم



MÉMOIRE DE MASTER

Filière : Sciences agronomiques

Option : Protection des végétaux

THEME

**Contribution à l'étude de la biostimulation de la tomate
(*Lycopersicum esculentum* Mill.) par des rhizobactéries
Pseudomonas spp. fluorescents sous stress en cuivre**

Réalisé par : BERRAH Hizia

Membre de Jury

M ^r . SARIDI ABDELKADER.	MCB	Président
M ^{me} . MEKHALDI DELEL	MCB	Examinatrice
M ^{me} . AMEUR DJAMILA	MAA	Encadrante

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Je tiens en premier lieu à remercier ma promotrice, Mme AMEUR DJAMILA , Enseignante à l'Université de Laghouat, pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude. Je la remercie pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail. Merci d'avoir reconnu mes efforts et mes difficultés.

Je tiens à remercier Monsieur SARIDI Abdelkader , pour avoir accepté de présider mon jury et pour ses observations qui m'ont permis d'améliorer la qualité de ce travail.

J'associe à ces remerciements Mme MEKHALDI Delel, qui m'a honoré par sa présence et d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je voudrais exprimer ma gratitude à Mme ZAZA Messouda pour leurs aides précieuses

J'adresse mes remerciements à R.Guennou, pour son aide, sa disponibilité, ces encouragements et ces conseils toujours très avisés qu'il a apporté à mon projet de recherche.

Je tiens à remercier chaleureusement mes copines Imane et Manel.

Bien entendu, cette liste n'est pas exhaustive et je remercie tous ceux et celles qui me connaissent et qui me permettent de me sentir exister.....Merci à toutes et à tous



Dédicace

Nulle œuvre n'est exaltante que celle réalisée avec le soutien moral et financier des personnes qui nous sont proches.

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite

A mes frères et ma sœur qui je témoigne ma profonde affection, toujours présent, ils m'ont toujours cru en moi

Mes enseignants de l'Université de Laghouat qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

Titre : Contribution à l'étude de la biostimulation de la tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) par des rhizobactéries *Pseudomonas* spp. fluorescents sous stress en cuivre

Résumé

Certains métaux lourds, tels que le cuivre, sont essentiels à la croissance des plantes et des animaux mais en excès, ils perturbent gravement leur fonctionnement et peuvent causer leur mort.

Nous visons par cette étude d'utiliser la tomate *Lycopersicum esculentum* Mill pour évaluer l'impact de la bacterisation avec différentes souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (P212, P12, R2 et P429) sous stress de cuivre dans deux essais distincts. Le premier test examine la germination *in vitro* sous l'effet de sept concentrations croissantes de cuivre (0 à 400 ppm), tandis que le second évalue des plantules dans un substrat contaminé par du sulfate de cuivre (0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm).

Les résultats montrent que la bacterisation améliore significativement la germination des graines exposées au cuivre par rapport aux témoins non traités. Cependant, elle n'a pas d'effet notable sur le taux de rétention en eau des feuilles ni sur la fuite d'électrolytes. Concernant les paramètres biochimiques, peu de changements sont observés dans le taux de chlorophylle totale, mais les plantes bactérisées présentent des niveaux plus élevés de proline, de sucres solubles et de polyphénols.

Nous concluons que Les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent être une solution pour décontaminer les sols au cuivre, renforçant la résistance des plantes au stress métallique et soutenant une agriculture durable. Toutefois, des recherches approfondies sont recommandées pour progresser dans ce domaine.

Mots clés : *Pseudomonas* spp. fluorescent, rhizobactéries , stress , cuivre, , *Lycopersicum esculentum*, résistance .

Title: Contribution to the study of biostimulation of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) by fluorescent *Pseudomonas* spp. rhizobacteria under copper stress

Abstract

Some heavy metals, such as copper, are essential for the growth of plants and animals, but in excess they seriously disrupt their functioning and can cause their death.

In this study, we aim to use tomato *Lycopersicum esculentum* Mill to study the impact of bacterisation with different fluorescent strains of *Pseudomonas* spp. (P212, P12, R2 and P429) under copper stress in two separate assays. The first test examined germination *in vitro* under seven increasing concentrations of copper (0 to 400 ppm), while the second evaluated seedlings in a substrate contaminated with copper sulphate (0; 150 ;250 ;350 et 450 ppm).

The results show that bacterisation significantly improves the germination of seeds exposed to copper compared with untreated controls. However, it had no significant effect on leaf water retention or electrolyte leakage. In terms of biochemical parameters, little change was observed in total chlorophyll levels, but bacterised plants had higher levels of proline, soluble sugars and polyphenols.

We conclude that fluorescent *Pseudomonas* spp. may be a solution for decontaminating copper soils, enhancing plant resistance to metal stress and supporting sustainable agriculture. However, further research is recommended to make progress in this area.

Key words: *Pseudomonas* spp. fluorescent, rhizobacteria , stress , copper , *lycopersicum esculentum* , resistance .

الملخص

(المساهمة في دراسة التحفيز البيولوجي للطمطم (*Lycopersicum esculentum* Mill.) بواسطة البكتيريا الجذرية *Pseudomonas* spp. المشعة تحت تأثير النحاس

تعتبر المعادن الثقيلة، مثل النحاس، ضرورية لنمو النباتات والحيوانات، ولكن فائضها يعطل عملها بشكل خطير ويمكن أن يسبب موتها.

نهذف من خلال هذه الدراسة إلى استخدام طمطم *Lycopersicum esculentum* Mill لتقييم تأثير البكتيريا بسلاالات مختلفة من بكتيريا *Pseudomonas* spp. المشعة (P212، P12، R2 و P429) تحت تأثير النحاس في مقايستين منفصلتين. يفحص الاختبار الأول الإنبات في المختبر تحت تأثير زيادة تركيزات النحاس (0 إلى 400 جزء في المليون)، بينما يقوم الاختبار الثاني بتقييم الشتلات في ركيذة ملوثة بكبريتات النحاس (0 إلى 450 جزء في المليون).

أظهرت النتائج أن البكتيريا تحسن بشكل ملحوظ إنبات البذور المعرضة للنحاس مقارنة بالضوابط غير المعالجة. ومع ذلك، ليس له أي تأثير ملحوظ على معدل احتباس الماء في الأوراق أو على تسرب الإلكتروليت. وفيما يتعلق بالمعايير البيوكيميائية، فقد لوحظت تغيرات قليلة في مستوى الكلوروفيل الكلي، ولكن النباتات المعالجة بالبكتيريا تظهر مستويات أعلى من البرولين والسكريات القابلة للذوبان والبوليڤينول.

نستنتج أن *Pseudomonas* يمكن أن تكون حلاً لتطهير التربة من النحاس، وتعزيز مقاومة النباتات للإجهاد المعدني ودعم الزراعة المستدامة. ومع ذلك، يوصى بإجراء مزيد من الأبحاث لإحراز تقدم في هذا المجال.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas* spp. البكتيريا الجذرية، الإجهاد، النحاس، المقاومة ،

Lycopersicum esculentum Mill

Liste des abréviations

DO : Densité optique

% : pourcentage

pH : potentiel Hydrogène

PGPR : plant growth promoting rhizobacteria

TRE : teneur relative en eau

Cu : cuivre

µm : micromètre

nm : Nanomètres

EBIC : conseil européen de l'industrie des biostimulants

SDP: stimulateur de défense

UE: union européen

MFSC: matière fertilisantes et support de culture

AIA : acide indole acétique

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	des cibles des principales pour les produits de stimulation (Hérault, 2015).....	03
02	Mécanismes de résistances bactériens aux métaux (Haferburg, Kothe, 2007).....	21
03	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de germination <i>in vitro</i>	31
04	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la teneur relative en eau des feuilles <i>in vivo</i>	32
05	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la teneur relative en eau dans les racines <i>in vivo</i>	33
06	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la fuite d'électrolytes (%) des feuilles <i>in vivo</i>	34
07	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la fuite d'électrolytes (%) des racines <i>in vivo</i>	35
08	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de chlorophylle totale <i>in vivo</i>	36
09	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de la proline des feuilles <i>in vivo</i>	37
10	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de la proline dans des racines <i>in vivo</i>	38
11	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des sucres solubles des feuilles <i>in vivo</i>	39
12	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des sucres solubles des racines <i>in vivo</i>	40
13	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux de polyphénol des feuilles <i>in vivo</i>	41
14	Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des polyphénols des racines <i>in vivo</i>	42

Liste des tableaux

N°:	Titre	Page
01	La classification des <i>Pseudomonas</i> suivante dans la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (2005)	12
02	Les origines naturels et anthropique de cuivre.....	17

Table des matières

Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Partie Bibliographique	
Chapitre 1	
I.1 La biostimulation et biostimulants.....	03
I.1.1 La biostimulation.....	03
I.1.2 Les biostimulants.....	04
I.1.2.1 Rôle des biostimulants.....	04
I.1.2.2 Origine et nature des biostimulants.....	05
I.1.2.3 Classement des Bio stimulants.....	05
Chapitre 2	
I.2 la tomate.....	06
I.2.1 Historique et origine de la tomate.....	06
I.2.2 Production de la tomate.....	06
I.2.3 Classification de la tomate	07
I.2.3.1 Classification botanique.....	07
I.2.3.2 Classification variétale.....	07
I.2.4 Description et morphologie de la tomate.....	07
I.2.5 Cycle biologique de la tomate.....	08
I.2.5 Exigences écologiques et climatiques de la plante.....	09
Chapitre 3	
I.3 Les rhizobactéries cas des <i>Pseudomonas</i>	11
I.3.1 Définition de rhizosphère.....	11
I.3.2 Les rhizobactéries.....	11
I.3.3 les <i>Pseudomonas</i>	11
I.3.3.1 Généralités.....	11
I.3.3.2 <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents.....	12
I.3.3.3 Taxonomie.....	12

I.3.3.4 Mécanismes d'action	13
-----------------------------------	----

Chapitre 4

I. 4 Le cuivre et son effet sur la plante.....	16
I. 4 .1 Le cuivre.....	16
I. 4 .1.2 Description et composé.....	16
I. 4 .1.3 Origine du cuivre.....	16
I. 4 .1.4 Utilisation en agriculture.....	17
I. 4 .1.5 Le cuivre dans la plante.....	18
I. 4 .1.6 Toxicité du cuivre.....	18
I. 4 .1.7 Mécanisme de toxicité de cuivre.....	19
I. 4 .1.8 L'effet bénéfique du Cuivre sur la Croissance des Tomate	19
I.4 .1.9 Toxicité du Cuivre et ses impacts sur les Tomate.....	19
I.4 .1.10 Stratégies de résistances des <i>Pseudomonas</i> au cuivre	20

Partie expérimentale Matériels et méthodes

II.1. Matériel biologique.....	22
II.1. 1 Matériel végétal.....	22
II.1. 2 Souches bactériennes.....	22
II.2 Essai de la stimulation de la germination <i>in vitro</i>	22
II.2.1 Préparation de milieu de stress.....	23
II.2.2 Désinfection des graines de tomates.....	23
II.2.3 Bactérisation des graines.....	23
II.2.4 Dispositif expérimental.....	24
II.2.4 Paramètres étudiés	24
II.2.4.1 Taux de germination.....	24
II.3 Essai de la stimulation de la croissance sous stress en cuivre <i>in vivo</i>	24
II.1. Matériel biologique.....	25
II.3.1 Application de stress en cuivre.....	25
II.3.2 Préparation des suspensions bactérienne.....	25
II.3.3 Bactérisation du substrat.....	25
II.3.3 Transplantation des plants.....	25
II.3.4 Dispositif expérimental.....	25
II.3.5 Paramètres étudiés.....	26
II.3.5.1 Mesure de la teneur relative en eau.....	26
II.3.5.2 Mesure de la fuite d'électrolyte.....	26
II.3.5.3 Dosage de chlorophylle.....	27
II.3.5.4 Dosage de proline.....	27

II.3.5.5 Dosage des sucres solubles.....	27
II.3.5.6 Dosage de polyphénol.....	28
II.3.6 Analyse statistique.....	28
II.3.1 Application de stress en cuivre.....	28

Résultats et discussion

III. 1 Résultats	30
III.1.1 Les résultats relatifs à l'essai de la stimulation de la germination <i>in vitro</i>	30
III.1.1.1 Effet sur le taux de germination.....	30
III.1.2. Les résultats relatifs à l'effet de stress en cuivre et de la bactérisation <i>in vivo</i>	31
III.1.2.1 Teneur relative en eau dans les feuilles.....	31
III.1.2.2 Teneur relative en eau dans les racines.....	32
III.1.2.3 Fuite d'électrolyte des feuilles.....	33
III.1.2.4. Fuite d'électrolyte des racines.....	34
III.1.2.5 Taux de Chlorophylle totale.....	35
III.1.2.6 Taux de Proline dans les feuilles.....	36
III.1.2.7 Taux de proline dans les racines.....	37
III.1.2.8 Taux des Sucres solubles dans les feuilles.....	38
III.1.2.9 Taux des sucres solubles dans les racines.....	39
III.1.2.10 Taux des Polyphénol dans les feuilles.....	40
III.1.2.11 Taux des polyphénols dans les racines.....	41
III.2 Discussion	42
Conclusion	46
Références bibliographique	47

Introduction

Introduction

Les activités humaines, telles que l'industrie et l'agriculture, peuvent entraîner une accumulation de métaux dans l'environnement, notamment dans les sols, au-delà des concentrations naturelles observées. En général, les métaux sont introduits dans le sol soit par les variations de l'atmosphère, soit par l'application directe au sol ou indirecte par la végétation de matériaux (tels que des fertilisants, des phytosanitaires, des amendements organiques, des boues de station d'épuration, etc.) contenant des métaux concentrés (Alloway, 1995 ; Adriano, 2001).

Les pays émergents sont très préoccupés par le problème des sols contaminés. Il est impossible de dégrader les métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le cuivre, le zinc et le mercure, ce qui les maintient dans l'environnement pendant de longues périodes. En outre, différentes activités les ajoutent constamment aux sols : en agriculture, par l'utilisation de boues d'épuration ou dans l'industrie métallurgique (Selmi, 2000).

Les sols peuvent être soumis à des traitements chimiques, physiques ou biologiques. Ces derniers utilisent l'action de microorganismes ou de végétaux pour dépolluer les sols. Il s'agit donc de la bioremédiation. Jugée rentable et efficace contre l'élimination de composés pétroliers et notamment des hydrocarbures, la bioremédiation est de plus en plus utilisée (Tarayre 2012 ; Mi Jin *et al.*, 2013).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries très commune dans le milieu naturel, en particulier dans le sol et les eaux. Leur particularité réside dans leur capacité à générer une coloration verte fluorescente lorsqu'elle est exposée à la lumière ultraviolette. L'importance de cette bactérie réside dans ses multiples propriétés avantageuses, telles que son rôle dans la stimulation de la croissance des plantes et la lutte contre les agents pathogènes. (Cervantes 1994) En effet, les travaux de l'équipe « Dépollution Biologique des Sols » de Colmar ont montré que l'addition de bactéries productrices de sidérophores, comme les deux espèces *Pseudomonas aeruginosa* ou *Pseudomonas fluorescens* du groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents augmentait l'extraction de chrome par des plants de maïs (Braud *et al.*, 2009).

En générale le rôle de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans l'équilibre écologique de nombreux écosystèmes est crucial. Leur rôle consiste à décomposer la matière organique, à fixer l'azote et à solubiliser des nutriments minéraux tels que le phosphore. Cette bactérie génère également des substances antimicrobiennes qui lui permettent de combattre les agents pathogènes, préservant ainsi la santé des plantes et des animaux (Rajkumar, 2010). Elles

Introduction

peuvent être ajuster et se développer dans des milieux où la concentration de cuivre est élevée. Effectivement, cette bactérie a acquis des capacités de résistance au cuivre, ce qui lui permet non seulement de survivre, mais aussi d'interagir activement avec cet élément. Ces divers mécanismes lui permettent de diminuer considérablement la disponibilité du cuivre dans son environnement. Cela entraîne une baisse de la toxicité du cuivre pour les êtres vivants, tout en préservant les niveaux requis pour assurer le bon fonctionnement des écosystèmes. (Sharma et Karawazaki, 2018)

Sachant que la toxicité du cuivre peut avoir des effets néfastes sur les plants de tomate, affectant divers aspects de leur croissance et de leur développement. Cette toxicité du cuivre peut avoir des effets délétères sur les plants de tomate, impactant les feuilles, les tiges et les racines.

Dans ce cadre s'inscrit notre travail qui vise à évaluer l'impact des *Pseudomonas* fluorescents sur les métaux lourds « le cas du cuivre », et sur les paramètres biochimiques, de la tomate *Lycopersicon esculentum* L. en préparant des solutions à base de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) à différentes concentrations de (Cu) allant de 0 à 450 ppm, en réalisant deux essais ,le premier est un essai de germination sous stress en cuivre *in vitro* et le deuxième est un essai de la stimulation de la croissance sous stress en cuivre *in vivo*.

Cette étude se divise en trois grandes parties :

- La première partie traite la synthèse bibliographique sur les métaux lourds (cuivre) présents dans le sol et les végétaux, la tomate *Lycopersicon esculentum* L, Bio stimulation, ainsi que les rhizobacteries.
- La deuxième partie traite le protocole expérimental utilisé pour mener le travail,
- la troisième partie traite les résultats et de la discussion, et enfin une conclusion et perspective.



**Partie
Bibliographique**

1 :

on et

nts

chapitre o

Bio stimulati

Bio stimula

I.1 La biostimulation et biostimulants

I.1.1 La biostimulation

D'après la définition de l'EBIC (Conseil Européen de l'Industrie des Biostimulants) en 2014, un biostimulant est « un matériel qui contient une ou des substance(s) et/ou micro-organisme(s) dont la fonction est de stimuler les processus naturels pour améliorer l'absorption et l'efficacité des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques, et la qualité des cultures, indépendamment du contenu en nutriments du biostimulant » (**Hérault, 2015**).

➤ Les biostimulants

Activateur de sol, Additif agronomique, Agent nutritionnel, Biofertilisant, Conditionneur de plantes, Nutriciteur, Phytostimulant, Physioactivateur

➤ Les «stimulateurs de(s) défense(s)»

Les SDP concernent « toute substance ou tout micro-organisme vivant non pathogène qui, appliqué sur une plante, est capable de promouvoir un état de résistance significativement plus élevé par rapport à une plante non traitée, face à des stress biotiques» (**RMT Elicitra, 2017**)

SDP: Eliciteur, Inducteur de résistance, SDN, SDP, Stimulateur de vitalité, Vaccin pour plantes, etc.

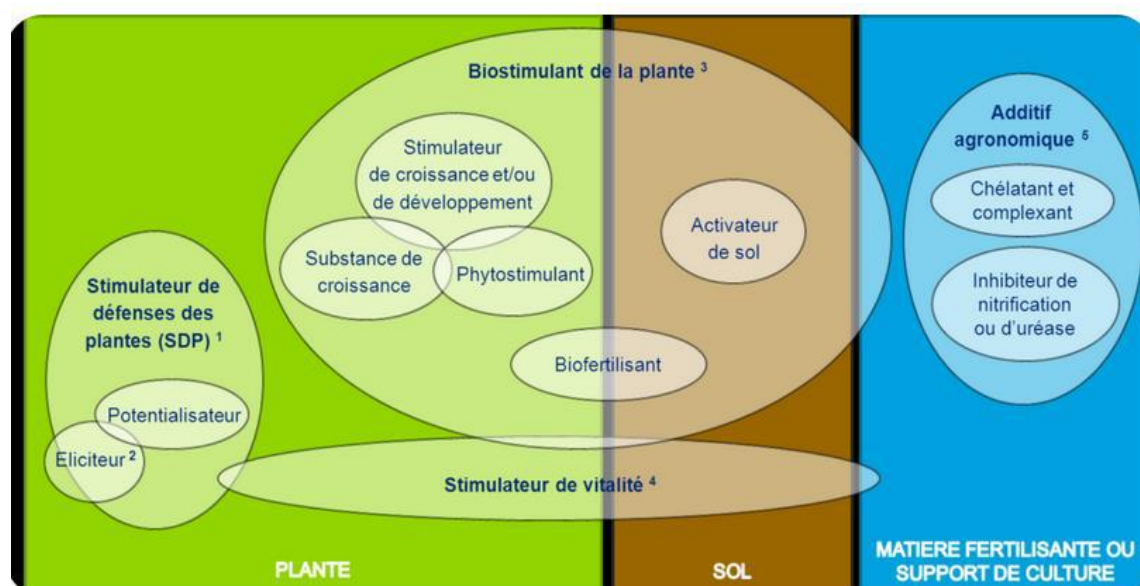


Figure 1. Les cibles des principales pour les produits de stimulation (Hérault, 2015)

I.1.2 Les biostimulants

L'EBIC (Conseil Européen de l'Industrie des Biostimulants) définit les biostimulants comme des produits dont la formulation est très variable. Ils peuvent contenir des composés, une (des) substance(s) et/ou micro-organisme(s) dont la fonction, quand appliqué aux plantes ou à la rhizosphère permettra d'améliorer la vigueur des cultures, la qualité des récoltes en stimulant les processus naturels pour améliorer/avantager l'absorption des nutriments, l'efficacité des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques, indépendamment du contenu en nutriments du biostimulant. **(Povero et al., 2016)**

Le mot « biostimulant » a été inventé par des spécialistes de l'horticulture pour décrire des substances favorisant la croissance des plantes sans être des nutriments, des amendements de sol ou des pesticides. Ces substances naturelles ou synthétiques peuvent être appliquées sur les graines, les plantes ou à même le sol **(CDA, 2021)**

De sa part, l'Académie des biostimulants française, déclarent que les biostimulants ne sont pas considérés comme des engrais, en tant que tels, car ils n'apportent pas une quantité suffisante de nutriments. Les propriétés du biostimulant sont la conséquence de sa formulation complexe, et non pas la conséquence de la seule présence d'un élément nutritif élémentaire, d'un régulateur de croissance ou d'un agent protecteur connu **(Yakhin et al., 2017)** Les biostimulants agricoles sont des additifs d'engrais biologiques. Ils sont utilisés en production végétale pour favoriser la croissance, la santé et la productivité des plantes. Ayant une action différente de celle des intrants chimiques, ils sont aussi un allier des cultures agroécologiques **(Povero et al., 2016)**.

Le 26 Juin 2019 a été publié au Journal officiel de l'Union Européenne le règlement (UE) 2019/1009, règlement harmonisé de toutes les Matières Fertilisantes et Supports de Culture. Ce règlement donne enfin un cadre aux biostimulants en leur attribuant une définition liée à leur(s) fonction(s) et en les intégrant dans la famille des MFSC. Il n'y a plus de risques de confusion avec les produits de la protection des plantes, la limite étant clairement définie autour des stress abiotiques et biotiques. Ce nouveau règlement sera d'application le 16 Juillet 2022 (UE, 2019).

I.1.2.1 Rôle des biostimulants

De nombreuses propriétés sont reconnues aux biostimulants :

- Stimuler de la germination des graines et ainsi améliorer la qualité de la production en condition non optimale.
- Contribuer à améliorer l'absorption des nutriments. Certains acides aminés contenus dans les biostimulants peuvent s'associer aux micronutriments, ce qui aide notamment la plante à puiser les nutriments dans des sols à pH élevés.
- Apporter une meilleure résistance aux stress abiotiques comme les variations climatiques, les carences en minéraux, une salinité excessive, la sécheresse ou encore l'excès d'eau.

Ces attributs dépendent de la composition des biostimulants (CDA, 2021).

I.1.2.2 Origine et nature des biostimulants

Il existe plusieurs types de biostimulants à savoir :

- Les biostimulants organiques (extraits d'algues, les substances humiques et fulviques, extraits de plantes, les levures, les acides aminés...)
- Les biostimulants microbiens (champignon mycorhize, les bactéries comme l'azospirillum, bacillus, le rhizobium...)
- Les biostimulants inorganiques (le silicium élément chimique présent dans le sol, les oligoéléments...)

Ils peuvent s'utiliser seuls ou en apport au sol ou par pulvérisation sur les plantes et enfin être disposés en enrobage de semences (Wikiagri, 2018).

I.1.2.3 Classement des Bio stimulants

Le classement des bio-stimulants repose sur leur composition chimique et leur mécanisme d'action. Leur composition peut inclure des extraits végétaux, des acides aminés, des hormones, des micro-organismes, des algues marines ou des substances humiques. (Wikiagri, 2018).

- Extraits végétaux : Les substances bioactives présentes dans les extraits végétaux, comme les algues marines ou les extraits de levure, favorisent la croissance des plantes.
- Acides aminés : Les acides aminés représentent les composants des protéines. En augmentant la synthèse des protéines, ils encouragent la croissance et le développement des plantes.

Partie Bibliographique

- Hormones végétales : La croissance et le développement des plantes sont contrôlés par des hormones végétales telles que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines.
- Micro-organismes : Les micro-organismes bénéfiques, tels que les bactéries et les champignons, peuvent améliorer la santé des plantes et la disponibilité des nutriments.

chapitre 02 :
la tomate



LYCOPERSICUM ESCULENTUM

I.2 la tomate

I.2.1 Historique et origine de la tomate

Au Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, la tomate est originaire de la région andine, où elle a été domesticée il y a plus de 5000 ans. Au XVI^e siècle, elle a été introduite au Mexique, puis par les Espagnols en Europe (Verolet *et al.*, 2001).

I.2.2 Production de la tomate

a. Dans le monde : La Chine se classe en tête du classement avec une production de tomate de 56 308 910 tonnes, ce qui représente 36 % du total mondial. Ensuite, l'Inde se classe avec 18 399000 tonnes, mais avec un rendement très faible (2,42 kg/m²). Les États-Unis occupent la cinquième place avec 13 038 410 tonnes et un rendement de 9,03 kg/m², suivis de la Turquie avec 12 600 000 tonnes et de l'Égypte avec 7 943 000 tonnes (Anonyme, 2016).

b. En Algérie : Pendant la période 2022- 2023, la production de tomate a atteint 13,72 millions de quintaux, avec un rendement de 428 qx/hectare pour la tomate cultivée en plein champ et de 1.225 qx/hectare pour la tomate cultivée en serre. Les principales wilayas productrices de tomate sont Biskra, qui produit 2,33 millions de qx, Mostaganem, qui produit 1,333 millions de qx, Tipaza, qui produit 1 040 000 qx et Ain Defla, qui produit 728 250 qx. (Anonyme, 2023).

Selon les spécialistes de l'institut technique des grandes cultures, les variétés de tomate les plus couramment cultivées en Algérie sont les variétés fixes telles que la Rio Grande, Elgon, Castlong, Heintz 1350, Sabra, Pico de Aneto, Giaron. De plus, il existe des variétés hybrides comme Aicha, Fehla, Baguira, Nun 6108, Issma, Bopcat, Zine 40, Jocker, Lesto, Fafety, Zigola, Zenith, Syhen, Chebli, Sabra, Storm... Les variétés les plus courantes pour les variétés à maturité groupée sont les Albatros, Baraka, Ercola, Perfect Peel et Talent (Anonyme 2020).

I.2.3 Classification de la tomate

I.2.3.1 Classification botanique

Règne	Plantae
Sous -règne	Tracheobionia
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Lycopersicon</i>
Espèce	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.

I.2.3.2 Classification variétale

a. Variétés déterminés : Les variétés à croissance déterminée sont autonomes et ne nécessitent généralement pas d'aide. Quand les conditions climatiques sont difficiles, il est recommandé de préserver les plantes. Selon **Shankara et al. (2005)**, les variétés à croissance déterminée mettent fin à leur croissance après la floraison. En Algérie, on trouve des variétés fixées et des variétés hybrides qui sont couramment utilisées lors de la culture en plein champs (**Snoussi, 2010**).

b. Variétés indéterminées : Généralement, ces variétés ont une tige principale qui pousse régulièrement et forme un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles. Cela entraîne une prolongation de la production des fruits. Il est possible de l'arrêter en piquant le bourgeon terminal à la hauteur désirée. Ce groupe se distingue par un niveau de performance élevé qui se prolonge sur une période prolongée (**Laumonnier, 1979**). Selon **Snoussi (2010)**, les variétés hybrides sont les plus couramment utilisées en Algérie, parmi lesquelles on peut citer Actana, Agora, bond, Nedjma, Tafna, Tavira, Toufan, Tyerno et Tahra.

I.2.4 Description et morphologie de la tomate

La tomate est une plante maraichère, herbacée, annuelle et aromatique appartenant à la famille Solanaceae. Sa taille varie entre 40 cm à plus de 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (**Bernard et al., 2009**).

Partie Bibliographique

- a. **Graines** : Les graines présentes dans chaque fruit sont de petite taille et très nombreuses (environ 300 à 350 graines/gr). Elles mesurent entre 3 et 5 mm de long et 2 et 4 mm de large, et chaque graine pèse environ 2,5 à 3,5g (**Shankara et al., 2005**).
- b. **Système racinaire, tige et feuilles** : Le système racinaire présente une grande épaisseur et une rotation constante, avec de nombreuses racines secondaires. Les racines sont généralement profondes de 30 à 40 cm. On peut trouver des racines jusqu'à un mètre en profondeur dans le sol (**Chaux, 1994 ; Blamey et al., 2007**). Selon **Shankara (2005)**, la tige est pleine et anguleuse, atteignant une longueur de 2 mètres. Selon **Shankara et al. (2005)**, les feuilles sont simples, découpées, alternes, sans stipule, mesurant entre 15 et 50 mm de long et 10 à 30 mm de large. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm.
- c. **Fleur et fruits** : Les fleurs sont en grappe hermaphrodites, généralement jaunes. La corolle étoilée est formée en partie par les pétales soudés. Les feuilles sont d'un vert. Le pistil est dissimulé dans un tube staminique formé par les étamines (**Chaux, 1994 ; Blamey et al., 2007**). Les fruits sont globuleux ou aplatis, mesurant de 2 à 15 cm de diamètre. Le fruit est vert et poilu quand il n'est pas encore mur. Les fruits murs sont d'un jaune à un rouge, puis d'un orange (**Shankara et al., 2005**). Les fruits sont généralement ronds, réguliers ou côtelés. Selon **Polese (2007)**, un fruit charnu contient des graines appelées pépins, qui sont entourées d'une sorte de mucilage provenant de l'enveloppe de la graine.

I.2.5 Cycle biologique de la tomate

Chez la tomate, la durée du cycle végétatif complet varie selon : les variétés l'époque et les conditions de culture. Il s'étend généralement de 3,5 à 6 mois, du semis jusqu'à la dernière récolte (**Gallais et Bannerot, 1992**). Le cycle de la tomate comprend cinq phases :

1.Phase de germination : C'est le passage de la graine de la vie ralentie à la vie active qui se traduit par la sortie des racines radicales et l'émergence de l'hypocotyle en surface. Les réserves sont hydrolysées et fournissent à l'embryon les métabolites nécessaires à ses synthèses et ses division cellulaires. : La germination s'effectue au bout de 6 à 8 jours après le semis à une température ambiante entre 18 et 24°C (**Heller,1996**).

Partie Bibliographique

2.Phase de croissance : Selon **Laumonier (1979)** la croissance déroule en deux phases dans deux milieux différents : à la pépinière et en plein champs ou sous serre.

En pépinière : la croissance dure de la levée jusqu'au stade 6feuilles ; ou la plante assure la formation de racine fonctionnelles qui vont assurer l'alimentation à la plante en eau et éléments nutritifs. A la partie aérienne ; la tige s'allonge et forme des feuilles.

En plein champ ou serre : A partir du stade six feuilles la plante est transférée de la pépinière pour être repiquée en plein champ et continuer ainsi sa croissance. La tige augmente et le nombre de feuilles va progresser.

3.Phase de floraison et la pollinisation : Selon **Rey et Costes (1965)**. La floraison correspond à l'apparition et le développement des ébauches florales qui se traduit par la transformation du méristème apical en passant de l'état végétatif à l'état reproducteur. L'apex s'aplatit, s'élargit et les protubérances formées sont des ébauches des pièces florales. Celle-ci se transforme par la suite en boutons floraux et s'épanouissent en fleurs. Ces transformations dépendent de plusieurs facteurs : notamment la photopériode, la température et les éléments nutritifs.

En conditions favorables, 6 à 7 semaines après le semis apparaissent les bouquets floraux groupés en inflorescences, durant cette phase les températures nocturnes et diurnes doivent être 13°C et 23°C. la pollinisation nécessite l'intervention des agents extérieurs, le vent ou certains insectes comme le bourdon qui provoque la vibration des anthères, libérant ainsi le pollen pour la pollinisation (**Chaux et Foury,1994**).

4.Phase de fécondation, de nouaison et de fructification : D'après **Rey et Costes (1965)**, le temps écoulé entre la pollinisation et la fécondation est 2 à 3 jours. Une bonne nouaison se produit à une température nocturne comprise entre 13°C et 15°C.

5.Phase de développement et de maturation des fruits : La maturation des fruits se caractérise par le grossissement de ces derniers, changement de couleur, du vert au rouge. La lumière intense permet la synthèse active des hydrates de carbone transportés rapidement vers les fruits en croissance, pour cela il faut une température de 18°C la nuit et 27°C le jour nécessaire. (**Rey et Costes, 1965**).

I.2.5 Exigences écologiques et climatiques de la plante

La tomate ne nécessite pas une grande quantité de pluie. Selon **Nyabyenda (2007)**, elle privilégie les périodes sèches avec une irrigation : elle nécessite une quantité d'eau de 5 mm par jour de la plantation à la floraison et de 10 mm par jour de la floraison à la récolte. Par contre, elle est exigeante pour la lumière qui est un facteur écologique fondamental qui intervient dans la photosynthèse. Le manque de lumière peut inhiber l'induction florale et gêner la germination du pollen (**Chibane, 1999**). La tomate se développe à des températures dont l'optimum se situe entre 13 et 20 °C pendant la nuit et entre 20 et 27 °C pendant la journée. Pour obtenir une bonne production, un écart de 6 à 7 °C entre les températures diurnes et les températures nocturnes est nécessaire au moment de la floraison.

Les sols ne sont pas très exigeants pour la tomate, à condition qu'ils soient fertiles et bien drainés (**Nyabyenda, 2007**). La tomate fait partie des plantes qui ont une tolérance modérée à la salinité (**Morad et Martinez, 1999**). Elle est extrêmement tolérante à l'acidité. Selon **Nakai *et al.* (2005)**, la tomate est sensible à une variété de pH, mais elle se développe le mieux dans des sols où le pH varie entre 5.5 et 6.8.

chapitre 03:
les rhizobacteries
PSEUDOMONAS

I.3 Les rhizobactéries cas des *Pseudomonas*

I.3.1 Définition de rhizosphère

L'expression "rhizosphère" a été inventée par **Hiltner (1904)** pour désigner le volume du sol autour de la racine, qui est influencé chimiquement, physiquement et biologiquement par la présence de racines végétales vivantes. Il s'agit d'un milieu écologique en perpétuelle évolution où les microorganismes et les plantes interagissent afin d'exploiter les micros et macronutriments du sol, qui sont en quantités limitées et ont un impact sur la croissance des plantes (**Gholami et al., 2012**).

I.3.2 Les rhizobactéries

Les rhizobactéries sont des bactéries capables de coloniser intensément les racines, elles sont spécialement adaptées à un biotope spécifique, la rhizosphère, qui est le lieu d'échanges intenses entre la plante et son environnement. Les bactéries non symbiotiques présentes dans le sol qui correspondent à cette définition sont de divers genres, dont les plus étudiés sont : *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Agrobacterium*, *Radiobacter*

Selon **Davet (1996)**, ainsi que **Cohen et al. (2015)** ont rapporté que les microorganismes qui s'adaptent à la rhizosphère ont une activité métabolique élevée et se multiplient rapidement. Compte tenu de leur capacité d'adaptation physiologique et de leur polyvalence métabolique, les rhizobactéries jouent un rôle essentiel dans les évolutions des écosystèmes agronomiques.

I.3.3 les *Pseudomonas*

I.3.3.1 Généralités

Selon **Bossis et al. (2000)** et **Palleroni et Moore (2004)**, le genre *Pseudomonas* est un groupe bactérien majeur qui fait partie de la sous-classe γ des protéobactéries. Il regroupe plus d'une centaine d'espèces présentes dans le monde entier. le groupe *Pseudomonas* sont des organismes gram négatifs, mobiles, non sporulés, et nécessitent un aérobie obligatoire. Selon **Bossis et al. (2000)**, les *Pseudomonas* possèdent un métabolisme mésophile et chimioorganotrophe, avec la majorité étant saprophytes. Elle possède la capacité de coloniser les cellules corticales mortes présentes dans les racines, réparties dans le sol, l'eau

et l'air. D'après **Mavrodi et ses collègues (1981)**, certaines espèces telles que *Pseudomonas syringae* sont phytopatogènes et certaines peuvent entraîner des infections chez l'être humain.

I.3.3.2 *Pseudomonas* spp. fluorescents

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des rhizobactéries non symbiotiques qui se trouvent dans la rhizosphère (**Kloepper et Schroth (1978)**). Appartenant à la catégorie des PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria), ils présentent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement pertinents pour une utilisation en tant qu'agents de combat biologique. Selon **Holt (1994)**, cette bactérie ne génère pas de spores ou d'autres structures de survie et ne peut pas se développer dans des conditions acides (< pH 4,5). Étant donné qu'elle ne nécessite pas beaucoup de nourriture, elle peut survivre et se reproduire pendant plusieurs mois dans des sites humides. La majorité des souches sont des souches chimio-organotrophe strictement aérobies qui requièrent à la fois de l'oxygène et du carbone organique pour elles-mêmes.

Les *Pseudomonas* spp. fluorescens sont toujours sujets à controverse, en particulier pour les espèces dont les biotypes présentent des caractéristiques taxonomiques intermédiaires entre différentes espèces connues. En plus des formes intermédiaires, *Pseudomonas Putida* et *Pseudomonas fluorescens* sont découpées en deux à cinq biovars différents (**Palleroni, 1986 ; Bossis et al, 2000 ; Euzéby, 2005**). Ils utilisent le groupe *Pseudomonas fluorescens-putida* pour les auteurs pour les designers.

I.3.3.3 Taxonomie

La classification des *Pseudomonas* en fonction des caractéristiques génotypiques a été le plus grand succès obtenu par Palleroni et ses collaborateurs. Selon **Palleroni et al. (1973)**, ce groupe bactérien a été divisé en cinq sous-groupes d'ARNr en se basant sur les homologies ARN/ADN. De nombreuses méthodes sont utilisées dans la classification des *Pseudomonas* dans l'édition actuelle du Bergey's (**Palleroni, 2005**). Ces techniques mettent en lumière les efforts déployés pour caractériser les espèces de *Pseudomonas*, englobant la sensibilité à certains composés, les caractéristiques génétiques et écologiques, le pouvoir pathogène et la structure antigénique (**Peix et al., 2009**). Les *Pseudomonas* sont classés de

Partie Bibliographique

la manière suivante dans la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (2005) :

Tableau 01 : La classification des *Pseudomonas* suivante dans la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (2005)

Domaine	Bacteria
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma-proteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>

Les différentes espèces de *Pseudomonas* comporte 5 groupes selon leur ARNr, on trouve le groupe des *P. syringae*, le groupe des *P. chlororaphis*, le groupe des *P. fluorescens*, le groupe des *P. putida*, le groupe des *P. stutzeri*, le groupe des *P. aeruginosa* et le groupe des *P. pertucinogena*.

I.3.3.4 Mécanismes d'action

a. Production de siderophore

La capacité des rhizobactéries à produire des sidérophores et des métabolites qui contribuent à l'antibioses a fait l'objet de nombreuses études (**Maksimov et al., 2011**). Les sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation d'ions ferriques par des microorganismes aérobies, tels que les bactéries, certains champignons mais aussi organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) en réponse à des conditions de carence en fer (**Ratledge et Dover, 2000 ; Allaire, 2005**).

Les sidérophores 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 « pyvoredine » (**Meyer et Abdellah, 1978**) ou pseudobactine (**Teintze et al., 1980**) qui forment avec le fer un complexe : « ferri-pyoverdine ».

L'importance de sidérophore 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 recherché 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**). Les sidérophores 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.

b. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est connu comme l'un des minéraux nutritifs, le plus souvent, limitant la croissance des plantes (**Vessey, 2003**). Dans les sols, ils sont généralement présents à des faibles concentrations dans la solution, en raison des nombreux processus géochimiques contraignant leur mobilité et leur disponibilité. Les plantes et les micro-organismes associés, au travers de relations rhizosphériques, symbiotiques et par la prédation des populations microbiennes, modifient considérablement la quantité de *P* que la plante est capable d'acquérir tout au long de sa croissance (biodisponibilité) (**Plassard et al., 2015**). Dans le sol il existe deux sortes de phosphate, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles, ce qui réduit sa disponibilité pour les plantes (**Dahdah et al., 2015**).

Les bactéries solubilisant le phosphate sont communes 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 (**Kim et al., 1998; Richardson, 2001**). Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents comme *P. chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* ont été identifiées comme rhizobactéries solubilisant le phosphate (**Cattelan et al., 1999**).

c. Production de l'acide indole acétique (AIA)

L'acide indole-3-acétique est reconnue comme une auxine principale chez les plantes, impliqué dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de

l'élongation des tiges et de nombreux processus mettant en jeu la division et différenciation cellulaires (O'Gara *et al.*, 2008). L'AIA est connu pour déclencher les divisions, favoriser l'apparition des racines adventives sur les boutures tout en inhibant leur élongation (Karabaghli *et al.*, 1997). Cette phytohormone impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994), est communément produite par les rhizobactéries (Barazani et Friedman, 1999). Ces dernières sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines. Cet effet résulte d'une augmentation de surface racinaire ainsi une accessibilité plus importante à des nutriments pour la plante. Patten et Glick (2002), ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P. putida*, chez la plante hôte, dans le développement de son système racinaire.

d. Production d'antibiotiques

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974), c'est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Thomashow *et al.*, 1997).

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)

Les phenazines (pcA) le 2,4- diacétyl- phloroglucinol (DAPG) sont les majeurs déterminants rapportés dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes (Defago et Hass, 2005). Ainsi le DAPG produit par une souche de *Pseudomonas fluorescens* (CHA0) protège *Arabidopsis thaliana* de *Peronospora parasitica* (Lavicoli *et al.*, 2013).

chapitre 04 :
le cuivre et son
effet sur la plante

I. 4 Le cuivre et son effet sur la plante

I. 4.1 Le cuivre

Les métaux lourds sont des éléments métalliques naturels caractérisés par une masse volumique supérieure à 7 g.cm⁻³. Ils sont généralement présents dans l'environnement à l'état de traces, notamment le mercure, le plomb, le cadmium, le cuivre, l'arsenic, le nickel, le zinc, le cobalt et le manganèse. Parmi eux, le plomb, le cadmium et le mercure sont les plus toxiques (Shabbir *et al.*,2020).

I. 4.1.2 Description et composé

Le cuivre (Cu ; numéro atomique 29/poids atomique de 63.5/ densité de 8.96 g.cm³) est un oligo-élément essentiel à la présence de la vie sur terre, et indispensable au bon fonctionnement de nombreuses fonctions physiologiques chez les plantes supérieures et les animaux. Il possède deux isotopes stables (⁶³Cu à 69,2% et ⁶⁵Cu à 30,8%) et 27 radioisotopes qui n'existent pas à l'état naturel. Le milieu environnemental le plus exposé au cuivre est le sol (Shabbir *et al.*,2020).

Le cuivre est un métal de transition et un oligo-élément essentiel à la vie en petite quantité, mais toxique en quantités plus importantes. Il se présente généralement sous forme métallique. Les minerais de cuivre se composent principalement de sulfures, de sulfosels, d'oxydes, de carbonates, de silicates et de sulfates de cuivre. Ces minerais ne sont pas utilisés tels quels dans des applications courantes, mais servent à la fabrication du cuivre métallique, des alliages et des composés de cuivre. Dans les alliages de cuivre les plus couramment utilisés, le cuivre est majoritaire, ce qui leur confère une bonne conductivité thermique, électrique et une résistance à la corrosion. On estime qu'il existe environ 400 alliages de cuivre différents. Les principaux composés du cuivre incluent l'acétate de cuivre, le chlorure cuivrique, le chlorure cuivreux, l'oxyde cuivrique, l'oxyde cuivreux et le sulfate de cuivre.

I. 4.1.3 Origine du cuivre

Le cuivre est présent naturellement dans la croûte terrestre, ainsi que dans les océans, les lacs et les rivières, se trouvant sous différentes formes et concentrations. Bien qu'il soit l'un des rares métaux à se trouver à l'état natif, il est principalement présent sous forme de minerais.

Partie Bibliographique

Lorsqu'il est rejeté dans l'eau, le cuivre se retrouve généralement sous forme particulaire et a tendance à se déposer, précipiter ou s'adsorber à la matière organique, au fer hydraté, aux oxydes de manganèse ou aux argiles. Sous certaines conditions de drainage ou en milieu très acide, le cuivre peut migrer en profondeur, représentant un risque potentiel. Les cours d'eau peuvent contenir des concentrations élevées de cuivre en suspension.

Les sources anthropiques de cuivre proviennent de sa production, de son utilisation ou de son élimination, telles que les activités industrielles et agricoles. Les composés de cuivre sont également émis par des produits tels que les insecticides, molluscicides, bactéricides, herbicides et fongicides, ainsi que dans des solutions telles que la bouillie bordelaise et bourguignonne. (Guo *et al.*, 2016)

Tableau 02 : les origines naturels et anthropique de cuivre

Origines naturels	Origines anthropiques
L'activité volcanique et l'altération des continents.	L'extraction et l'utilisation de matières premières
	L'utilisation massive des engrais (avec leurs impuretés), des pesticides, de l'épandage de boues d'épuration, des lisiers
	Les rejets de l'industrie poussières contenues dans les fumées émises, ou d'effluents gazeux ou liquides
	L'urbanisation et ses décharges de déchets urbains

I. 4 .1.4 Utilisation en agriculture

Dernièrement, de nombreuses activités agronomiques ont eu pour effet de rejeter en grande quantité du cuivre dans l'écosystème en raison de son utilisation dans l'agriculture en tant que bactéricide, algicide et fongicide (Shabbir *et al.*, 2020). Depuis la fin du XIXe siècle, les fongicides à base de cuivre (bouillie bordelaise) sont largement employés pour combattre les maladies fongiques de la vigne (Epstein et Bassein, 2001).

Selon Guo *et al.* (2016), les biocides contenant du Cu sont couramment employés afin de prévenir les dégradations biotiques causées par des champignons ou des insectes. Les algicides et les pesticides utilisent également du cuivre comme élément essentiel, comme l'oxychlorure de cuivre, le sulfate de cuivre et les hydroxydes de cuivre. Selon Gad El-Hak et Mobarak (2019), le sulfate de cuivre est la principale substance chimique employée pour lutter contre les maladies des plantes.

Le sulfate de cuivre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ et le chélate de cuivre $\text{Na}_2\text{Cu-EDTA}$ sont des engrais cupriques fréquents. L'engrais le plus ancien et le plus célèbre est le sulfate de cuivre. Il est employé soit sous forme solide pour l'application au sol, soit sous forme de solution diluée pour la pulvérisation des feuilles (**Mottaleb et al., 2021**). Il est également possible d'utiliser des engrais à base d'oxyde métallique et de silicate pour traiter les sols qui manquent de cuivre. En premier lieu, il est nécessaire que ces substances soient solubilisées dans les sols, c'est-à-dire converties en ions Cu^{2+} (**Obrador et al., 2013**).

I.4 .1.5 Le cuivre dans la plante

Les plantes absorbent divers éléments minéraux du sol, classés en deux catégories : les macroéléments et les microéléments, également appelés oligo-éléments. Ces derniers jouent un rôle crucial dans la vie végétale, mais de manière différente des macroéléments. Leur fonction est principalement catalytique plutôt que structurale, expliquant ainsi leur nécessité malgré leurs besoins minimes. En effet, ils agissent comme des cofacteurs pour les enzymes impliquées dans les processus biochimiques essentiels à la croissance des plantes (**Obrador et al., 2013**).

Le cuivre est essentiel pour les plantes car il participe à plusieurs processus vitaux, notamment la photosynthèse, la formation de chlorophylle et la régulation de la respiration cellulaire. En tant que catalyseur, il facilite la conversion de certaines substances, favorisant ainsi la croissance et le développement des plantes. Les plantes absorbent le cuivre du sol principalement sous forme d'ions cuivreux (Cu^+), qui sont ensuite transportés vers les tissus végétaux où ils jouent leur rôle. Cependant, un excès de cuivre peut perturber l'équilibre physiologique des plantes, entraînant des effets néfastes tels que des dommages aux membranes cellulaires, une inhibition de la croissance et des perturbations dans l'absorption d'autres éléments nutritifs.

I.4 .1.6 Toxicité du cuivre

Dans les terres cultivées, les cultures agricoles sont confrontées à des stress abiotiques importants tels que la sécheresse, la salinité et les métaux lourds. Selon **Wuana et Okieimen (2011)**, la toxicité du cuivre représente un défi majeur pour les cultures vivrières et les plantes d'importance économique. Les plantes sont vulnérables à une concentration plus élevée de Cu, ce qui entraîne des conséquences néfastes importantes,

allant des aspects morphologiques et physiologiques aux aspects moléculaires, et qui se manifestent à tous les stades de leur croissance (Adrees *et al.*, 2015). Selon Wuana et Okieimen (2011), la présence de cuivre toxique dans les plantes constitue une contrainte importante qui non seulement limite la croissance des plantes, mais également altère la qualité des aliments.

I. 4 .1.7 Mécanisme de toxicité de cuivre

Quand la quantité de cuivre présente dans les organismes est excessive, cela perturbe de nombreux processus physiologiques. La toxicité biochimique est causée par la réactivité élevée de cet élément. Ses propriétés oxydo-réductrices lui permettent de se lier étroitement aux molécules riches en électrons. Par exemple, cette réactivité peut provoquer une dépoliarisation avec un dysfonctionnement physiologique des récepteurs et des transporteurs moléculaires cellulaires, ou encore sa fixation sur des sites actifs de macromolécules.

Les radicaux libres excessifs peuvent provoquer des réactions d'oxydoréduction en chaîne (stress oxydant) qui entraînent une diminution de l'intégrité cellulaire. L'excès de cuivre perturbe le photosystème II lors de la réaction de photosynthèse, que ce soit par insertion dans la Phéo (molécule de chlorophylle sans atome central de magnésium) ou par substitution des ions Mg^{2+} dans la chlorophylle elle-même (Thomas, 2011).

I.4 .1.8 L'effet bénéfique du Cuivre sur la Croissance des Tomates

L'apport adéquat de cuivre se traduit par de nombreux bénéfices pour la croissance et le développement des plantes de tomate. Il stimule la formation d'un système racinaire robuste, favorisant une meilleure absorption des nutriments et de l'eau. Cela se répercute sur une croissance vigoureuse de la plante, avec des tiges plus solides et un feuillage vert foncé, signe d'une bonne santé. Le cuivre joue également un rôle dans la résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse et les températures extrêmes, améliorant ainsi la résilience des cultures de tomates (Marschner, 2011).

I.4 .1.9 Toxicité du Cuivre et ses impacts sur les Tomates

Bien que le cuivre soit essentiel pour les plantes de tomate, un excès peut s'avérer toxique et nuire gravement à leur croissance et leur développement. Une accumulation excessive de cuivre dans le sol ou l'eau d'irrigation peut entraîner des symptômes tels que le

flétrissement des feuilles, la réduction de la surface foliaire, le ralentissement de la croissance et l'apparition de nécroses. La toxicité au cuivre peut également affecter l'absorption d'autres nutriments, déséquilibrant la nutrition de la plante. Il est donc crucial de maintenir un équilibre optimal en cuivre pour assurer la santé et la productivité des cultures de tomates (Thomas, 2011).

I.4 .1.10 Stratégies de résistances des *Pseudomonas* au cuivre

Les bactéries ont la capacité de diminuer, oxyder, conserver, évaporer ou décomposer les polluants. Selon Ferret (2012), l'utilisation de leurs capacités métaboliques exceptionnelles permet de considérer leur utilisation dans des méthodes efficaces et abordables de bioremédiation des eaux ou sols contaminés par des métaux traces ou des radionucléides toxiques.

Différentes stratégies de résistance ont été développées par les bactéries (fig. 02) pour faire face à des concentrations toxiques de métaux :

a. L'exclusion par perméabilité membranaire

Naturellement, les bactéries créent un "film" de polysaccharides extracellulaires qui absorbe les ions métalliques et les empêche d'interagir avec les composés cellulaires essentiels. Le Cd^{2+} ajouté dans le milieu de culture peut donc être lié à 100% par *Pseudomonas putida*, à une concentration de 2,5 mg.L⁻¹.

b. L'efflux actif

C'est le moyen de résistance le plus couramment employé par les microorganismes. Les mécanismes de transport actif sont employés par eux afin d'évacuer les métaux toxiques de leur cytoplasme vers le milieu extracellulaire. L'ion Cu^{2+} est exporté chez *Pseudomonas aeruginosa* par 4 protéines qui stockent le cuivre dans le périplasme.

c. La séquestration intracellulaire

Elle favorise la conservation des métaux dans le cytoplasme afin d'éviter l'exposition des métaux au cytoplasme, ce qui rend les composants cellulaires essentiels à l'exposition aux métaux. Les métaux les plus couramment séquestrés sont les ions Cd^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} . Chez *Pseudomonas putida*, on a constaté cette stratégie pour le Cd^{2+} en produisant trois protéines de faible poids moléculaire, riches en cystéines.

Partie Bibliographique

d. La détoxification enzymatique

Elle utilise des gènes qui jouent un rôle dans la diminution des composés métalliques.

e. La réduction de la sensibilité des cibles cellulaires des métaux

La protection s'effectue par mutation, sans modifier les fonctions essentielles de la cellule.

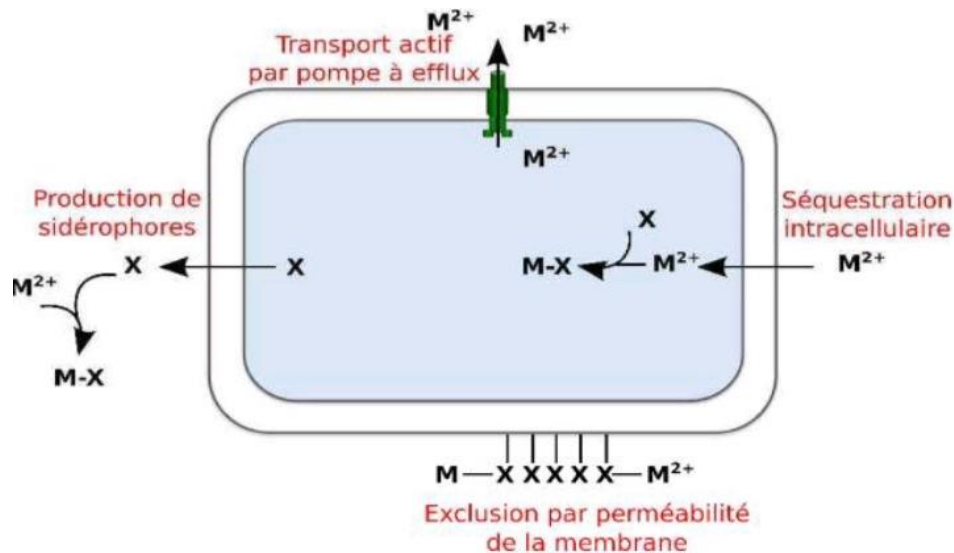
g. La synthèse des sidérophores

Le sidérophore, en liant le métal dans le milieu extracellulaire, réduit la quantité de métaux libres, ce qui a un impact sur sa diffusion dans la bactérie et donc sa toxicité. Selon **Ferret (2012)**, une souche de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit la pyoverdine et la pyochélinsemble plus résistante aux métaux qu'une souche qui ne produit pas de sidérophore.

Figure 02. Mécanismes de résistances bactériens aux métaux (Haferburg, Kothe, 2007).

X : constituants cellulaires interagissant avec les cations métalliques.

M : cations métalliques.





Partie
Expérimental

Matériels & Méthodes

Ce travail comporte deux parties

- ❖ La première est de tester l'effet des *Pseudomonas* fluorescents sur la germination des graines de tomates sous stress en cuivre
- ❖ La deuxième est réalisée *in vitro* dont le but est d'étudier l'effet des *Pseudomonas* fluorescent lors de la transplantation des plants de tomates du contaminé par un métal lourd (cuivre)

II.1. Matériel biologique

II.1. 1 Matériel végétal

La variété de tomate *Lycopersicon esculentum* mill. utilisée pour cette expérience a été importé de la chine fournie par PANG'S SEED. C'est des graines hybride F1 de variété ELMASSA, récoltées en 2022 traitées par Metalexil Mancozeb, leurs taux de germination sont de 92% selon le fournisseur.

Pour cette expérience nous avons utilisé des graines de tomates pour l'essai de germination et des plants de la même variété que les graines pour le deuxième essai.

II.1. 2 Souches bactériennes

Quatre souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte ont été utilisées . Les souches " R2 ; P12 ; P212 et P429 " sont issus de la zone rhizosphérique des plantes spontanées, Les souches bactériennes sont déjà isolées et identifiées au laboratoire de l'université AMMAR TELIDJI Laghouat. Leur régénération a été réalisée sur le milieu King B. notant que notre choix été fondé sur leur tolérance au cuivre, comme indiqué dans l'étude de Cheneuf (2023)

II.2 Essai de la stimulation de la germination *in vitro*

Dans cet essai l'étude est basé sur l'estimation du taux de germination des graines bactrisé par souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents par des sous stress en cuivre .

II.2.1 Préparation de milieu de stress

Pour cet essai nous avons opté pour un milieu stérile à base d'agarose additionné avec les concentrations respectives de 0 ;50 ; 100 ;150 ;200 ;300 ;400 ppm de cuivre préparé à partir de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$) conditionné dans des boîtes de Pétri.

II.2.2 Désinfection des graines de tomates

La désinfection s'est faite en trempant les graines de tomates dans une solution de HgCl_2 (0.1%) pendant 1 minute, puis en les rinçant cinq fois avec de l'eau distillée stérile, puis en les séchant avec du papier absorbant.

II.2.2 Préparation des suspensions bactériennes

Nous avons préparé les quatre suspensions bactériennes des souches testées soit (P212, P12, R2 et P429) à partir de culture jeune âge de 24 heures, à des concentrations approximative d'environ 10^8 UFC/ml,

II.2.3 Bactérisation des graines

Une fois que les grains ont été désinfectés, ils ont été immergés dans la suspensions bactérienne correspondante (P212, P12, R2 et P429). Le témoin non bactérisé a été immergé dans de l'eau distillée stérile. Ces préparations ont été laissées pendant 24 heures à une température de 24°C.

Une fois que la suspension bactérienne a été ainsi préparer les grains désinfectés, ont été immergé dans la suspension bactérienne correspondante (P212, P12, R2 et P429). Le témoin non bactérisé a été immergé dans de l'eau distillée stérile. Ces préparations ont été laissées pendant 24 heures à une température de 24°C. Une fois que les grains ont été bactérisés, ils ont été placés sur du papier absorbant stérile pour les sécher, puis repiqués dans des boîtes de Pétri et placés dans un incubateur à une température de 25°C.

II.2.4 Dispositif expérimental

Un dispositif de randomisation totale à deux facteurs avec six répétitions a été choisie pour l'étude.

- Facteur 1 : représente la bactérisation avec Cinq niveaux soit les souches bactériennes ; P212. P12. R2 et. P429 et le témoin non bactérisé (TNB).
- Facteur 2 : représente la concentration du facteur stressant soit le cuivre avec 7 niveaux pour le stress 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400 ppm de cuivre.

Nous avons 35 traitements qui sont :

- T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 : correspond à une bactérisation par 212 et la concentration respective de 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400 ppm de cuivre ;
- T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14 : correspond à une bactérisation par R2 et la concentration respective de 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400 ppm de cuivre ;
- T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21 : correspond à une bactérisation par P12 et la concentration respective de 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400 ppm de cuivre ;
- T22, T23, T24, T25, T26, T27, T28 : correspond à une bactérisation par 429 et la concentration respective de 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 300 ppm de cuivre ;
- T29, T30, T31, T32, T33, T34, T35 : correspond au témoin non bactérisé et la concentration respective de 0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400 ppm de cuivre.

II.2.4 Paramètres étudiés

II.2.4.1 Taux de germination

Un test de germination permet de connaître la faculté germinative (ou taux de germination) d'un lot de semences. Ce Taux de germination (TG) est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines :

$$\text{TG (\%)} = n \times 100 / N$$

n: nombre de graines germées

N: nombre de graine totale

II.3 Essai de la stimulation de la croissance sous stress en cuivre *in vivo*

Nous avons réalisé ce test pour déterminer l'effet de nos souches rhizobactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur des plans de tomates sous stress en cuivre

II.3.1 Application de stress en cuivre

En préparant des solutions à base de sulfate de cuivre ($\text{Cu SO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$), à une concentration de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm. Les solutions de cuivre ainsi préparées sont utilisées pour arroser la tourbe à raison de 25 ml pour 25g de tourbe.

II.3.2 Préparation des suspensions bactériennes

La préparation de la suspension bactérienne des quatre souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes saprophytes a été effectuée selon un protocole identique à celui utilisé pour la première expérience.

II.3.3 Bactérisation du substrat

Après 24 heures de la contamination de tourbe par le cuivre. Les quatre suspensions bactériennes (212. P12. R2 et 429) ont bactérisé le substrat en l'arrosant à 20 ml/25g de tourbe, tandis que le témoin non bactérisé (TNB) a été arrosé avec de l'eau distillée.

II.3.3 Transplantation des plants

Après 24 heures de la préparation des alvéoles, nous avons transplanté des plants de tomates déjà poussé dans une tourbe saine (âge de 15 jours) dans la tourbe contaminée préalablement préparée.

II.3.4 Dispositif expérimental

Un dispositif de randomisation totale à deux facteurs avec huit répétitions a été choisie pour cet essai ;

- Facteur 1 : représente la bactérisation avec Cinq niveaux soit les souches bactériennes (212. P12. R2 et. 429 et le témoin non bactérisé (TNB)).
- Facteur 2 : représente la concentration du facteur stressant soit la concentration en cuivre avec 5 niveaux soit 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de cuivre (Cu).

Nous avons 25 traitements qui sont ;

- T1, T2, T3, T4, T5 : correspond à une bactérisation par P12 et la concentration respective de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de cuivre ;
- T6, T7, T8, T9, T10 : correspond à une bactérisation par 212 et la concentration respective de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de cuivre ;
- T11, T12, T13, T14, T15 : correspond à une bactérisation par R2 et la concentration respective de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de cuivre ;
- T16, T17, T18, T19, T20 : correspond à une bactérisation par 429 et la concentration respective de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de cuivre ;
- T21, T22, T23, T24, T25 : correspond au témoin non bactérisé et la concentration respective de 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm de sulfate de cuivre.

II.3.5 Paramètres étudiés

Les plantes ont été prélevées et transférées après 25 jours de croissance, afin d'analyser les paramètres suivants :

II.3.5.1 Mesure de la teneur relative en eau

Pour évaluer la teneur relative en eau, nous avons collecté les plantes entières, en séparant la partie aérienne de la partie souterraine. Le poids frais en gramme des différents organes a été mesuré à l'aide d'une balance de précision. Suite à leur séchage dans l'étuve à

60° C, nous les avons pesés afin de calculer le poids sec en grammes en utilisant la même balance de précision.

Nous avons calculé la teneur relative en eau (TRE %) en utilisant l'équation suivante :

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

TRE % : teneur relative en eau
PF : poids de la matière végétale fraîche,
PS : poids de la matière végétale sèche

II.3.5.2 Mesure de la fuite d'électrolyte

Pour cette expérience la mesure de l'intégrité membranaires des cellules végétales a été réalisé pour les feuilles et les racines, nous disposons d'un conductimètre délivrant les mesures en uSiemens.

Après les avoir rincés à l'eau distillée, 10 segments foliaires et racinaires de 1 cm approximativement, sont placés dans 20 ml d'eau distillée dans des flacons, puis agités pendant 1 h dans un shaker à 150 t/min. puis la conductivité est lue une première fois.

Le mélange eau et tissus (foliaires ou racinaire) est ensuite placé 30 min à 95 ° C pour obtenir une destruction totale des membranes. Nous obtenons, ainsi, la conductivité totale, deuxième mesure de conductivité lue après retour du mélange à la température ambiante.

Les résultats sont exprimés en pourcentage, selon la formule ci - dessous :

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

II.3.5.3 Dosage de chlorophylle

La méthode utilisée pour mesurer les chlorophylles est celle de Francis *et al.* (1970), il implique de macérer 500 mg de tissus foliaires dans 2ml d'acétone 85%.

Les feuilles sont fragmentées et mises dans des tubes à essai fermés et recouverts par du papier aluminium pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière.

Matériels et méthodes

Ensuite, nous les avons laissé les tubes reposer pendant 48 heures à température ambiante. Après 48 heures, nous avons effectué la mesure des densités optiques (DO) des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre à deux longueurs : 645 nm pour la chlorophylle (a) et 663 nm pour la chlorophylle (b).

Nous avons calculé les concentrations en chlorophylle en utilisant les formules suivantes :

$$\begin{aligned}\text{Chl (a) } (\mu\text{g /g MF}) &= [12,7 \times \text{Do (663)} - 2,59 \times \text{Do (645)}] \times V / 1000 \times W \\ \text{Chl (b) } (\mu\text{g/g MF}) &= [22,9 \times \text{Do (645)} - 4,68 \times \text{Do (663)}] \times V / 1000 \times W \\ \text{Chl (a+b) } (\mu\text{g/g MF}) &= \text{Chl(a)} + \text{Chl(b)}\end{aligned}$$

V: volume de la solution extraite
W: le poids de la matière fraîche.

II.3.5.4 Dosage de proline

Selon le protocole de Troll et Lindsley (1955), nous avons prélevé 100 mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 3 ml de méthanol à 40%. Nous avons fait chauffer tout le contenu à une température de 85°C dans un bain-Marie pendant une durée de 60 minutes. Une fois refroidi, nous avons ajouté à l'extrait de la ninhydrine (C₉H₆O₄), de l'acide acétique, et de l'acide ortho-phosphorique puis en portant la solution obtenue à ébullition pendant 60 minutes à une température de 100°C dans un bain-Marie. Après refroidissement, du toluène est ajouté à la solution et agité, ce qui provoque la séparation en deux phases : une phase supérieure de couleur rouge contenant de la proline et une phase inférieure transparente sans proline. La phase supérieure est élevée et sa (D.O) densité optique est mesurée à une longueur d'onde de 520 nm au spectrophotomètre.

II.3.5.5 Dosage des sucres solubles

L'extraction des sucres se fait selon la méthode de Dubois (1956) en utilisant 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, puis en ajoutant 3 ml d'éthanol à 80%. Pendant 48 heures, il est laissé à température ambiante dans l'obscurité. Lors du dosage, les tubes sont mis dans l'étuve à une température de 80°C afin de faire évaporer l'alcool. Puis nous avons ajouté 20ml d'eau distillée à l'extrait dans chaque tube. C'est la solution à analyser.

Dans des tubes à essais propres, nous avons prélevé 2ml de la solution à analyser, puis nous avons ajouté 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée) et 5 ml d'acide sulfurique concentré à 96%, en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. La solution obtenue est d'un jaune orange à la surface, puis elle est passée au vortex afin d'homogénéiser la couleur. Les tubes sont placés pendant 10 minutes et placés au bain-marie pendant 20 minutes à une température de 30°C (La couleur de la réaction reste stable pendant plusieurs heures). Les évaluations des absorbances sont réalisées à une longueur d'onde de 485 nm.

II.3.5.6 Dosage de polyphénol

Une quantité définie (100 mg) de tissus végétaux (feuilles et racines) est mélangée à un solvant organique (3ml d'éthanol), afin de réaliser une macération pour extraire les principes actifs. Après 48 heures, 100µL d'extraits dilués sont mélangés à 500µL de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement préparé et dilué 10 fois avec de l'eau distillée (10%). Une quantité de carbonate de sodium (750 µL) est ensuite ajoutée en concentration définie aux mélanges qui sont agités. Après 10 minute à l'obscurité, La lecture de l'absorbance s'effectue sur une longueur d'onde de 760 nm et la concentration en polyphénols dans les extraits végétaux peut finalement être déterminée (Öksüz *et al.*, 2015).

II.3.6 Analyse statistique

La version d'essai du logiciel stat box végétal 6.9 permet d'analyser les résultats en utilisant l'ANOVA, qui prend en compte l'essai aléatoire. Il s'agit d'une analyse à deux facteurs de variation qui impliquent la présence de bactéries et la concentration de cuivre que ce soit pour l'essai dans un environnement *in vitro* ou *in vivo*. Lorsqu'une variation significative avec un seuil d'erreur de 5 % a été observée, l'analyse est complétée par le test de Newman et Keuls. En utilisant ce test, nous avons réalisé une comparaison des moyennes.

Résultats

&

Discussion

III. 1 Résultats

Les résultats présentés dans cette partie sont issus des essais effectués sur des graines de tomates pour mettre en évidence l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la germination ainsi que sur des plants sous stress abiotiques ; stress en cuivre .

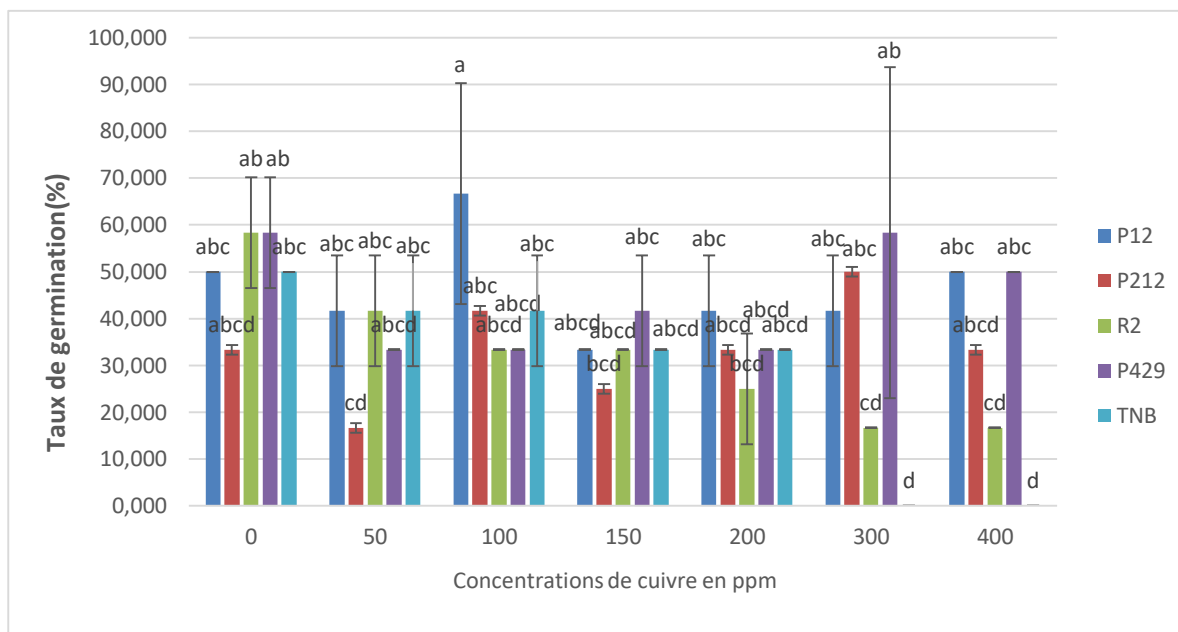
Les analyses statistiques des résultats ont montré des différences significatives pour la plupart des paramètres étudiés que ce soit pour facteur bactérisation le facteur concentration de stress et leur interaction, sauf pour la teneur relative en eau dans les racines et les feuilles et la fuite d'électrolytes des feuilles

III.1.1 Les résultats relatifs à l'essai de la stimulation de la germination *in vitro*

III.1.1.1 Effet sur le taux de germination

L'analyse de la variance a révélé une différence hautement significatif pour L'interaction entre le facteur de Bactérisation et facteur concentration de stress , Nous avons noté que le traitement P12 à 100ppm a donné la meilleur moyenne de l'ordre de 66,66% est classé dans le groupe (a) , suivi par les traitements P429 à 300 ppm , P429 à 0ppm et R2 à 300 ppm Classé dans le groupe intermédiaire (ab) avec de moyenne de 58.33% ,puis les Traitements TNB à 0 , 50 et 100 ppm , P429 à 400ppm et 150 ppm ,P12 à (0 300 400 et 200 ppm) aussi P212 à100 et 300 ppm et R2 à50 ppm sont classé Dans le groupe(abc), ensuite les traitements P212 (0 , 100 , 200 et 400 ppm) , et P429 à (50 , 100 et 200 ppm) et TNB à 150 et 200 ppm , R2 à 100 et 150 ppm sont classé dans le groupe homogène (abcd) en fin les Traitements TNB à 300 et 400 ppm avec une moyenne d'rdre de 0,00% sont Classés dans le groupe (d) (Figure 03)

Résultats et discussion



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 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 et 400ppm : Concentrations de cuivre

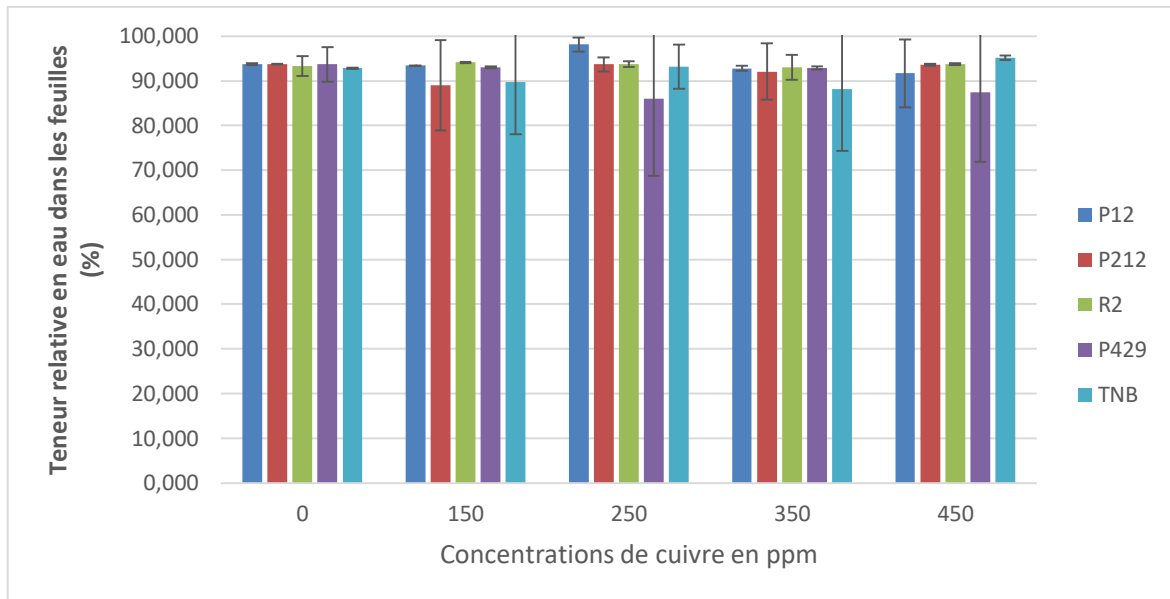
Figure 03 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de germination *in vitro*.

III.1.2. Les résultats relatifs à l'effet de stress en cuivre et de la bactérisation *in vivo*

III.1.2.1 Teneur relative en eau dans les feuilles

L'analyse de la variance pour Les facteurs bactérisation et concentration de cuivre n'ont montré aucune différence significative dans la teneur relative en eau des feuilles, avec des moyennes qui varie entre 87.42 et 98.11 % pour l'ensemble des traitements.

Résultats et discussion



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

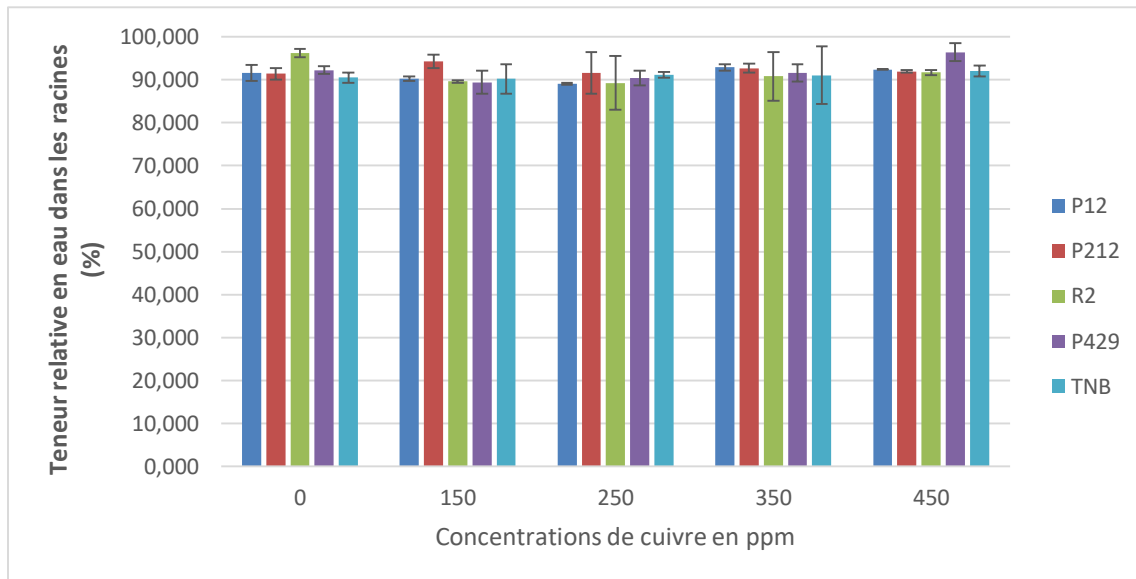
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 04 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la teneur relative en eau des feuilles *in vivo*

III.1.2.2 Teneur relative en eau dans les racines

L'analyse de la variance pour Les facteurs bactérisation et concentration de cuivre n'ont montré aucune différence significative dans la teneur relative en eau des racines avec des moyennes qui varie entre 89.11 et 96.41 % pour l'ensemble des traitements.

Résultats et discussion



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

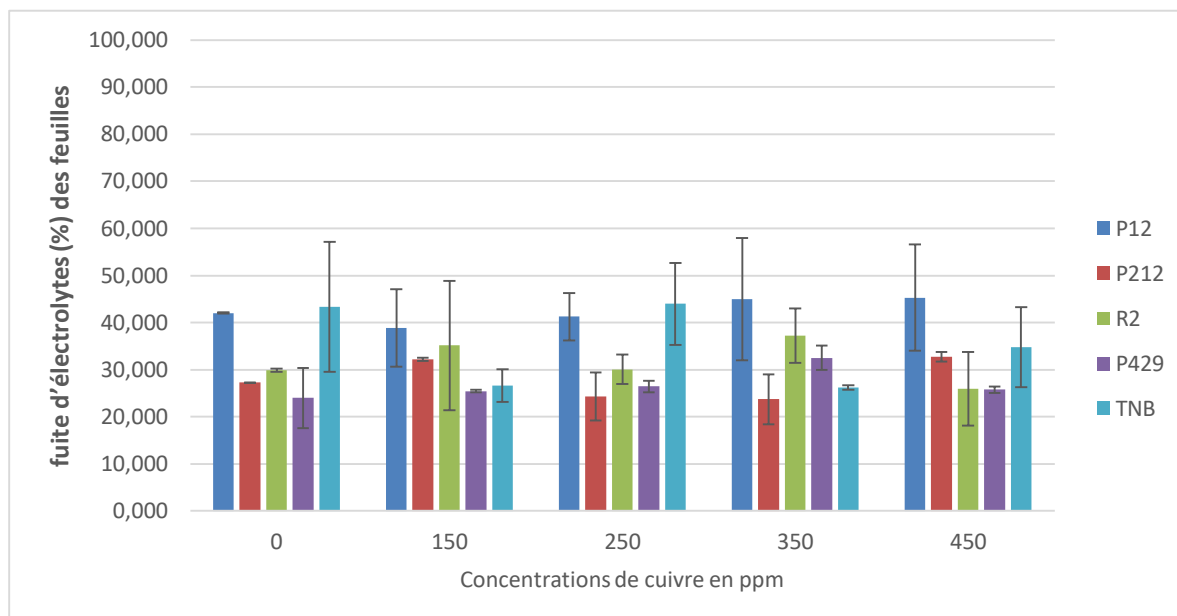
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 05 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la teneur relative en eau dans les racines *in vivo*

III.1.2.3 Fuite d'électrolyte des feuilles

L'analyse de la variance n'a pas révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et le facteur concentration de cuivre, avec des moyennes qui varie entre 23.78 et 45.28 % pour l'ensemble des traitements.

Résultats et discussion



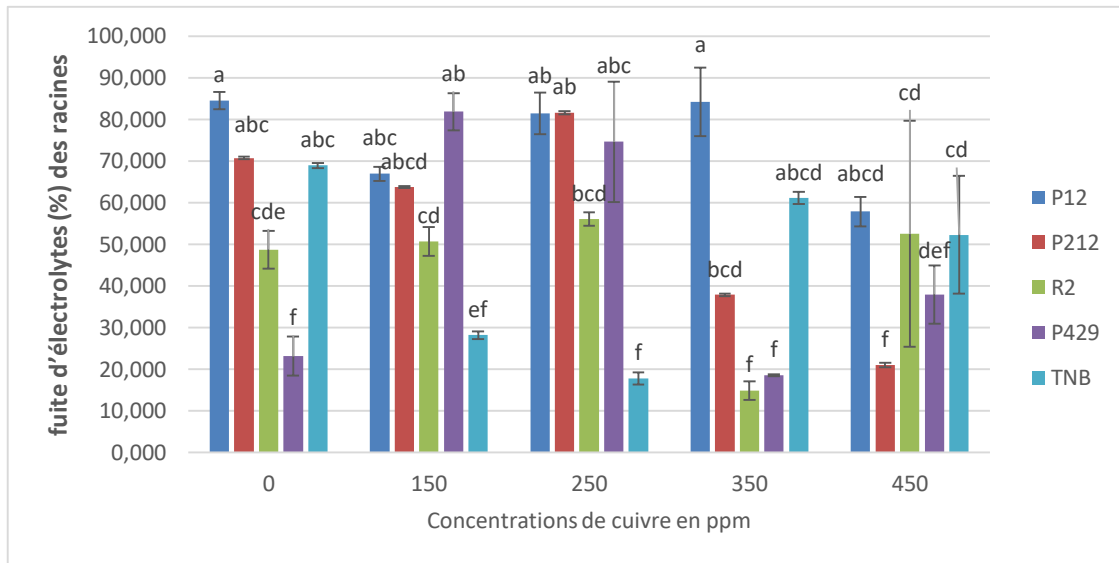
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$)
P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
TNB : témoin non bacterisé
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 06 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la fuite d'électrolytes (%) des feuilles *in vivo*

III.1.2.4. Fuite d'électrolyte des racines

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P12 à 0ppm et 350 ppm a donné la meilleure moyenne et est classé dans le groupe (a), suivi par le traitement P429 à 150 ppm et P12 & P212 à 250ppm Classé dans le groupe intermédiaire (ab), puis le traitement P429 à 250 ppm, P212 à 0ppm, TNB à 0ppm et P12 à 150 ppm sont classés dans le groupe (abc), les traitements P212 à 150 ppm, TNB à 350 ppm et P12 à 450 ppm sont classés dans le groupe (abcd), les Traitements R2 à 250 ppm et P212 à 350 ppm sont classés dans le groupe (bcd), ensuite les traitements R2 à 150 ppm, R2 et TNB à 450 ppm sont classés dans le groupe (cd), le traitement P429 à 450 et TNB à 150 sont classés dans le groupe (ef), en fin les traitements P429 à 450 ppm, P429 et R2 à 350 ppm, TNB à 250 ppm et P429 à 0ppm sont classés dans le groupe (f). (Figure 07)

Résultats et discussion



Les valeurs suivies de la même 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

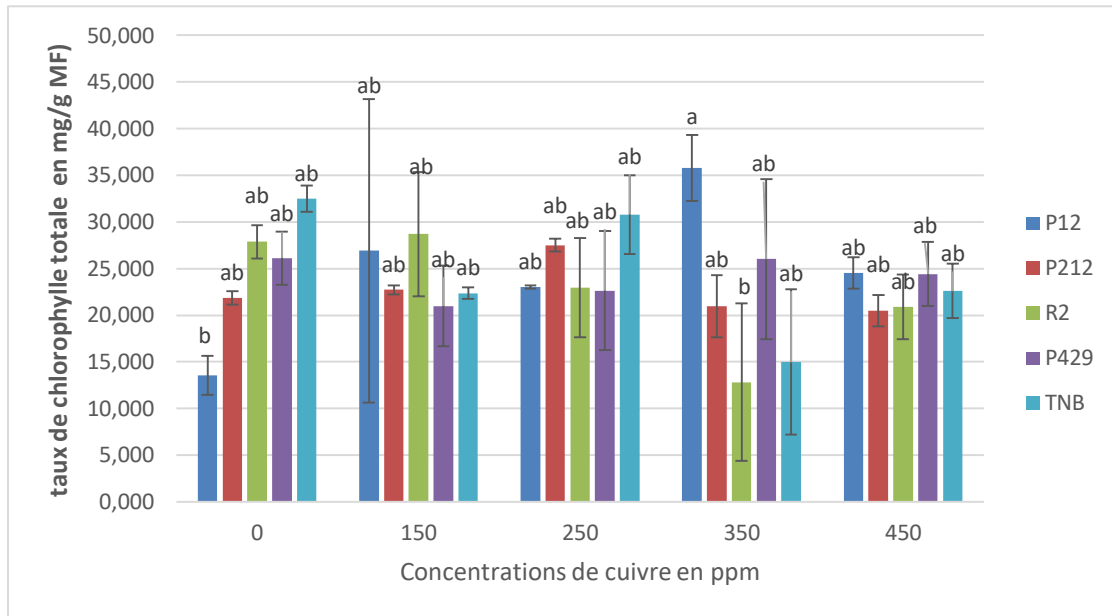
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 07: Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur la fuite d'électrolytes (%) des racines *in vivo*

III.1.2.5 Taux de Chlorophylle totale

D'après l'analyse de la variance, on observe un effet significatif pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P12 à 350 ppm a donné la meilleure moyenne et est classé dans le groupe (a) suivi par les autres traitements qui sont classés dans le groupe intermédiaire (ab), en fin les traitements P12 à 0 ppm et R2 à 350 ppm sont classés dans le groupe b) Figure (08).

Résultats et discussion



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

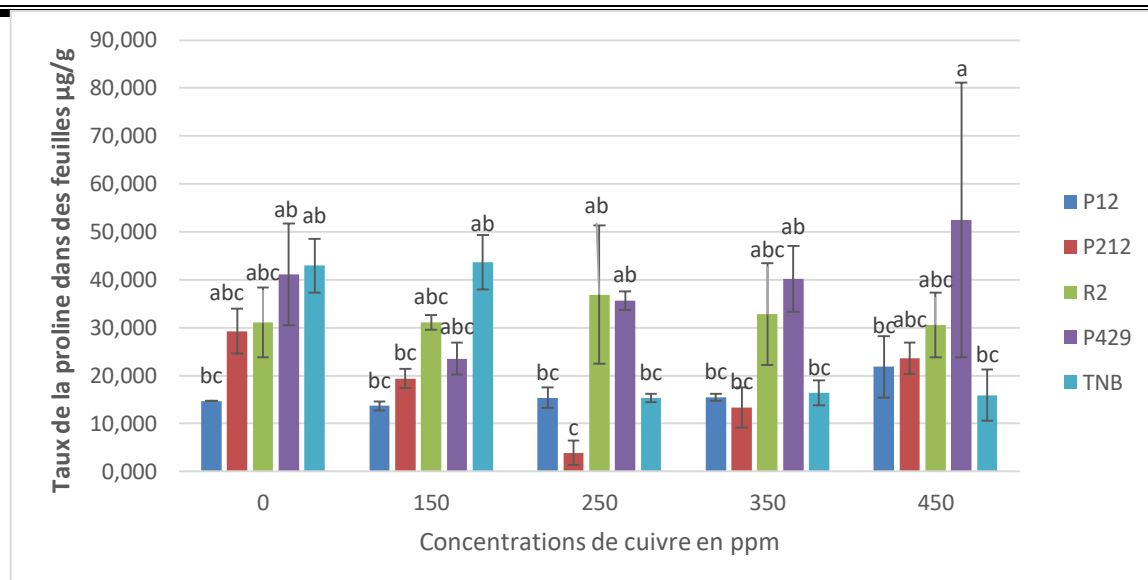
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 08 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de chlorophylle totale *in vivo*

III.1.2.6 Taux de Proline dans les feuilles

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P429 à 450ppm a donné la meilleure moyenne et est classé dans le groupe (a), suivi par les traitements P429 à 350 ppm ; P429 & R2 à 250ppm et TNB à 150 ppm et TNB & P429 à 0ppm qui sont classés dans le groupe intermédiaire (ab), puis le traitement R2 à 0; 150 ; 350 et 450 ppm dans le groupe (abc) aussi le traitement P212 à 0ppm et 450 ppm et p429 à 150 ppm dans le même groupe (abc), suivi par d'autres traitements classés dans le groupe homogène (bc) et dernièrement le groupe (c) qui contient le traitement P212 à 250 ppm. (Figure 09)

Résultats et discussion



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

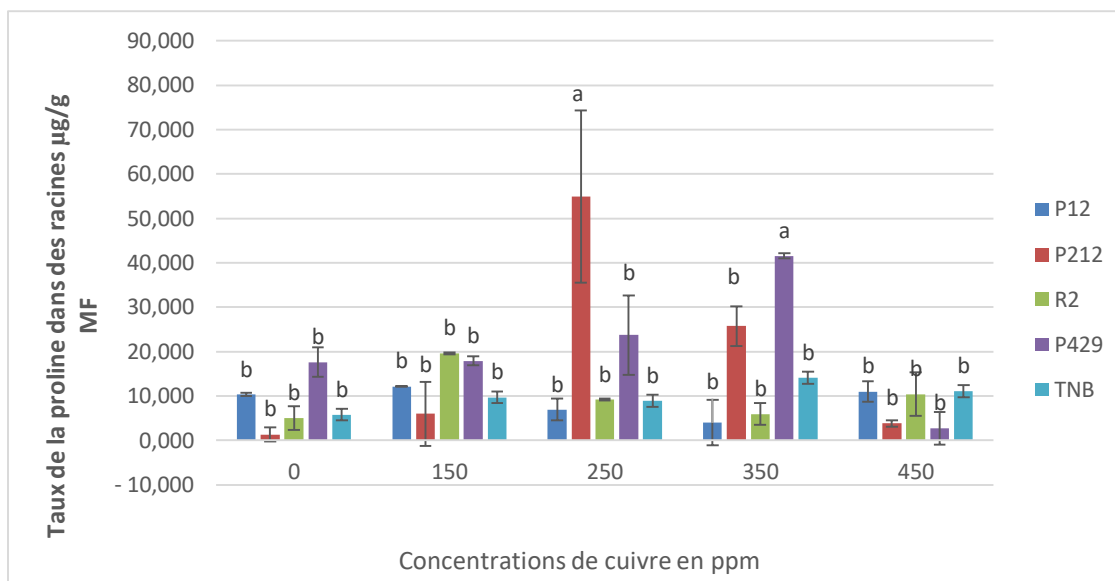
Concentrations de cuivre : 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm

Figure 09 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de la proline des feuilles *in vivo*

III.1.2.7 Taux de proline dans les racines

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P212 à 250ppm a donné la meilleur moyenne et est classé dans le groupe (a), suivi par le traitement P429 à 350 ppm Classé aussi dans le groupe (a), suivi par d'autres traitements classés dans le groupe homogène (b), la moyenne la plus basse est celle de traitement P212 à 0 ppm est classé aussi dans le groupe (b). (Figure 10)

Résultats et discussion



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

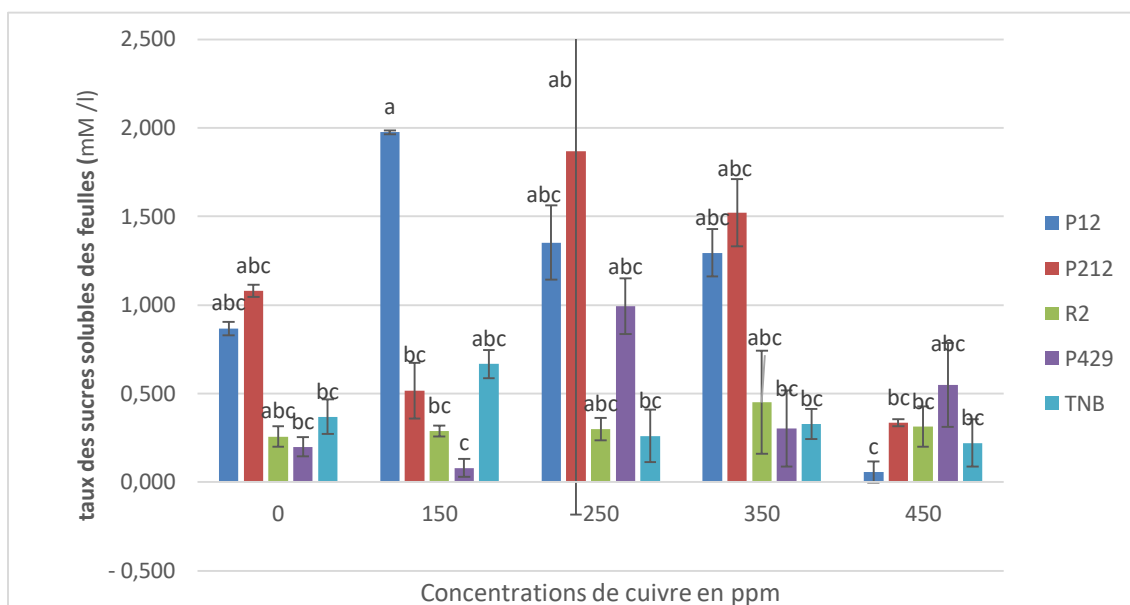
Concentrations de cuivre 0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm

Figure 10 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur le taux de la proline dans des racines *in vivo*

III.1.2.8 Taux des Sucres solubles dans les feuilles

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P12 à 150ppm a donné la meilleure moyenne et est classé dans le groupe (a), suivi par le traitement P212 à 250 ppm Classé dans le groupe intermédiaire (ab), puis le traitement P12, P212 R2 à 0 ppm, TNB à 150 ppm, P12, P429 et R2 à 250 ppm dans le groupe (abc), aussi les traitements P12, P212, et R2 à 350 ppm et P429 à 450 ppm sont classés dans le groupe (abc), la moyenne la plus basse c'est mes traitements P429 à 150 ppm et P12 à 450 ppm classés dans le groupe (c) et le reste des traitements sont classés dans le groupe homogène (bc). (Figure 11)

Résultats et discussion



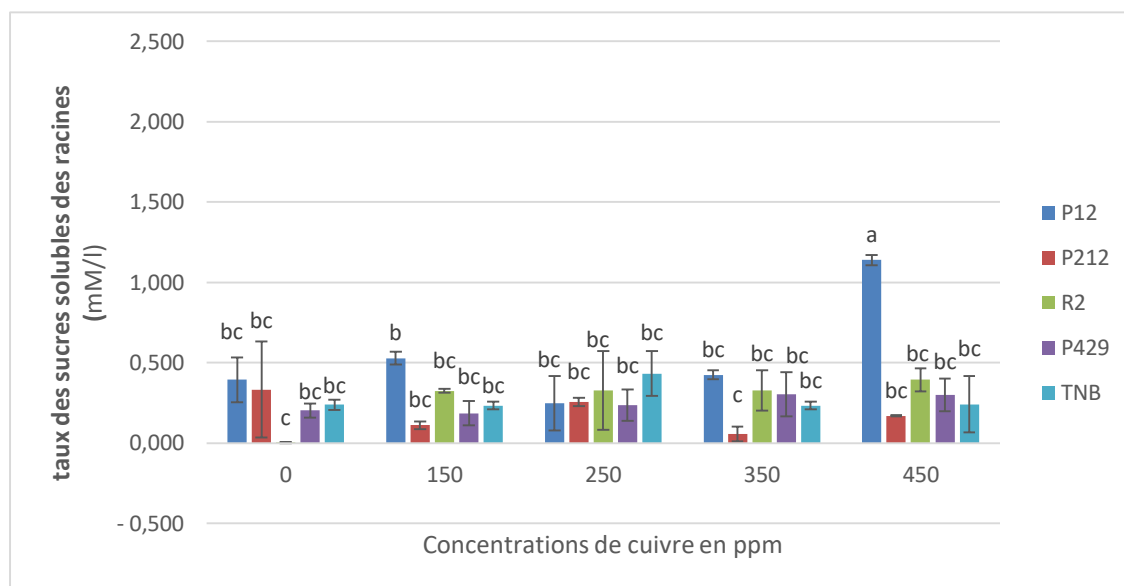
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$)
P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
TNB : témoin non bacterisé
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 11 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des sucres solubles des feuilles *in vivo*

III.1.2.9 Taux des sucres solubles dans les racines

D'après L'analyse de la variance, on observe un effet significatif pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre , Nous avons noté que le traitement P12 à 450 ppm a donné la meilleur moyenne et est classé dans le groupe (a) , suivi par le traitement P12 à 150 ppm classé dans le groupe intermédiaire (b) , puis les autres traitements qui sont Classés dans le groupe homogène (bc), et en fin les traitements P212 à 350 ppm et R2 à 0 ppm sont classés dans le groupe (c) (Figure 12).

Résultats et discussion



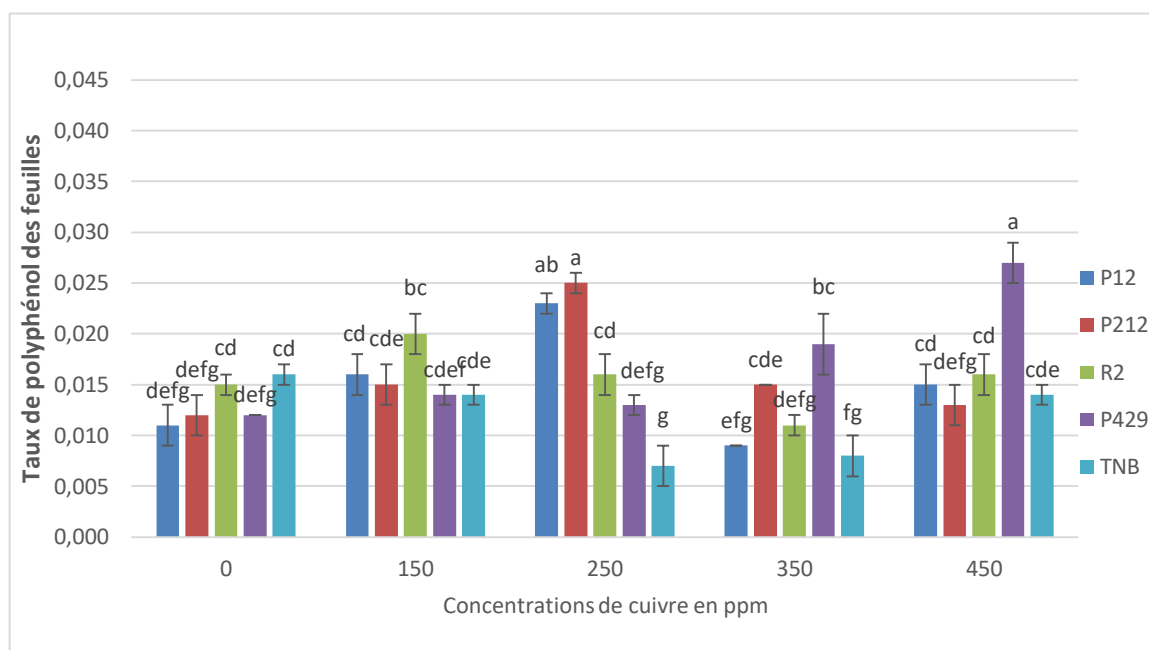
Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$)
P212 P12, P249, R2 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents,
TNB : témoin non bacterisé
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 12 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des sucres solubles des racines *in vivo*

III.1.2.10 Taux des Polyphénol dans les feuilles

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P429 à 450 ppm et P212 à 250 ppm ont donné la meilleure moyenne et sont classés dans le groupe (a), suivi par le traitement P12 à 250 ppm qui est classé dans le groupe intermédiaire (ab), puis les traitements P429 à 350 ppm et R2 à 150 ppm dans le groupe (bc). Les autres traitements sont classés dans les groupes homogènes (cd ; cde ; cdef ; defg ; efg), La moyenne la plus basse est celle de traitement TNB à 250 ppm classé dans le groupe (g) après celle de traitement TNB à 350 ppm classé dans le groupe (fg). Figure 13).

Résultats et discussion



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

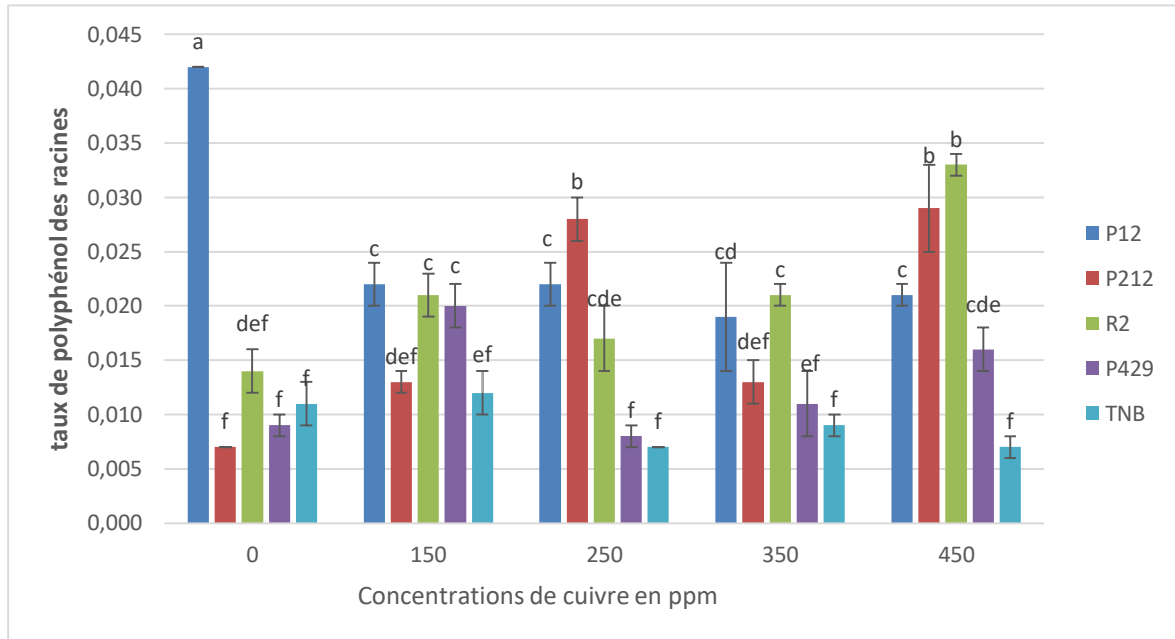
0 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 13 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux de polyphénol des feuilles *in vivo*

III.1.2.11 Taux des polyphénols dans les racines

L'analyse de la variance a révélé une différence significative pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre, Nous avons noté que le traitement P12 à 0ppm a donné la meilleure moyenne et est classé dans le groupe (a), suivi par le traitement R2 à 450 ppm, P212 à 450 ppm et 250 ppm qui sont classés dans le groupe intermédiaire (b), puis les traitements P12 à 450 ppm et 250 ppm et R2 à 350 ppm et P429, R2 et P12 à 150 ppm dans le groupe (c). Le groupe dont la dernière classe est le groupe (f) ou on trouve les traitements TNB à 0, 250, 350 et 450 ppm et le traitement P429 à 0 et 250 ppm et le traitement P212 à 0ppm (Figure 14).

Résultats et discussion



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 ; 150 ; 250 ; 350 et 450 ppm : Concentrations de cuivre

Figure 14 : Effet de l'interaction entre le facteur bactérisation et le facteur concentration de cuivre sur taux des polyphénols des racines *in vivo*

III.2 Discussion

Notre travail consiste à la mise en évidence de l'effet de biostimulation la croissance des plantes de tomate dans un substrat pollué par le cuivre par des *Pseudomonas* spp fluorescents

Selon les diverses activités réalisées durant cette étude de bioremédiation par des *Pseudomonas* spp..fluorescents, nous avons constaté que nos souches (P12) ; (P212) ; (P429) et (R2) ont la capacité de tolérée des concentrations élevées du cuivre. La croissance des plantes de tomate dans un substrat pollué par le cuivre à différentes concentrations (0 à 450 ppm)

Dans cette étude, la germination des graines de tomates a été étudiée en réponse à un stress cuivrique a sept concentrations. (0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 300 ; et 400 ppm, les résultats montrent que le taux de germination des graines est faible, il ne dépasse pas les 50% chez les témoins non bactérisés (0 ppm), il est supérieur sous l'effet des bactéries par rapport au stress sans cuivre, surtout aux concentrations. (300 ; et 400 ppm) où le le taux de germination été de 0% chez les témoins non bactérisés par rapport aux traitements bactérisés avec des taux qui varies entre 16.67 et 58.33% pour ces deux concentrations.

Ces résultats corroborent ceux trouvés par **Di Salvatore *et al.* (2008)** qui ont montré que le tégument constitue une barrière entre l'embryon et son environnement immédiat pour l'adsorption des métaux. Chez plusieurs espèces végétales, le tégument assure une très haute protection contre les stress abiotiques, et les fortes variations inter spécifiques des morphologies de ces téguments peuvent affecter leur perméabilité auxmétaux (**Moise *et al.*, 2005**).

Nos résultants de l'essai de biostimulation des plantes de tomate et bioremédiation de sol n'ont aucune différence significative pour le paramètre de teneur relative en eau, malgré que de nombreuses études ont mis en évidence une perturbation importante du statut hydrique des plantes traitées au cuivre. Elles ont principalement relevé une diminution de la transpiration, y compris à de faibles doses, ainsi qu'une diminution de la teneur en eau (**Pourrut, 2008 ; Brunet *et al.*, 2009**).

Aussi nous avons noté que nos résultats sont en désaccord à ceux indiqués par **Demirevska *et al.* (2004)**, la diminution de la teneur relative en eau sous le stress imposé par cuivre est attribuée de la transpiration de la plante. Selon **Bessoule *et al.* (2002)**, Les

Résultats et discussion

feuilles sont petites, crispées et ont une teinte vert foncé, et elles ferment leurs stomates pour limiter les pertes en eau (**Chatterjee, 2000**). Des résultats similaires obtenus par **Brunet (2008)**, montrent qu'il y a peu de différences concentrations la teneur relative en eau (RWC) des plantes légumineuses (*Lathyrus sativus* L.) traitées par le cuivre, D'autres études ont permis d'observer une diminution du taux de transpiration ainsi que du contenu en eau dans les plantes (**Iqbal et Mushtaq, 1987 ; Sharma et Dubey, 2005**).

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage de fuite d'électrolytes des racines chez les plantes stressées est supérieur à celui obtenu chez les plantes témoins et traité par les bactéries *Pseudomonas* dans les plantes de tomates ça s'explique par une altération de l'intégrité membranaire des cellules lors du stress, donc ça révèle une différence nette entre les plantes témoins et bactérisées et les plantes stressées. Car la variation des taux d'électrolytes sous différents stress, apporte une information complémentaire sur le comportement des variétés vis-à-vis ces contraintes (**Bentahar 2017**). En effet sous contraintes abiotique, la déstabilisation membranaire est dû à une désorganisation de l'ultra structure des parois provoquées par le stress. Ces altérations peuvent résulter de destructions mécaniques par plasmolyse (**Kara et Zerguine, 2016**).

La hausse significative de fuite d'électrolytes observée chez les plantes stressées signifierait que le stress en cuivre a affecté l'intégrité membranaire chez les plantes de tous les composts. Ces résultats concorde avec ceux obtenus par **Falalou (2006)**.

L'absence de différence significative entre les pourcentages de fuites d'électrolytes des feuilles des plantes pourrait s'expliquer par le fait que nous avons une différence dans les feuilles dont les protéines membranaires sont synthétisées sur la base des mêmes gènes. Les travaux de **Diop (2002)** ont mis en évidence des différences génotypiques sur l'intégrité membranaire du niebe en situation de stress.

La chlorophylle est une substance verte qui capte l'énergie lumineuse utilisée dans la photosynthèse (**Hopkins, 2003**). Elle favorise la croissance des plantes en combinant l'eau et le gaz carbonique nécessaires à la production de sucres et d'amidon, une source d'énergie essentielle pour le métabolisme de la plante (**Vallée et al., 1999**).

Résultats et discussion

Les plantes possèdent deux types principaux de chlorophylle : la chlorophylle a et la chlorophylle b. Selon **Bracket Mathis (2000)**, seule la chlorophylle A joué un rôle direct dans les réactions lumineuses chez les plantes.

Elle absorbe la lumière des régions bleu violet et rouge du spectre et la transforme en vert foncé, car elle réfléchit principalement la lumière verte. Les réactions lumineuses ne sont pas directement impliquées par la chlorophylle B, mais elle transmet l'énergie absorbée à la chlorophylle A. Ainsi, on désigne la chlorophylle B comme un pigment accessoire, et la quantité de pigments chlorophylliens est souvent employée pour évaluer l'effet de divers stress environnementaux (**Bracket Mathis, 2000**).

Nos résultats montrent une différence importante de la teneur en pigments chlorophylliens (Chlr A+B) chez la tomate dans différentes concentrations de cuivre.

Les travaux de **Jiang Wang et al. (2010)** montrent que le plomb peut diminuer le taux de la chlorophylle, mais cette diminution reste faible contrairement à la diminution observée en présence de Zn et Cu.

Les travaux de **Murkowski et Skórska (2008)**, sur *Cucumis sativa* et *Scenedesmus quadricauda* ont montré que la diminution de l'activité photosynthétique est la résultante, de l'inhibition du transport des électrons dans le photosystème deux (PSII)

Nos résultats montrent que l'interaction entre la bactérie et le cuivre, induit une augmentation hautement significative des taux de proline accumulé dans les parties aériennes et souterraines des plantes de *Lycopersicon esculentum* L. Cette augmentation avec les concentrations de cuivre fournies dans le milieu de culture des plantes. Dans les parties souterraines seule les deux traitement bacterisés par P212 et par P429 à 250 et 350 ppm respectivement ont été plus élevé que les autres traitements.

Conformément à nos résultats, une augmentation de cet acide aminé a été observée chez le *Canavalia ensiformis* sous l'effet du cuivre avec une durée d'exposition de 11 semaines, et chez *Coffea arabica* pendant 30 semaine (**Andrade et al., 2010**).

Nos résultats sont en accord avec de nombreux travaux, la proline est un acide aminé souvent considéré comme un biomarqueur de stress (**Djerroudi et al., 2010**). Sachant que la proline est une molécule organique prédominante qui joue un rôle clé dans l'ajustement osmotique sous stress, la stabilisation des structures subcellulaires, la production d'énergie

Résultats et discussion

et même la contrainte de signal associée. Au cours de la déshydratation, elle joue également un rôle dans la régulation de l'osmorégulation de la cellule et la protection des protéines, et elle peut également jouer un rôle de régulateur enzymatique en conditions de stress (**Rontain et al., 2002**).

D'après les résultats obtenus, nous avons observé un effet significatif pour l'interaction entre le facteur de bactérisation et facteur concentration de cuivre pour le dosage des Sucres solubles. Les sucres solubles, jouent un rôle central dans la structure, métabolisme et le fonctionnement des plantes. Ils sont de plus impliqués dans de nombreux mécanismes de réponse aux stress biotiques (**Ramel, 2009**). Ils peuvent jouer un rôle dans la protection des chlorophylles et des caroténoïdes contre l'agressivité du stress métallique (**Azouz et al., 2011**). **Verma et al. (2001)**, remettent cette accumulation à une adaptation très possible de la plante pour ajuster et maintenir un potentiel osmotique favorable. Ils compromettent indirectement la croissance puisque les glucides ne sont pas directement métabolisables, et d'autre part, parce qu'il est clairement établi que l'accumulation des sucres solubles totaux peut modifier certains paramètres de la photosynthèse en inhibant l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'assimilation du CO₂ (**Koch, 1996**).

Les concentrations de polyphénols dans les plantes stressées par le cuivre dans notre étude sont comparables à celles rapportées dans d'autres études. Le stress par le cuivre induit une accumulation de polyphénols en tant que réponse protectrice contre l'oxydation. Les catéchines et les flavonols jouent un rôle clé dans la défense antioxydant. (**Upadhyaya, et al., 2011**).

Les plantes d'olivier augmentent la production de polyphénols comme mécanisme de défense contre le stress oxydatif induit par le cuivre. Les polyphénols contribuent à la protection des cellules végétales contre les dommages oxydatifs. (**Sytar et Kumar, 2013**). Cela suggère que le stress par le cuivre induit de manière cohérente une augmentation de la production de polyphénols dans diverses espèces végétales.



conclusion

Conclusion

Le cuivre est essentiel pour la croissance des plantes et des animaux, mais il devient problématique en excès dans l'environnement, affectant négativement le fonctionnement des plantes jusqu'à leur mortalité.

Cette étude représente une contribution significative au domaine de la bioremédiation, particulièrement dans la lutte contre la pollution des sols par le cuivre, mettant en lumière le rôle crucial des micro-organismes de la rhizosphère. Notre objectif principal était d'évaluer l'impact positif de la bactérie *Pseudomonas* spp. fluorescente sur les substrats contaminés par le cuivre.

Nos observations ont révélé que certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, notamment P12, P212, P429 et R2, présentent une remarquable tolérance au cuivre, résistant même à des concentrations allant jusqu'à 450 ppm. Cette information est cruciale pour sélectionner les souches adaptées à la biorestauration des sols contaminés par le cuivre.

Nous avons également constaté un effet positif significatif de la bactérisation par ces souches sur la germination sous l'effet du cuivre, comparativement aux témoins non bactérisés. Cependant, aucun effet notable n'a été observé sur le taux de rétention en eau (TRE) ni sur la fuite d'électrolytes (%) des feuilles, bien que cette dernière ait été observée au niveau des racines.

De plus, aucun des traitements bactérisés n'a eu d'effet significatif sur le taux de chlorophylle totale, sauf dans trois cas particuliers. Nous avons également noté des niveaux plus élevés de proline dans les feuilles par rapport aux racines, ainsi que des augmentations des sucres solubles et des polyphénols dans les racines et les feuilles des traitements bactérisés par rapport aux témoins non bactérisés, pour chaque concentration de cuivre testée.

En conclusion, nos recherches soulignent l'importance des *Pseudomonas* spp. fluorescents comme outils essentiels pour la biorestauration des sols contaminés par le cuivre. Elles mettent en avant l'optimisation de leur application pratique et l'avancement des stratégies pour une remédiation efficace et durable des sols.

Dans le cadre de ce projet, nous avons apporté plusieurs contributions précieuses. Cependant, il reste des aspects et des domaines potentiels à approfondir.

Références bibliographique

Références bibliographique

- ❖ Allaire, M. 2005. Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères des conifères en pépinière et en milieu naturel. Thèse Mag, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Univ. Laval Québec
- ❖ Anonyme 2020: <http://ephytia.inra.fr/fr/C/5158/Tomate-Necrose-apicale-sur-fruits>.
- ❖ Anonyme 2020: <http://www.algerie-dz.com/forums/showthread.php?t=431307>.
- ❖ Barazani, O. and Friedman, J., 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria. *J. Chem. Ecol.* 25: 2397-2406.
- ❖ Benard C., 2009. Étude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en poly-phénols chez la tomate. Thèse de doctorat. Nancy Université- INRA Agronomie et Environnement, p 265.
- ❖ Becker, J.O., Cook, R.J. 1988. Role of siderophore on suppression of *Pythium* species production of increased-growth response of wheat by fluorescent *Pseudomonas*. *Phytopathology.*, 78: 778-782
- ❖ Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L., 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.
- ❖ Brunet J, 2008 : Adaptation aux métaux lourds d'une Fabacee (legumineuse) : Reponses phénologique et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. Thèse de doctorat, Université Paris Est, p231.
- ❖ Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63 : 1670-1680
- ❖ Cervantes, C., & Gutierrez-Corona, F. (1994). Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 14(2), 121-137.
- ❖ Chauv C et Foury C, 1994. Productions légumières. Tome 3. Légumineuses potagères – Légumes Fruits. Coll. (agriculture d'aujourd'hui : Sciences, Techniques, Applications) Tec & Doc. Lavoisier, Paris, France. 563p.
- ❖ Cohen, M.F., Yamasaki, H. and Mazzola, M., « Brassica napus seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot », *Soil Biology and Biochemistry*, n° 37, 2005, pp.1215 - 1227.
- ❖ Cook, R., Baker, K. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. Freeman, San Francisco, CA, USA. P 380.
- ❖ Crosa, J.H. et Walsh, C.T., 2010 Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66: 223-249
- ❖ Dahdah, K., Rai, A., Bensidhoum, L., Schmid, M., Hartmann, A et Nabt, E., 2015. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 9, N°1: 1-19

Références bibliographique

- ❖ Davet, P., « Vie Microbienne du sol et production végétale », INRA, Paris, France, 1996, pp.383.
- ❖ Euzéby, J.P. 2008. List of Prokaryotic Names with Standing in nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>.
- ❖ FAOSTAT., 2016 Base des données des statistiques de l'organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- ❖ Gallais A et Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères de sélection. INRA, Paris. 765p.
- ❖ Gholami, A., Biyari, B.A., Ghilipour, M., Asadi Rahmani, H. (2012). Growth promotion of maize (*Zea mays* L.) by plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *communications in soil science and plant analysis*, 43(9), 1263-1272.
- ❖ Giuffrida, F., Cassaniti, C., Leonardi, C., & Grutta, C. (2013). Iron and copper bioavailability in soilless culture of tomato: a comparison between inorganic and chelated forms. *Journal of Plant Nutrition*, 36(9), 1306-1315.
- ❖ Haas, D. and Défago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.
- ❖ HERAULT, B. (2015). Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes, CENTRE D'ETUDES ET DE PROSPECTIVE, Analyse N° 79, p02. pdf
- ❖ Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T., 1994. Genus *Pseudomonas*. (Eds) *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Williams and Wilkins, pp. 93-94.
- ❖ Holt, J.G. 1994. *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology*
- ❖ Karabaghli, C., Sotta, B. et Gay G. 1997. Hormones fongiques, ectomycorhizes et rhizogénèse. *Rev. For. Fr.* XLIX -n° sp.
- ❖ Keel, C., U. Schinder, M. Maurhofer, C. Voissard, J. Laville, P. Burger, P. Wirthner, Haas, D. and Défago, G., 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 importance of the secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5: 4-13
- ❖ Kim, K.Y. and McDonald, G.A., 1998. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Fert. Soils* 26 : 79-87
- ❖ Kloepper JW, Scher FM, Laliberte M, Tipping B, 1986. Emergence promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. In: Iron, siderophores and plant

Références bibliographique

- diseases (TRSwainburne, ed) NATO ASI Series A, Life Sci, Plenum Press, New York, 351, 155-164.
- ❖ Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. Conf. Plant Pathogen. Bacteria. Angers France, 2: 879-882.
 - ❖ Kloepper, J. W., J. Leong, M. Teintze, and M. N. Schroth. 1980. *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease suppressive soils. *Current Microbiology* 4: 317-320.
 - ❖ Iavicoli, A., Boutet, E., Buchala, A., Métraux, J.-P., 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular Plant– Microbe Interactions* 16: 851–858.
 - ❖ Laumonier R, 1979 : Les cultures légumières et maraichères, tome III. 3ème édition. Collection (Encyclopédie Agricole) Editions J-B. Baillière, Paris, France, 276p
 - ❖ Maksimov, IV., Abizgil'dina, R.R and Pusenkova, L.I ., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review). *Appl Biochem Microbiol* 47 : 333-345
 - ❖ Mavrodi, D.V., Ksenzenko, V.N., Bonsall, R.F., Cook, R.J., Boronin, A.M. and Thomashow, L.S., 1998. A seven-gene locus for synthesis of phenazine-1-carboxylic acid by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *J. Bacteriol.* 180: 2541–2548.
 - ❖ Meyer, J.M. and Abdallah, M.A., 1978. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107:319-328.
 - ❖ Marschner, H. (2011). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press.
 - ❖ Neilands, J.B., 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Bio. Chem.* 270 : 26723–26726
 - ❖ Palleroni, N.J., Kunisawa, R., Contopoulou, R. and Doudoroff, M., 1973. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23: 333–339.
 - ❖ Palleroni, N.J. and Moore, E.R.B., 2004. Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. In "*Pseudomonas*", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis, pp. 3-44.
 - ❖ Palleroni, N.J., 2005. Genus I. *Pseudomonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.
 - ❖ Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48 : 635-642.
 - ❖
 - ❖ Peix, A Rivas, R., Mateos, P.F., Martinez-Molina, Rodriguez- Barruco, C and Velazquez, E., 2003. *Pseudomonas Rhizosphaerae* sp. Nov., a novel species that actively

Références bibliographique

- ❖ solubilizes phosphate in vitro. *Int. j. syst. Evol microbial.*53:2076-2072.
- ❖ Plassard, C., Robin, A., Le Cadre-Barth_ely, E, Marsden,C., Trap,J., et al.Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol. *Innovations Agronomiques, INRA, 2015, 43: 115-138.*
- ❖ Polese J.M., 2007 : La culture des tomates. Institut nationale de recherche Agronomique.N° d'édition 84416.
- ❖ POVERO.G, Mejia J.F., Di Tommaso D., Piaggese A., Warrior P. (2016). A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants. *Frontiers in Plant Science, vol. 7 pp.435. .pdf*
- ❖ Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2010). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology, 28(3), 142-149.*
- ❖ Ratledge, C. and Dover, L.G., 2000. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu.Rev. Microbiol. 54: 881–941.*
- ❖ Rey Y et Costes., 1965 : La physiologie de la tomate, étude bibliographique
- ❖ Salisbury, F.B., 1994. The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions.*Wilkinson, R.E. ed. Marcel Dekker, New York, USA: 39-81.
- ❖ Shabbir, Z., Sardar A., Shabbir A., Abbas G., Shamshad S., Khalid S.,Natasha N., Murtaza G., Dumat C., Shahid M. 2020. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment, *Chemosphere. 259, 127436. doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127436.*
- ❖ Shankara N., Josep Van Lido de J., Marja G., Martin H., Barbara Van Dama., 2005: la Sharifi, R.S. (2011) Study of grain yield and some of physiological growth indices in maize (*Zea mays L.*) hybrids under seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *J Food Agri Environ 189: 3-4*Sharifi, R.S. (2012) Study of nitrogen rates effects and seed biopriming with PGPR on quantitative and qualitative yield of Safflower (*Carthamus tinctorius L.*). *Tech J Eng Appl Sci 2: 162-166.*
- ❖ Sharma, A., Kawarazaki, H., Borza, T., Inoue, K., Choi, H. S., & Yoon, G. M. (2018). Phosphorus deficiency in plants: signaling and regulatory mechanisms. *Annals of Plant Reviews Online, 217-238.*
- ❖ Snoussi S.A., 2010. Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission. Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52p.
- ❖ Sturz, A.V. et Christie, B.R., « Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria », *Soil and Tillage Research, n° 72, 2003, pp.107 - 123*

Références bibliographique

- ❖ Teintze, M., Hassain, M. B., Baines, C. L., Leong, J. and van der Helm, D., 1980. Structure of ferric Pseudobactin a sidérophore from plant growth promoting *Pseudomonas*. *Biochem.* 20 : 6446-6457
- ❖ Thomashow, L.S., Bonsall, R. and Weller, D.M., 1997. Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ. *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, D.C : 493–499.
- ❖ UE, 2019. Règlement 1009 du Parlement européen et du Conseil du 5 juin 2019 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les règlements (CE) no1069/2009 et (CE) no1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) no2003/2003 (JO L 170 du 25.6.2019, p. 1
- ❖ Verolet J-F., Raffin R., Jagu L. et Berry D. (2001). Tomate sous grand tunnel froid, Fiche technique, 9p
- ❖ Vessey, K. J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571–586.
- ❖ YAKHIN.O, LUBYANOV.A, YAKHIN.I, BROWN P. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers In Plant Sciences*, Vol. 7, Article 2049.pdf
- ❖ <https://WWW.Centre-Developpement-Agroecologie.fr/les-biostimulants-quels-beneficesagroecologiques/>
- ❖ <https://WWW.Wikiagri, 2018. Blog d'entreprise, Les biostimulants aujourd'hui>