REPUBLIQUEALGERIENNEDEMOCRATIQUEET POPULAIRE

MINISTEREDEL'ENSEIGNEMENTSUPERIEUREETDELARECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITEDE MEDEA

FACULTEDES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par :

MINI ROUMAISSA

OULD- ROUIS RANIA

Thème :

Contribution à l'étude comparative des microorganismes de la rhizosphère et la phyllosphère d'*Helianthus annus(tournesol)*

Soutenue publiquement le : /06/2025, Devant le jury composé de :

Licir M.	**MAA**	U.Médéa	Président
Kaaboub E.	**MCB**	U. Médéa	Examinateur
Chami B.	**MAA**	U.Médéa	Encadreur
Touzout N.	**MCB**	U. Médéa	Co-Encadreur

Remerciements :

Avant de commencer, nous voulons remercier Dieu le Tout-Puissant de nous avoir guidés tout au long de ces années d'études, car Il nous a donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur **CHAMI Bouaaza**, **notre encadrant**, pour sa précieuse aide, ses conseils éclairés et son accompagnement tout au long de ce travail. Sa disponibilité, sa rigueur scientifique et sa bienveillance ont grandement contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à Monsieur **TOUZOUT**, notre **co-encadrant**, pour son appui, ses remarques pertinentes et son suivi régulier, qui ont été d'un grand apport pour la réalisation de ce travail.

Un grand merci aux membres du jury**, Licir Mourad** et **Kaaboub El aid** , d'avoir accepté de juger ce travail

Nous remercions également l'ensemble du corps enseignant du département, Faculté des Sciences de l'Université de Médéa, pour la qualité de l'enseignement dispensé au cours de notre formation, ainsi que pour leur soutien académique et humain.

Nos sincères remerciements vont également aux ingénieures de laboratoire pour l'accueil chaleureux, l'assistance technique et l'environnement de travail favorable qu'ils nous ont offerts durant la phase expérimentale de ce travail.

.

Dédicaces :

À Maman que j'adore (NACHIDA) :

la première école de ma vie.

Ton amour inépuisable, ta tendresse silencieuse et ta force de chaque instant ont été les piliers invisibles de mon parcours.

Tu as su me porter quand je doutais, me relever quand je tombais, et m'aimer sans jamais attendre en retour.

Ce travail est le reflet de tes prières, de tes nuits blanches, et de ton cœur immense. Rien n'aurait été possible sans ton abnégation.

À mon père l'homme de ma vie (Mohammed) :

Homme de sagesse, d'honneur et de persévérance.

Ta foi en mes capacités, ta discrétion rassurante, ton exemple d'intégrité m'ont forgé(e) bien au-delà des mots.

Tu m'as appris que la dignité ne fait pas de bruit, et que le vrai courage est souvent silencieux.

Ce mémoire porte l'empreinte de tes valeurs

À mon frère la première joie la famille (Oussama) :

Présence fraternelle

Merci pour tes mots simples, ta patience et ton regard qui comprend sans juger.

Tu as été pour moi un refuge dans les moments de fatigue, un souffle d'encouragement dans le doute.

Ta confiance m'a donné la force d'avancer

Rania

Dédicaces :

À celle dont les prières, dans le silence de la nuit, ont veillé sur moi,

À celle qui m'a offert de sa vie, de sa santé et de son confort, sans jamais rien attendre en retour…

À ma mère bien-aimée, Fatima Zahra, mon paradis sur terre,

Source de tendresse, lumière de mon cœur, paix de mon âme…

Chaque mot de ce travail est le fruit de ton sacrifice, et chaque réussite que j'obtiens est une bénédiction née de tes prières.

Je demande à Dieu de me permettre de te rendre heureuse, de t'accorder la santé, la sérénité, Son agrément et le tien.

Maman, aucun mot ni aucune page ne suffira jamais à exprimer ce que tu représentes pour moi.

À mon père, Ali, mon pilier et mon soutien,

Toi qui as semé en moi la confiance et la persévérance,

Que Dieu te récompense grandement, te bénisse et te donne longue vie.

À mon frère Abdelwahab, compagnon d'enfance et appui dans les moments difficiles,

Reste comme tu as toujours été : le meilleur des frères et le plus fidèle des amis.

À ma sœur Safia, ma complice et mon miroir bienveillant,

Merci d'être toujours là, avec ton amour silencieux et ta chaleur.

À mes grands-parents, au cœur pur et aux prières sincères,

Que Dieu vous récompense et vous accorde une longue vie.

À mes chères tantes maternelles, douces brises de tendresse et de miséricorde,

Que Dieu emplisse vos vies de bonheur, comme vous avez empli mon cœur d'amour et de paix.

À ma tante paternelle, Jmiaa, par ta bienveillance et tes prières,

Tu as été un précieux soutien dans ton silence et ta bonté. Que Dieu te préserve.

À Karima, épouse de mon oncle maternel,

Présente par ta tendresse et tes paroles douces,

Tu as été pour moi comme une seconde mère dans bien des moments. Que Dieu te récompense pour tout le bien que tu m'as offert.

À tous ceux qui m'ont soutenu, par une parole, une prière ou un geste d'amour sincère…

Je vous dédie ce travail, avec mon cœur avant ma plume, et avec ma gratitude avant mes mots.

Roumaissa

Sommaire

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur la rhizosphère 4
2. La rhizosphère 4
3.Les rhizobactéries 5
3.1. Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes 6
3.2. Diversité taxonomique des PGPR 6
3.2.1. Proteobacteria 7
- Alphaproteobacteria 8
-Betaproteobacteria 8
-Gammaproteobacteria 8
3.2.2. Actinobacteria 9
3.2.3.Firmicutes 9
4.Mécanismes de promotion de la croissance des plantes..... 9
4. 1. Mécanismes directes 10
4.1.1. Faciliter de l'acquisition des ressources 10
a). La fixation de l'azote 10
b). Solubilisation des phosphates insolubles 10
4.1.2. Production de phytohormones 11
a) Cytokines 12
b) Gibbérellines..... 12
c) Auxines : Acide indole acétique (AIA)..... 13
d) Ethylène et ACC (aminocyclaparapane 1carboxylic acide) désaminas..... 13
e) Acide abscissique..... 14
f) production de sidérophore..... 14
4.2. Mécanismes indirectes..... 15
4.2.1 Antibiose..... 15
a) Production des antibiotiques..... 15
b) Production des enzymes lytiques..... 16
4.2.2. Production des VOCs (volatile organique compound)..... 16
4.2.3. Induction de la résistance systémique..... 16
4.2.4. Compétition pour les nutriments..... 18
4.2.5. Production du cyanure d'hydrogène 18
5. Utilisation des PGPR dans l'agriculture..... 19
5.1. Biofertilisation..... 20
5.2. Phytoremédiation..... 20
5.3. Bioprotection ou phytostimulation..... 21
6. Modulation des effets du stress environnemental..... 22
6.1. Définition de la salinité..... 22
6.2. La tolérance des rhizobactéries vis-à-vis le stress salin..... 23
6. 3. La sécheresse..... 24
6.3.1 stress hydrique 24
6.3.2 PGPR et tolérance au stress hydrique 25
7. La phyllosphère 25
7.1.Définition de la phyllosphère..... 25

7.2. Microbiologie de la phyllosphère..... 26
7.3.propriéte microbienne 27
7.4. Rôle écologique 28
7.5. Écologie d'habitats..... 29
7.6.fonctionnement..... 30
7.7fixation d'azote atmosphérique 31
7.8. La nutrition minérale 31
7.9 protection de la plante 32
7.10Défaillance des microorganismes 32
8. *Helianthus annus* 34
8.1. Description botanique 34
8.2. Origine 35
8.3.Morphologie 36
8.4.Culture 36
8.5.Reproduction 37
8.6. Utilisation..... 41
8.6.1. Alimentation humaine..... 41
8.6.2.Alimentation animale... 42
8.5.6.Biocarburants 43

Chapitre II : Matériel et méthodes

I .la rhizosphère 47
I.1. Lieu et description de l'étude..... 47
I.2.Matériel végétale 47
I.3.Méthodes 47
a-le Poids sec aérien des plantes 47
b- préparation de la solution mère 47
c-Isolement des souches 48
c-1 Préparation des dilutions 48
c.2.Ensemencement 48
d . Mesure de la densité des bactéries totales cultivables 49
e. Conservation des isolats.....49
f. Identification des isolats de la rhizosphère 49
1.Etude macroscopique 49
2-Etude microscopique 49
2.1.coloration de Gram 49
c.2-2-Examen à l'état frais..... 50
d.Observations microscopiques 50
e-Etude biochimique et physiologique 50

e-1-Production de pigments 50
e-1-1-Détection de pyoverdine.....50
e-1-2- Détection de pyocyanine 50
e-1-3-Détection des rhizobiums.....50
e-2- Etude des enzymes respiratoires 50
e-2-1- Recherche de la catalase.....51
e-2-2- Recherche de l'oxydase 51
e- 3-Analyse des caractères PGPR.....51
e.3.1.Dosage de l'acide Indole acétique (AIA).....51

e.3.2.minéralisation du phytate.....51
e.3.3. Fixation d'azote.....52

e.3.4. Production d'ammoniac (NH3).....52
II. La phyllosphère 52
II.1. Echantillonnage de la partie aérienne.....52
II.1.1. Stratégie de prélèvement des feuilles.....52
II.1.2. Conservation des feuilles 52
II.2.Préparation des milieux et des solutions pour l'isolement 52
II.2.1. Les milieux de cultures 53
La gélose nutritive 53
Le bouillon nutritif.....53
II.2.2. Préparation des solutions 53
II.2.2.2 La série des dilutions 53
II.3. Isolements de la flore microbienne 53
II.3.1. Isolements en absence d'antifongique 54
II.3.1.1. Purifications 54
II.3.1.2. Caractérisation morphologique des isolats 54
a . Observation macroscopique des colonies bactériennes 54
b. Observation microscopique 54
b.1. Coloration au bleu de méthylène ou chlorure de méthylthioninium 54
b.2. Coloration de Gram 54
II.3.2. Isolement en présence d'un antifongique (ATF).....55

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Etude descriptive de la plante hôte..... 56
I.1.1.Le poids sec aérien des plantes 56
I.1.2.Le poids sec racinaire des plantes 56
II.La rhizosphère.....57
II.1. Densité des bactéries totales cultivables.....57
II .2 Etude macroscopique 58
II.3. Etude microscopique.....58
II.4. Etude biochimique et physiologique 59
II.4.1. Production de pigments.....59
II.4.1.1. Détection de pyoverdine 59
II.4.1.2. Détection de pyocyanine ... .60
II.5. Croissance des isolats de Rhizobium sur milieu YMA 60
II.6. Etude des enzymes respiratoires..... 61
II.6.1.La catalase 61
II.6.2. L'oxydase 61
II.6.3. Analyse des caractères PGPR.....61
II.6.3.1. Production de l'acide indole acétique (AIA).....61
II.6.3.2.La minéralisation du phytate.....62
II.6.3.3. Fixation d'azote 63
II.6.3.4. Production d'ammoniac.....63
III. La phyllosphère 64
III.1. Mise en évidence des microorganismes phyllosphériques 65
III.1.1. Analyse macroscopique sur la gélose nutritive 65
III.1.1.2. Dénombrement des microorganismes en absence de l'ATF 65
III.1.1.3. Dénombrement des microorganismes en présence d'un ATF..... 66

III.1.2. Observation microscopique 67
III.1.2.1. Coloration de bleu de méthylène et coloration de gram 67

IV. Conclusion 69

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Densité des bactéries de la rhizosphère des plants de tournesol recensées sur milieu LB.....57

Tableau 02 : Les principaux caractères morphologiques des isolats de la rhizosphère de tournesol.....58

Tableau 03 : La coloration Gram des différents isolats de la rhizosphère.....59

Tableau 04 : Critères macroscopiques des colonies de différents microorganismes de la phyllosphère.....65

Tableau05 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en absence de l'ATF.....66

Tableau06 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en présence de l'ATF.....66

Liste des figures :

Figure 01 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère 5

Figure 02 : PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique 7

Figure 03 : Fonctions biologiques des sidérophores 15

Figure04 : Stratégies des PGPR pour améliorer l'architecture des racines et la croissance globale des plantes sous stress abiotiques.....24

Figure 05 : Fonction écologique du microbiome de la phyllosphère.....28

Figure 06 : Certaines des fonctions importantes des bactéries de la phyllosphère.....31

Figure07 : Différents modes d'action des agents de biocontrôle microbien
dans les interactions interspécifiques entre la plante (hôte), le pathogène et les agents de lutte.....34

Figure 08 : Structure de la graine de tournesol.....38

Figure 09 : Etapes de germination de tournesol. 39

Figure 10 : Levée de tournesol.....39

Figure 11 : Plante de tournesol a la maturité.....40

Figure 12 : Florescence et maturation des grains chez le tournesol.....41

Figure 13 : Production de biocarburants à partir de tournesol.....46

Figure 14 : Les plants de tournesol récolté dans la phase de floraison (Photos personnelle) ...47

Figure 15 : Préparation de la solution mère (SM)..... 48

Figure 16 : Préparation des dilutions D1, D2, D3, D4 à partir de la solution mère SM.....48

Figure 17 : Ensemencement des dilutions sur les milieux LB et NBRIP.....49

Figure 18 : Procédure de l'échantillonnage des feuilles (phyllosphère).....52

Figure 19 : Série de dilutions de la solution mère.....53

Figure20 : Isolement des microorganismes de phyllosphère dans milieu BN en présence d'ATF (couleur trouble observée).....55

Figure 21 : Biomasse des plants de tournesol utilisé dans l'expérimentation.....56

Figure 22 : Le nombre de colonies bactériennes des différentes fractions de la rhizosphère d'*H. annus* après incubation sur milieu LB.....57

Figure 23 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.....60

Figure 24 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV.....60

Figure 25 : Apparition des colonies de Rizobium sur milieu YMA.....61

Figure 26 : Production de l'AIA dans le milieu LB additionné de L Tryptphane.....62

Figure 27 : Croissance des isolats sur milieu NBRIP.....63

Figure 28 : croissance des isolats sur milieu Ashby.....63

Figure 29 : Test de production d'ammoniac par les isolats de la rhizosphère de la plante.....64

Figure30 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en absence de l'ATF.....66

Figure 31 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en présence de l'ATF.....67

Figure 32 : Observation microscopique des cellules bactériennes Gx 1000.....68

Liste des abréviations

UFC : Unité Formant Colonie

LB : Milieu Luria Bertani.

NBRIP : Institut National de Recherche Botanique

IAA : Indole Acide Acétique

PGPR : Plant growth promoting rhizobacteria

UV : Ultraviolet

YMA : yeast mannitol agar

ATF : Antifongique

VOCs : Volatile Organique Compound.

RP: rhizoplan

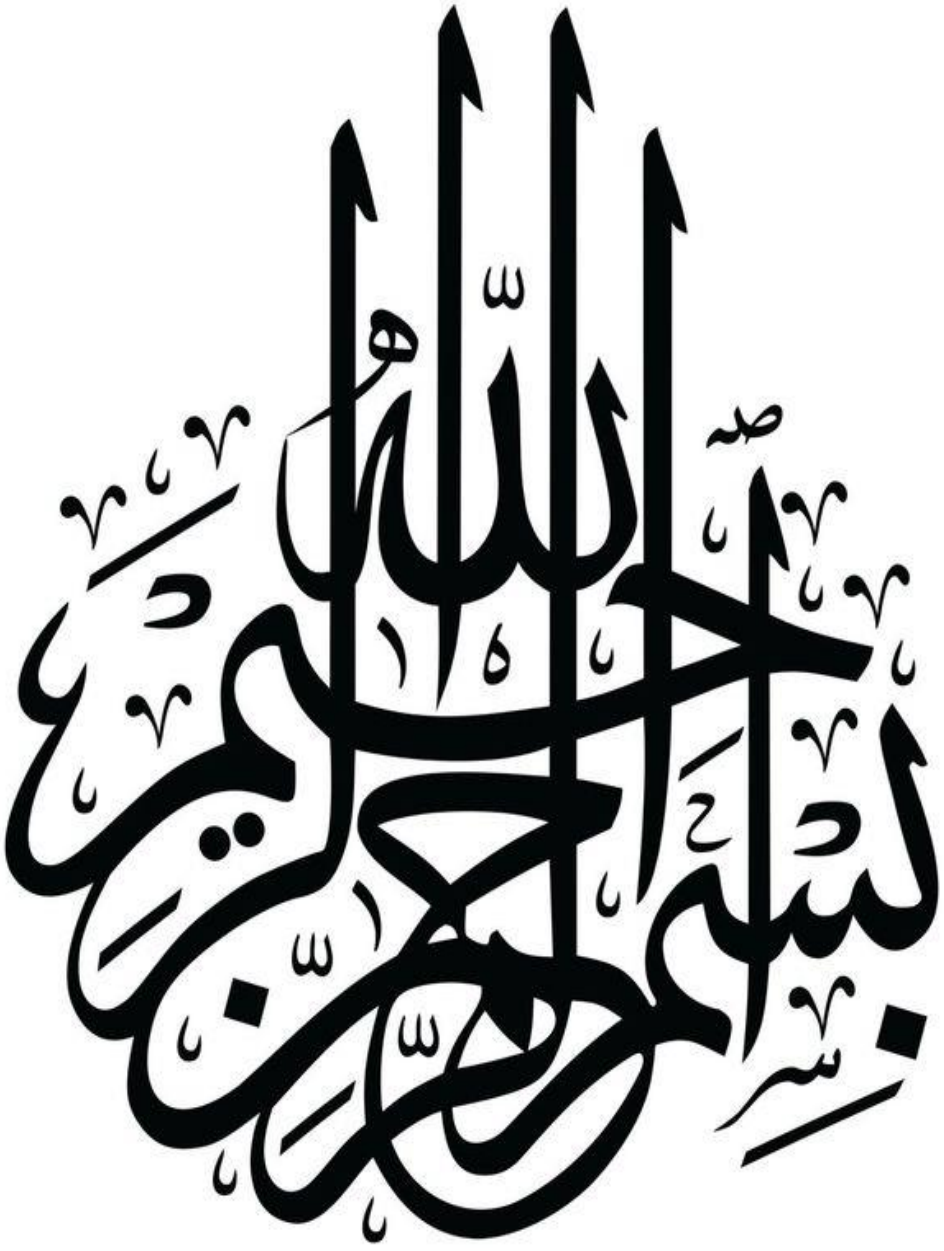
SNR : sol non rizsphérique

SR : sol rizosphérique

PSA : poids sec aérienne

PSR : poids sec racinaire

GES : Gaz à Effet de Serre**.**


بسم الله الرحمن الرحيم

Résumé :

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la microbiologie appliquée, et a pour objectif principal la comparaison des communautés microbiennes présentes dans deux compartiments écologiques distincts de Helianthus annuus (tournesol) : la rhizosphère, zone influencée par les racines dans le sol, et la phyllosphère, c'est-à-dire la surface aérienne de la plante, notamment les feuilles.

Les analyses ont montré que la rhizosphère présente une diversité bactérienne plus riche et plus complexe que celle de la phyllosphère. Ce compartiment, en contact étroit avec les exsudats racinaires, est fortement colonisé par des genres microbiens connus pour leur rôle bénéfique dans le développement végétal, comme Bacillus, Pseudomonas, Azospirillum et Rhizobium. Ces bactéries, classées comme rhizobactéries promotrices de croissance (PGPR), agissent à travers plusieurs mécanismes :

Production de phytohormones telles que l'acide indole acétique (AIA),

Fixation biologique de l'azote atmosphérique,

Solubilisation des phosphates minéraux insolubles,

Production de composés antimicrobiens (pyoverdine, pyocyanine),

Synthèse d'ammoniac et de sidérophores, contribuant à la biodisponibilité du fer.

En comparaison, la phyllosphère présente une densité microbienne plus faible, dominée par des phénotypes simples et des bactéries pigmentées bien adaptées aux conditions environnementales de la surface foliaire. Certaines souches fongiques ont également été détectées, témoignant d'une colonisation fongique significative dans cet habitat.

L'étude a également permis de mettre en évidence les capacités PGPR de certains isolats issus de la phyllosphère, bien que plus limitées que celles des souches rhizosphériques. Cette distinction fonctionnelle et écologique entre les deux habitats souligne l'importance de la compartimentation microbienne dans les plantes.

La pertinence de ces résultats est d'autant plus marquée dans un contexte d'agriculture durable. La compréhension des rôles écologiques des microorganismes associés à Helianthus annuus ouvre des perspectives intéressantes pour :

La biofertilisation,

La bioprotection des cultures contre les pathogènes,

La tolérance au stress abiotiques comme la salinité et la sécheresse.

En conclusion, cette étude met en lumière l'importance de l'interaction plante-microorganismes à différents niveaux de la plante, et encourage à valoriser les PGPR comme alternatives écologiques aux intrants chimiques en agriculture.

Abstract :

This work aims to compare microbial communities in two distinct ecological compartments of Helianthus annuus (sunflower): the rhizosphere, the soil region influenced by roots, and the phyllosphere, the aerial surface of the plant, especially the leaves.

Analyses revealed that the rhizosphere hosts a richer and more complex bacterial diversity than the phyllosphere. This root-associated zone, enriched with root exudates, was densely colonized by microbial genera such as Bacillus, Pseudomonas, Azospirillum, and Rhizobium. These are known as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and function through several mechanisms:

Production of phytohormones like indole-3-acetic acid (IAA),

Biological nitrogen fixation,

Solubilization of insoluble phosphates,

Production of antimicrobial compounds (e.g., pyoverdine, pyocyanin),

Ammonia and siderophore production, increasing iron availability.

In contrast, the phyllosphere displayed a lower microbial density and was dominated by simpler phenotypes and pigment-producing bacteria. Some fungal strains were also identified, suggesting a notable fungal presence. Although less diverse, some phyllosphere strains also showed beneficial traits.

These findings have significant implications for sustainable agriculture. Understanding the ecological functions of these microbial communities can lead to their application in:

Biofertilization,

Biocontrol of plant diseases,

Enhancing tolerance to abiotic stress (e.g., salinity, drought).

In conclusion, this study highlights the critical role of plant-associated microorganisms at different plant levels and supports the valorization of PGPR as eco-friendly alternatives to chemical inputs in agriculture.

الملخص:

يهدف هذا العمل إلى مقارنة المجتمعات الميكروبية الموجودة في بيئتين مختلفتين من نبات عباد الشمس(Helianthus annuus) ، وهما: الريزوسفير (منطقة الجذور)، والفيلوسفير (السطح الورقي للنبات مثل الأوراق).

أظهرت التحاليل أن الريزوسفير يتميز بتنوع بكتيري أكبر وأكثر تعقيدًا من الفيلوسفير، وذلك بفضل الارتباط الوثيق بين الجذور وإفرازاتها الجذرية. وقد تم عزل سلالات ميكروبية تنتمي إلى أجناس معروفة بدورها المفيد في تعزيز نمو النباتات مثل Bacillus و Pseudomonasو Azospirillumو Rhizobium. وتعرف هذه البكتيريا باسم البكتيريا المحفزة لنمو النبات(PGPR) ، وتعمل من خلال عدة آليات بيولوجية، من بينها:

إنتاج الهرمونات النباتية مثل حمض الأندول الأسيتيك(AIA)

تثبيت النيتروجين الجوي

إذابة الفوسفات غير القابل للذوبان

إنتاج مركبات مضادة للميكروبات مثل البايوفردين والبيوسيانيين

إنتاج الأمونيا وسيدروفورات لزيادة توافر الحديد.

أما الفيلوسفير، فقد أظهر كثافة ميكروبية أقل، وهيمن عليه في الغالب بكتيريا ذات مظهر بسيط، كما لوحظ وجود بعض السلالات الفطرية. ورغم محدودية تنوعه، فقد تم عزل سلالات تمتلك قدرات بيولوجية مفيدة أيضًا.

تبرز أهمية هذه النتائج في السياق الزراعي، حيث يتيح فهم دور هذه الكائنات الدقيقة إمكانية استخدامها في:

التسميد الحيوي

الحماية الحيوية من الأمراض النباتية

تعزيز مقاومة النباتات للإجهاد البيئي (الملوحة والجفاف).

في الختام، يسلط هذا البحث الضوء على أهمية التفاعل بين النبات والميكروبات في أجزاءه المختلفة، ويدعو إلى استغلال الـ PGPR كبدائل صديقة للبيئة للأسمدة والمبيدات الكيميائية

Introduction

Introduction :

Le tournesol (Helianthus annuus L.) est une plante annuelle appartenant à la famille des Astéracées, largement cultivée pour ses graines riches en huile alimentaire de haute qualité. Il représente aujourd'hui la cinquième culture oléagineuse la plus importante à l'échelle mondiale, en raison de sa forte valeur économique, de sa grande adaptabilité à différents types de sols et climats, ainsi que de son rôle stratégique dans la sécurité alimentaire (Puttha et al., 2023 ; Camargo et al., 2024). Notre choix s'est porté sur cette plante non seulement pour ses atouts agronomiques, mais aussi pour son potentiel à interagir avec une diversité de microorganismes bénéfiques présents dans son environnement. Ces interactions peuvent être particulièrement intéressantes dans le contexte actuel où l'agriculture cherche à réduire l'usage d'intrants chimiques tout en maintenant la productivité. Le thème de ce travail est donc en lien direct avec les approches agroécologiques visant à valoriser les microorganismes associés aux plantes, notamment ceux présents dans la rhizosphère (zone du sol influencée par les racines) et dans la phyllosphère (surface aérienne des plantes). Ces deux compartiments microbiens constituent des habitats écologiquement distincts mais complémentaires, jouant un rôle essentiel dans la croissance, la nutrition et la protection des plantes. La rhizosphère est particulièrement riche en microorganismes grâce aux exsudats racinaires qui fournissent une source d'énergie et d'éléments nutritifs à une large gamme de bactéries, champignons et autres micro-organismes. Ceux-ci peuvent favoriser la solubilisation du phosphate, la fixation de l'azote, la production de phytohormones ou encore l'inhibition des pathogènes. La phyllosphère, quant à elle, abrite principalement des bactéries épiphytes adaptées aux conditions plus variables et souvent plus stressantes de l'environnement aérien, comme les fluctuations de température, l'ensoleillement ou la sécheresse. Ces communautés peuvent également jouer un rôle de barrière contre les agents pathogènes, stimuler les défenses de la plante ou contribuer à sa croissance.

Cependant, malgré l'importance de ces deux écosystèmes microbiens, peu d'études se sont intéressées à une comparaison directe entre la rhizosphère et la phyllosphère d'une même plante, en particulier chez le tournesol. D'où notre problématique centrale : Comment la diversité, la structure et les fonctions des communautés microbiennes diffèrent-elles entre la rhizosphère et la phyllosphère d'Helianthus annuus, et quels rôles écologiques ces microorganismes jouent-ils dans le développement, la nutrition et la santé de la plante ? Pour répondre à cette question, nous avons formulé les hypothèses suivantes :
(1) la diversité microbienne est plus élevée dans la rhizosphère que dans la phyllosphère, en raison de la richesse du sol et des exsudats racinaires ;
(2) les groupes microbiens dominants varient selon les compartiments, avec une prédominance de PGPR (bactéries promotrices de croissance) dans la rhizosphère, et une présence accrue de bactéries épiphytes adaptées dans la phyllosphère ;
(3) certaines souches microbiennes présentes dans ces deux niches présentent des activités biologiques bénéfiques telles que la production d'auxines, la solubilisation du phosphate ou encore l'antibiose, qui peuvent être exploitées dans des stratégies de biocontrôle ou de biofertilisation.

Ainsi, les objectifs de ce travail sont d'étudier et de comparer la diversité, la structure

et la fréquence des communautés microbiennes associées à la rhizosphère et à la phyllosphère du tournesol, d'identifier les groupes dominants, et de mettre en évidence les souches présentant un intérêt agronomique potentiel. Ce travail vise à enrichir les connaissances sur l'écologie microbienne des plantes et à contribuer au développement d'une agriculture plus durable, fondée sur l'exploitation raisonnée des microorganismes bénéfiques naturellement présents dans l'environnement végétal.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur la rhizosphère :

Le sol est la couche supérieure de la croûte terrestre, composée de matière minérale, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes. Il dispose de son atmosphère interne, ainsi que d'une flore et d'une faune spécifiques. Les sols proviennent de l'altération et de la transformation des roches sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges d'énergie qui s'y manifestent **(Barles et *al*., (1999)**

Le sol est un milieu vivant de composé de nombreux microorganismes, essentiellement hétérotrophe, **(Lepinay, 2013)**,il est un environnement complexe, et dynamique, lieu de multiples processus biogéochimiques essentiels au fonctionnement des plantes et des écosystèmes **(Bastian *et al.,* 2013 ; Agler *et al.,* 2016 ; Daudin *et al.,* 2020).**

Les organismes du sol affectent aussi la productivité végétale, que ce soit de manière directe ou indirecte telle que les modifications des cycles du carbone et des nutriments, de la structure du sol, interactions trophiques et contrôle des parasites et des pathogènes **(Renoud, 2016 ; Lidbury *et al.,* 2017).** Les activités des organismes du sol sont concentrées dans des sites généralement associés à la disponibilité en substrats carbonés. C'est ainsi que les habitats microbiens sont associés aux fractions organiques, aux agrégats, à la litière en décomposition, au sol influencé par les vers de terre et aux racines (rhizosphère) **(Lynch, 1990 ; Zhang *et al.,* 2015).**

2. La rhizosphère :

Le mot « rhizosphère » a été d'abord inventé par Hiltner (1904) dans le cadre de l'interaction entre différentes bactéries et les racines des légumineuses dans ses recherches sur la valeur du fumier **(Yadav et *al*.,2008)** . La rhizosphère correspond au niveau de sol qui est influencé par les racines. En règle générale, on distingue le rhizoplan, qui représente l'interface entre la racine et le sol, qui se trouve dans le voisinage immédiat de la racine et est soumis à son influence **(Lyunch, 1990)**. Cette région a une largeur d'environ 1 mm, mais n'a pas de bordure distincte. Il s'agit d'une région riche en activité biologique et chimique, qui est influencée par les substances émises par la racine et par les micro-organismes qui se nourrissent de ces substances **(Yadav et *al*.,2008).**

La rhizosphère est un petit volume de sol qui s'attache à de courts segments de racines de la plante **(York1, et *al* .,2016)** et son biote associé. Il est toutefois difficile de le décrire de manière

homogène en raison de différents éléments, tels que le stade de croissance de la plante, le mouvement des racines et les variations dans la physiologie des cellules racinaires spécialisées. La composition chimique de la rhizosphère est influencée par ces différences, ce qui a également un impact sur la faune de la rhizosphère. Les plantes absorbent les nutriments du sol par les cellules racinaires, mais elles évacuent également des nutriments dans la rhizosphère. Ils constituent la principale protection contre les agents pathogènes du sol, mais ils établissent également des liens symbiotiques avec les microbes présents dans le sol **(**Moe, **2013)**.

Dans la structure de la rhizosphère (Fig. 1), jusqu'à 30% des composés photosynthèses par la plante sont fournis aux microorganismes qui y vivent grâce à un processus connu sous le nom d'exsudation racinaire. Il y a une grande quantité d'acides organiques et de sucres dans ces exsudats racinaires, ainsi que des composés organiques complexes. On les convertit en biomasse microbienne ou on les réoxyde en CO2. La rhizosphère est riche en sucres, en aminoacides, en acides organiques, en iso flavonoïdes, en régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plante, ce qui en fait un microenvironnement dynamique et riche en vers de terre, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries (**Paul et Clark ., 1996)**.

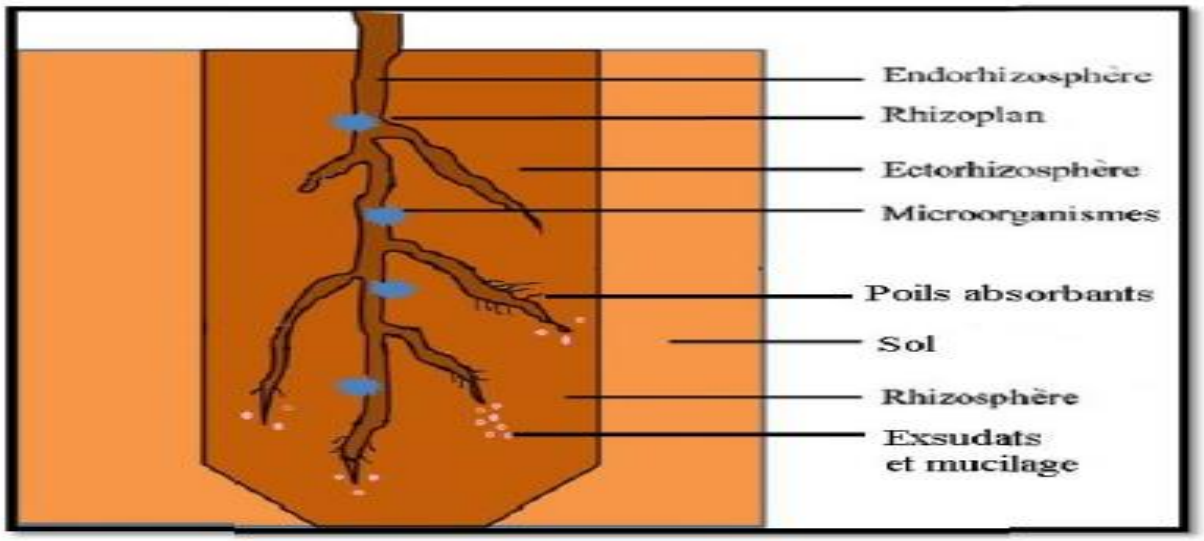


Figure 01 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (**Seshadri et *al.*, 2015**).

3. Les rhizobactéries :

Les rhizobactéries sont des micro-organismes présents dans le sol qui vivent dans les racines des plantes et ont un impact sur leur santé et leur développement. Ils peuvent avoir un impact positif ou négatif sur les plantes, en fonction de leur interaction avec la plante et son environnement **(Hussein et *al*., 2024)**.

3.1. Rhizobactéries favorisant la croissance de plantes :

Les rhizobactéries promoteurs de la croissance des plantes ont été initialement signalées pour la colonisation des racines dans les années 1970 afin d'améliorer la production de diverses cultures agricoles (**Zablotowicz et *al*., 1991**). Cependant, le terme PGPR a été inventé pour la première fois en 1978 par Klopper et Schroth pour désigner la croissance améliorée des plantes après l'inoculation bactérienne sur les graines. Par la suite, l'utilisation de différents agrochimiques pour la protection des cultures apparaît comme une source de pollution des sols dans les champs agricoles (**Alengebawy et *al*., 2021**).

Les rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes, stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore qui leur est néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les rhizobia. Les effets antagonistes des PGPR impliquent la production d'antibiotiques et la compétition nutritionnelle avec les pathogènes végétaux. L'établissement de l'association PGPR-plante est primordiale pour l'expression des effets bénéfiques aux plantes. L'utilisation des PGPR marquées avec des gènes de bioluminescence permet de visualiser le processus de colonisation racinaire. Suite à l'apparition des exsudats de la semence, l'inoculum bactérien se multiplie, puis les bactéries sont transportées passivement par la racine en développement, hors de la zone d'influence de la semence. Par la suite, les PGPR continuent de se multiplier grâce aux exsudats racinaires et persistent sur les racines. Plusieurs compagnies développent actuellement des inoculant contenant des PGPR, surtout afin de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse en agriculture **(Beauchamp, 1993).**

3.2. Diversité taxonomique des PGPR :

Au cours des dernières années, le nombre de PGPR identifiées a augmenté d'une façon significative. Vu le rôle de la rhizosphère comme un écosystème les PGPR ont gagné une grande importance dans le fonctionnement de la biosphère avec leurs différents mécanismes d'action. Ces microorganismes cultivables, présentant une diversité de genres et d'espèces, appartiennent majoritairement aux quatre phylums suivants : Protéobactéries, Firmicutes, Actinobactéries et Bacteroidetes (Fig. 2) (**Hugenholtz, 2002**).

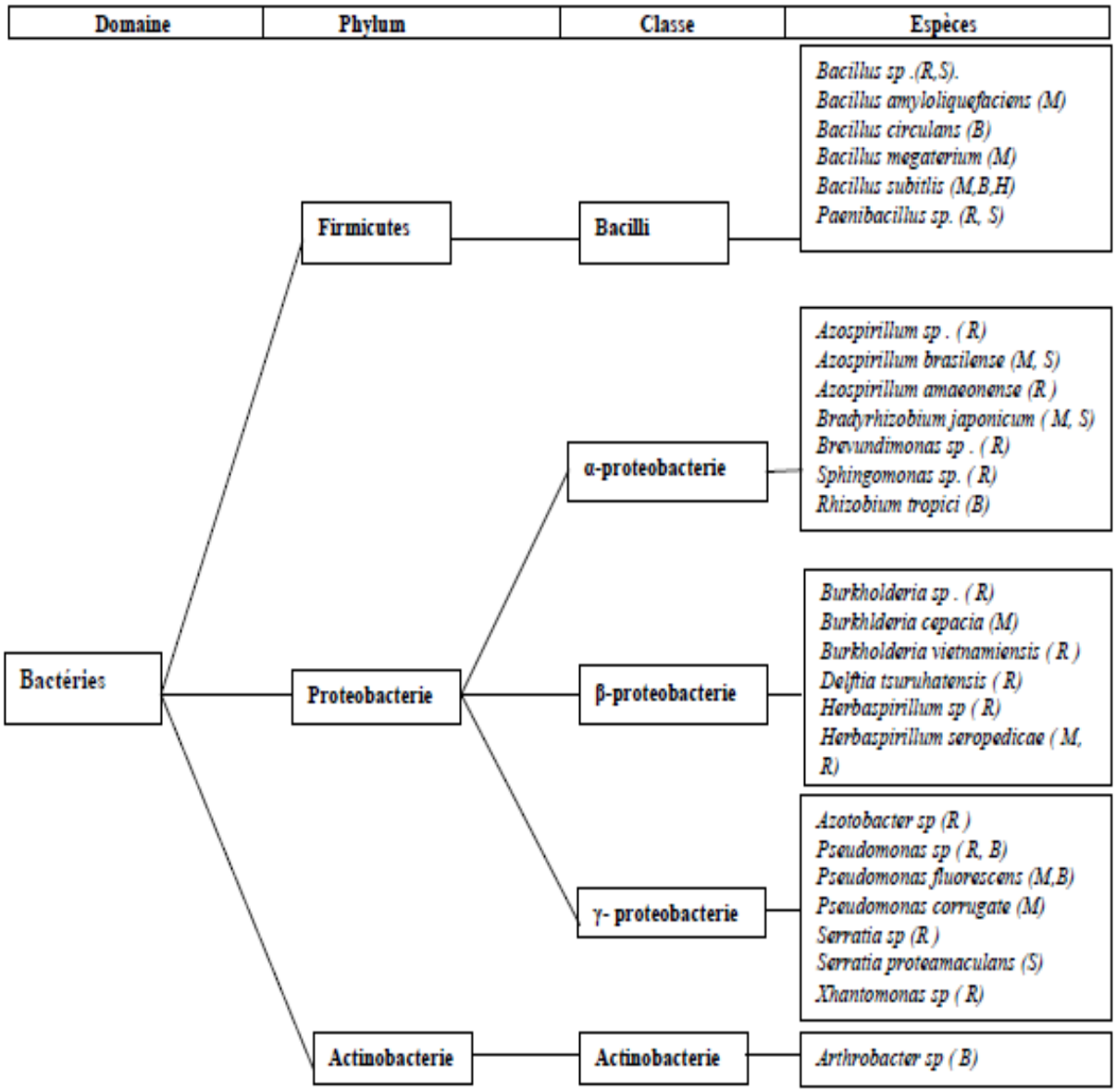


Figure 02 : PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique **(Pérez-Montano*et al.*, 2014). M:**mais, **R :**Riz, **B :** Blé, **S :** soja, **H :** Haricot.

3.2.1 Proteobacteria :

Ils incluent des classes diverses telles que les Alphaproteobacteria, les Betaproteobacteria et les Gammaproteobacteria, constituent l'un des plus grands phylums du royaume bactérien en termes de taille et de diversité phénotypique **(Sharma et *al.* , 2022)**.

Ce phylum présente une remarquable polyvalence métabolique, incluant des microorganismes chimio autotrophes, chimio hétérotrophes et phototrophes capables d'effectuer diverses fonctions métaboliques associées aux cycles du C, du N et du S ainsi qu'au cycle des éléments métalliques tels que le Fe et le Mn (**Gargaud, 2014 ;Rosenberg et *al.*, 2014 ; Pedrinho, et *al.*, 2024).**

a.Alphaproteobacteria :

Les alphaprotéobactéries sont l'un des plus grands et des plus étudiés groupes au sein des bactéries **(Gupta et Mok., 2007).**

Les PGPR appartenant à cette classe sont les *Rhizobia*, d'abord classés par leur capacité à fixer l'azote et à produire des nodules au niveau du système racinaire des plantes. Ces souches peuvent se comporter comme des PGPR quand elles colonisent les racines des plantes légumineuses dans une relation spécifique. En effet, le genre *Rhizobium* comprend des souches PGPR, qui sont ensuite identifiées comme de nouveaux genres : *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* **(*Sawada* et *al*., 2003).**

Le genre *Gluconacetobacter*, appartenant à la famille des Acetobacteraceae, est constitué de bactéries endophytes obligatoires qui habitent les racines, les tiges et les feuilles de la canne à sucre **(Tejera et *al*.,2003).**

On considère que les espèces appartenant au genre *Azospirillum* favorisent la croissance des plantes. Les souches de ce genre se manifestent en tant que cellules indépendantes dans le sol ou elles forment des associations avec les racines, les tiges, les feuilles et les graines. Essentiellement des céréales et des herbes à fourrage **(Baldani et *al*., (2005).**

b.Betaproteobacteria:

Cette classe comprenant la famille de Burkholderiaceae, ou le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique composé de diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées. Elles sont isolées à partir des sols et des plantes. Quelques souches ont la capacité de fixer de façons symbiotique l'azote. *Ralstonia* est un genre attribué également à la famille des Burkholderiaceae **(Moulin et *al*., 2001).**

c. Gammaproteobacteria :

Il s'agit de la classe bactérienne la plus abondante, regroupant des microorganismes extrêmement variés d'un point de vue physiologique. Le genre *Azotobacter* fait partie de la famille des Pseudomonaceae. Ce type de bactéries contribue à la croissance des plantes grâce à sa capacité à fixer l'azote, sans cependant produire de nodules **(Sturz et Christie., 2003).**

Le genre *Pseudomonas* fait partie de cette famille. Ce microorganisme à Gram négatif figure parmi les plus présents et les plus abondants au sein de la rhizosphère. Depuis de nombreuses années, l'activité PGPR de certaines espèces de ce genre est bien connue.

Ce sujet a été l'objet de nombreuses études et découle d'une série de mécanismes en cascade. Les genres de bactéries qui font partie de la famille des Enterobacteriaceae et qui jouent le rôle de PGPR sont *Citrobacter, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Kluyvera, Pantoea et Serratia* **(Garrityet*al*., 2005).**

3.2.2.Actinobacteria :

Dans le phylum des *Actinobacteria*le genre *Frankia* fixe l'azote de manière symbiotique. Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont liées aux plantes actinorhiziennes qui sont des pionnières dans la colonisation des sols dégradés ou pauvres. D'autres Actinobacteria sont aussi des promoteurs de la croissance des plantes, mais qui ne s'impliquent pas dans la symbiose. Ils se classent dans les genres *Arthrobacter* et *Micrococcus* **(Gray et Smith., 2005),** *Curtobacterium* **(Barriuso et *al*., 2005),** et *Streptomyces* **(Siddiqui et Mahmood., 1999).**

3.2.3. Firmicutes :

Dans le phylum des Firmicutes, *Bacillus* est le genre le plus prédominant. Ils représentent environ 95% de la flore isolée. Ce sont des bacilles à Gram positif, isolés ou en chaines, capables de sporuler, en général mobiles (quelques variantes sont immobiles ex. *Bacillus anthracis*) **(Cherih, 2014).**

Les espèces de *Bacillus* sont des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, en forme de bâtonnets, formant des endospores, et Gram-positives ; dans certaines espèces, les cultures peuvent devenir Gram-négatives avec l'âge. Les nombreuses espèces du genre présentent une large gamme de capacités physiologiques qui leur permettent de vivre dans tous les environnements naturels. Une seule endospore est formée par cellule. Les spores sont résistantes à la chaleur, au froid, aux radiations, à la dessiccation et aux désinfectants. *Bacillus anthracis* a besoin d'oxygène pour sporuler ; cette contrainte a des conséquences importantes pour l'épidémiologie et le contrôle. In vivo, *B. anthracis* produit une capsule de polypeptide (acide polyglutamique) qui le protège de la phagocytose. Les genres *Bacillus* et *Clostridium* constituent la famille des Bacillaceae. Les espèces sont identifiées en utilisant des critères morphologiques et biochimiques (**Peter et *al*., 1996).**

4. Mécanismes de promotion de la croissance des plantes :

Différentes variétés de PGPR ont été employées avec succès pour l'inoculation des cultures, englobant les membres bactériens des genres *Azospirillum* **(Cassan et *al*., 2008),** *Bacillus* (**Jacobsen et *al*., 2004),** *Pseudomonas* **(Loper et *al*., 2007),** *Rhizobium* **(Long, 2001) .** Ces bactéries sont connues pour s'associer avec les racines de blé, les graminées tropicales, le maïs, et d'autres céréales (**Lindberg et Granhall, 1984** ; **Okon et Hadar, 1987).**

4.1. Mécanismes directs :

4.1.1. Faciliter de l'acquisition des ressources :

a. La fixation de l'azote :

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N2 dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N2 atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N2 par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appeler nitrogénase **(Kim, 1994).**

Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes : symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote **(Munees et Mulugeta., 2014).**

La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et la formation des nodules racinaires, dans lesquelles l'azote est fixé et transformé en ammoniaque puis rapidement en nitrate pour le rendre disponible à leur l'hôte. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules dans lesquelles se produit la fixation de l'azote **(Munes et Mulugeta., 2013)**

b. Solubilisation des phosphates insolubles :

Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasique(H2PO4) et basique H(PO4)2 **(Govind et *al*., 2015)** . La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles telles *Bacillus, Enterobacter, Erwinia* et *Pseudomonas spp ,* dont *B. megaterium*, *B. polymyxa , B circulans, B. coagulans, B.*

subtilis et *B. sircalmous.* De même, d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures. Les microorganismes solubilistrices du phosphate sont capables de produire des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélates les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles **(Salma, 2015)**.

Le principal mécanisme de solubilisation des phosphates est la production d'acides organiques. Les acides gluconiques et 2-cétogluconique sont les plus fréquemment rencontrés. Les acides glycolique, oxalique, malonique et succinique, ont également été identifiés. Certaines souches sont capables de produire en plus des mélanges d'acide lactique, isovalérique, isobutyrique et acétique. La libération de ces acides mobilisant le phosphore par l'intermédiaire d'interaction ioniques avec les cations du sel de phosphate conduit à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement et par conséquent la libération du phosphate sous forme ionique. La libération des groupements phosphate liés à la matière organique est assurée par l'action des phosphates **(Kumar et Narula 1999;Whitelaw, 2000 ; Gyaneshwar et *al*.,2002).**

Parmi les communautés bactériennes du sol, les espèces de *Bacillus, Enterobacter, Erwinia et Pseudomonas* spp **(Subbaro,1988 ; Kucey et *al*., 1989)**.*B.megaterium, Polymixa, Circulans, Coagulans, Subtilis, Sircalmous*sont les plus performantes **(Podile et Kishore, 2006)** dans la solubilisation des phosphates. Celle-ci permet à *B. megaterium*, par exemple, d'améliorer le nombre et le poids sec de nodules, le rendement des composants, la disponibilité et l'absorption des nutriments des cultures du soja (**Son et *al*., 2006 ; Sharma et *al*., 2007).**

4.1.2. Production de phytohormones :

Les phytohormones sont des substances régulatrices de la croissance végétale, composées de neuf familles (**Simon, 2020**), dont la plus importante est celle des auxines. Les phytohormones sont des composés organiques naturels qui influencent divers processus physiologiques ou morphologiques chez les plantes à des concentrations faibles, telles que l'élongation racinaire et la division cellulaire **(Parewa, 2018)** . De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR. Bien que le rôle de la biosynthèse de ces phytohormones par ces micro-organismes ne soit pas entièrement expliqué, il est à noter que les mécanismes directs des PGPR sur la croissance des plantes comprennent la production d'hormones telles les auxines, les cytokinines, les acides gibbérelliques et l'abaissement du taux d'éthylène chez les plantes **(Costacurta et Vanderleyden 1995 ; Glik, 1995 ; Lucy et *al*., 2004).**

a. Cytokines :

Les cytokinines sont des aminopurines N-6-substituées qui jouent un rôle-clé dans un grand nombre de processus physiologiques tels que la division cellulaire des plantes, l'interruption de la quiescence des bourgeons dormants, l'activation de la germination des graines, la promotion de la ramification, la croissance des racines, l'accumulation de la chlorophylle, l'expansion des feuilles et retard de la sénescence (**Salisbury et Ross, 1992).** En outre, les cytokinines régulent l'expression du gène codant pour l'expansine, protéine qui induit le relâchement des parois cellulaires des plantes et facilitant l'expansion de la cellule végétale et provoquant sa turgescence, ceci a un impact à la fois sur la taille et la forme des cellules (**Downes et *al*., 2001).**Le gène codant pour l'enzyme responsable de la synthèse des cytokinines a été initialement caractérisée chez *Agrobacterium tumefaciens***(Nester et *al*., 1984)** et ensuite chez les bactéries méthylotrophes et méthanotrophes **(Ivanova et *al*., 2001)**. Depuis, de nombreuses PGPR y compris *Azotobacter, Azospirillum, Rhizobium* et *Pseudomonas* spp sont productrices de cette hormone **(Nieto et Frankenberger, 1989 ; Timmusk et *al*., 1999**). L'inoculation de graines avec des bactéries productrices de cytokinines conduit généralement à augmenter le contenu en cytokinines chez les plantes influençant ainsi simultanément la croissance et le développement des plantes **(Arkhipova et *al*.,2005).**

Divers stress environnementaux peuvent aussi engendre l'accumulation des taux élevés de cytokinines végétales **(Arkhipova et *al*., 2007).**

b. Gibbérellines :

Ces acides ditérpénoïques, composés de résidus isoprèniques, sont produits par les plantes supérieures, les champignons et les bactéries. On identifie et caractérise un grand nombre (136) de gibbérellines distinctes **(MacMillan, 2002) .** Ces dernières influencent la division et l'élongation des cellules et participent à divers processus de développement comme la germination des graines, la floraison, la fructification et le retardement de la sénescence dans une multitude d'organes d'une vaste sélection d'espèces végétales **(MacMillan, 2002).** Les gibbérellines sont également impliquées dans la promotion de la croissance de la racine car elles régulent l'abondance des poils racinaires **(Bottini et *al*., 2004).**

La capacité des bactéries à synthétiser des substances de gibbérellines a été initialement décrite chez *A. brasilense* **(Tien et *al*., 1979)** et *Rhizobium* **(Williams et Sicard de Mallorca, 1982)**, puis chez différents genres bactériens qui peuplent le système racinaire de la plante, y compris *Azotobacter, Arthrobacter, Azospirillum, Pseudomonas, Bacillus, Acinetobacter,*

Flavobacterium, Micrococcus, Agrobacterium,Clostridium, Burkholderia, et *Xanthomonas* **(Mitter et *al*., 2002 ;Tsakelova et *al*., 2006 ;Joo et *al*., 2009)**. La promotion de la croissance des plantes par les PGPR productrices de gibbérellines est rapportée par plusieurs travaux et cet effet positif sur la biomasse végétale est souvent associé à une teneur accrue en gibbérellines dans les tissus végétaux **(Atzhorn et *al*., 1988 ;GutierrezManero et *al*.,2009)**

c. Les auxines : Acide indole acétique (AIA) :

Les auxines sont un groupe d'anneau indole composés qui ont la capacité d'améliorer la croissance des plantes en stimulant la germination des graines, l'initiation des racines, l'élongation cellulaire et la croissance des plantules (**Parul et *al*.,2017),** les plantes ont développé des systèmes élaborés pour réguler les niveaux cellulaires de l'AIA(**Normanly et Bartel, 1999)**. L'acide indole acétique (AIA) est la principale hormone de la classe des auxines biologiquement active pour la croissance végétative **(Bishnu et *al*., 2021, Nutaratat et *al*.,2016)**et quantitativement le plus produit par les PGPR. Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes **(Ryu et Patten, 2008**) . Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire de l'AIA. Une grande proportion (80%) de bactéries colonisant la rhizosphère le synthétise, les bactéries à Gram positif sont faiblement productrices **(Loper et Schroth,1986).**

Toutefois, l'amélioration de la croissance des plantes par la colonisation racinaire avec des espèces de *Bacillus* et *Paenibacillus* productrices d'AIA est bien connue (**Kloepper et *al.*, 2004 ; Idris et *al*., 2007).** La biosynthèse de l'AIA est affectée par plusieurs facteurs environnementaux. En particulier, il y a une augmentation de sa production dans des conditions de pH élevé et en présence de plus grandes quantités de tryptophane (**Spaepen et *al*., 2009)**

d. L'éthylène et ACC (aminocyclaparapane 1 carboxylicacide) désaminase :

Certains PGPR produisent de l'ACC désaminase, une enzyme qui pourrait cliver l'ACC, le précurseur immédiat de l'éthylène dans la voie de biosynthèse de l'éthylène chez les plantes. L'activité de l'ACC désaminase diminuerait la production d'éthylène (qui affecte négativement de nombreuses étapes physiologiques des plantes : Une augmentation de la production

d'éthylène agissant comme hormone sensitive stimule la maturation des fruits et le vieillissement des fleurs) (**Oldroyd et *al*., 2001; Van Loon et *al*., 2006**).Les PGPR produisant cette enzyme soulageraient ainsi la plante de plusieurs stress causés par des infections, l'absorption de métaux lourds, la salinité élevée et même la sècheresse (**Glick et al., 1998**).

e) Acide abscissique :

L'acide abscissique (ABA) est un acide faible à 15 atomes de carbone qui a été découvert comme inhibiteur de croissance dans les fruits du coton.

L'acide abscissique est synthétisé dans les chloroplastes des feuilles. Sa production est accentuée sous contraintes l'environnement tels les déficits en eau et les températures basses. La biosynthèse de l'acide abscissique se produit, indirectement, à travers la production de caroténoïdes. Le transport de l'acide abscissique peut se faire dans le xylème et les tissus du phloème. L'acide abscissique stimule la fermeture stomatique, favorise la croissance des racines et induit la transcription génétique des protéinases. Il peut, aussi, agir contre les pathogène (**Davies 1995).** Certaines PGPR, telles *Rhizobium* spp. Et *B. japonicum* sont capables de produire cette phytohormone **(Dobbelaere et *al*., 2003).**

f) Production de sidérophore :

Les sidérophores sont des composés organiques ont une affinité très élevée et spécifique pour chélate le fer. Les sidérophores augmentent aussi la disponibilité du fer par la liaison forte de Fe3+. Ces complexes restent en solution et augmentent de ce fait la diffusion du fer sur la surface de cellule. Presque 500 structures de sidérophore sont connues jusqu'ici, qui sont produites par des bactéries, des mycètes et des plantes **(Boukhalfa et Crumbliss., 2002).**

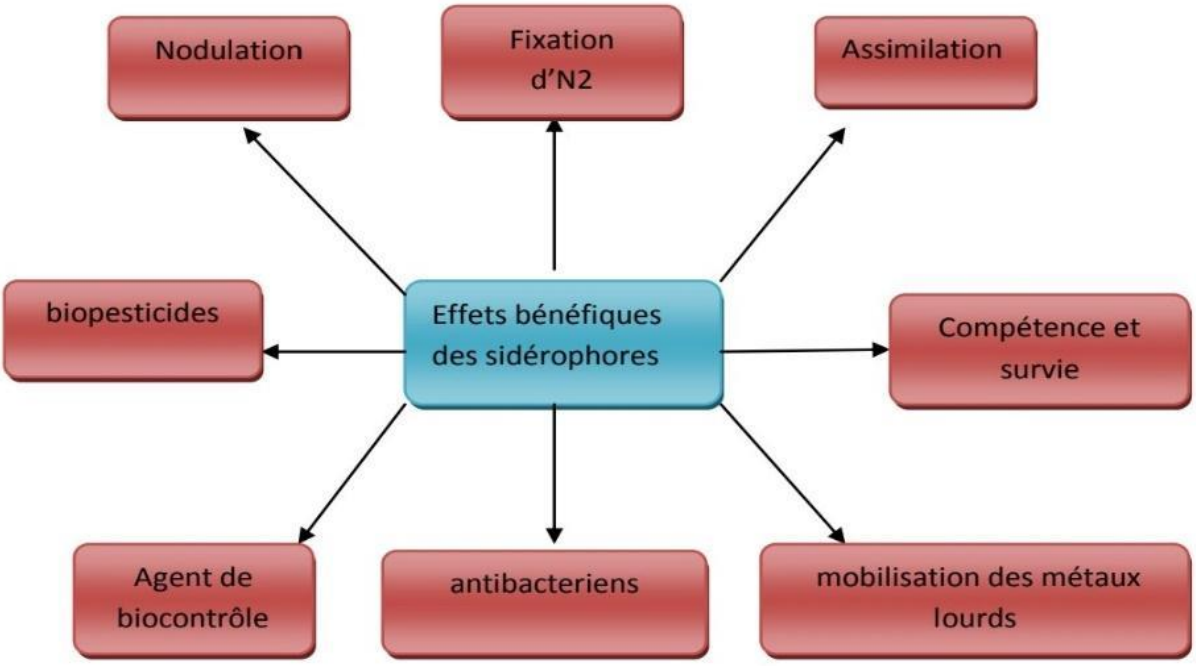


Figure 03 : Fonctions biologiques des sidérophores **(Khan et *al*., 2009)**

4 .2. Mécanismes indirects :

4.2.1. Antibiose :

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (**Angélique, 2011 ; Belkadi et Koliai, 2016**). C'est le mode d'action le plus étudiés et le plus puissant contre les microbes pathogènes, qui est généralement la production d'antibiotiques par des souches rhizobactériennes (**Hakim et *al*., 2021).**

L'antibiose est fréquemment liée au biocontrôle. Un ou plusieurs antibiotiques ont démontré leur capacité à contribuer à la suppression des maladies dans un certain nombre de systèmes de lutte biologique qui ont été étudiés. Une explication possible de la prévalence de l'antibiose en tant que stratégie de lutte biologique est le biais dans les espèces utilisées pour la recherche. Alternativement, cela peut être parce que le concept d'antibiose est attrayant, ou cela pourrait simplement être une manière vraiment efficace de réduire les pathogènes de la rhizosphère.

a. Production des antibiotiques :

De nombreuses espèces bactériennes colonisant les racines des plantes ont démontré, au fil des ans, leur efficacité en tant que défense biologique contre divers phytopathogènes. Elles y

parviennent grâce à la production de métabolites antibiotiques, des composés chimiques hétérogènes à faible poids moléculaire **(Thomashow et *al*., 1997 ; Duffy et *al.*, 2003).** La colonisation par le microbiote constitue ainsi l'une des défenses les plus efficaces contre les infections par des bactéries pathogènes **(Panwar et *al*., 2021).** Ces bactéries productrices d'antibiotiques se retrouvent principalement dans les sols et les environnements rhizosphériques, où elles génèrent des métabolites spécialisés ou à large spectre contre les microorganismes voisins **(Raaijmakers et Mazzola, 2012).**

Parmi les micro-organismes les plus étudiés en matière de biocontrôle, les *Pseudomonas fluorescens* se distinguent particulièrement. Ces bactéries produisent une variété d'antibiotiques qui participent activement à la suppression des maladies. Par exemple, les dérivés de la phénazine produits par *Pseudomonas fluorescens* souche 2-79 et *P. aureofaciens* souche 30-84 permettent de contrôler la fusariose du blé **(Weller et Cook, 1983 ; Brisbane et Rovira, 1988).**

b. Production des enzymes lytiques :

Les enzymes lytiques telles que les chitinises, les pectinases et les cellulases sécrétées par une variété de microorganismes regroupant des organismes solubilisant le phosphate perturbent la fonctionnalité des agents pathogènes par hydrolyse de chitine, pectine et cellulose respectivement et jouent ainsi un rôle pivot dans la suppression directe des agents phytopathogènes **(Ovadis et *al*., 2004 ; Kim et *al*., 2008 ; Khan et *al*., 2014).**

4.2.2. Production des Vos (volatile organique compounds) :

Les Vos produits par les souches de biocontrôle favorisent la croissance végétale en inhibant les agents pathogènes y compris les bactéries, les champignons et les nématodes. L'émissions des Vos est une caractéristique commune d'une grande variété d'espèces bactériennes *(Arthrobacter, Bacillus, Pseudomonas, Serratia* et *Stenotrophomonas*). Elles produisent des Vos pour stimuler la croissance des plantes et induire une résistance systémique contre les phytopathogènes (**Raza et *al*., 2016**). Le 2, 3-Butanediol et l'acétone produit par *Bacillus* spp sont parmi les VOC les plus efficaces contre les champignons **(Santoro et *al*., 2016).**

4.2.3. Induction de la résistance Systémique :

La résistance induite est un phénomène par lequel une plante, après une stimulation appropriée, développe une résistance accrue contre une infection ultérieure par un pathogène. Ce phénomène englobe deux types majeurs de résistance : la résistance acquise systémique (SAR –SystemicAcquired Resistance) et la résistance systémique induite (ISR –Induced Systemic

Resistance), où les défenses de la plante sont préconditionnées par une infection ou un traitement antérieur, entraînant une meilleure protection contre les pathogènes ou les parasites ultérieurs **(Choudhary et *al.*, 2007).**

La résistance induite peut être localisée ou systémique et peut être déclenchée par divers stimuli, notamment des infections limitées par des pathogènes a virulents, certaines bactéries non pathogènes et certains produits chimiques. Une fois activées, les plantes atteignent un état de capacité défensive accrue connu sous le nom de "résistance induite". Ce mécanisme a été particulièrement étudié chez des espèces comme le tabac, le concombre et *Arabidopsis*, où un signal mobile est généré et transporté vers d'autres parties de la plante pour renforcer ses défenses naturelles contre les champignons, bactéries et virus.

Dans la SAR, qui est déclenchée par des pathogènes induisant une réaction d'hypersensibilité (nécrose localisée des cellules infectées), les mécanismes de défense sont activés plus rapidement et plus intensément que chez les plantes non induites **(Van Loon, 2000).** L'expression de la SAR repose sur l'accumulation d'acide salicylique (SA) et l'induction de protéines de pathogénèse (PRs) ayant des propriétés antimicrobiennes.

En revanche, l'ISR médiée par les rhizobactéries fonctionne par un mécanisme différent. Elle repose sur la signalisation de l'éthylène et de l'acide jasmonique (JA), ne dépend pas de l'accumulation de SA et peut se produire sans production de PRs. Bien que la SAR et l'ISR empruntent des voies de signalisation distinctes, des études sur les mutants d'Arabidopsis montrent que ces deux processus convergent à une étape finale commune, bien que certains peptides antimicrobiens restent régulés indépendamment **(Van Loon, 2000).** Par ailleurs, JA joue également un rôle clé dans une autre forme de résistance systémique induite, impliquant la synthèse d'inhibiteurs de protéinases pour lutter contre les herbivores. Par exemple, le polypeptide systémine, produit après une blessure chez la tomate et la pomme de terre, agit comme un signal mobile déclenchant la synthèse de JA.

Ces multiples types de résistance systémique offrent aux plantes une protection accrue contre une large gamme d'agents pathogènes et représentent un fort potentiel pour la protection des cultures **(Van Loon, 2000).**

Certaines souches de rhizobactéries promotrices de croissance des plantes (PGPR) jouent un rôle clé dans la protection contre les maladies, non seulement en provoquant une résistance systémique contre les infections racinaires et foliaires, mais aussi en agissant de manière

antagoniste contre les pathogènes du sol. L'ISR et la SAR ont en commun leur capacité à renforcer les défenses des tissus non infectés contre divers pathogènes. Certaines rhizobactéries déclenchent la SAR en générant du SA à la surface des racines, tandis que d'autres activent des voies de signalisation indépendantes du SA **(Choudhary et *al*., 2007).**

4.2.4. Compétition pour les nutriments :

Il a été largement suggéré qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques en les concurrençant pour les sources de carbone et d'énergie. Pour que les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) exercent un effet bénéfique et instaurent une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère, elles doivent être présentes en nombre suffisant sur les racines **(Haas et Defago, 2005).**

La symbiose mycorhizienne exerce une influence majeure sur la croissance et la vitalité des plantes. Elle revêt un intérêt considérable pour les biologistes et les écologistes, car ces champignons jouent un rôle clé dans la productivité végétale et la diversité des espèces. En outre, ils relient les plantes entre elles via un réseau souterrain de hyphes, facilitant ainsi le transfert des ressources entre plantes coexistant dans un même habitat. Cette symbiose joue également un rôle crucial dans les cycles biogéochimiques du carbone (C), de l'azote (N) et du phosphore (P), renforçant ainsi son importance écologique **(van der Heijden et *al*.,**

4.2.5. Production du cyanure d'hydrogène :

L'utilisation excessive et souvent inutile des pesticides demeure la principale méthode de lutte contre les infestations d'insectes et les maladies des plantes. Cependant, leur application non contrôlée peut engendrer des problèmes environnementaux et écologiques ainsi que des risques pour la santé humaine **(Sehrawat et *al*., 2022).** Pour éviter ces effets néfastes, l'utilisation de micro-organismes antagonistes constitue une alternative efficace pour la gestion biologique des infections du sol et des ravageurs. Parmi ces mécanismes biologiques, la production de cyanure d'hydrogène (HCN) par certains micro-organismes du sol joue un rôle clé dans les interactions biotiques **(Sehrawat et *al*., 2022).**

L'HCN est un inhibiteur efficace de la cytochrome oxydase, le rendant toxique pour de nombreux micro-organismes, même à des concentrations pico-molaires. Sa production par certaines souches de Pseudomonas fluorescents participe à la suppression des agents pathogènes des racines. Par exemple, Pseudomonas fluorescens CHA0 synthétise des antibiotiques, des sidérophores et du HCN, mais c'est principalement ce dernier qui est

responsable de la suppression de la pourriture noire du tabac causée par Thielaviopsisbasicola**(Voisard et *al*., 1989 ; Kamei et *al*., 2014**)

Les bactéries cyanogéniques inhibent la croissance de divers champignons pathogènes, mauvaises herbes, insectes, termites et nématodes **(Sehrawat et *al*., 2022)**. De plus, l'HCN bactérien stimule le développement des plantes en influençant la synthèse de l'acide indole acétique, des antibiotiques, des toxines insecticides fluorescentes, ainsi que la solubilisation du phosphate et l'utilisation de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase. Une meilleure compréhension de la biosynthèse et du contrôle de l'HCN pourrait permettre d'optimiser son rôle dans l'agriculture durable **(Sehrawat et *al*., 2022)**.

5. Utilisation des PGPR dans l'agriculture :

En raison de l'utilisation continue d'engrais chimiques et de pesticides et de leurs effets négatifs subséquents sur l'environnement, les scientifiques envisagent désormais diverses méthodes pouvant augmenter durablement la production agricole, telles que l'utilisation de membres du phytomicrobiome, qui est désormais reconnue comme une "nouvelle" révolution verte. Les gains de la production alimentaire mondiale au 20e siècle suite à la révolution verte reposaient principalement sur deux domaines généraux de progrès : les intrants chimiques (engrais commerciaux et pesticides) et les modifications génétiques par le biais de la sélection ciblée et de la manipulation des gènes **(Shah et *al*., 2021).**

Bien que les microbes bénéfiques aient été largement étudiés pour leur utilisation sur les cultures alimentaires, leur application pratique est relativement limitée. Inclure les membres du phytomicrobiome dans les systèmes agricoles comme une manière durable de gérer les maladies et de fournir des suppléments nutritifs pourrait atténuer les effets négatifs de l'utilisation excessive des intrants chimiques (pesticides et engrais) **(Antar et *al*., 2021b).**De plus, les membres du phytomicrobiome ont été utilisés comme une tactique réussie pour réduire des stress biotiques et abiotiques spécifiques qui peuvent avoir un impact sur la production et la croissance des cultures **(Khan et *al*., 2020)** (Figure) **(Shah et *al*., 2021)** , Par conséquent, un grand nombre de bactéries connues sous le nom de rhizobactéries promoteurs de la croissance des plantes (PGPR) ou rhizobactéries bénéfiques se trouvent dans les rhizosphères des plantes **(Bhattacharyya et Jha, 2012; Raza et *al*., 2016).** Les recherches indiquent que les rhizobactéries peuvent améliorer la croissance des plantes de diverses manières, soit directement, soit indirectement **(Patel et Minocheherhomji, 2018; Raza et *al.*, 2016 ;(Aloo et *al*., 2019).**

5.1. Biofertilisation :

Les biofertilisants peuvent réduire la consommation d'énergie, atténuer la contamination de l'eau et du sol, augmenter la fertilité du sol, encourager l'antagonisme et le contrôle biologique des organismes phytopathogènes, et augmenter la productivité par unité de surface dans une période de temps relativement courte **(Chirinos et *al.*, 2006;Corpoica, 2007; Porcuna et *al.*, 2002)**.. De cette manière, l'application d'engrais biologiques peut avoir des effets positifs sur l'économie, la société et l'environnement. Cependant, des études de faisabilité, des variables environnementales impliquées dans les processus métaboliques, l'acquisition d'intrants biologiques, le temps, l'argent et le personnel qualifié sont tous nécessaires pour l'utilisation des techniques de fertilisation **(Plaster,2000;Vanegas, 2003; Alegre, 2000; Fresco, 2003).**

Selon leur mode d'action, ces biofertilisants sont divisés en plusieurs catégories :

- **Biofertilisants fixateurs de azotés :** Ces microorganismes transforment l'azote atmosphérique en une forme que les plantes peuvent absorber. Des exemples incluent *Azotobacter, Azospirillum* (graminées) et *Rhizobium* (légumineuses). Agents phosphorylants . Ils augmentent la biodisponibilité du phosphore dans le sol, ce qui est crucial pour la croissance des racines et la floraison. *Bacillus, Pseudomona*s et mycorhiziens (*Glomu*s) en sont quelques exemples.
- **Les biofertilisants qui fabriquent des stimulateurs de croissance** : Certains microorganismes produisent des hormones végétales (cytokinines, gibbérellines et auxines) qui favorisent la croissance des plantes. *Bacillus subtilis et Pseudomonas fluorescens* sont deux exemples.
- Le vermicompost et le compost favorisent les micro-organismes bénéfiques : Ces amendements organiques, riches en micro-organismes, améliorent la structure du sol et favorisent la rétention des nutriments. Des exemples incluent le vermicompost fabriqué à partir de lombricompost et le compost enrichi de bactéries bénéfiques et de champignons .

5.2.Phytoremédiation :

Au cours des dix dernières années, la phytoremédiation, qui repose sur l'utilisation des plantes et des micro-organismes pour dépolluer l'environnement, est devenue une alternative abordable et non invasive aux techniques de remédiation basées sur l'ingénierie. Ce procédé permet l'extraction, la dégradation, la volatilisation ou la stabilisation des polluants, qu'ils soient organiques ou inorganiques, en fonction des espèces végétales utilisées et des interactions avec leur environnement **(Pilon-Smits, 2005)**. Un facteur clé de son efficacité réside dans les processus de la rhizosphère, tels que l'absorption, la translocation, la chélation, la dégradation et la volatilisation, ainsi que dans les interactions entre plantes et micro-organismes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) jouent un rôle essentiel dans la dégradation des composés organiques toxiques en formant des associations spécifiques, où la plante fournit une source de carbone incitant les bactéries à réduire la phytotoxicité du sol contaminé, ou des associations non spécifiques, où les processus normaux des plantes stimulent la communauté microbienne capable de métaboliser les polluants **(SicilianoetGermida, 1998)**.Bien que les plantes conventionnelles aient été largement étudiées pour la phytoremédiation des pesticides, l'ingénierie génétique a permis de créer des plantes transgéniques capables de métaboliser les herbicides et autres polluants persistants. Des enzymes tels que les cytochromes P450 (P450s) sont exprimés par ces plantes, ce qui améliore leur tolérance et leur capacité à décomposer ces composés. Les gènes impliqués dans ces mécanismes peuvent être isolés de bactéries, champignons, plantes ou animaux, puis introduits dans des plantes candidates afin d'augmenter leur potentiel de dépollution **(Kawahigashi, 2009)**.

5.3. Bioprotection ou phytostimulation :

Afin de défendre les plantes contre une variété de défis biotiques (pathogènes) et abiotiques (salinité, sécheresse), les bactéries colonisant les racines sont essentielles. Par exemple, des microbes tels que *Bacillus*., *Arthrobacter*sp., *Pseudomonas fluorescens* TDK1 et *Pseudomonas putida* UW4 rendent les plantes plus résistantes aux stress environnementaux et aux maladies **(Barriuso et *al*., 2008)**.

Une étude menée sur Gossypiumhirsutum transgénique a permis d'identifier 67 souches bactériennes capables d'améliorer la disponibilité des nutriments pour les plantes grâce à la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, du zinc et du potassium. De plus, ces PGPR produisent des phytohormones telles que l'acide indole-3-acétique (IAA) et les gibbérellines,

favorisant ainsi la croissance des plantes. Par ailleurs, elles possèdent des propriétés de biocontrôle en produisant du cyanure d'hydrogène (HCN) et des enzymes lytiques, ce qui limite la prolifération des pathogènes **(Patel et Desai, 2015)**.

Les mécanismes d'action des PGPR sont généralement classés en mécanismes directs et indirects **(Ahmad et *al*., 2008)** :

- **Les mécanismes directs :** influencent directement le métabolisme des plantes. Ils incluent la modification de l'équilibre des régulateurs de croissance, la stimulation de l'absorption des nutriments et l'augmentation de la tolérance aux stress environnementaux (sécheresse, salinité). De plus, ces mécanismes peuvent induire une résistance systémique acquise qui renforce les défenses naturelles des plantes contre les maladies.
- **Les mécanismes indirects :** se déroulent en dehors de la plante, dans la rhizosphère. Ils améliorent la disponibilité des nutriments, limitent la présence de microorganismes pathogènes par compétition et favorisent la fixation de l'azote atmosphérique, réduisant ainsi le besoin en engrais chimiques.

6.Modulation des effets du stress environnemental :

Étant donné que les plantes sont des organismes sessiles, elles sont fortement impactées par les changements environnementaux saisonniers. Les espèces doivent s'adapter au changement climatique afin de compléter leur cycle de développement et d'assurer la production de grains pour garantir leur survie et maintenir leur viabilité. Le réchauffement climatique, cependant, a augmenté la fréquence et la gravité des événements météorologiques extrêmes. Au cours des trois dernières décennies, le stress thermique et les sécheresses ont été courants et devraient avoir un impact significatif sur les écosystèmes et les processus écologiques **(Marmagne et *al*., 2022).**

6.1. La salinité du sol :

Depuis le début du XXe siècle, deux définitions de la salinité sont en usage **(Knudsen, 1901;Forch et *al*., 1902)**. La définition procédurale stipule que la salinité correspond à la quantité (en grammes) de matière solide dissoute dans un kilogramme d'eau de mer après la destruction de toute matière organique, le remplacement du brome par une quantité équivalente de chlore, et la conversion des carbonates en oxydes **(Wooster et *al*., 1969).**

L'accumulation de sels minéraux solubles dans le sol à des niveaux nuisibles aux plantes est appelée salinisation. Ces sels sont composés d'un mélange de cations (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, etc.) et d'anions (Cl^-, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}, HCO_3^-, etc.) **(Tanji, 2002)**.

6.2. La tolérance des rhizobactéries vis-à-vis au stress salin :

Les racines des plantes sont connectées à la rhizosphère, un grand écosystème composé de millions de cellules microbiennes. Il contient des composés qui modifient la nature des communautés microbiologiques du sol près de la surface des racines, attirent les microorganismes du sol et changent les caractéristiques du sol. Grâce à une variété de processus, tels que les changements dans les niveaux de phytohormones, les adaptations métaboliques, les défenses antioxydantes et les exopolysaccharides bactériens, les rhizobactéries dans la rhizosphère aident les plantes à faire face aux défis abiotiques. En augmentant l'absorption des nutriments et de l'eau, en stimulant les activités de la phosphatase et de la nitrate réductase, et en réduisant l'accumulation de Na+ sous stress salin, elles favorisent le développement des plantes. Ils atténuent également les effets nocturnes des organismes pathogènes en produisant des composés antagonistes, ce qui favorise directement la croissance des plantes. Pseudomonas putida, par exemple, a renforcé la résistance systémique des plants de blé aux attaques pathogènes, tandis que *Burkholderiaphytofirmans* a amélioré les réponses photosynthétiques et défensives *d'Arabidopsis thaliana* **(Khan et *al*., 2021)**.

En plus de ces mécanismes, les micro-organismes peuvent conférer aux plantes une certaine résistance aux stress abiotiques tels que les températures élevées, la toxicité des métaux, le sel, la sécheresse et les dommages liés au froid.

Des bactéries appartenant à divers genres, tels que *Rhizobium, Bacillus, Pseudomonas, Pantoea, Paenibacillus, Burkholderia, Achromobacter, Azospirillum, Microbacterium, Methylobacterium, Variovorax et Enterobacter*, ont démontré leur capacité à renforcer la résistance des plantes hôtes à différentes conditions de stress abiotiques au cours des dix dernières années **(Grover et *al*., 2011 ; Shrivastava et Kumar, 2015)**. L'utilisation de ces microbes pourrait réduire significativement les stress agricoles, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications biotechnologiques.

De nombreux processus ont été suggérés pour expliquer la tolérance au stress induite par les microbes. L'augmentation de la longueur des racines, de la surface racinaire et du nombre de pointes racinaires, due à la production d'acide indole-acétique, de gibbérellines et d'autres

facteurs inconnus par les PGPR, améliore la santé des plantes sous stress en optimisant l'absorption des nutriments **(Egamberdieva et Kucharova, 2009 ; Shrivastava et Kumar, 2015)**. Par ailleurs, certaines souches de PGPR stimulent la production de cytokinines et d'antioxydants, entraînant la dégradation des espèces réactives de l'oxygène et l'accumulation d'acide abscissique (ABA), ce qui favorise la tolérance au stress oxydatif. Cette dernière est également associée à une activité accrue des enzymes antioxydantes **(Stajner et *al*., 1997 ; Shrivastava et Kumar, 2015)**.

En réponse au stress osmotique, les micro-organismes accumulent des "solutés compatibles" qui peuvent être transportés sans perturber les processus cellulaires et s'accumulent à des concentrations élevées. Ces molécules stabilisent les enzymes et assurent une protection cellulaire contre les températures extrêmes, les cycles de gel-dégel et la dessiccation **(Yancey et *al.*, 1982 ; Shrivastava et Kumar, 2015).**

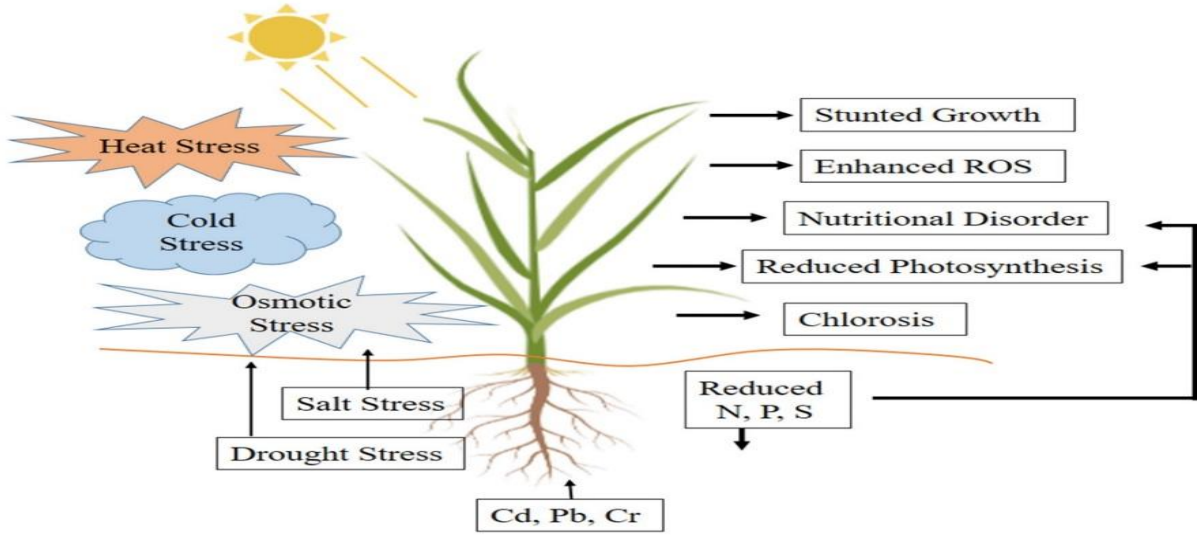


Figure 04 : Stratégies des PGPR pour améliorer l'architecture des racines et la croissance globale des plantes sous stress abiotiques**(Khan et *al*., 2021).**

6.3. La sécheresse :

Le terme "sécheresse" trouve son origine dans les formes archaïques anglaises et écossaises du mot "drouth", qui signifiait "soif". Plus récemment, il désigne une pénurie grave d'eau en général. Historiquement, il a été utilisé pour décrire une période prolongée de faible précipitation, mais peut aussi se référer à un manque ou une absence prolongée de toute ressource essentielle **(Coles et Eslamian, 2017)**.

6.3.1. Le stress hydrique :

Un déficit hydrique survient lorsque les besoins en eau d'une plante ne sont pas entièrement satisfaits, ce qui se produit lorsque la transpiration dépasse l'eau absorbée par les racines. Cela peut être dû à des précipitations insuffisantes, une baisse du niveau d'eau du sol ou une rétention excessive de l'eau par les particules du sol **(Lambers et *al.*,2008; Salehi-Lisar et *al*., 2016; Kapoor et *al*., 2020)**.

Les plantes réagissent au stress hydrique en adoptant divers ajustements morpho-anatomiques, physiologiques et biochimiques visant à limiter la perte d'eau et à maintenir leur statut hydrique **(Kapoor et *al*., 2020)**.

Ces adaptations comprennent des modifications de la morphologie, de la physiologie, de la biochimie et de la composition moléculaire, pouvant perturber gravement la fonction des plantes **(Zlatev et *al*., 2012; Kapoor et *al*., 2020)**.

6.3.2. Les PGPR et tolérance au stress hydrique :

Les mécanismes importants incluent la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène et les cascades de signalisation impliquant le calcium et les phytohormones. L'amélioration de la tolérance à la sécheresse est également influencée par des microorganismes tels que les champignons et les bactéries **(Ilyas et *al*., 2021).**

7. La phyllosphère

7.1. Définition :

La phyllosphère est définie comme la surface aérienne des plantes, un écosystème complexe et crucial qui abrite une grande diversité de micro-organismes **(Wu et *al*., 2024).** La phyllosphère est le plus vaste et le plus inhabituel habitat microbien au monde. Elle abrite une grande variété de populations microbiennes, notamment des bactéries, des champignons, des virus, des cyanobactéries, des actinobactéries, des nématodes et des protozoaires. Ces communautés microbiennes hyperdiverses influencent la physiologie de l'hôte ainsi que le fonctionnement global de l'écosystème grâce à leurs interactions complexes avec les caractéristiques fonctionnelles spécifiques de l'hôte **(Bashir et *al*., 2022).**

L'un des environnements les plus répandus pour la colonisation microbienne, la phyllosphère, est essentielle à la régulation des interactions plante-microbe, jouant un rôle clé dans la santé des plantes et leur adaptation aux stress environnementaux **(Chen et *al*., 2020).**

La phyllosphère joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions biologiques essentielles telles que la production d'énergie photosynthétique, l'accumulation de biomasse, la reproduction et la défense contre les agressions biotiques et abiotiques **(Sohrabi et *al*., 2023).**

Elle influence également la composition et le fonctionnement du microbiome en réponse aux pratiques agricoles, telles que la fertilisation azotée, qui module les gènes fonctionnels de la phyllosphère et l'équilibre entre pathogènes et communautés fongiques **(Wu et *al.*, 2024).**

7.2. Microbiologie de la phyllosphère :

Des études indépendantes de la culture ont révélé que quelques phylums bactériens prédominent dans la phyllosphère de différentes plantes et que des facteurs végétaux sont impliqués dans la formation de ces communautés phyllosphériques, qui présentent des adaptations spécifiques et exhibent des relations multipartites à la fois avec les plantes hôtes et entre les membres de la communauté. Des aperçus sur les principes structurels sous-jacents des populations microbiennes indigènes de la phyllosphère nous aideront à développer une compréhension plus approfondie de la microbiote de la phyllosphère et auront des applications dans la promotion de la croissance des plantes et la protection des plantes **(Vorholt, 2012)**. Le plus grand et le plus inhabituel habitat microbien au monde se trouve sur la phyllosphère, ou surface aérienne, des plantes. Il abrite de nombreuses et variées populations de bactéries, champignons, virus, cyanobactéries, actinobactéries, nématodes et protozoaires. La physiologie de l'hôte et le fonctionnement de l'écosystème sont influencés par ces communautés microbiennes hyperdiverses, qui sont liées aux caractéristiques fonctionnelles uniques de l'hôte **(Bashir et *al*., 2022)**.

Selon **Shiraishi et *al*. (2015)**, cela explique le micro habitat foliaire qui permet la diversité et la dispersion des communautés microbiennes sur la surface foliaire . La perméabilité et l'humidité de la cuticule des feuilles sont l'une des caractéristiques essentielles de la surface des feuilles qui affectent les populations microbiennes des feuilles en influençant l'approvisionnement en nutriments via les tissus foliaires **(Bulgarelli et *al*., 2013)** . La distribution des communautés microbiennes foliaires n'est pas uniforme ; certaines zones sont plutôt colonisées plus intensément que d'autres. Les points chauds microbiens des feuilles comprennent des zones telles que les bases des trichomes, les veines supérieures, les rainures des cellules épidermiques, les stomates et les hydathodes qui ont un taux de pénétration élevé et sont quelque peu protégés des stress externes **(Hirano et Upper, 2000 ; Remus-Emsermann**

et Schlechter.,2018). Selon **Bright et Bulgheresi (2010)**, la phyllosphère recrute activement son microbiome par recrutement vertical à partir de graines semblables à celles de la plante mère, par recrutement horizontal à partir de l'environnement, ou par recrutement mixte à partir de réservoirs microbiens voisins . La principale source de colonisation pour les épiphytes foliaires est la plante elle-même, en particulier le tissu des graines et l'environnement de germination. Les microorganismes se propagent probablement par le vent, les précipitations, l'eau d'irrigation (**Morris, 2002**), les insectes **(Osono, 2014 ; Vacher et *al*., 2016)** ou les bioaérosols **(Bulgarelli et *al*., 2013).**

7.2.1. Propriétés microbiennes :

Des propriétés microbiennes importantes (acquisition de nutriments foliaires, adhésion à la cuticule et croissance dans le microclimat de la feuille) et des caractéristiques de la feuille hôte (morphologie, physiologie et chimie) seront également nécessaires pour l'établissement et la survie à la surface de la feuille après la déposition **(Bashir et *al*., 2022).**

La relation entre les microorganismes devient active une fois qu'elle est complètement établie. L'interaction peut identifier l'assemblage microbien le plus approprié et peut être soit positive (mutualisme), neutre (commensalisme), ou négative (compétition, prédation, parasitisme, amensalisme) **(Faust et Raes, 2012 ; Bashir et *al*., 2022**).

En influençant les fonctions et la longévité des feuilles, la masse des graines, la croissance apicale, la floraison et le développement des fruits, les microbes colonisant la phytosphère servent une variété de buts vitaux (**Fig. 5**), y compris la productivité et la vitalité des plantes. Ils jouent également des rôles importants dans l'élimination des contaminants **(Stone et *al*., 2018; Thapa et Prasanna, 2018; Liu et *al*., 2020 ;Zhu et *al*., 2022)** Par exemple, en fixant l'azote et en générant des régulateurs naturels de croissance comme l'IAA, certaines bactéries promoteurs de croissance des plantes vivant dans la phyllosphère, comme *Microbacterium*, *Stenotrophomonas* et *Methylobacterium*, peuvent améliorer la croissance et le statut nutritionnel de la plante hôte (**Madhaiyan et *al*., 2015; Abadi et *al*., 2020 ;Zhu et *al*., 2022)** ; Les émissions de méthanol (par exemple, les méthylotrophes) et d'isoprène (par exemple, les bactéries dégradant l'isoprène du genre *Variovorax*) des plantes dans l'atmosphère sont également significativement réduites par le microbiome de la phyllosphère**(Abanda-Nkpwatt et *al*., 2006; Crombie et *al*., 2018 ;Zhu et *al*., 2022)** ; De plus, la préservation de la santé des plantes et la prévention de la prolifération des maladies des plantes peuvent être grandement aidées par le microbiome de la phyllosphère. Par exemple, les plantes d'*Arabidopsis* sont

protégées par le microbiome de la phyllosphère contre les infections fongiques et la dysbiose, qui est une perturbation de l'homéostasie du microbiote et peut avoir des effets néfastes sur la santé de l'hôte **(Ritpitakphong et *al.*, 2016; Chen et *al.*, 2020 ;Zhu et *al.*, 2022)**.

7.2.2. Rôles écologiques :

Des recherches récentes montrent que les bactéries et les levures qui colonisent le nectar peuvent altérer la composition chimique du nectar, ce qui, à son tour, affecte la visite et le comportement de recherche de nourriture des pollinisateurs insectes **(Liu et *al.*, 2019 ;Zhu et *al.*, 2022)**.En conséquence, le microbiome de la phyllosphère régule le microbiome intestinal des pollinisateurs, ce qui affecte à son tour leur comportement et leur condition physique **(Liu et *al.*, 2019 ;Zhu et *al.*, 2022)** , Cependant, il convient également de mentionner que les plantes hôtes peuvent subir des conséquences néfastes dues aux bactéries de la phyllosphère. La communauté microbienne diverse et importante de la phyllosphère peut rendre les plantes plus compétitives pour l'eau et les nutriments **(Saikkonen et *al.*, 2015; Vacher et *al.*, 2016 ; Zhu et *al.*, 2022)** , Plusieurs maladies des plantes peuvent être causées par certains membres du microbiome de la phyllosphère agissant comme des agents pathogènes des plantes **(Lindow et Leveau, 2002; Whipps et *al.*, 2008; Baker et *al.*, 2010 ;Zhu et *al.*, 2022)** , Selon une étude récente de **(Zhou et al ;2021)**, le microbiome de la phyllosphère des façades vertes urbaines contribue à la propagation des gènes responsables de la résistance aux antibiotiques. Une autre étude **(Bárta et *al.*, 2021 ;Zhu et *al.*, 2022).**

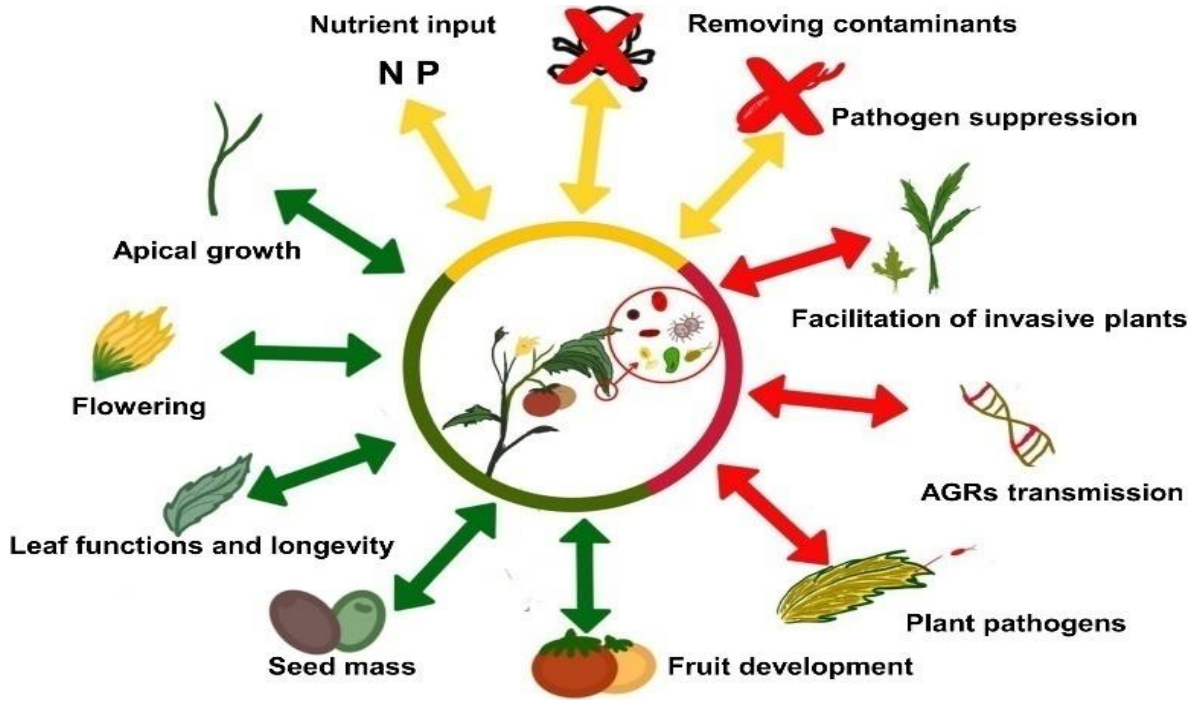


Figure 05 : Fonction écologique du microbiome de la phyllosphère (Zhu, 2021).

7.3. Ecologie des habitats :

De nombreux types de bactéries, de champignons filamenteux, de levures, d'algues et, moins couramment, de protozoaires et de nématodes font partie des nombreuses communautés microbiennes que l'on trouve sur les feuilles. Les champignons filamenteux sont considérés comme des résidents temporaires des surfaces foliaires, car ils se trouvent principalement sous forme de spores, tandis que les levures et les espèces qui sporulent rapidement occupent cet environnement de manière plus active **(Andrews et Harris., 2000).** La phyllosphère est sans aucun doute dominée par les bactéries. Au sein et entre les plantes de la même espèce, ainsi qu'à proximité et sur de courtes périodes, les populations bactériennes épiphytes varient considérablement en taille **(Hirano et Upper., 1989)**, ainsi que pendant la saison de croissance **(Ercolani, 1991; Thompson et *al*., 1993)**.

Les oscillations significatives des conditions physiques et nutritionnelles de la phyllosphère sont en grande partie responsables de ces variations notables de la taille des populations **(Kinkel et *al*., 2000)**.

La flore bactérienne des feuilles et des racines diffère considérablement, reflétant les changements significatifs des conditions physico-chimiques des surfaces aériennes et souterraines des plantes. Par exemple, les surfaces des feuilles sont dominées par des bactéries colorées, qui sont rares dans la rhizosphère **(FokkemaetSchippers., 1986; Stout, 1960)**, probablement en raison du fait que le rayonnement solaire affecte l'écologie de la phyllosphère **(Jacobs et Sundin., 2002 ; Sundin et Jacobs., 1999)**.

Les chercheurs ont découvert que la diversité de la communauté bactérienne était la plus grande pendant les mois les plus froids et les plus pluvieux de la saison, et la plus faible pendant les mois les plus chauds et les plus secs, indiquant des schémas différents de colonisation microbienne à différentes périodes de l'année **(Lilley et Bailey., 1997)**. En raison de leurs effets néfastes sur la productivité des plantes, les bactéries aérobies cultivables et les bactéries phytopathogènes ont reçu la majorité de l'attention dans l'étude des colonisateurs bactériens des feuilles. Cependant, comme le démontre l'étude révolutionnaire de (**Yang et *al.*, 2001**), des variations significatives dans l'environnement physico-chimique peuvent favoriser les espèces bactériennes aux caractéristiques adaptables pour la colonisation de la surface des plantes.

7.4. Fonctionnement :

Des populations bactériennes diverses peuvent être trouvées dans la phyllosphère, qui est la surface aérienne des plantes, y compris les feuilles. Grâce à leur impact sur la forme et la fonction de leurs hôtes, les communautés bactériennes de la phyllosphère ont la capacité d'affecter la biogéographie des plantes et la fonction des écosystèmes ; cependant, peu de choses sont connues sur les caractéristiques des hôtes qui motivent l'assemblage des communautés dans la phyllosphère. Dans cette étude, nous avons mesuré la structure de la communauté bactérienne sur les feuilles de 57 espèces d'arbres différentes dans une forêt.

Plus de 400 taxons bactériens ont été trouvés sur les feuilles d'arbres tropicaux individuels, indiquant la diversité des communautés bactériennes sur ces feuilles. Un microbiome central comprenant des Actinobactéries, des Alpha-, Beta- et Gamma protéobactéries, ainsi que des Sphingobactéries, dominait les populations bactériennes dans la phyllosphère.

L'organisation de la population bactérienne sur les feuilles était liée aux caractéristiques de l'hôte telles que l'identité taxonomique des plantes, la phylogénie, les taux de croissance et de mortalité, la densité du bois, la masse des feuilles par unité de surface, ainsi que les concentrations d'azote et de phosphore dans les feuilles. Les abondances relatives d'un certain nombre d'espèces bactériennes étaient liées à des ensembles de caractéristiques de la plante hôte qui étaient associées aux principaux axes de variation des caractéristiques des plantes, tels que le compromis entre la densité du bois et la croissance/mortalité et le spectre économique des feuilles **(Kembel et *al.*, 2014).**

Les bactéries phyllosphère ont des effets variables sur leurs plantes hôtes. L'influence peut n'avoir aucun impact significatif (neutre), être néfaste (négative) ou avantageuse (positive). La figure 6 montre certaines des fonctions importantes des bactéries de la phyllosphère .

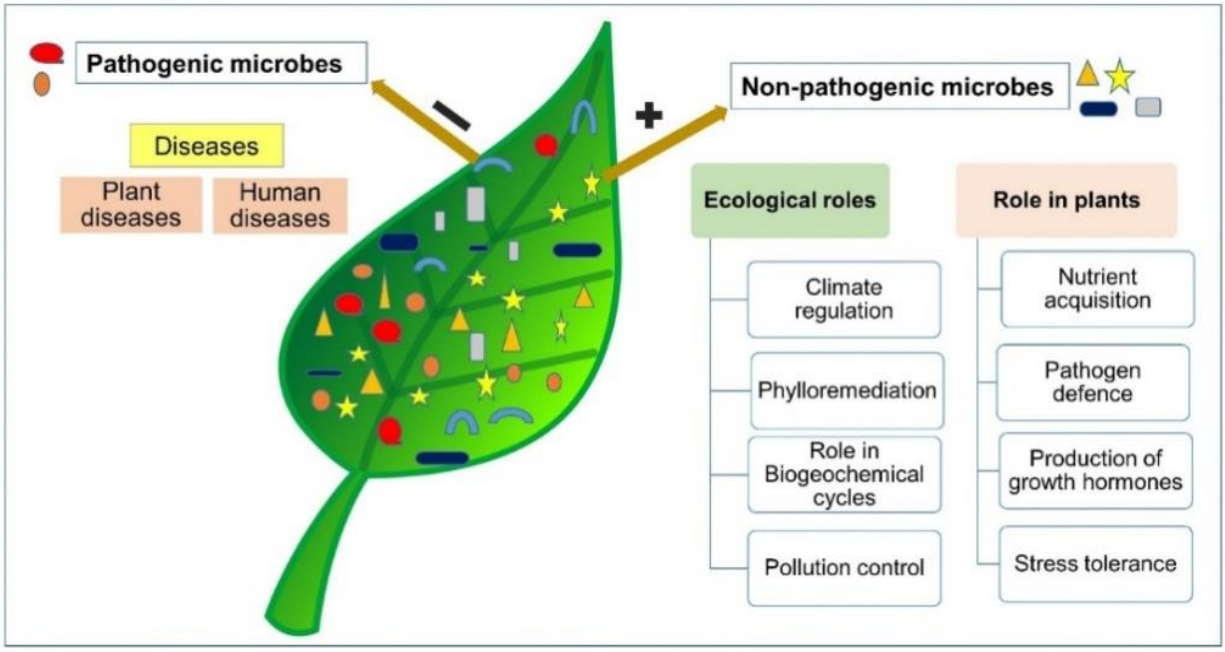


Figure 06 : Certaines des fonctions importantes des bactéries de la phyllosphère.(Kembel et al., 2014).

a. La fixation de l'azote atmosphérique :

Est l'un des rôles les plus étudiés des micro-organismes de la phyllosphère **(Abadi et *al.*, 2021)** .Le processus principal pour l'ajout d'azote dans les environnements tropicaux humides est la fixation de l'azote par la phyllosphère**(Abril et *al.*, 2005 ,stanton et *al.*, 2019),** dans l'habitat topique, la présence d'une température et d'une humidité accrues à la surface des feuilles permet à ces bactéries cruciales de fonctionner **(Furnkranz et *al* ,2008)**.

Ensuite, appliquez l'azote nécessaire sur la surface des feuilles. Selon des recherches antérieures, les taxons cyanobactériens fixateurs d'azote *Scytonema, Microcoleus*, *Stigonema et Oscillatoria* occupent la phyllosphère des plantes des forêts tropicales. **(Bentley, 1987 ; Freiberg, 1998)**. Néanmoins, des recherches ont également montré que les cyanobactéries, les α-protéobactéries, les β-protéobactéries et les γ-protéobactéries sont d'importants fixateurs d'azote de la phyllosphère**(Fürnkranz et *al.*, 2008 ;Bao et *al* ., 2019).**

b. La nutrition minérale : le microbiote de la phyllosphère modifie également la disponibilité d'autres nutriments afin que les plantes puissent les absorber. L'un de ces mécanismes est la solubilisation par les micro-organismes solubilisant le phosphate du phosphore inorganique

insoluble présent dans les réservoirs du sol. De nombreuses recherches ont vérifié l'existence de bactéries solubilisant le phosphate dans la phyllosphère en plus de la rhizosphère **(Mwajita et *al* . , 2013 ; Thapa et *al* ., 2017).**

L'autre processus essentiel contrôlé par certains micro-organismes est la solubilisation du potassium (K). *Psychrobacterfozii*, *Paenibacillusamylolyticus* et *Bacillus mucilagenosus* sont des bactéries phyllosphériques dont il a été démontré qu'elles solubilisent le potassium **(Verma et *al*., 2014)**.

De plus, on sait que certaines bactéries de la phyllosphère génèrent des sidérophores afin d'obtenir du fer. Des recherches menées par **(Thapa et *al*., 2018 ;Fu et *al*., 2016 ; Scavino et Pedraza ., 2013)** ont observé des micro-organismes sur la phyllosphère de certaines plantes produisant des sidérophores. De même, la fonction des microbes de la phyllosphère en facilitant l'absorption de certains autres minéraux, comme le zinc **(Esitken et a*l* ., 2010).** Des cas de cuivre **(Esitken et *al*., 2010)** et de soufre **(Yu et *al*., 2013) ,** ont également été signalés **(Bashir et *al*., 2022) .**

c. Protection de la plante :

Les micro-organismes phyllosphériques jouent un rôle crucial dans la protection des plantes contre les pathogènes et les ravageurs" . Les agents pathogènes peuvent pénétrer dans les feuilles par diverses ouvertures naturelles, telles que les stomates, les hydathodes ou même des blessures involontaires **(Melotto et *al*., 2008)**. Même si la plante possède des mécanismes de défense tels que l'immunité induite par le PTI et l'ETI, certains agents pathogènes parviennent à façonner ces barrières. Dans ces situations, les micro-organismes phyllosphériques interviennent et exercent un contrôle biologique par le biais de divers mécanismes, notamment l'exclusion compétitive, les antibiotiques et l'induction des défenses de l'hôte. Ces interactions microbiennes contribuent activement au contrôle des maladies foliaires et améliorent la santé des plantes **(Bashir et *al*., 2022)**.

7.5. Défaillance des microorganismes :

Les maladies et les dommages aux plantes peuvent être causés par une variété de bactéries dangereuses et de ravageurs, qui sont principalement gérés à l'aide de traitements chimiques toxiques. La vie humaine et les environnements sont tous deux menacés par ces substances chimiques et leurs dérivés. La majorité des cultivateurs de plantes utilisent des insecticides ou des engrais chimiques **(Pal et Gardener, 2006)**. Bien que les agents chimiques aient longtemps

considérablement augmenté la production agricole, leurs effets négatifs possibles et leur surutilisation causent de graves dommages à l'écosystème du sol et augmentent la pollution de l'environnement. Par conséquent, le développement de nouveaux agents de biocontrôle plus sûrs et plus efficaces est nécessaire. Une méthode alternative qui utilise des organismes pour contrôler les maladies des plantes est l'utilisation d'agents de lutte biologique **(El-Gamal et *al*., 2007)**. De nombreux microorganismes, y compris les bactéries, les champignons et les virus, ont la capacité de combattre les phytopathogènes et peuvent donc être utilisés comme agents de biocontrôle à la place de produits chimiques dangereux**(Zehra et *al*., 2021a) .**Le but d'appliquer ces microbes naturellement présents sur les plantes est de contrôler les phytopathogènes Les organismes vivants qui empêchent le développement des infections des plantes peuvent être utilisés pour réguler biologiquement les maladies des plantes **(Heimpel et Mills, 2017; Barupal et *al*., 2019)**. Les agents de lutte biologique microbienne (MBCAs) sont des bactéries bénéfiques naturellement présentes qui possèdent la plus forte activité inhibitrice et peuvent se développer sur des milieux artificiels pour supprimer les maladies des plantes. Le "contrôle biologique augmentatif" fait référence à l'utilisation d'agents de lutte biologique antagonistes en grandes densités, soit une fois, soit de manière répétée au cours des saisons de croissance, pour améliorer la protection des plantes **(Eilenberg et *al*., 2001;Heimpel et Mills, 2017; van Lenteren et *al.*, 2018)**. Les agents de lutte biologique peuvent parfois être dérivés de microorganismes complets, tels que les métabolites microbiaux **(Glare et *al*., 2012;Barupal et *al*., 2020)**. Les éliciteurs sont des substances qui déclenchent un signal activant les systèmes de défense chimique des plantes. Il a été découvert qu'un certain nombre d'éliciteurs chimiques, y compris le salicylate de méthyle, le benzothiadiazine, la chitosane, l'acide benzoïque et l'acide salicylique, entre autres, ont un impact sur la synthèse de différents composés phénoliques et l'activation des enzymes dans les systèmes de défense associés aux plantes **(Heimpel et Mills, 2017)**.

Selon leur origine, leurs caractéristiques et leur composition chimique, les éliciteurs diffèrent les uns des autres **(Thakur et Sohal, 2013;Pršić et Ongena, 2020)**. Ils peuvent être largement classés comme des éliciteurs endogènes ou exogènes. Alors que les éliciteurs endogènes sont des molécules générées par les plantes en réaction à une attaque pathogène, les éliciteurs exogènes sont des substances produites par les maladies **(Ramirez-Estrada et *al*., 2016)**. Ces élicitateurs peuvent être biotiques ou abiotiques, chimiques ou physiques. Les éliciteurs biologiques incluent tous les éliciteurs d'origine microbiologique. De nombreux éliciteurs microbiens sont des éléments structurels essentiels ou des facteurs clés qui déterminent la

pathogénicité. Certains élicitateurs déclenchent des signaux pour susciter l'immunité des plantes ou aider à la propagation des organismes microbiens (**Zehra et *al*., 2021a**) . De nombreuses espèces microbiennes, y compris Trichoderma, Pseudomonas, les espèces de Bacillus et d'autres microbes de la rhizosphère, ont été étudiées pour leurs propriétés antagonistes et sont désormais commercialisées en tant que produits de protection des plantes enregistrés pour le riz, le tournesol, la tomate et les pommes de terre **(Dutta et Das, 2002;Bhuiyan et *al*.,2012; Parikh et Jha, 2012; Zehra et *al*., 2015; Meena et *al*., 2016).**

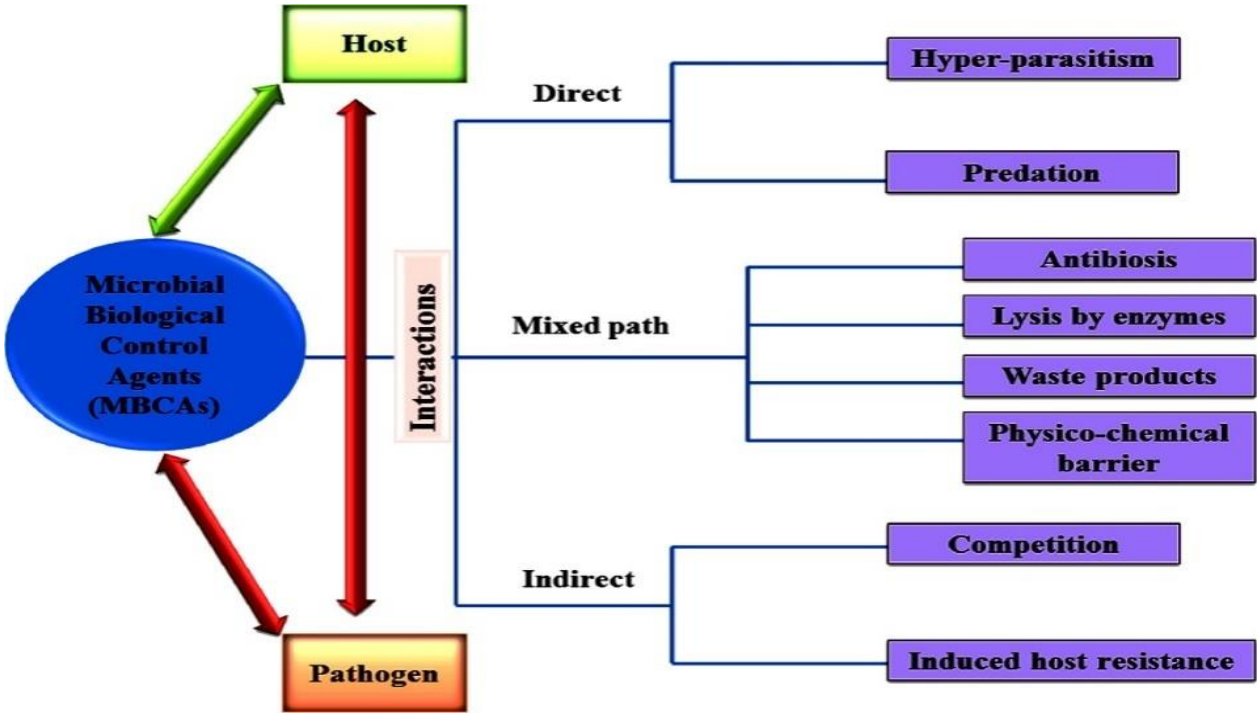


Figure07 : Différents modes d'action des agents de biocontrôle microbien dans les interactions interspécifiques entre la plante (hôte), le pathogène et les agents de lutte (Zehra et al., 2015; Meena et al., 2016).

8.*Helianthus annus :*

8.1. Description botanique :

Le tournesol commun (*Helianthus annuus* L.) est une espèce extrêmement variée, notamment en ce qui concerne les couleurs des anthères qui peuvent être violettes, pourpres ou noires. Des différences existent également dans le nombre de rayons et la taille des disques floraux. Au Texas et dans les régions occidentales, les plantes présentent généralement moins de rayons et des disques plus petits, tandis que dans les régions orientales, le nombre de rayons est plus élevé

et les disques plus grands. À l'exception de certains hybrides avec des tournesols indigènes, les plantes du Texas produisent les plus petits akènes ainsi que les akènes les plus courts **(Heiser, 1954).**

L'espèce se divise en trois sous-espèces -lenticulaire, texanus et annuus- et une variété, macrocarpus. Le tournesol est homoploïde, ce qui signifie qu'il possède un nombre constant de chromosomes dans toutes ses cellules somatiques. La complexité de sa structure variétale est probablement due à son caractère adventice et à son hybridation généralisée avec d'autres tournesols annuels **(Heiser, 1954).**

8.2. Origine :

Bien que le *Helianthus annuus* soit originaire du sud de l'Asie, il a été cultivé dans divers pays, dont la Chine, l'Inde, l'Égypte et l'Iran, en raison de son importance comme plante oléagineuse **(Ashri et Knowles, 1960 ; Mobasser et Tavassoli, 2013)**.

La génétique et la morphologie du tournesol moderne sont le fruit d'un effort multinational et intercontinental s'étendant sur des milliers d'années. Cependant, ce n'est qu'au cours du siècle dernier que des évolutions significatives ont eu lieu. Cultivé depuis longtemps en Amérique du Nord par les tribus amérindiennes, le tournesol a été transformé par la sélection artificielle. À partir de populations à plusieurs têtes, les génotypes actuels à tige unique avec une immense inflorescence (capitule) contenant un grand nombre d'akènes riches en huile ont été développés **(Giannini et *al*., 2023 ; Zukosky, 1950).**

Les Amérindiens connaissaient de nombreuses applications de cette plante, y compris la production d'huile. Toutefois, après son introduction en Europe, elle a été utilisée principalement à des fins ornementales et pour ses qualités anti-inflammatoires pendant près de deux siècles. Des documents historiques révèlent que les indigènes utilisaient les akènes grillés pour la consommation personnelle, tandis que les pétales et les tiges servaient à des fins non alimentaires, telles que la protection solaire ou comme teinture violette pour les vêtements, la peau et les cheveux **(Mezzalira, 2018 ; Giannini et *al*., 2023)**. Après son arrivée en Europe au XVIIIe siècle, le tournesol a été introduit en Russie par Pierre le Grand **(Zukosky, 1950)**. Initialement cultivé comme plante ornementale, il a rapidement trouvé une utilisation pour la production d'huile dès 1769 **(Semelczi-Kovacs, 1975)**. L'huile de tournesol, étant l'une des rares huiles autorisées pendant le Carême, a gagné en popularité dans toute l'Europe, en particulier parmi les membres de l'Église orthodoxe russe **(Russo, 2009 ; Giannini et *al*., 2023)**.Le

tournesol a également une place importante dans l'histoire de l'art. En 1517, il a été représenté pour la première fois en Italie dans les fresques de Giovanni da Udine à la Villa Farnesina à Rome, appelées « Loggia di Psiche ». Plus tard, Aldovandi a produit d'autres illustrations sous le titre « ChrysantehemiPeruvianimaximusflos » au cours de la seconde moitié du XVIe siècle **(Mezzalira, 2018).**

8.3. Morphologie :

Le tournesol se distingue par son immense inflorescence située sur une seule tige. Cette caractéristique lui confère une apparence particulièrement photogénique lorsqu'il est en pleine floraison, avec ses grandes fleurs rayonnées jaune-orange éblouissantes **(Seiler, 2013)**.

Sur le plan anatomique, la structure interne des racines adventives du tournesol est similaire à celle des racines primaires. Comme elles sont dépourvues de nœuds et de feuilles, leur morphologie est plus simple que celle des tiges **(Seiler, 2013)** . Le tournesol peut se ramifier de diverses manières : les variétés cultivées ont généralement une tige unique avec une grande inflorescence solitaire, tandis que les espèces sauvages se ramifient à l'aisselle de la plupart des feuilles de la tige principale. La largeur de l'inflorescence influence la taille des graines et la proportion de fleurs en forme de disque viables, ce qui affecte le rendement en graines. Par conséquent, cette caractéristique est particulièrement intéressante pour les agronomes et les sélectionneurs de plantes **(Seiler, 2013).**

Afin d'uniformiser les descriptions des lignées consanguines et des cultivars de tournesol, des classes descriptives ont été établies pour certaines caractéristiques physiques. Bien que les variétés ramifiées soient fréquemment observées dans les champs commerciaux et souvent utilisées comme parents mâles pour produire des cultivars hybrides, les tiges des tournesols cultivés ne se ramifient généralement pas. La taille et la croissance des tiges sont fortement influencées par l'environnement, y compris la ramification **(Seiler, 2013)**.

La tige du tournesol est constituée de trois systèmes tissulaires : le système dermique, le système fondamental et le système vasculaire. La radicule de la graine donne naissance à la racine principale, ou racine pivotante. L'architecture racinaire reste comparable à différentes profondeurs et comprend également trois systèmes tissulaires : le système vasculaire, le système fondamental (ou cortex) et le système cutané (ou épiderme). Les feuilles présentent une organisation similaire avec des systèmes terrestre, vasculaire et cutané**.**

8.4. Culture :

Le tournesol s'est adapté aux régions avec des pluies hivernales et printanières, ainsi qu'à des faibles niveaux d'humidité pendant la floraison et la maturation **(Knowles, 1976)**. Dans ces environnements, l'eau joue un rôle crucial à chaque étape de la croissance, de la germination à la maturation, influençant directement la production agricole **(Turner, 1991 ; Mobasser et Tavassoli, 2013)** . Pour optimiser la production, il est crucial d'évaluer l'usage d'herbicides à faible impact et de perfectionner les techniques de culture **(Iriarte et *al*., 2010)**. La réduction des émissions de gaz à effet de serre (GES) peut être atteinte en cultivant le tournesol sur des prairies endommagées **(Iriarte et *al*., 2010 ; Figueiredo et *al*., 2016)**. De plus, les émissions de GES varient selon le mode de culture (pluvial vs irrigué) **(Figueiredo et *al*., 2016)** ; Les tournesols pluviaux sont généralement semés au printemps et en été (**Giannini et *al*., 2023**). Dans la région méditerranéenne, les semis ont lieu en mars ou avril, avec des prévisions possibles jusqu'à un mois à l'avance **(Giannini et *al*., 2023).** Le rendement élevé en huile et les besoins modérés en eau ont conduit à une augmentation de sa culture dans les régions subarides **(Hattendorf et *al*., 1988 ; Mérrien et Grandin, 1990)**.

Un semis précoce permet de profiter des pluies de fin d'hiver, et un complément d'irrigation aide à maintenir la production **(Flagella et *al*., 2002)**. L'impact des dates de semis et des régimes d'irrigation sur le rendement et la qualité de l'huile a été étudié, bien que les données sur les génotypes à haute teneur en acide oléique restent limitées **(Flagella et *al*., 2002).**

8.5. Reproduction :

Le grain de tournesol dormant se trouve dans un petit fruit dur appelé akène, dont les parois internes sont lisses et nacrées. Toute activité métabolique est suspendue pendant la dormance **(Comtois, 2017)**(**Fig. 8**).

Le grain d'un gris verdoyant est charnu et brillant. Il est composé de deux cotylédons, ou les premières feuilles. Ces cotylédons contiennent les réserves dont l'embryon aura besoin pendant la germination. La pointe de la radicule est déjà discernable **(Comtois, 2017) .**

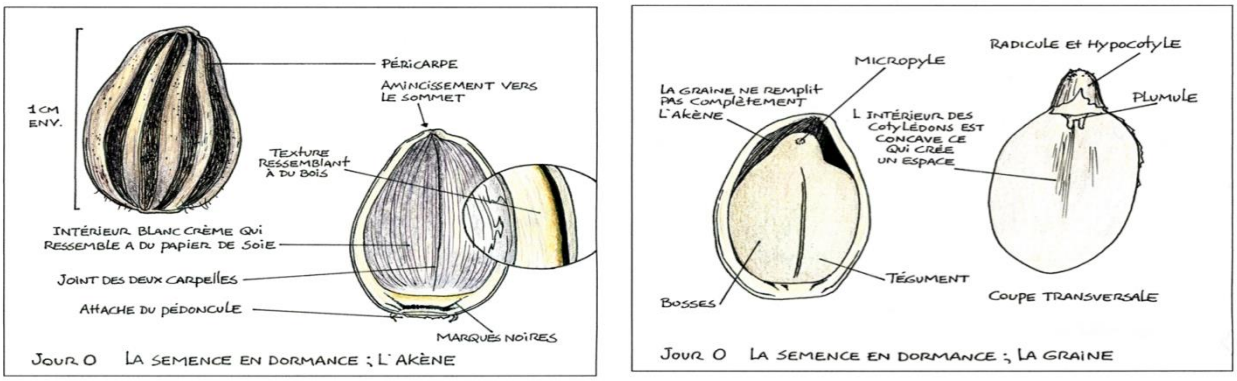


Figure 08 : Structure de la graine de tournesol.

Le processus de germination commence dès que l'humidité pénètre dans l'akène par les capillaires. Au sommet de l'akène, un interstice s'est formé, et la radicule a commencé à s'étendre le deuxième jour. Elle émerge en premier, suivie par l'hypocotyle, puis elle se cache derrière des nageoires qui attrapent les gouttes d'eau **(Comtois, 2017).**

L'akène se renforce et permet l'apparition des premiers cotylédons très pâles qui se détériorent rapidement. En réponse à l'attraction gravitationnelle, la radicule a fui la lumière. Ainsi, elle est entrée dans la terre. La présence d'humidité dirigera le déploiement des racines dans le sol. À l'inverse des racines, la nouvelle tige se dirige vers la lumière (**Comtois,2017) (Fig. 9).** Les jeunes pousses peuvent être consommées après une semaine. Plus riches en nutriments et plus faciles à digérer que les grains, les pousses de tournesol sont une bonne source de vitamines E et B ainsi que de minéraux tels que le fer, le manganèse, le cuivre et le zinc.

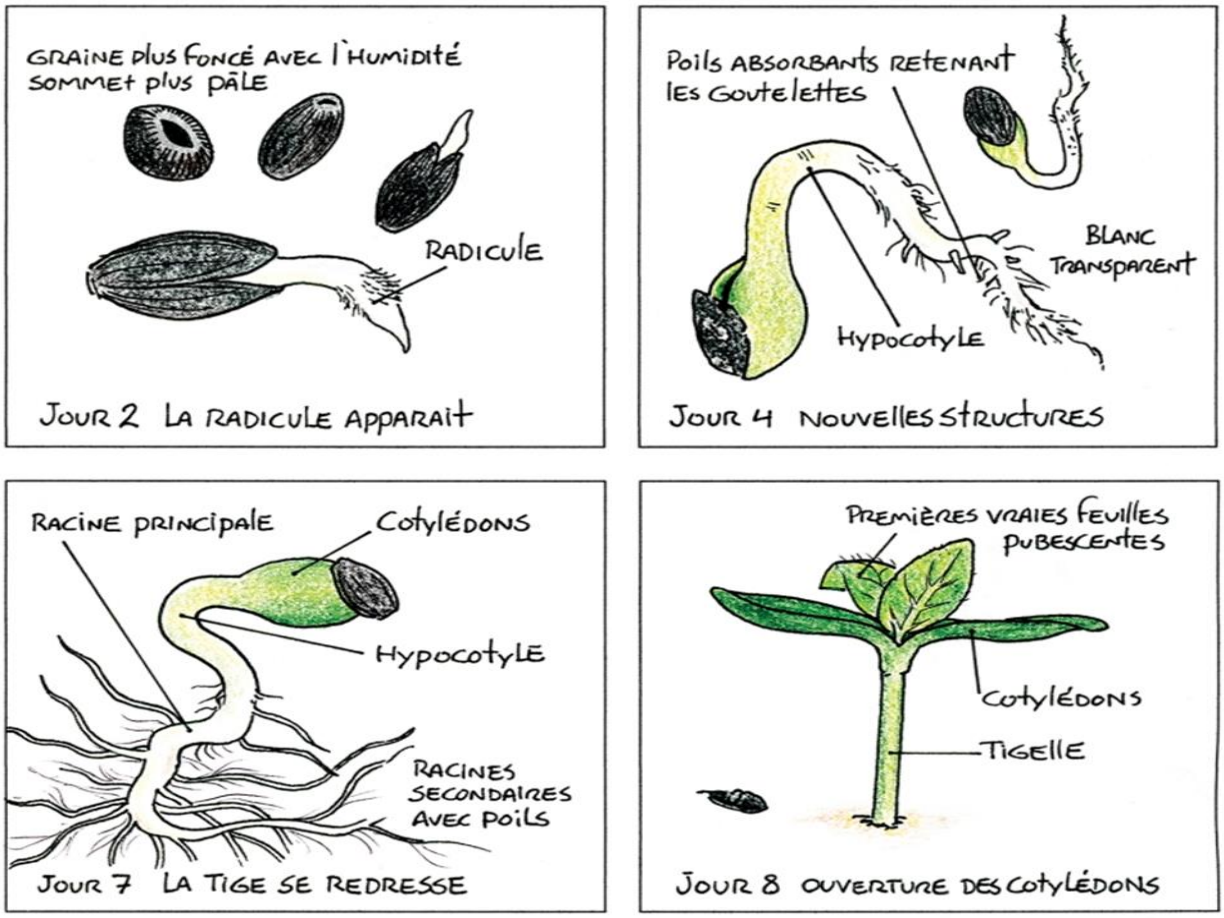


Figure 09 : Etapes de germination de tournesol.

Les cotylédons (**Fig. 10**) apparaissent avant les vraies feuilles. Comme les feuilles d'une plante succulente, elles sont charnues et lisses. Les vraies feuilles sont velues, opposées et caduques. Ils ont une forme lancée avec des nervures symétriques. Lorsqu'elle sera complètement développée, la plante aura sept paires de vraies feuilles. **(Comtois, 2017).**



Figure 10 : Levée de tournesol.

La plante a un port dressé. La tige ronde et distinctive est assez robuste tant qu'elle est maintenue herbacée. Des cotylédons, elle développe une pubescence. De nombreux poils blancs lui donnent une apparence rugueuse. C'est une tige creuse. La longueur des entre-nœuds régulés à maturité est d'environ 2 cm. **(Comtois, 2017)** (**Fig. 11).**

Figure 11 : Plante de tournesol à la maturité.

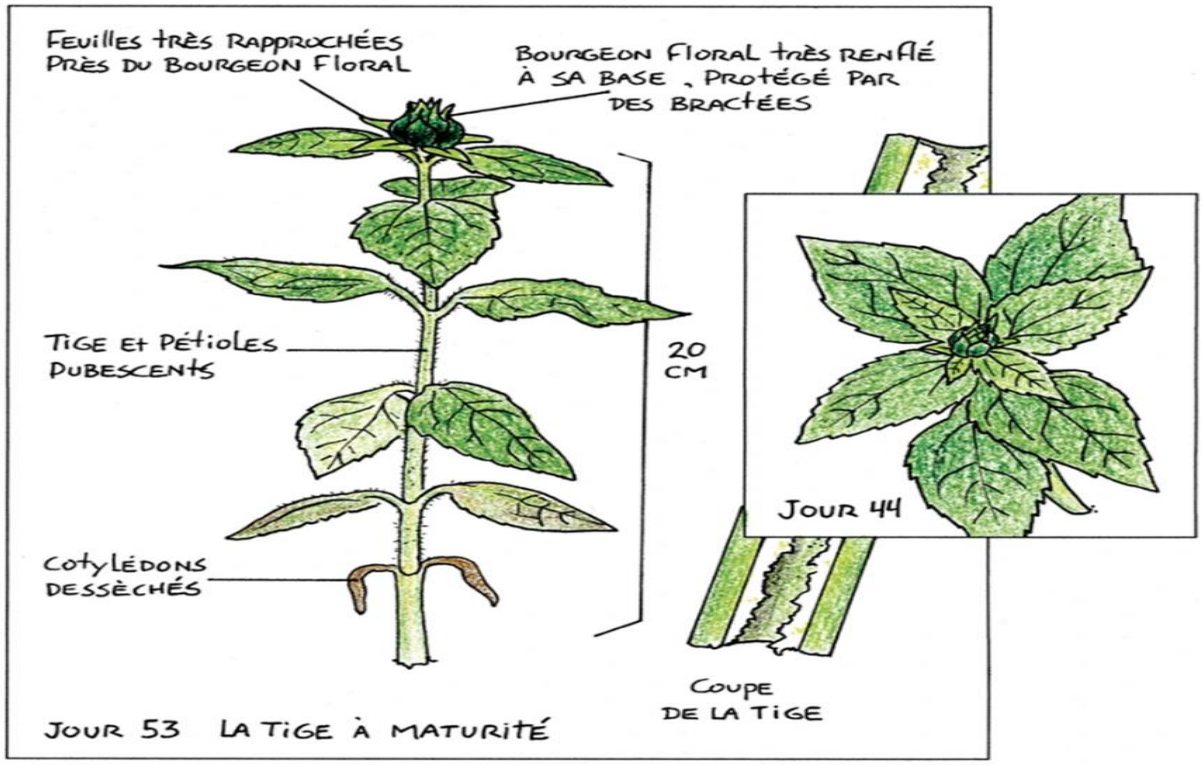


Figure 11 : Plante de tournesol à la maturité.

Le bouton floral est apparu le 39e jour. Chaque plante a une inflorescence distincte. La très petite tige aux entre-nœuds se transforme en un énorme récipient en forme de plateau capable de contenir des centaines de fleurs bractées **(Comtois, 2017**).

La surface du conteneur est recouverte de deux types de fleurs : des fleurs fertiles tubulées au centre et des fleurs stériles ligulées à la périphérie**(Comtois, 2017)** . Les hermaphrodites sont des fleurs. Pour assurer une pollinisation indirecte, les organes mâles et femelles se déploient à des moments différents. Les fleurs sont d'abord recouvertes d'une bractée plus petite, d'un vert bleuté. Deux stigmates finement pennés émergent d'un tube formé par cinq pétales soudés. En dessous, le gynécée ne forme qu'une seule loge. Les couleurs de la fleur, les nectaires et le pollen collant facilitent la pollinisation par les insectes. Les fleurs stérilisées ont la capacité de guider les voles de pollinisation. La nouaison commence lorsque les fleurs sont fécondées. Les fleurs s'épanouissent et l'ovaire devient grisâtre. Pour devenir les écailles de l'akène, les parois

des carpelles se lignifient. À l'insu de l'intérieur, l'embryon absorbe les réserves d'endosperme pour former des grains (**Comtois,2017)** (**Fig. 12).**

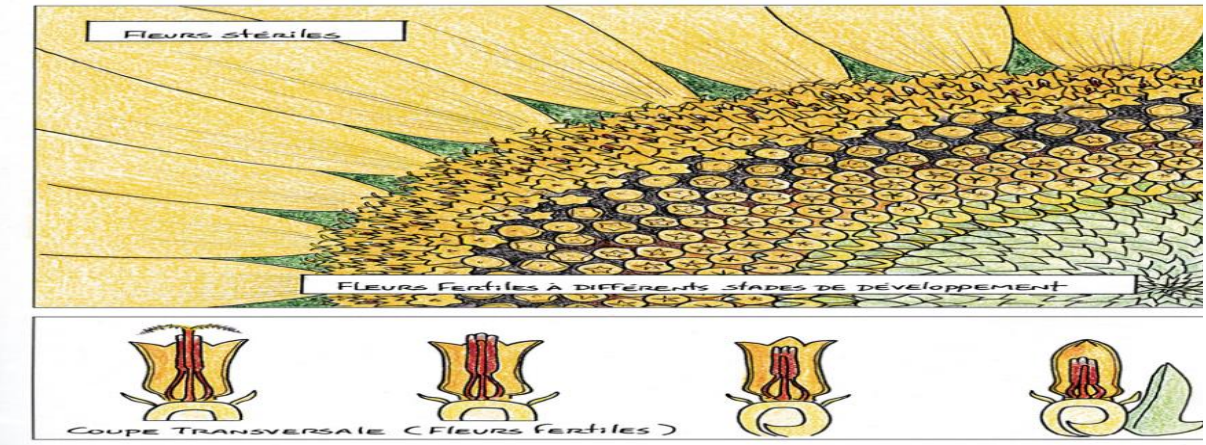


Figure 12 : Florescence et maturation des grains chez le tournesol**.**

8.6. Utilisation :

8.6.1. Alimentation humaine :

Le tournesol (*Helianthus annus*), originaire d'Amérique du Nord, est l'une des principales cultures oléagineuses cultivées dans le monde entier. Initialement apprivoisé par les Indiens, il était utilisé à des fins cérémonielles (peinture corporelle), alimentaires et médicinales **(Kaya et *al.*,2012)**. Aujourd'hui, le tournesol est largement commercialisé comme ingrédient culinaire et cosmétique **(Yegorov et *al.*, 2019 ; Adeleke et Babalola, 2020).**

Le tournesol est apprécié pour sa richesse en protéines, fibres alimentaires, vitamines B, minéraux (notamment le manganèse) et composés phytochimiques tels que les tocophérols, phytostérols et flavonoïdes **(Adeleke et Babalola., 2020)**. La farine de tournesol, un sous-produit de l'extraction de l'huile, contient entre 45 % et 50 % de protéines, ce qui en fait un aliment nutritif tant pour l'homme que pour le bétail **(Malik et Saini., 2018; Malik et Saini., 2017).**

Les graines de tournesol constituent également une source prometteuse de protéines pour les régions où la production de soja est limitée **(de Morais Oliveira et *al.*, 2016)**. Elles sont souvent utilisées pour fabriquer diverses friandises sous forme transformée ou composite **(Adesina, 2018)** . L'huile de tournesol, riche en acides gras monoinsaturés, est particulièrement bénéfique pour la santé cardiovasculaire. Un régime riche en acides gras monoinsaturés contribue à réduire le cholestérol plasmatique en diminuant les lipoprotéines de basse densité sans affecter

les lipoprotéines de haute densité, réduisant ainsi le risque de maladies coronariennes **(Delpanque, 2000 ; Grundy, 1986)**.

Comparée à d'autres huiles à faible teneur en acide oléique, l'huile de tournesol présente une stabilité oxydative élevée, ce qui la rend idéale pour la friture, le raffinage et le stockage ***(*Fuller et *al*., 1967 ; Flagella et *al*., 2002)**. La culture du tournesol est parfois plus compétitive que celle du maïs, du soja ou du sorgho dans des régions telles que l'Inde et l'Afrique du Sud **(Vijayakumar et *al*., 2016)**. Sa capacité à s'adapter à divers climats et sa polyvalence en font une culture précieuse pour les agriculteurs du monde entier **(Adeleke et Babalola, 2020)** ; Le tournesol, une plante oléagineuse originaire d'Amérique du Sud, est reconnu pour ses propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Bien que peu exploité, il est classé comme aliment fonctionnel ou nutraceutique en raison de sa composition riche en fibres alimentaires, caroténoïdes, peptides, vitamines, acides, cations, alcaloïdes, tanins et saponines.

L'extrait de tournesol possède des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antitumorales et anti pathogènes , ce qui lui confère un potentiel thérapeutique pour le traitement de diverses maladies, notamment la régulation du cholestérol, la protection de la peau, ainsi que le contrôle de la tension artérielle et du diabète **(AdelekeetBabalola, 2020).**

8.6.2. Alimentation animale :

L'utilisation des déchets de production alimentaire dans l'alimentation animale n'est pas une idée nouvelle. Parmi les cinq principales cultures oléagineuses, après les haricots et le coton, on trouve *Helianthus annus*, plus connu sous le nom de tournesol. Ce dernier a gagné en popularité en raison de l'excellent goût de ses graines et de leurs remarquables propriétés curatives. La demande croissante pour l'huile de tournesol et ses produits dérivés a généré une abondance de coques de tournesol, offrant ainsi une opportunité intéressante pour leur valorisation en tant qu'alternative de nourriture animale **(Kamau, 2013).**

Une étude menée par **Surayah Osman et *al*. (2018),** a exploré la transformation des coques de tournesol en poudre afin d'évaluer leur potentiel en tant qu'aliment pour animaux. L'analyse chimique a révélé une teneur élevée en lignine (50 %) et en fibres brutes (21 %), indiquant que le principal composant des coques de tournesol est constitué de glucides. La composition inclut également 6,5 % d'eau, 5,17 % de lipides, 4 % d'acides aminés et 2,1 % de cendres. L'évaluation biologique par comptage des plaques viables a montré des niveaux de micro-organismes trop faibles pour être mesurés. De plus, l'analyse de toxicité (BSLA) a démontré une toxicité chronique de 1 g/ml, indiquant une faible toxicité de la poudre de coque de tournesol. Le

traitement des coques de tournesol a permis de les transformer en granulés adaptés à l'alimentation animale (**Surayah Osman et *al*., 2018)** ; Le tourteau de tournesol, sous-produit du pressage des graines pour l'extraction de l'huile, est une source riche en protéines. Il constitue une alimentation de qualité pour le bétail, offrant une alternative économique aux aliments commerciaux dont la qualité peut varier. Selon **Kamau (2013),** 3,5 kg de graines de tournesol produisent environ 1 litre d'huile et 2,5 kg de tourteau lorsqu'elles sont pressées et moulues.

Les graines de tournesol sont constituées d'un noyau interne et d'une coque externe, et sont classées en deux types selon leur teneur en huile : celles à haute teneur en huile (40-51 %) et celles à faible teneur en huile (environ 25 %) **(Bonos, ChristakietFlorou-Paneri, 2011)** . L'huile de tournesol est souvent utilisée pour compléter l'alimentation des animaux de ferme afin d'augmenter l'apport énergétique et de satisfaire leurs besoins en acides gras essentiels. Son incorporation dans l'alimentation animale est actuellement étudiée pour ses effets potentiels sur la composition du lait, de la viande et des œufs, en particulier pour augmenter les concentrations en acide linoléique conjugué (CLA) et en acides gras oméga-3 et oméga-6 insaturés **(Bonos, Christaki et Florou-Paneri, 2011)**.

Le tourteau de tournesol varie en couleur, texture et composition chimique en fonction du type de graine, du degré de décorticage et du procédé de transformation. Sa teneur en protéines brutes oscille entre 24 % et 44 %, l'extrait éthéré entre 1 % et 10 %, tandis que les fibres brutes varient de 12 % à 32 %. Il est également riche en glucides non amylacés et en vitamines. Cette diversité nutritionnelle permet son utilisation aussi bien pour les ruminants que pour les animaux monogastriques **(Bonos, Christaki et Florou-Paneri, 2011)** . Une étude menée par **McGuffey et Schingoethe (1980)** a examiné l'effet de l'alimentation de vaches laitières Holstein avec des tournesols entiers à haute teneur en huile sur une période de trois cycles de cinq semaines. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec un régime à base d'ensilage de maïs. Cette recherche a montré que l'utilisation de tournesols entiers comme source d'énergie dans l'alimentation des vaches laitières était non seulement faisable, mais aussi potentiellement bénéfique pour la production laitière **(McGuffey et Schingoethe, 1980).**

8.6.3. Biocarburant :

Les biocarburants sont des carburants produits à partir de biomasse liquide ou gazeuse et utilisés dans les transports. Ils sont classés en deux générations : les biocarburants de première génération, issus du sucre, de l'amidon, de l'huile végétale, des graisses animales et des graines, et les biocarburants de deuxième génération, provenant de la biomasse non alimentaire **(Naik et *al*., 2010 ; Spinelli et *al*., 2013).**

Bien que les biocarburants soient généralement plus coûteux que les carburants fossiles traditionnels, leur potentiel de réduction des émissions de gaz à effet de serre en fait une alternative essentielle. En effet, en dépit d'une légère diminution des performances des moteurs, l'utilisation de biocarburants entraîne une réduction des émissions de CO_2 et de sulfate tout en maintenant des niveaux de polluants comparables à ceux du diesel **(Spinelli et *al*., 2012 ; Puppan, 2002)**. De plus, les biocarburants peuvent remplacer facilement le diesel dans les moteurs à combustion interne sans nécessiter de modifications majeures **(Qi et *al*., 2009 ; Spinelli et *al*., 2012).**

Cependant, l'utilisation de ressources agricoles pour les biocarburants de première génération pose certains défis environnementaux, notamment l'eutrophisation, l'épuisement des ressources naturelles et la concurrence avec les cultures vivrières pour les terres arables **(Zah et *al*., 2007 ; Spinelli et *al*., 2012).**

L'huile de tournesol, issue des graines de Helianthus annus, représente environ 10 % de la production mondiale d'huile végétale, avec 9 millions de tonnes produites annuellement, soit 8 % de toute l'huile végétale mondiale **(Grompone, 2005 ; Grompone, 2011)**. Selon sa teneur en acide oléique, il existe trois types d'huile de tournesol :

- **Ordinaire (14 à 39 % d'acide oléique) :** utilisée principalement comme huile de cuisson et de salade.
- **Moyennement oléique (43 à 72 %) :** idéale pour la friture industrielle.
- **Riche en acide oléique (75 à 91 %) :** possède une meilleure stabilité oxydative, parfaite pour les applications industrielles telles que les margarines et les shortenings **(Grompone, 2005).**

En outre, l'huile de tournesol est utilisée dans la fabrication de lubrifiants, de biodiesel, d'encres d'imprimerie et d'autres produits industriels non alimentaires. Les sous-produits de l'extraction et du raffinage comprennent la farine, les coques, la pâte de savon de sodium ainsi que des sous-produits mineurs tels que les tocophérols, la lécithine et les cires **(Grompone, 2005).**

En adoptant une approche de bio raffinage, l'ensemble de la récolte de tournesol peut être utilisée comme centrale énergétique industrielle pour produire du biocarburant. Deux options existent :

A-Utiliser la récolte entière en mélange.

B-Utiliser séparément chaque partie de la plante.

Dans cette optique, l'huile extraite des graines est convertie en biodiesel par transestérification avec un rendement de 96,2 %, correspondant à 84 kg de biodiesel par tonne de tournesol, soit 108,8 L d'équivalent essence **(Ebrahimian et *al.*, 2022).** Le processus génère un pouvoir calorifique de 41,6 MJ/kg. De plus, les résidus lignocellulosiques subissent des prétraitements physicochimiques (eau chaude, acide phosphorique concentré, carbonate de sodium) pour produire du biométhane par digestion anaérobie. Le tourteau de graines offre le rendement en méthane le plus élevé (342,7 NmL/g de VS), tandis que la phase liquide des prétraitements à l'eau chaude et alcaline produit une quantité substantielle de biométhane **(Ebrahimian et *al.*, 2022)**.

L'approche optimale utilise un mélange non traité et des tourteaux pour la production de biométhane et de biodiesel, générant ainsi 11 095 MJ/t d'énergie, soit 346,7 L d'équivalent essence **(Ebrahimian et *al.*, 2022).**

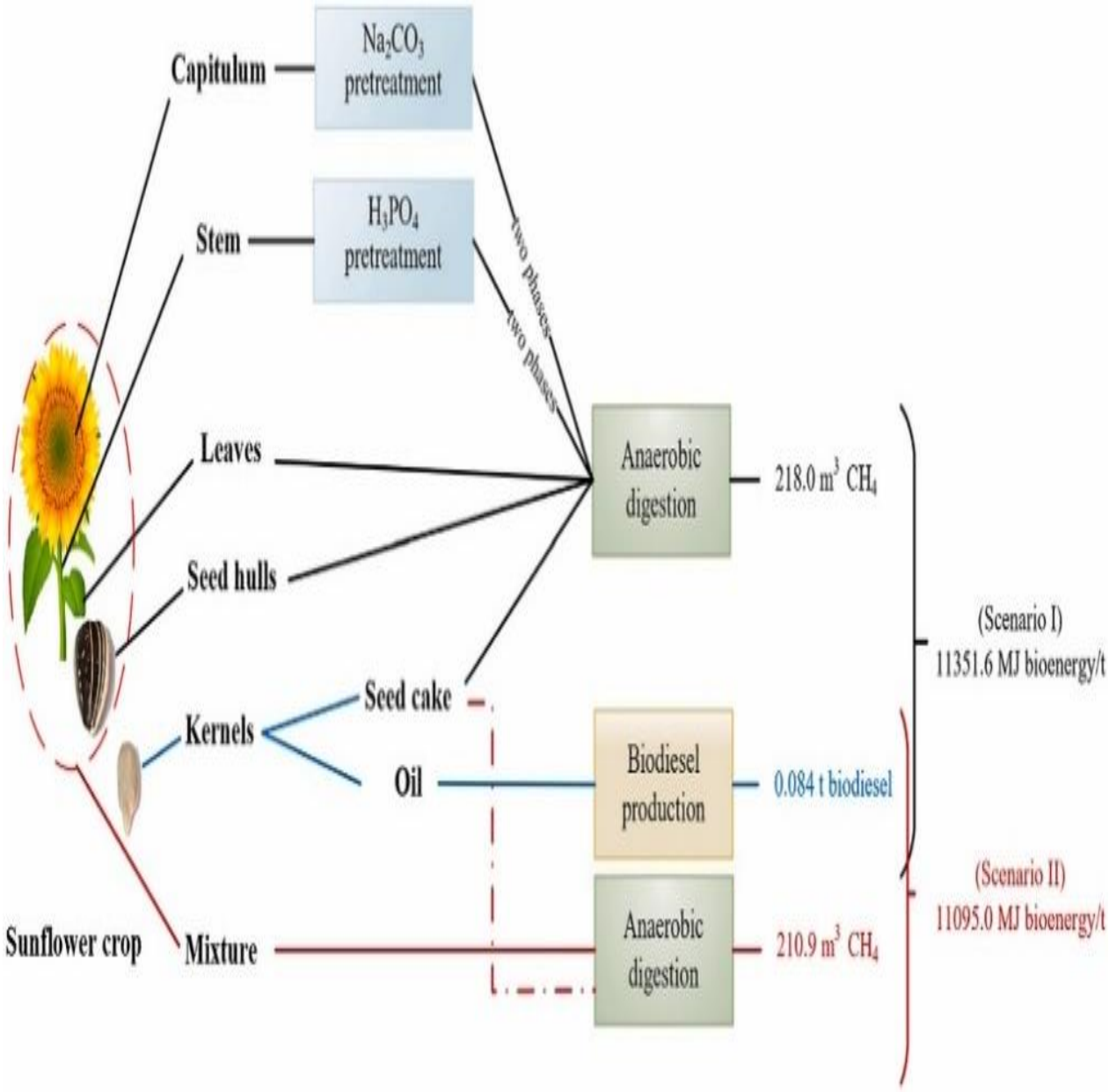


Figure 13 : Production de biocarburants à partir de tournesol**(Ebrahimian et al., 2022)**

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. La rhizosphère :

I.1. Lieu et description de l'étude : Ce travail fait partie d'un projet de fin d'étude (PFE) et l'étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie (FS) de 1 mars jusqua 23 avril, université Yahia Farès Médéa. L'étude a été menée en pots avec profondeur 15cm ; dans le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences (pôle universitaire d'Ouzera -Médéa).

I.2.Matériel végétale :

Une variété de tournesol (*Helianthus annus*) (figure 14), a été cultivée en pots (durant la saison d'hiver : Janvier 2025 sous une serre). Dans notre travail nous nous sommes intéressés aux deux parties de la plante : la rhizosphère de la plante et la partie aérienne, On a prélevé 3 plants d'une façon randomisée. La partie du sol prélevé a été conservé dans des sacs en plastique stériles dans une température de conservation.



Figure 14 : Les plants de tournesol récolté dans la phase de floraison (Photos personnelle).

I.3.Méthodes :

a. Le Poids sec des plants : Après séparation des racines des plants, la rhizosphère a été récupéré puis stocké à -20°C. Les poids secs des différentes parties de la plante ont été déterminés à l'aide d'une balance de précision après séchage à l'étuve à 70°C pendant 48h.

b. Préparation de la solution mère : A partir de chaque échantillon de sol des 3 plants destinés à l'analyse microbiologique nous avons mis en suspension le sol des 3fractions rhizosphériques (le sol rhizosphérique, le rhizoplan et le sol non rhizosphérique) (1g.ml^{-1}) dans un flacon stérile



de 50ml contenant de tampon PBS stérile (figure 15)(annexe1). Les flacons est ensuite agité manuellement (Gouzou, 1992).

Figure 15 : Préparation de la solution mère (SM).

c. Isolement des souches : L'isolement des bactéries est effectué par la méthode des suspensions-dilutions selon le protocole suivant :

c.1. Préparation des dilutions : Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, 1 ml de la solution mère est ajouté, ce qui représente la dilution 10^{-1} (Figure 16), 1 ml de cette dilution mélangé à 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui correspond à la dilution 10^{-2}, On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} et 10^{-5} (**Daur et *al*., 2018**).



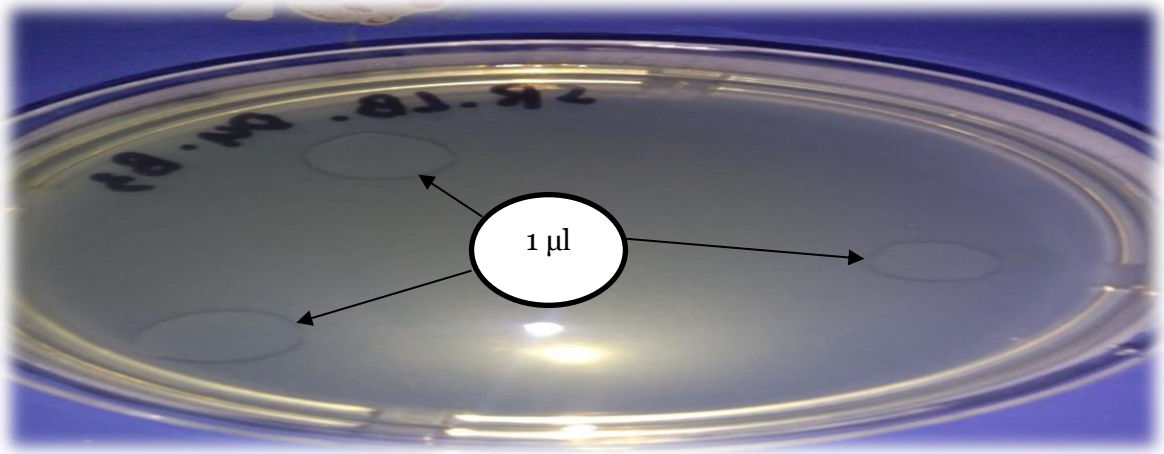


Figure 16 : Préparation des dilutions D1, D2, D3, D4 à partir de la solution mère SM.

c.2. Ensemencement :

Chaque boite contenant le milieu LB et NBRIP (Annexe 1) est ensemencée avec 3 répétitions aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5}, l'échantillon de la dilution étalés en utilisant la technique de la goute où les boites sont divisées en 3 parties (figure 17), chaque partie est ensemencée une fois avec une dilution, avant d'être mise à incuber à 28°C (**Kirdi, 2011**).

Figure 17 : Ensemencement des dilutions sur les milieux LB et NBRIP.



d. Mesure de la densité des bactéries totales cultivables : Le principe général du comptage consiste à dénombrer les bactéries cultivables présentent sur un milieu solide issu d'une dilution, 1µl ont été prélevés aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} et ont été étalées sur milieu LB.

La taille de la communauté bactérienne cultivable a été estimée par comptage du nombre de UFC par gramme de sol le dénombrement bactérien a été déterminé après 24 h et 48 h, d'incubation à 28 °C. Cette période d'incubation permet la stabilisation du nombre d'UFC.

e. Conservation des isolats : La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches dans des tubes renferment 50% de milieu LB durant une nuit puis conservés dans une solution de glycérol 50% à -80°C.

c. Identification des isolats de la rhizosphère :

c.1. Etude macroscopique : L'étude des caractères morphologiques (macroscopiques), consiste a une observation des colonies bactériennes, prenant en compte les éléments d'identifications macroscopiques suivant : **la taille des colonies**: moyenne, ou grosse, **la chronogénèse :** couleur de la colonie, **la forme des colonies** : rondes, irrégulières, **l'élévation**

: convexe, concave, ou plate, **l'opacité :** opaque, translucide, ou transparente, **la surface** : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée (**Joffin et Leyral, 2006**).

c.2. Etude microscopique :

c.2.1. La coloration de Gram : Est une coloration différentielle permettant de classer les bactéries en deux groupes selon la structure de leur paroi en : Bactéries à Gram positif et à Gram négatif en effet quand les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane, puis soumises à l'action du Lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout la couche en peptidoglycane de membrane des bactéries. Cependant, lorsque ces bactéries colorées sont lavées a l'alcool, seules celles a Gram négatif (présence membrane externe et couche mince de peptidoglycane), qui perdent leur coloration et prennent la couleur rose après la coloration par la Fushine , les bactéries a Gram positif possèdent une couche épaisse de peptidoglycane qui empêche la pénétration de l'alcool et donc restent en couleur violet.

c.2.2. Examen à l'état frais : Une préparation à l'état frais permet d'examiner et de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. Ces caractères ont été étudiés par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle (**Joffin et Leyral, 2006**).

d.Observations microscopiques :L'observation des échantillons a été faite au microscope optique (Zeiss) à faible et à fort grossissement. Afin d'augmenter le pouvoir résolvant de l'objectif 100X, une goutte d'huile d'immersion a été déposée sur la lame. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

e. Etude biochimique et physiologique

e.1.Production de pigments

e.1.1. Détection de pyoverdine : La production de la pyoverdine a été recherchée sur milieu solide« King B » favorisant la production et la détection de ce sidérophore grâce au sulfate de magnésium et au phosphate bipotassique (Annexe 01) (**King et *al.*, 1954**). L'incubation a été faite à 30°C pendant 24h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

e.1.2. Détection de pyocyanine : Afin de mettre en évidence la production de pyocyanine, des bactéries ont été cultivées sur milieu solide « King A » (Annexe 01) (**King et *al.*, 1954**), à 30°C

pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

e.1.3. Détection des rhizobiums : YMA est un des milieux solides les plus utilisés pour la culture de rhizobia (Vincent, 1970). Sur ce milieu les colonies apparaissent sous forme circulaire, blanche, opaque ou laiteuses, humides, translucides, elles peuvent être brillantes. L'opération est réalisée dans les boites de pétris contenant de milieu YMA. L'incubation des bactéries a été faite pendant 48 h.

e.2. Etude des enzymes respiratoires :

e.2.1. Recherche de la catalase : La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H_2O_2 à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (**Lévy et *al.*, 1992**).

e.2.2. Recherche de l'oxydase : Le test oxydase a été réalisé grâce à des disques d'oxydase prêts à l'emploi contenant de l'oxalate N- diméthyl-paraphénylène diamine. Les bactéries oxydases positives dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violet foncé après quelques secondes (**Marchall et *al.*, 1982**).

e.3. Analyse des caractères PGPR :

e.3.1. Dosage de l'acide Indole acétique (AIA) : Les bactéries sont mises en culture pendant 48h dans le milieu LB liquide contenant 0,5g l^{-1} du L tryptophane (Annexe 1), la croissance est assurée à une température de 28°C sous agitation et en l'obscurité totale. Après croissance, les cultures de différentes bactéries sont centrifugées a 14000g pendant 5 minutes et le surnageant est récupéré. Après récupération du surnageant ,1ml de celui-ci est mélangé avec 1ml du réactif salkowski déjà préparé (Annexe 1), les préparations sont ensuite mises à température ambiante a l'obscurité pendant 20 minutes . L'absorbance de la couleur rose résultante qui indique la production de l'AIA a été lue à 530nm avec un spectrophotomètre (**Gravel et *al.*, 2007**). Les valeurs obtenues sont converties en taux d'auxine par le biais d'une courbe d'étalonnage (annexe 02), préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en AIA.

e.3.2. Minéralisation du phytate : La caractérisation de la densité et de la structure de la diversité de la communauté bactérienne fonctionnelle minéralisant le phosphore a été appréhendée à partir d'une approche basée sur la culture des microorganismes. Cette étape s'est

faite sur le milieu NBRIP (Annexe1) (**Singh et *al*., 2014**). Les colonies ont été incubées pendant 7-15 jours sur milieu (NBRIP). La formation de Halo autour des colonies a été considérée comme indiquant une activité de solubilisation du phosphate. (**Xiaohui et *al.*, 2018**).

e.3.3. Fixation d'azote : Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, ces dernières ont été cultivées à 30°C pendant 48 h, sur milieu solide exempté d'azote « Burk's N-free » (Annexe 01), Selon le protocole de **Wilson et Knight (1952)** et **Park et *al*. (2005**). Toute croissance sur ce milieu traduit la capacité des bactéries à fixer l'azote.

e.3.4. Production d'ammoniac (NH_3) : La production de NH_3 a été testée sur le milieu BK131 (Annexe 1). La suspension bactérienne de 2 ml a été incubée à 30°C/3.jours/150.rpm (**Cappuccino et Sherman, 1992**). L'accumulation de l'ammoniac a été détectée par l'addition de 0.5 ml de réactif de Nessler (Annexe 1) dans chaque culture bactérienne donnant une couleur jaune à orange (Bakker et *al.,* 1987)

II. La phyllosphère :

II.1. Echantillonnage de la partie aérienne :

II.1.1. Stratégie de prélèvement des feuilles : Nous avons prélevé arbitrairement à partir de trois plants dans le site d'échantillonnage. Chaque échantillon contiendra cinq feuilles sans toucher les feuilles, ceci pour éviter de contaminer l'échantillon. Nous plaçons les segments dans le sac de prélèvement stérile, ceci est réalisé en coupant le pétiole avec un ciseau stérile et le tremper dans l'éthanol avec flambage (Figure 18).

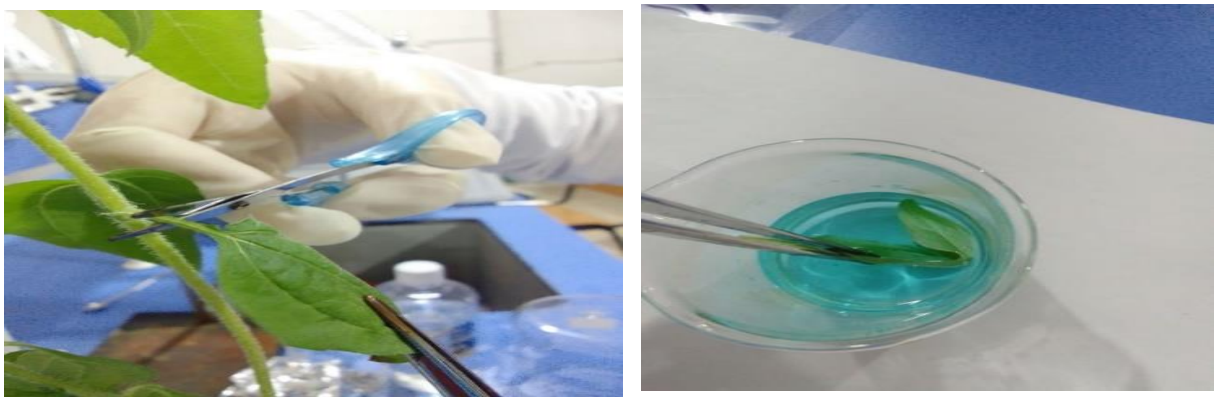


Figure 18 : Procédure de l'échantillonnage des feuilles (phyllosphère).

II.1.2. Conservation des feuilles : Afin de conserver les feuilles, nous inscrivons les données de chaque prélèvement sur les sacs telles que le nom, la date, nous pressons soigneusement les

sacs pour les vider de l'air avant leur fermeture avec un ruban adhésif, puis nous les plaçons dans la glacière afin d'être transportés au laboratoire.

II.2. Préparation des milieux et des solutions pour l'isolement :

Afin de séparer les microorganismes présents à la surface de la feuille, nous devons préparer des solutions et des milieux de culture qui vont nous permettre d'isoler et de déterminer le nombre et le type de bactéries.

II.2.1. Les milieux de cultures :

La gélose nutritive : La gélose nutritive est un milieu utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants, est un milieu d'isolement non sélectif, permet de contrôler la pureté d'une souche bactérienne.

Le bouillon nutritif : Le bouillon nutritif est un milieu utilisé pour la culture de micro-organismes sans exigences particulières. Ce bouillon de culture est utilisé en culture microbiologique, notamment pour la reproduction de bactéries.

II.2.2. Préparation des solutions :

II.2.2.1. La solution mère : Dans une fiole contenant 150 ml de bouillon nutritif, à l'aide d'une pince stérile par flambage au bec bunsen nous prenons 3 feuilles et les insérez dans une fiole, puis nous la fermons avec para film et le tout est mis à agiter sur un agitateur magnétique pendant 1 heure. Cette dernière opération a pour but de décrocher les microorganismes de la surface des échantillons et maximiser le nombre de bactéries potentiellement cultivables. La solution obtenue est appelée solution mère.

II.2.2.2 La série des dilutions : A l'intérieur d'un tube à essai contenant 9 ml de bouillon nutritif, nous ajoutons 1 ml de la solution mère en tenant compte des conditions de stérilisation nécessaires, puis du processus d'agitation qui a lieu après chaque dilution.



Figure 19 : Série de dilutions de la solution mère.

II.3. Isolements de la flore microbienne

II.3.1. Isolements en absence d'antifongique (ATF): Une quantité de 100 µl de chaque dilution est étalée sur les boites de Pétrie contenant de la gélose nutritive (GN) (à l'aide d'un râteau). Pour chaque dilution 3 répétitions sont réalisées. Les boites sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h et à 72h à 30°C.

II.3.1.1. Purifications : Une colonie est prélevée de la boite de Pétri précédente et ensemencée en surface à l'aide d'une anse de platine et par la méthode de trois cadrans dans des nouvelles boites de pétri contenant la GN préalablement coulée. L'opération est réalisée avec 2 répétitions pour chaque dilution. Les boites sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h à 30 °C.

II.3.1.2. Caractérisation morphologique des isolats

a. Observation macroscopique des colonies bactériennes : C'est une étude morphologique qui correspond à l'observation visuelle des colonies qui sont apparus sur milieu GN.

b. Observation microscopique : Deux types de colorations sont réalisés, une coloration au bleu de méthylène et l'autre une coloration de Gram.

b.1. Coloration au bleu de méthylène ou chlorure de méthylthioninium : La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple et rapide, économique et d'usage courant où un seul colorant est utilisé pour souligner des structures particulières dans l'échantillon, la forme (la taille et la disposition des bactéries).

b.2. Coloration de Gram :

Préparation d'un frottis

- Mettre le violet de gentiane sur la lame et laisser agir 1 minute, puis rincer à l'eau de robinet.
- Rinçage au Lugol : recouvrer de Lugol et laisser agir le même temps de cristal violet.
- Décoloration à l'alcool : verser goute à goute l'alcool sur la lame incliné et laisser pendant 30 secondes, puis rincer la lame avec l'eau de robinet.
- Recoloration à la fushine : mettre quelque goutes de fushine, et laisser agir 1 minute puis laver doucement à l'eau de robinet.
- Sécher la lame par un papier.
- Observer avec une goutte d'huile d'immersion par l'objectif x100.

II.3.2. Isolement en présence d'un antifongique (ATF) : Nous utilisons un ensemble de tubes contenant 10 ml de BN auxquels nous ajoutons 1000 µl d'ATF. Une colonie est prélevée à partir de la boîte précédente (d'isolement), puis à l'aide d'une anse de platine on prélève et on inocule une nouvelle boite contenant de la GN par la méthode des trois cadrans. L'opération est réalisée avec 2 répétitions pour chaque dilution. Les boites sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h à 30°C .



Figure 20 : Isolement des microorganismes de phyllosphère dans milieu BN en présence d'ATF (couleur trouble observée).

Chapitre III :

Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Etude descriptive de la plante hôte :

I.1.1. Le poids sec aérien des plantes : Le poids sec aérien des plantes (PSA) se réfère au poids de la partie aérienne (feuilles, tiges, fleurs) d'une plante après que l'eau ait été entièrement évaporée. Il est souvent utilisé dans les études de biomasse, car il permet de déterminer la quantité de matière organique produite par la plante, indépendamment de la teneur en eau. Le poids sec correspond nos échantillons des plants enregistrés a été de 488 ± 99.07 mg. Plant^{-1}, il représente 94.39 % de la biomasse de la plante.

I.1.2. Le poids sec racinaire des plantes : Le poids sec racinaire (PSR) des plantes se calcule en soupesant les racines après les avoir séchées jusqu'à poids constant, c'est-à-dire jusqu'à ce que le poids ne varie plus après le séchage. Il est utilisé pour mesurer la biomasse racinaire et est souvent exprimé en grammes par plante ou en grammes par volume de sol, nos résultats ont montré une masse réduite du poids moyen des racines (29 ± 5.88 mg. Plant^{-1}) qui représente 5.61% du poids total des plants de tournesol, nous remarquons d'après ces résultats que le rapport PSA/PSR = 16.82 fois est un indice très significatif de la croissance de la plante.

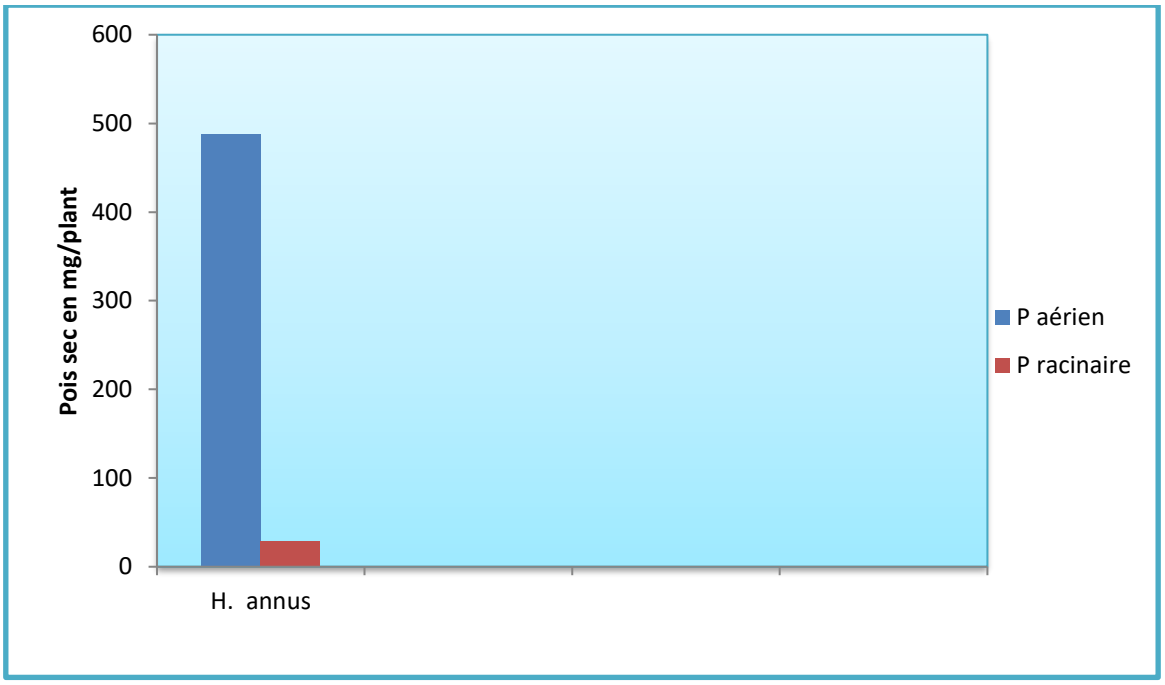


Figure 21 : Biomasse des plants de tournesol utilisé dans l'expérimentation.

II. La rhizosphère :

II.1. Densité des bactéries totales cultivables

Le nombre de colonies bactériennes totales par gramme de sol (UFC g^{-1}) a été déterminé après 48h d'incubation à 28°C sur milieu LB (Tableau et figure22), nous avons remarqué une importante charge bactérienne dans le rhizoplan (RP) : 51± 9.89 UFC g^{-1} du sol par rapport aux autres fractions SNR et SR de la plante, cette augmentation peut être dû au capacité des bactéries de la fraction (RP) a produire des EPS : exopolysaccharides qui sont des biomolécules clés de l'adaptation des bactéries PGPR avec la plante hôte. Les travaux sur les bactéries productrices d'exopolysaccharides (les travaux concernant le rôle de ces bactéries productrices d'EPS dans la modification de la structure du sol et son impact sur la croissance des plantes sont beaucoup plus rares et plus récents (**Ashraf *et al.*, 2004 ; Kaci *et al.*, 2005 ; Sandhya *et al.*, 2009**).

Tableau 01 : Densité des bactéries de la rhizosphère des plants de tournesol recensées sur milieu LB.

Fraction	**SNR**	**SR**	**RP**
Dilution 10^{-4}	23±4.9	22±4.54	51±9.89
Dilution 10^{-5}	16.66±5.9	17.66±8.17	44.66±21.24



Figure 22 : Le nombre de colonies bactériennes des différentes fractions de la rhizosphère d'*H. annus* après incubation sur milieu LB.

II .2 Etude macroscopique

Afin d'identifier une souche microbienne, la première étape du diagnostic microbien et du bio typage d'une souche est la description macroscopique des colonies bien isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe qu'on a en présence car les colonies sont typiques. Les principaux caractères observés sont répertoriés dans le tableau 2, ces résultats nous montré une large diversité phénotypique dans les différentes parties de la rhizosphère de tournesol.

Tableau02 : Les principaux caractères morphologiques des isolats de la rhizosphère de tournesol.

Fraction de la rhizosphère	Taille	Couleur	Forme	Elévation	Opacité	Surface
SNR	Grande	Blanche Jaune	Ondulé	Plate	Opaque	Sèche
SR	Moyenne	Blanche Jaune Rouge Crème Orange	Ronde	Elevé	Translucide	Lisse
RP	Moyenne	Blanche Jaune de canari Orange	Ronde	Bombé	Opaque	Lisse

II.3. Etude microscopique :

La Coloration Gram est une coloration différentielle, permet de distinguer les deux groupes de bactéries Gram+ et Gram-, qu'après leur coloration au cristal violet, certaines bactéries certaines bactéries sont décolorées par un traitement aux solvants organiques, alors que d'autres restent insensibles à cette décoloration. Ce comportement différent des bactéries vis-à-vis de la coloration Gram, s'est imposé dans le protocole d'identification des bactéries, comme un caractère taxonomique fondamental, permettant de classer les bactéries dans leur groupe approprié. Notre résultat montre la présence des deux groupes Gram + /Gram – ainsi plusieurs

formes dans les trois fractions étudiées tel que : *Bacillus* (Gram +), *Pseudomonas* (Gram -) *Azospirillum* (Gram-), *Streptomyces* (Gram +), *Enterobacter* (Gram-).

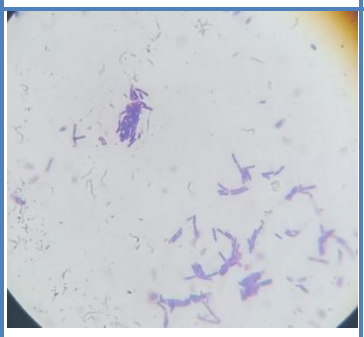
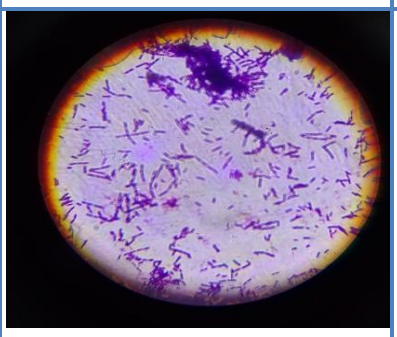
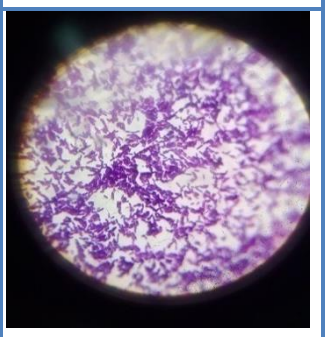
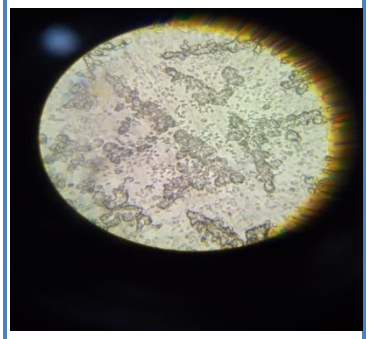
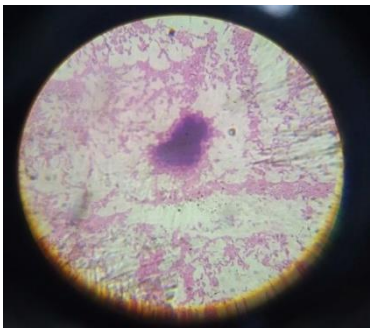
Fraction	SNR	SR	RP
Gram+			
Gram -			

Tableau 03 : La coloration Gram des différents isolats de la rhizosphère.

II.4. Etude biochimique et physiologique

II.4.1. Production de pigments

II.4.1.1. Détection de pyoverdine :

La pyoverdine est un sidérophore produit par certaines espèces de bactéries, en particulier celles du genre *Pseudomonas*. C'est une molécule fluorescente qui joue un rôle crucial dans la récupération et le transport du fer pour ces bactéries. Elle est essentielle pour la survie des bactéries en milieu pauvre en fer et contribue à leur virulence

L'Observation d'une couleur verte après réactivation par les rayons UV a mis en évidence la production de pyoverdine (figure23). Nos résultats montrent que 95% des bactéries ont présentés une fluorescence verte contre 5% sans fluorescence. Cette fluorescence pourrait être

indicatrice de la dominance de l'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* notamment dans les deux fractions SR.

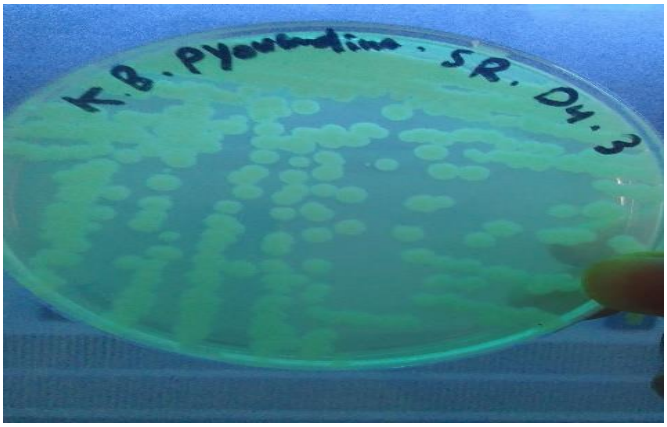


Figure 23 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.

II.4.1.2. Détection de pyocyanine : La pyocyanine est un pigment phénazine bleu-vert produit par la bactérie comme *Bacillus* et *Pseudomonas*. La pyocyanine a des propriétés antibiotiques envers d'autres bactéries compétitives, les résultats (figure24) ont montré le développement du pigment fluorescent qui a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm notamment dans les deux fractions (SR et SNR).



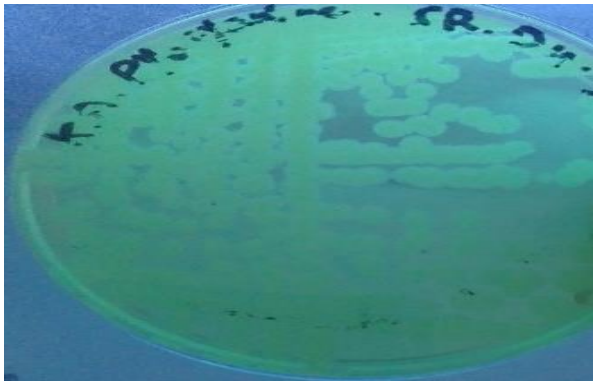


Figure 24 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV

II.5. Croissance des isolats de Rhizobium sur milieu YMA :

Sur le milieu YMA, la croissance apparait au bout de 24 à 48h sous forme de petites colonies de 2 à 5mm de diamètre, circulaires à surfaces lisses et contours réguliers, brillantes, convexes, de texture homogène et de couleur blanchâtre a crème, opaques, ronde, bombés et mucilagineuses (Figure 25). Cette description est valable pour la grande majorité des colonies, et ceci correspond à la description des rhizobia par Jordan (1984).

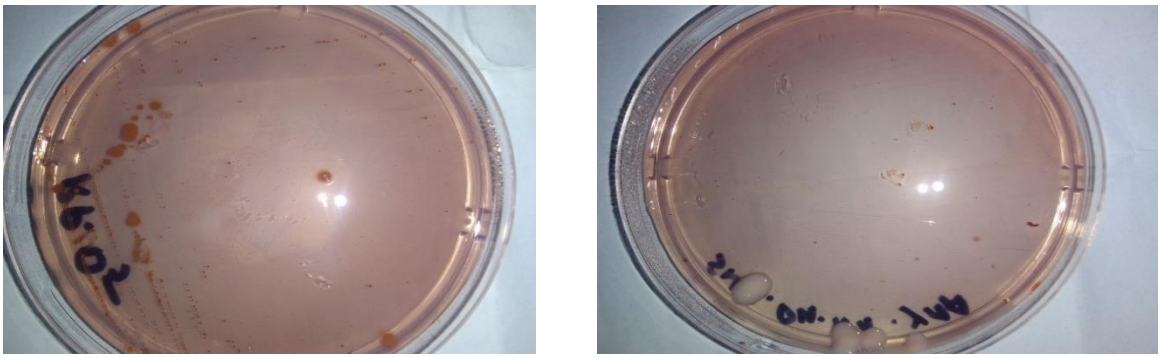


Figure 25 : Apparition des colonies de Rhizobium sur milieu YMA

II.6. Etude des enzymes respiratoires

II.6.1. La catalase :

Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bactéries. Il s'agit de mettre en contact une colonie de la bactérie à étudier en présence d'eau oxygénée (à 10 volumes). Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase. La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase, en particulier les bacilles Gram négatifs aérobies. Le test de catalase sur notre souche isolée a montré que 90.7% de ces isolats ont de catalase (+) et 9.3% ont de catalase (–).

II.6.2. L'oxydase :

Les résultats de test oxydase montrent que la majorité des souches testées ont le caractère oxydase négatif, car ce test est une procédure simple et rapide pour identifier la présence de l'enzyme oxydase chez certaines bactéries, notamment les bactéries Gram-négatives aérobies.

II.6.3. Analyse des caractères PGPR

II.6.3.1. Production de l'acide indole acétique (AIA) :

La production de l'acide indole acétique a été réalisée après 4 et 8 jours d'incubation en présence du précurseur (L tryptophane) ; l'apparition d'une coloration rose a rouge foncé montre la présence de l'acide indole acétique (figure 26). La concentration de l'AIA la plus élevé a été observée avec les inocula isolés du sol rhizosphérique (SR) et le rhizoplan (RP).

L'AIA en faibles concentrations favorise la croissance racinaire en stimulant la division et l'élongation des cellules. Cela contribue à la formation de nouvelles racines et à la croissance du système racinaire.

Au contraire des concentrations excessives d'AIA peuvent inhiber la croissance racinaire, voire bloquer le développement des racines (**Devresse et *al.*, 2012**). Cet effet est lié à la capacité de l'AIA à affecter la paroi cellulaire et à modifier le métabolisme des cellules racinaires cela peut expliquer l'augmentation du rapport PSA/PSR qui résulte de la faible biomasse racinaire des plants de tournesol.



Figure 26 : Production de l'AIA dans le milieu LB additionné de L Tryptophane.

II.6.3.2. La minéralisation du phytate :

Les phytates, présents notamment dans les céréales et légumineuses, sont des esters de l'acide phytique (méthylène-hexaphosphate). Ils ont une forte affinité pour les cations, tels que le zinc (Zn^{2+}), le fer (Fe^{2+}/Fe^{3+}), le calcium (Ca^{2+}) et le magnésium (Mg^{2+}).

La phytase, une enzyme présente dans certaines bactéries, peut dégrader l'acide phytique, facilitant ainsi la libération des minéraux. D'autres méthodes, comme le trempage et la germination, peuvent également aider à réduire les phytates.

La bonne croissance des souches testées est un signe de la capacité des isolats du rhizoplan (RP) à solubiliser le phosphate (la dégradation des phytates).

La solubilisation des phosphates insolubles a été évaluée qualitativement sur milieux NBRIP et de Pikovskaya en utilisant le phosphate tricalcique comme seule source de phosphore par plusieurs chercheurs (**Ahmad et *al.*, 2008 ; Aarab et *al.*, 2009 ;Oliveira et *al.*, 2009 ; UmaMaheswar et *al.*, 2012 ; Cherif, 2014**).

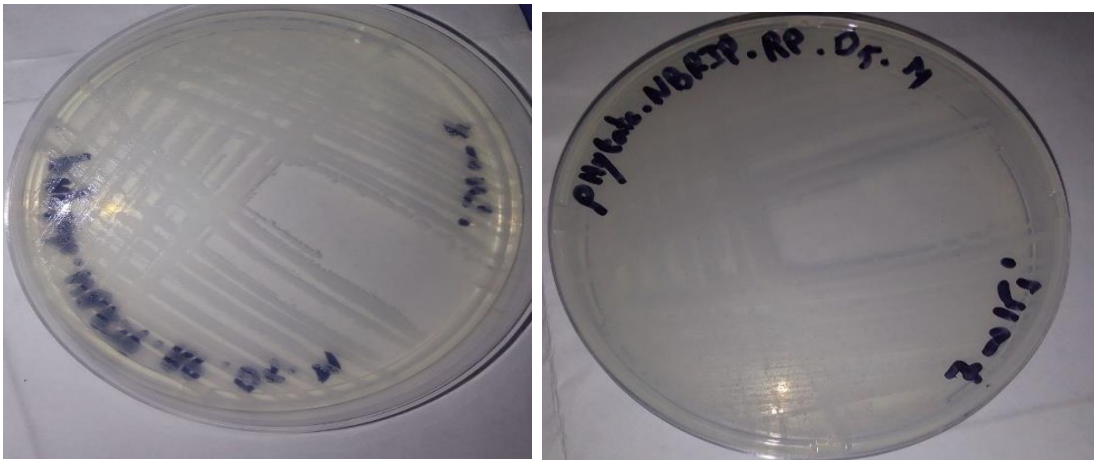
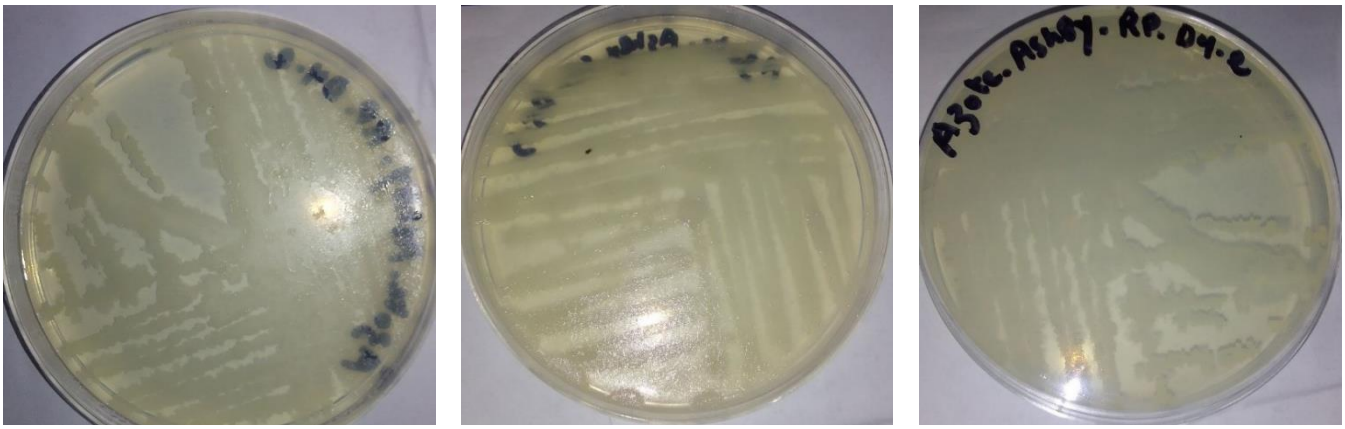


Figure 27 : Croissance des isolats sur milieu NBRIP

II.6.3.3. Fixation d'azote :

La croissance des bactéries sur le milieu Ashby, ou milieu de Ashby-King, est un test utilisé pour identifier et caractériser les souches de bactéries fixatrices d'azote.

Après incubation sur milieu Ashby jusqu'a 7ème jour (figure 28), nous avons remarqué l'apparition de colonies pigmentés d'aspect muqueux ; la croissance a été plus observé chez les bactéries des deux zones : SR et RP, cela nous montré que ces souches sont importantes dans le sol car elles sont capables de convertir une quantité importante d'azote atmosphérique en une forme utilisable par les plantes, via un processus appelé fixation azotée.



SNR **SR** **RP**

Figure28 : croissance des isolats sur milieu Ashby.

II.6.3.4. Production d'ammoniac :

Certaines bactéries peuvent dégrader les composés azotés présents dans le milieu (ex. : urée, peptone), libérant de l'ammoniac (NH_3). L'ammoniac élève le pH du milieu. Le bleu de bromothymol (BBT) est utilisé comme indicateur pour détecter cette augmentation de pH.

Après incubation des suspensions bactériennes dans le milieu BK131 durant 48h ; on dissout 0,10 g de BBT dans 100ml de milieu qui peut provoquer la formation d'une couleur bleue à violet (pH> 7.6) cela confirme la production d'ammoniac.

Les résultats trouvés ont révélé que les souches bactériennes isolées dans les trois fractions ont l'aptitude de produire l'ammoniac à partir de la matière organique du sol.

Les espèces du genre *Bacillus* ; peuvent minéraliser la matière organique azotée. Elles libèrent de l'ammoniac en dégradant des composés organiques contenant de l'azote (ex. : protéines, acides aminés), de même les souches *Pseudomonas fluorescens*, peuvent produire de l'ammoniac également via la dégradation des acides aminés. D'autre part, plusieurs études ont rapporté que les bactéries fixatrices d'azote produisent également des substances favorisant la croissance des substances telles que l'IAA et solubilisent le phosphate (**Hartono et *al*., 2016).**



Isolats dans le milieu BK 131 **Réactivation par BBT**

Figure 29 : Test de production d'ammoniac par les isolats de la rhizosphère de la plante.

III. La phyllosphère :

III.1. Mise en évidence des microorganismes phyllosphériques :

Afin d'évaluer la flore microbienne des feuilles de tournesol, nous nous sommes appuyés sur les résultats de l'observation à l'œil nu (macroscopique) et l'observation microscopique des colonies après incubation sont répertorié dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Critères macroscopiques des colonies de différents microorganismes de la phyllosphère.

Critère		**Couleur**	**Bordure**	**Taille**	**Forme**	**Elévation**	**Surface**
Colonie	**Phénotype 1**	Jaune Blanche Rouge	Régulière	Petite+ Moyenne	Ronde	Elevé	Lisse
	Phénotype 2	Blanche Jaune	Régulière	Petite +moyenne	Ondulé	Plate +élevé	Lisse
	Phénotype 3	Jaune +blanche	Irrégulière	Grande +moyenne +petite	Ondulé	Plate	Lisse

III.1.1. Analyse macroscopique sur la gélose nutritive :

III.1.1.2. Dénombrement des microorganismes en absence de l'ATF :

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement. L'observation à l'œil est basée sur une série des tubes de dilution qui ne contiennent pas d'ATF.

Après incubation durant 24 h des différentes dilutions préparées, nous avons enregistré les observations consignées dans le (Tableau 05), les valeurs enregistrées sont légèrement chargées situe entre 25 10^2 UFC /F avec la dilution 10^{-1}et 14.5 10^2UFC/F avec la 4ème dilution.

Tableau05 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en absence de l'ATF.

Dilution	**SM (s mère)**	10^{-1}	10^{-2}	**10^{-3}**	**10^{-4}**
UFC/boite	**Tapis**	50	07	06	05
UFC/feuille	/	25 10^2	17.8 10^2	14.8 10^2	14.5 10^2

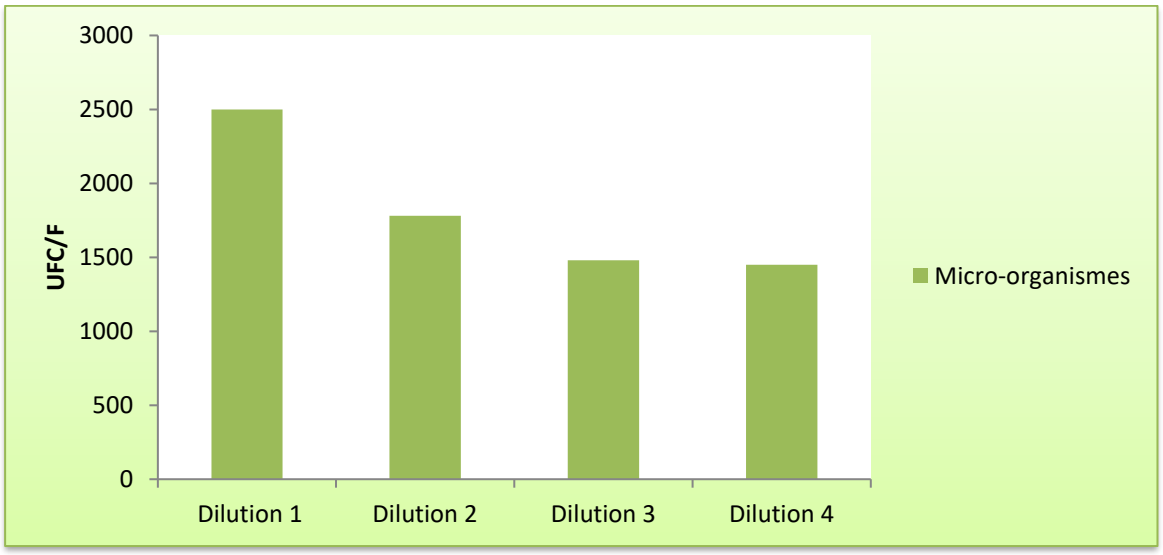


Figure 30 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en absence de l'ATF.

III.1.1.3. Dénombrement des microorganismes en présence d'un ATF :

Le but d'ajouter l'ATF est d'inhiber la croissance des mycètes et l'empêchement de leur multiplication dans les milieux d'ensemencement, le dénombrement des colonies bactériennes a montré la présence des champignons dans la phyllosphère de la plante, mais les populations fongiques ont une dominance assez totale situe entre 57.5% dans la dilution 10^{-4} et 82% pour la dilution 10^{-1}.

Tableau06 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en présence de l'ATF.

Dilution	**SM**	**10^{-1}**	**10^{-2}**	**10^{-3}**	**10^{-4}**
UFC/boite	Tapis	9	7	6	2

UFC/feuille	/	4.5 10^2	17.8 10^2	14.8 10^2	6.16 10^2

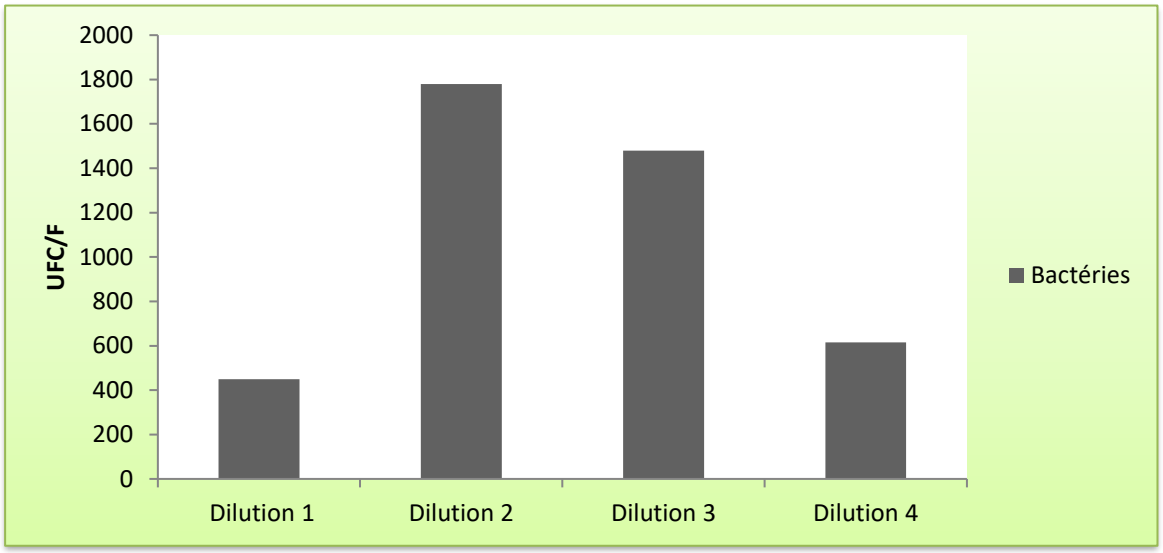


Figure 31 : Dénombrement des microorganismes cultivables dans la phyllosphère en UFC/feuille en présence de l'ATF.

III.1.2. Observation microscopique :

III.1.2.1. Coloration de bleu de méthylène et coloration de Gram :

L'examen à l'état frais après le traitement par une substance ATF, permet d'observer des populations bactériennes vivantes, sous un microscope optique. Cela permet d'apprécier leur mobilité et de déceler des mouvements spécifiques si l'espèce est mobile. L'observation

Microscopique a révélé la présence de plusieurs formes de bactéries (Cocci et bacilles), mobile et immobiles (figure32).

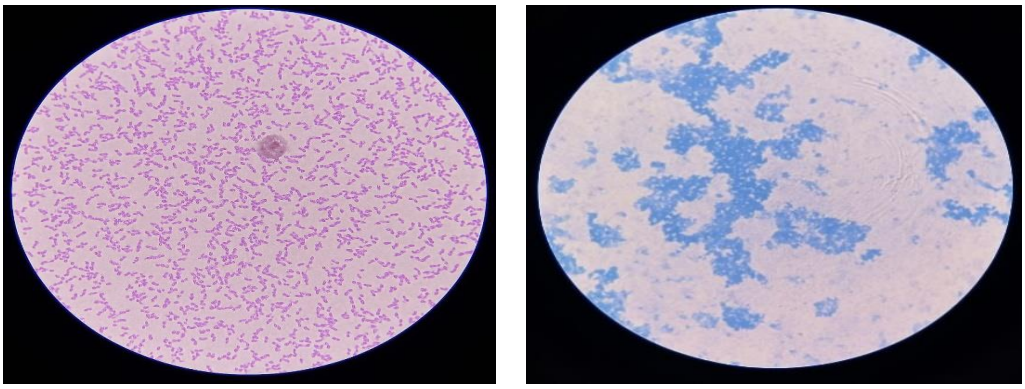


Figure 32 : Observation microscopique des cellules bactériennes Gx 1000.

Conclusion

IV. Conclusion :

L'étude comparative des communautés microbiennes de la rhizosphère et de la phyllosphère d'*Helianthus annus* a permis de mettre en évidence la richesse et la diversité du microbiote associé à cette plante.

En utilisant une approche méthodique qui comprenait des examens morphologiques, microscopiques, biochimiques et physiologiques, il a été possible d'isoler, d'identifier et de caractériser les souches bactériennes dominantes dans chacun de ces deux compartiments écologiques. La rhizosphère représente une niche écologique hautement active, qui englobe le sol en interaction direct avec les racines, et la phyllosphère, correspondant à la surface des feuilles. À travers une série d'analyses microbiologiques classiques incluant l'isolement des souches, leur dénombrement, l'étude morphologique, microscopique, biochimique et physiologique nous avons pu mettre en évidence des différences significatives tant au niveau quantitatif que qualitatif entre les microorganismes de ces deux habitats.
La zone de la rhizosphère est dominée par une diversité bactérienne plus riche et plus fonctionnelle que la phyllosphère, cette zone est connue par les bactéries qui ont le rôle dans la promotion de la croissance des plantes (PGPR), notamment les populations de *Bacillus*, *Pseudomonas, Azospirillum, Rhizobium et Streptomyces*. Ces bactéries se distinguent par leur capacité à : Production des phytohormones telles que l'acide indole acétique (AIA)(hormones végétales favorisant l'élongation cellulaire et la formation de racines latérales), fixation d' azote(réduisant la dépendance aux engrais chimiques) ; Solubiliser les phosphates inorganique (insolubles du sol, rendant ce nutriment essentiel plus accessible à la plante) ; Produire des sidérophores (pyoverdine, pyocyanine) qui chélatent le fer et limitent son accès aux pathogènes, agissant ainsi comme agents de biocontrôle. ; générer de l'ammoniac.

En revanche, la phyllosphère est un écosystème aérien beaucoup plus exposé aux stress environnementaux, notamment aux rayons UV, variations de température, dessèchement et carences en nutriments est moins diversifiée sur le plan bactérien. Les bactéries trouvez dans cette zone appartiennent à des genres comme *Micrococcu*s, *Staphylococcus, Bacillus*, ou encore des Cocci et bacilles.

L'analyse sur milieux de culture a également mis en évidence une présence fongique notable dans la phyllosphère, surtout en absence d'antifongique, ce qui suggère une compétition accrue entre micro-organismes à la surface des feuilles.

Références bibliographiques

V. Références bibliographiques :

Abadi,V.A.J.M.,Sepehri,M.,Rahmani,H.A.,Dolatabad,H.K.,Shamshiripour,M.,Khatabi,B.,etal. 2021-Diversityandabundanceofculturablenitrogen-fixingbacteriainthephyllosphereofmaize.JournalofAppliedMicrobiology.

Abanda-Nkpwatt D, Müsch M, Tschiersch J, Boettner M, Schwab W. 2006. Molecular interaction between Methylobacteriumextorquens and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. Journal of Experimental Botany 57: 4025–4032

Abril et *al*., 2005 : The importance of phyllosphere microbial populations in nitrogen cycling in the Chaco semi-arid woodland J. Trop. Ecol., 1 (2005), pp. 103-107

Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. 2020- Oilseed crop sunflower (Helianthus annuus) as a source of food : Nutritional and health benefits. Food Science & Nutrition, 8(9), 4666-4684. https://doi.org/10.1002/fsn3.1783

Adesina, S. (2018). Effect of processing on the proximate composition of sunflower (Helianthus annuus) seeds. Agro-Science, 17(3), 27–33

Afridi et *al*.,2022 ;Muhammad Siddique Afridi, Ali Fakhar, Ashwani Kumar, Sher Ali, Flavio H.V. Medeiros, Muhammad Atif Muneer, Hina Ali, Muhammad Saleem, Microbiological Research, Harnessing microbial multitrophic interactions for rhizosphere microbiome engineering

Ahkami et *al*., 2023: Amir H. Ahkami, OdetaQafoku et al , Emerging sensing, imaging, and computational technologies to scale nano-to macroscale rhizosphere dynamics – Review and research perspectives

Ahmad, I., Pichtel, J., & Hayat, S. (2008). Plant-bacteria interactions : Strategies and techniques to promote plant growth. Wiley-VCH Verl.

Ahmed, O.H., H. Aminuddin et M.H.A. Husni .(2008). Ammonia volatilization and ammonium accumulation from urea mixed with zeolite and triple superphosphate. ActAgric. Scand., 58: 182-186.

Alegre C y Morales F 2000-Concepción y manejodelsuelo en agroecología. Lima, Perú

Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M.-Q. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants : Ecological Risks and Human Health Implications. Toxics, 9(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/toxics9030042

Aloo, B. N., Makumba, B. A., &Mbega, E. R. (2019). The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. Microbiological Research, 219, 26-39. https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011

Andrews,J.H.,&Harris,R.F.(2000). Theecologyandbiogeographyofmicroorganismsonplantsurfaces.AnnualReviewofPhytopathology,38,145180.https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.145

Angélique, 2011 -Molécules antifongiques et activité antagoniste de deux souches de *Pseudomonas* envers *Helminthosporium solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre. Mémoire de maitrise. Université Laval. Québec

Antar,M.,Lyu,D.,Nazari,M.,Shah,A.,Zhou,X.,&Smith,D.L.(2021). Biomassforasustainablebioeconomy:anoverviewofworldbiomassproductionandutilization.RenewableandSustainableEnergyReviews,139,110691. https://doi.org/1.1016/j.rser.2020.110691

Arkhipova TN, Veselov SU, MelentievAI ,Martynenkoet EV, kudoyarova GR . (2005). Ability of bacterium *Bacillus Subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. ***Plant Soil***. 272: 201-209.

Ashraf et al., 2004 ; Kaci et al., 2005 ; Sandhya et al., 2009) : Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. BiolFertil Soils 40:157–162. https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y

Ashri,A.,&Knowles,P.F.(1960). MorphologyandAnatomy.Baumgartner,P.,&Kamau,P.(Éditeurs).(s.d.).TheOrganicFarmer.PublisherAfricanInsectScienceforFoodandHealth(icipe).Récupérédewww.theorganicfarmer.org.Adesina,S.(2018).Effectofprocessingontheproximatecompositionofsunflower(Helianthusannuus)seeds.Agro-Science,17(3),27–33

Atzhorn R, Crozier A, Wheeler, CT, Sandberg G (1988)- Production of gibberellins and indole-3-acetic acid by Rhizobium phaseoli in relation to nodulation of Phaseolus vulgaris roots. Planta 175: 532–538

Baker C, Chitrakar R, Obulareddy N, Panchal S, Williams P, Melotto M. 2010. Molecular battles between plant and pathogenic bacteria in the phyllosphere. Brazilian Journal of Medical Biological Research 43: 698–704**.**

Bakker, P.A.H.M.., van Peer, R. & Schippers, B. (1987). Specificity of siderophore receptors and biocontrol by Pseudomonas spp. In: Biologicalcontrol of soil-borne plant pathogens. Hornby, D. (ed). CAB International, Wallingford, pp. 131-479.

Baldani JI, Krieg NR, Baldani VLD, Hartmann A, Doberiner J. (2005),Genius*Azospirillum*. in: Bergy's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. 2nd edition. Whitman WB (ed.). *Springer, New York, USA*. Pp: 7-26.)

Bao L, W. Cai, X. Zhang, J. Liu, H. Chen, Y. Wei, et al. Distinct microbial community of phyllosphere associated with five tropical plants on Yongxing Island, South China SeaMicroorganisms., 7 (11) (2019), p. 525

Barles, S., Breysse, D., Guillerme, A. et Laeyval, C. (1999). Le Sol Urbain. CollectionVILLES, Economica, Paris. 278p.)

Barriuso J, Pereyra MT, Garcia JL, Megias M, Manero FG, Ramos B.(2005). Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis Lactariusdeliciosus-Pinus sp. ***Microbial ecology***.50(1): 82-89

Barriuso J, Solano BR, Fray RG, Camara M, Hartmann A, Manero FJG. (2008). Trasgenictomato plants alter quorum sensing in plant growth-promoting rhizobacteria. Plant. Biotechnol. J. 6: 442-452.

Bárta et *al*., 2021 :Complex phyllosphere microbiome aids in the establishment of the invasive macrophyte Hydrilla verticillata (L.) under conditions of nitrogen scarcity. BioRxiv. doi: 10.1101/2021.01.11.426196.

Barupal et *al.*, 2019 - Inhibitory effects of leaf extract of Lawsoniainermis on Curvularialunata and characterization of novel inhibitory compounds by GC–MS analysis Biotechnol. Rep., 23 (2019), p. e00335, 10.1016/j.btre.2019.e00335

Barupal, M. Meena, K. Sharma, **2020-**A study on preventive effects of Lawsoniainermis L. bioformulations against leaf spot disease of maize Biocatal. Agric. Biotechnol., 23 (2020), Article 101473, 10.1016/j.bcab.2019.101473

Bashir, I., War, A. F., Rafiq, I., Reshi, Z. A., Rashid, I., &Shouche, Y. S. (2022). Phyllosphere microbiome: Diversity and functions. Microbiological Research, 254, 126888. https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126888

Beauchamp, C.J. 1993. Mode of action of plant growth-promoting rhizobacterîa and their potential use as biological control agent. PHYTOPROTECTION 74: 19-27.)

Bentley, 1987 - Nitrogen fixation by epiphylls in a tropical rainforest Ann. Mo. Bot. Gard., 74 (1987), pp. 234-241

Bhattacharyya et Jha, 2012;-Mechanisms of inhibition of Gaeumannomycesgraminis var. Tritici by fluorescent pseudomonads. Plant Pathology, 37(1), 104-111. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1988.tb02201.x

Bhuiyan, M. Rahman, K. Bhuiyan , 2012- In vitro screening of fungicides and antagonists against Sclerotium rolfsii Afr. J. Biotechnol., 11 (82) (2012), pp. 14822-14827

Bhuyan et *al.*, 2020 ; Bhrigu Bhuyan, Sourav Debnath, Piyush Pandey, Rhizosphere Microbes, The Rhizosphere Microbiome and Its Role in Plant Growth in Stressed Conditions

Bishnu, M., Dhurva, P., Sanjay, N., Sharmila, C., Janardan, L. (2021). Amelioration of growth attributes of Bambusa nutans subsp. cupulata Stapleton by indole-3-acetic acid extracted from newly isolated Bacillus mesonae MN511751 from rhizosphere of Bambusatulda Roxburgh, Department of Biotechnology, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal b Department of Environmental Science and Engineering, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal, https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101920

Bonos,E.,Christaki,E.,&FlorouPaneri,P.(2011). Thesunfloweroilandthesunflowermealinanimalnutrition.JournaloftheHellenicVeterinaryMedicalSociety,62(1),58-70

Brisbane, P. G., &Rovira, A. D. (1988). Mechanisms of inhibition of Gaeumannomycesgraminis var. Tritici by fluorescent pseudomonads. Plant Pathology, 37(1), 104-111. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1988.tb02201.x

Bulgarelli,D.,Schlaeppi,K.,Spaepen,S.,VanThemaat,E.V.,&Schulze-Lefert,P.(2013). Structureandfunctionsofthebacterialmicrobiotaofplants.AnnualReviewofPlantBiology,64,807–838

Camargo et *al.*,2024 : Thais Ongaratto de Camargo, Gustavo Zimmer, Helen Claudine Saliba Rodrigues, Aline Ferraz da Silva, Simone Pohl, Francine Madruga, Lilian VanussaMadruga de Tunes, MORPHOLOGICAL AND PHENOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SUNFLOWER SEEDS

Chen, T., Nomura, K., Wang, X., Sohrabi, R., Xu, J., Yao, L., Paasch, B. C., Ma, L., Kremer, J., Cheng, Y., Zhang, L., Wang, N., Wang, E., Xin, X., & He, S. Y. (2020). A plant genetic network for preventing dysbiosis in the phyllosphere. Nature, 580(7805), 653–657. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2185-0

Cherif Hafsa .(2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec Bacillus sp. etPantoeaagglomerans isolées de sols arides. Thése de doctorat. laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1

Chirinos J, Leal A y Montilla J 2006 Uso de insumosbiológicoscomoalternativa para la agriculturasostenible en la zona sur delEstado Anzoátegui. Revista Digital Ceniap Hoy 11: 1

Choudhary et *al.*, 2007) –Induced systemic resistance (ISR) in plants : Mechanism of action. Indian Journal of Microbiology, 47(4), 289-297. https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2

Coles et Eslamian, 2017) - Definition of Drought. In Handbook of Drought and Water Scarcity. CRC Press.

Comtois,2017-Comtois,P.-Y.(2017,mars19).L'histoired'untournesol.Pierre-YvesComtois.https://pycomtois.com/2017/03/19/lhistoire-dun-tournesol/Corpoica,GobernacióndeAntioquiayFAO.(2007).Manualdebuenasprácticasagrícolasenlaproduccióndefríjolvoluble.Medellín:FAO.Disponibleen:http://www.fao.orgco/manualfrijol.pdf

Corpoica, Gobernación de Antioquia y FAO 2007 Manual de buenasprácticasagrícolas en la producción de fríjol voluble. Medellín: FAO. 168 p. Available online at http://www.fao.org.co/manualfrijol.pdf

Crombie AT, Larke-Mejia NL, Emery H, Dawson R, Pratscher J, Murphy GP, McGenity TJ, Murrell JC. 2018. Poplar phyllosphere harbors disparate isoprene-degrading bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 115: 13081–13086

Daur I , Saad M M, Eida A A, Shakeel A Zahid H , Muhammad Z. I, Yasir M , Sayed S, Heribert H.(2018) Boosting Alfalfa (Medicago sativa L.) Production With Rhizobacteria from Various Plants in Saudi Arabia, 2018**.**

de Morais Oliveira, V. R., de Arruda, A. M. V., Silva, L. N. S., de Souza Jr, J. B. F., de Queiroz, J. P. A. F., da Silva Melo, A., &Holanda, J. S. (2016). Sunflower meal as a nutritional and economically viable substitute for soybean meal in diets for free-range laying hens. Animal Feed Science and Technology, 220, 103–108. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.015

Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. (2003). Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere**.** ***Crit Rev Plant Sci***. 22: 107-149.

Duffy B, Schouten A, Raaijmakers JM. (2003). Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. Annual review of phytopathology.41(1): 501-538

Dutta et Das, 2002; Das Management of collar rot of tomato by Trichoderma spp. and chemicals J. Indian Phytopathol., 55 (2) (2002), pp. 235-237

Ebrahimian et *al.*, 2022). Biomethane and biodiesel production from sunflower crop : A biorefinery perspective. Renewable Energy, 200, 1352-1361. https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.10.069

Egamberdieva et Kucharova, 2009 - Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils Biol. Fertility Soil, 45 (2009), pp. 563-571

Eilenberg et *al*., 2001; Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl 46: 387–400.

El-Gamal et al., 2007 - Induction of systemic resistance in potato plants against late and early blight diseases using chemical inducers under greenhouse and field conditions Res. J. Agric. Biol. Sci., 3 (2) (2007), pp. 73-81

Ercolani, 1991; Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leaf age and sampling time. Microb. Ecol.21:35-48

Esitken et a*l* ., 2010 -.Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry Sci. Hortic., 124 (1) (2010), pp. 62-66

Fan et *al*., 2025: Xiaoyan Fan, An-Hui Ge, Science China Life Sciences Root exudates and microbial metabolites: signals and nutrients in plant-microbe interactions

Faust et Raes, 2012 -Microbial interactions, from networks to models Nat. Rev. Microbiol., 10 (8) (2012), pp. 538-550

Figueiredo,F.,Castanheira,É.G.,&Freire,F.(2016). Life-cycleassessmentofirrigatedandrainfedsunfloweraddressinguncertaintyandlandusechangescenarios

Flagella,Z.,Rotunno,T.,Tarantino,E.,DiCaterina,R.,&DeCaro,A.(2002). Changesinseedyieldandoilfattyacidcompositionofhigholeicsunflower.EuropeanJournalofAgronomy,17(3),221–230

Fokkema et Schippers., 1986. Phyllosphere vs rhizosphere as environments for saprophytic colonization. p. 137-159. In N. J. Fokkema and J. Van den Heuvel (ed.), Microbiology of the phyllosphere. Cambridge University Press, London, United Kingdom

Forch et *al*., 1902.Berichtenber die KonstantenbestimmungenzurAufstellung der hydrographischenTabellen. K. Danske Vidensk. Selsk. Skr., 8, Nat. Math., I2

Freiberg, 1998. -E. Freiberg Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest Oecologia., 117 (1-2) (1998), pp. 9-18

Fresco L 2003- Fertilize the plant, not the soil. UN Chronicle 40(3): p. 62

Fu, S.-F., Sun, P.-F., Lu, H.-Y., Wei, J.-Y., Xiao, H.-S., Fang, W.-T., et al. (2016). Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of Droseraspatulata Lab. Fungal Biol. 120, 433–448. doi: 10.1016/j.funbio.2015.12.006

Furnkranzet*al* ,2008 - Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa rica ISME J., 2 (5) (2008), pp. 561-570

Garrity GM, Bell JA, Lilburn T. (2005). Class I. Alphaproteobacteria class. Nov. In: Bergey's Manual of *Systematic Bacteriology* 2nd Edition, Volume 2 (The Proteobacteria), Part C (The

AlphaProteobacteria). Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity G. (eds.), Springer, New York, USA. Pp: 1- 574.)

Giannini,V.,Maucieri,C.,Vamerali,T.,Zanin,G.,Schiavon,S.,Pettenella,D.M.,Bona,S.,&Borin,M.(2023).Sunflower:FromCortuso'sdescription(1585)tocurrentagronomy,usesandperspectives.Department ofAgronomy,Food,NaturalResources,AnimalsandEnvironment—DAFNAE,UniversityofPadua

Glare, J. Caradus, W. Gelernter, T. Jackson, N. Keyhani, J. Köhl., P. Marrone, L. Morin, A. Stewart , 2012- Have bio-pesticides come of age? Trends Biotechnol., 30 (5) (2012), pp. 250-258, 10.1016/j.tibtech.2012.01.003

Glick BR, Penrose DM, Jiping L. (1998). A model for the lowering plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. J. Theor*. **Biol.*** 190: 63-68

Glick BR. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. ***Can. J. Microbial***. 41:109-117

GouzouL.(1992). Devinir d'une population bactérienne inoculée dans la rhizosphè.re du blé et ses effets sur la plante: Cas de B.acillu5 polymyxa, Université de lAurraine, 176p improvement of greenhousetomato plants by inoculation with Pseudomonas putida or

Govind et *al*., 2015): **Govind Gupta, Shailendra Singh Parihar, Narendra Kumar Ahirwar, Sunil Kumar Snehi and Vinod Singh ,(2015).**Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture, MicrobBiochemTechnol, 7:2)

Grompone, 2011 -Grompone, M.A. (2011). In: Vegetable Oils in Food Technology. Composition, Properties and Uses, 2e (ed. F.D. Gunstone). Wiley-Blackwell

Grompone, M. A. (2005). Sunflower Oil. In Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/047167849X.bio017

Grover et *al*., 2011 ;-M. Grover, Sk.Z. Ali, V. Sandhya, A. Rasul, B. Venkateswarlu Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses World J. Microbiol. Biotechnol., 27 (2011), pp. 1231-1240

Gutierrez Manero et *al*.,2009) ,GutierrezManero FJ, Ramos B, Probanza A, Mehouachi J, Talon M. (2009).The plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus*and*Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. ***Physiol. Plant*** 111: 206-211.

Gyaneshwar et *al*.,2002), Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ, Poole PS. (2002). Role of soil microorganisms in immprovingPnutrition of plants. *Plant soil*. 245(1): 83-93.

Haas,D.,&Défago,G.(2005). Biologicalcontrolofsoilbornepathogensbyfluorescentpseudomonads.Natur eReviewsMicrobiology,3(4),307-319.https://doi.org/10.1038/nrmicro1129

Hakim et *al*., 2021),Hakim S, Naqqash T, Nawaz M S, Laraib I, Siddique MJ, Zia R, Mirza MS and Imran A., (2021) : Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst. 5:617157. doi: 10.3389/fsufs.2021.61715*

Hartono, H., Nurfitriani, Fais, A., Harniyati, C., Nur, I.H. & Muhammad, J. (2016): ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogenfixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. ARPN journal of Engineering and Applied Sciences 11(19): 11735-11741

Hattendorfet*al*.,1988
:hattendorf,M.,etal.(1988).Waterrequirementsandirrigationmanagementofsunflower

Heimpel et Mills, 2017 -Mills Biological Control - Ecology and Applications Cambridge University Press, Cambridge (2017)

Heiser,C.B.Jr.(1954). Variationandsubspeciationinthecommonsunflower,Helianthusannuus.TheAmericanMidlandNaturalist,51(1),287–305.https://doi.org/10.2307/2421979

Hirano et Upper., 1989-Hirano, S. S., & Upper, C. D. (1989). Diel Variation in Population Size and Ice Nucleation Activity of Pseudomonas syringae on Snap Bean Leaflets. Applied and Environmental Microbiology**.**

Hirano, S. S., & Upper, C. D. (2000). Diel Variation in Population Size and Ice Nucleation Activity of Pseudomonas syringae on Snap Bean Leaflets. Applied and Environmental Microbiology

Hugenholtz P. (2002). Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol*. 3, Reviews 0003

Idris et *al*., 2007 : Idris AH, Labuschagne N, Korsten L. (2007). Screening rhizobacteria for biological control of Fusarium root and crown rot of sorghum in Ethiopia. Boil. Control. 40: 97-106**.**

Ilyas, M., Nisar, M., Khan, N., Hazrat, A., Khan, A. H., Hayat, K., Fahad, S., Khan, A., & Ullah, A. (2021). Drought Tolerance Strategies in Plants : A Mechanistic Approach. Journal of Plant Growth Regulation, 40(3), 926-944. https://doi.org/10.1007/s00344-020-10174-5

Iriarte et *al*., 2010 -A. Iriarte et al. Life cycle assessment of sunflower and rapeseed as energy crops under Chilean conditionsJ. Clean. Prod. (2010)

Jacobs et Sundin., 2002 ;-Jacobs, J. L., and G. W. Sundin. 2002. Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community. Appl. Environ. Microbiol.67:5488-5496

Jacobsen et al., 2004), Jacobsen BJ, Zidack NK, Larson BJ. (2004). The rol of *Bacillus* based biological control agents in integrated pest management systems: plant diseases. *Phytopathology*. 94: 1272-1275.),

Joffin J. N &Leyral G. (2006). Microbiologie technique, 2ème Ed, Collection Biologie technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 304p.

Johnson et Stockwell., 1998 : Johnson, K. B., and V. O. Stockwell. 1998. Management of fire blight: a case study in microbial ecology. Annu. Rev. Phytopathol.36:227-248

Joo GJ, Hamayun SM, Na CI, Kim DH, Shin , Lee IJ. (2009).*Burkholderia*sp. KCTC 11096 BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. ***J Microbiol***. 47:167-171.

Kaci Y, Heyraud A, Barakat M, Heulin T (2005) Isolation and identification of an EPS-producing Rhizobium strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. Res Microbiol 156:522–531. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.01.012

Kamau, P. (2013). Sunflower provides high quality feed for livestock, it also produces healthy oil for people. 95

Kamei, A., Dolai, A. K., &Kamei, A. (2014). Role of Hydrogen Cyanide Secondary Metabolite of Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biopesticides of Weeds. Global Journal of Science Frontier Research: Agriculture and Veterinary, 14(6). Global Journals Inc. (USA).

Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The Impact of Drought in Plant Metabolism : How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production. Applied Sciences, 10(16), Article 16. https://doi.org/10.3390/app10165692

Kawahigashi, H. (2009). Transgenic plants for phytoremediation of herbicides. Current Opinion in Biotechnology, 20(2), 225-230. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.01.010

Kaya,Y.,Jocic,S.,&Miladinovic,D.(2012). Sunflower.InTechnologicalInnovationsinMajorWorldOilCrops,Volume1:Breeding(pp.85-129).Springer

Kembel, S. W., O'Connor, T. K., Arnold, H. K., Hubbell, S. P., Wright, S. J., & Green, J. L. (2014). Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(38), 1371513720)

Khan et *al*., 2021) :**Khan, N., Ali, S., Shahid, M. A., Mustafa, A., Sayyed, R. Z., &Curá, J. A. (2021).** Insights into the Interactions among Roots, Rhizosphere, and Rhizobacteria for Improving Plant Growth and Tolerance to Abiotic Stresses : A Review. Cells, 10(6), Article 6. https://doi.org/10.3390/cells10061551

Khan MS, Zaidi A, Javed M. (2009). Microbial strategies for crop Improvement : 1-371. ***Springerverlag Berlin Heidel berg.***

Khan, N., Ali, S., Shahid, M. A., Mustafa, A., Sayyed, R. Z., &Curá, J. A. (2014). Insights into the Interactions among Roots, Rhizosphere, and Rhizobacteria for Improving Plant Growth and Tolerance to Abiotic Stresses : A Review. Cells, 10(6), Article 6. https://doi.org/10.3390/cells10061551

Khan, N., Bano, A., Ali, S., and Babar, M. A. (2020). Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. Plant Growth Regul. 90, 189–203. doi: 10.1007/s10725-020-00571-x

Kim et *al*., 2008 ,Kim YC, Jung H, Kim KY, Park SK. (2008). An effective biocontrol bioformulation against Phytophatora blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. ***European Journal of Plant Pathology***.120 (4):373-382.

Kim, 1994), Kim J, D.C,(1994).Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation Biochemistry,33 , pp. 389–397)

King ED, Ward MK, Raney DE. (1954). Two simple media for the demonstration ofpyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44, 301–7

Kinkel, L. L., M. Wilson, and S. E. Lindow. 2000. Plant species and plant incubation conditions influence variability in epiphytic bacterial population size. Microb. Ecol.39:1-11

Kloepper et *al.*, 2004 ,Kloepper, J W., Ryn C. M., Zhang S. (2004).Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* sp. ***Phytopathol***., 94: 1259-1266.

Knowles(1976). Adaptationofsunflowertoclimaticconditions.Malik&Saini(2018);Malik,Sharma&Saini (2017).Morte,A.,Gutiérrez,A.,Dreyer,B.,Torrente,P.,&Honrubia,M.(2003).Biofertilizantesdeúltimagen eración.Disponiblesur:http://www.carm.es/web/integra.servlets.Blob/AsuncionMorte.pdf

Knudsen, 1901 -. Hydrographical Tables. Copenhagen

Kostyuchenko et Lyakh, 2018: N.I. Kostyuchenko, V.A. Lyakh, Helia, Diversity of Fungi in Rhizoplane, Rhizosphere and Edaphosphere of Sunflower at Different Stages of its Development

Kumar et Narula 1999 :Kumar , V. et N. Narula (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azobacterchroococcum*mutants. Boil. Fert. Soils, 28(3): 301-305

L'indberg, T., and Granhall, U(1984). Isolation and characterization of dinitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of temperate cereals and forage grasses. Appl. ***Environ. Microbial***. 48: 683-68

Lambers et *al.*,2008 -Lambers, H.; Chapin, F.S., III; Pons, T.L. Plant Physiological Ecology; Springer: New York, NY, USA, 2008

Larsen et *al.*, 2015 : J Larsen, P Jaramillo-López, M Nájera-Rincon, C González-Esquivel, Journal of soil science and plant nutrition, Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics

Lévy, E., Eyal, Z., Chet, I. & Hochman, A. (1992). Resistance mechanisms of Septoria tritici to antifungal products of Pseudomonas. Physiol. Mol. Plant Pathol 40(3):163-71**.**

Lilley, A. K., and M. J. Bailey. 1997. The acquisition of indigenous plasmids by a genetically marked pseudomonad population colonizing the sugar beet phytosphere is related to local environment conditions. Appl. Environ. Microbiol.63:1577-1583

Lindow et Brandl., 2003 :Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the Phyllosphere. Applied and Environmental Microbiology, 69(4), 1875-1883. https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003

Lindow, S. E., &Leveau, J. H. J. (2002). Phyllosphere microbiology. Current Opinion in Biotechnology, 13(3), 238-243. https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00313-0

Liu H, Macdonald CA, Cook J, Anderson IC, Singh BK. 2019. An ecological loop: host microbiomes across multitrophic interactions. Trends in Ecology & Evolution 34: 1118–1130

Liu H, Macdonald CA, Cook J, Anderson IC, Singh BK. 2020. An ecological loop: host microbiomes across multitrophic interactions. Trends in Ecology & Evolution 34: 1118–1130

Loper J. E., Scroth M. N. (1986). Influence ofbacterial sources on indole-3 acetic acid on root elongation of sugar beet. ***Phytopathology,*** 76: 386-389.

Loper S. R et Gross H (2007). Genomic analysis of antifungal metabolite production by Pseudomonas fluorescens Pf-5. Eur. J. *Plant Pathol*. 119: 265-278.),

Lucy M, E. Reed et B R. Glick (2004). Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. ***Anton. Leeuw. Int. J. G.*** 86: 1-25.

Lyunch, J. M. (1990) : The rhizosphere. Lyunch J M, (ed.) John Wiley & sons Ltd, Chichester**)**

M. Meena, A. Zehra, M.K. Dubey, M. Aamir, V.K. Gupta, R.S.2016- Upadhyay Comparative evaluation of biochemical changes in tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) infected by Alternaria alternata and its toxic metabolites (TeA, AOH, and AME) Front. Plant Sci., 7 (2016), p. 1408, 10.3389/fpls.2016.01408

M.Melotto, W. Underwood, S.Y. He , 2008-Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases Annu. Rev. Phytopathol., 46 (2008), pp. 101-122

M.R. Mwajita, H. Murage, A. Tani, E.M. Kahangi, 2013- Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters Springerplus., 2 (2013), p. 606

Mac Millan, J (2002). Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. J. ***Plant Growth Regul***. 20, 387-442.

Madhaiyan M, Alex THH, Ngoh ST, Prithiviraj B, Ji LH. 2015. Leaf-residing Methylobacterium species fix nitrogen and promote biomass and seed production in Jatropha curcas. Biotechnology for Biofuels 8: 14.

Malik et Saini., 2018. Rheological and structural properties of protein isolates extracted from dephenolized sunflower meal: Effect of high intensity ultrasound. Food Hydrocolloids, 81, 229–241. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.052

Malik, M. A., Sharma, H. K., & Saini, C. S. (2017). High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties. UltrasonicsSonochemistry, 39, 511–519. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.026

Mandal et Jeon, 2023: Surajit De Mandal ,Junhyun Jeon , Plants, Phyllosphere Microbiome in Plant Health and Disease , SaveCiteShare

Marchall et al., 1982). Marchall, N., Bourdon, J.L. & Richard, C. (1982). Les milieux de culture pour **l'isolement et I'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris.**

MarínProteobacteriaM. Gargaud,2014- W.M. Irvine, R. Amils, H.J.J. Cleaves, D.L. Pinti, J.C. Quin tanilla, D. Rouan, T. Spohn, S. Tirard, M. Viso (Eds.) **2014**, Encyclopedia of Astrobiology (2nd ed.), Springer, Berlin/Heidelberg

Marmagne et *al*., 2022 - Modulation of plant nitrogen remobilization and postflowering nitrogen uptake under environmental stresses. Journal of Plant Physiology, 277, 153781. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153781

Marschner, 2022: Petra Marschner , Soil Biology, Plant-Microbe Interactions in the Rhizosphere and Nutrient Cycling

McGuffey,R.K.,&Schingoethe,D.J.(1980). Feedingvalueofahighoilvarietyofsunflowersassilagetolactatingdairycows.JournalofDairyScience,63(7),1109-1113.

Mendes et *al*., 2013 ;Rodrigo Mendes, Paolina Garbeva, Jos M. Raaijmakers, Jos , FEMS Microbiology Reviews, The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms

Mérrien et Grandin, 1990). -Mérrien,A.,&Grandin,J.(1990).Droughttoleranceinsunflower

Mesquita et *al*., 2024: Clifton P. Bueno de Mesquita , Corinne M Walsh , Ziv Attia, Brady D. Koehler, Zachary J. Tarble, David L. Van Tassel, Nolan C. Kane, Brent S. Hulke , Applied and Environmental Microbiology, Environment, plant genetics, and their interaction shape important aspects of sunflower rhizosphere microbial communities

Mezzalira,F.(2018). Lascopertadellabiodiversitàbotanicadelmondo.InIllustrazioniDall'epocaDelleEsplorazioniGeografiche.Bibliotecainternazionale"LaVigna":Vicenza,Italy

Mobasser,H.R.,&Tavassoli,A.(2013). Effectofwaterstressonquantitativeandqualitativecharacteristicsofyieldinsunflower(HelianthusannuusL.).JournalofNovelAppliedSciences,2(9),299–302

Moe, 2013) : LukeA.Moe (**01-September 2013)** Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes‡ - https://doi.org/10.3732/ajb.1300033)

Morales et *al*., 2024: Marianela Estefanía Morales, Marco Allegrini, Jessica Basualdo, Gastón Alejandro Iocoli, María Bonita Villami, aría Celina Zabaloy, Frontiers in Microbiology , Winter cover crop suppression methods influence on sunflower growth and rhizosphere communities

Morris, 2002: C.E. Morris Phyllosphere. Encyclopedia of Life Sciences (2002)

Moulin, L., Munive, A., Dreyfus, B., Boivin-Masson, C. (2001). Nodulation of legumes by members of the β-subclass of Proteobacteria. *Nature*, 411(6840), 948-950)

Munees ,A, Mulugeta ,K. (2014) . Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of King Saud University – Science, January volume 26, Issue 1, Page 1–20)

Munees A, Mulugetakibret. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of *King Saud University-Science*, January Volume 26, Issue 1, p 1-20.).

Naik et *al*., 2010- Production of first and second generation biofuels: a comprehensive reviewRenewable and Sustainable Energy Reviews(2010)

Nester et *al*., 1984 : Nester, E W., MP. Gordon, RM. Amasinoet MF. Yanofsky (1984). Crown gall: a molecular and physiological analysis. Annu. Rev. ***Plant Physiol***. 35: 387-413.

Nieto K F et W T. Frankenberger (1989). Biosynthesis of cytokinins in soil. Sci. Soc. Am. J. 53(3): 735-740.

Normanly, J., and Bartel, B.(1999). Redundancy as a way of life-IAA metabolism. Curr. opin. PlantBiol., 2, 207-213

Nutaratat P, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, ET Limtong S. (2016) Fed-batch Fermentation of Indole-3-acetic acid production in stirred tank fermenter by red yeast Rhodosporidiumpaludigenum. The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering and Springer. Thailand. 21, p 414

Nwachukwu et *al*., 2021 ; Blessing Chidinma Nwachukwu, Ayansina Segun Ayangbenro, OlubukolaOluranti Babalola, BMC Microbiology, Comparative study of microbial structure and functional profile of sunflower rhizosphere grown in two fields

Oberholster et *al*., 2018 :Tanzelle Oberholster , Surendra Vikram, Don Cowan , Angel Valverde, Science of The Total Environment, Key microbial taxa in the rhizosphere of sorghum and sunflower grown in crop rotation

Okon .Y and Hadar. Y (1987). Microbial inoculants as crop-yield enhancers CRC crit. Rev.***Biotechnol***. 6: 61-85

Oldroyd, GE., EM. Engstrom, SR. Long (2001). Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of Medicagotruncatula. Plant cell.13:1835–1849

Osono T, 2014- Diversity and ecology of endophytic and epiphytic fungi of tree leaves in Japan, a review Advances in Endophytic Research, Springer, New Delhi **(2014),** pp. 3-26

Ovadis et al ,2004 Ovadis, M., Liu, X., Gavriel, S., Ismailov, Z., Chet, I., Chernin, L. (2004). The global regulator genes from biocontrol strain Serratia phymuthica IC 1270 : cloning, sequencing, and functiol studies. Journal of bacteriology, 186(15), 4986-4993

Pal et Gardener, 2006): **K.K. Pal, B.M.G. Gardener** Biological control of plant pathogens The Plant Health Instr., 2006 (2006), pp. 1-25

Panwar, R. B., Sequeira, R. P., & Clarke, T. B. (2021). Microbiota-mediated protection against antibiotic-resistant pathogens. Genes & Immunity, 22(5), 255-267. https://doi.org/10.1038/s41435-021-00129-5

Parikh et Jha, 2012; - K. Parikh, A. Jha Biocontrol features in an indigenous bacterial strain isolated from agricultural soil of Gujarat India. J. Soil Sci. Plant Nutr., 12 (2) (2012), pp. 245-252, 10.4067/S0718-95162012000200004

Parul V, Aziz Z, Marine R, Sandra V,Hamid M, Christophe C, Essaid A.B . (2017) How Stryptomycesanulatusprimes Grapevine Defenses to cope with Gray Mold: A Study of the Early Responses of Cell suspensions.

Patel et Minocheherhomji, 2018: S.T. Patel, F.P. Minocheherhomji Review: plant growth prooting rhizobacteria: blessing to agriculture Int. J. Pure Appl. Biosci., 6 (**2018)**, pp. 481-492, 10.18782/2320-7051.6383

Patel, T. S., & Desai, P. B. (2015).ISOLATION AND SCREENING OF PGPR FROM RHIZOSPHERIC AND NONRHIZOSPHERIC SOIL OF BT-COTTON.

Paul, E. A., et F. E. Clark (1996). Soil *Microbiology and Biochemistry*, 2nd Edition. Academic Press,New York

Pedrinho, L.W. Mendes, A.P. deAraujo Pedrinho, A., Mendes, L. W., de Araujo Pereira, A. P., Araujo, A. S. F., Vaishnav, A., Karpouzas, D. G., & Singh, B. K. (2024). Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems. Plant and Soil, 500(1), 325-349. https://doi.org/10.1007/s11104-024-06489-x

Pereira, A.S.F. Araujo, A. Vaishnav, D.G. Karpouzas, B.K. Singh (2024) Pedrinho, A., Mendes, L. W., de Araujo Pereira, A. P., Araujo, A. S. F., Vaishnav, A., Karpouzas, D. G., & Singh, B. K. (2024). Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems. Plant and Soil, 500(1), 325-349. https://doi.org/10.1007/s11104-024-06489-x

Pérez-Montano*et al.*, 2014)Pérez-Montano F., Alias-Villegas C., Bellogin R. A., delcerro P., Espuny M. R., Jiménez-Guerrero I., et al (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important Plant : from microorganism capacities to crop production. Microbial. Res. 169, 325-336.

Peter et *al*., 1996): Peter C. B. Turnbull. Baron S, editor. Galveston (TX) 1996,Medical Microbiology. 4th edition: University of Texas Medical Branch at Galveston

Pilon-Smits, 2005 -Pilon-Smits, E. (2005). PHYTOREMEDIATION. Annual Review of Plant Biology, 56(Volume 56, 2005), 15-39. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214

Plaster, 2000;-Plaster E 2000 La cienciadelsuelo y su manejo. Madrid: Thompson Editores. p. 248 - Vanegas R 2003 La transición: la búsquedadelcambiohaciasistemassustentables de producciónagropecuaria. ForoAgrario «SistemasAgrícolasSustentables». Quito: Universidad Central del Ecuador. p. 18-19

Podile et Kishore, 2006) :Podile, AR. et GK. Kishore (2006). Plant growth promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam SS (ed) ***Plant-associated bacteria***: rhizosphere bacteria. Springer, Netherlands, pp 195-230

Porcuna et *al.*, 2002).. -Porcuna J L, Arnau J, Jímenez A, Ocon C and Zacares V 2002 Agroecología y agriculturaecológica:Haciaunareconstrucción de la soberaníaalimentaria. Valencia, España. 3p

Pršić et Ongena, 2020 J. Pršić, M. Ongena Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria Front. Plant Sci., 11 (2020), Article 594530, 10.3389/fpls.2020.594530

Puttha et *al*., 2023 :RatchaneePuttha, Karthikeyan Venkatachalam, SayomphooHanpakdeesakul, Jitti monWongsa , ThanyaParametthanuwat, Pao Srean ,KanokpornPakeechai , NarinCharoenphun . Explor ing the Potential of Sunflowers: Agronomy, Applications, and Opportunities within Bio-Circular-Gree n Economy

Qi et *al*., 2009 -D.H. Qi et al.Combustion and performance evaluation of a diesel engine fueled with biodiesel produced from soybean crude oilRenewable Energy(2009)

Raaijmakerset Mazzola, 2012).-Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2012). Diversity and Natural Functions of Antibiotics Produced by Beneficial and Plant Pathogenic Bacteria. Annual Review of Phytopathology, 50(Volume 50, 2012), 403-424. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908

Ramirez-Estrada et *al*., 2016). - K. Ramirez-Estrada, H. Vidal-Limon, D. Hidalgo, E. Moyano, M. Golenioswki, R.M. Cusidó, J. Palazon Elicitation, an effective strategy for the biotechnological

production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories Molecules, 21 (2) (2016), p. 182

Raza et al., 2016 ; --W. Raza, S. Yousaf, F.U. Rajer Plant growth promoting activity of volatile organic compounds produced by Bio-control strains Sci. Lett., 4 (2016), pp. 40-43

Remus-Emsermann et Schlechter., 2018). -M.N. Remus-Emsermann, R.O. SchlechterPhyllosphere microbiology, at the interface between microbial individuals and the plant host New Phytol., 218 (2018), pp. 1327-1333

Ritpitakphong et *al.*, 2016;Ritpitakphong U, Falquet L, Vimoltust A, Berger A, Métraux JP, L'Haridon F. 2016. The microbiome of the leaf surface of Arabidopsis protects against a fungal pathogen. New Phytologist 210: 1033–1043.

Rosenberg et *al.*, 2014 :Rosenberg NA (2002):Distruct: a program for the graphical display of structure results. http://www.cmb.usc.edu/»noahr/distruct. Accessed 10 May 2012

Russo, 2009 ;-Russo,G.L.(2009).FinalReportandScientificHandbookoftheSpecificSupportAction—MAC-Oils—MappingandComparingOils,SixthFrameworkProgramme—Priority5—FoodQualityandSafety.InstituteofFoodSciences—NationalResearchCouncil:Avellino,ItalySeiler,G.J.(2013).Anatomyandmorphologyofsunflower.InAgronomymonograph/Agronomy(pp.67–111).https://doi.org/10.2134/agronmonogr35.c3

Ryu et Patten, 2008) :**Ryu R., Patten C. L. (2008).**Aromatic aminoacid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 Tyr R in Enterobacter cloacae U W5. Am. Soc. ***Microbial***., 19: 1-35

Saikkonen et *al.*, 2015; -Saikkonen K, Mikola J, Helander M. 2015. Endophytic phyllosphere fungi and nutrient cycling in terrestrial ecosystems. Current Science 109: 121–126

Salehi-Lisar et *al.*, 2016; -Salehi-Lisar, S.Y.; Bakhshayeshan-Agdam, H. Drought stress in plants: Causes, consequences, and tolerance. In Drought Stress Tolerance in Plants; Springer: Cham, Switzerland, 2016

Salisbury et Ross, 1992) : Salisbury, F B. et C W. Ross (1992).*Plant physiology*. Wadsworth, Belmont, CA

Salma, 2015) : **Salma Taktek. (2015).** Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries mycorhizes. Thèse de doctorat .université LAVAL québec Canada

Sandhya V, Sk AZ, Grover M, Reddy G, Venkateswarlu B (2009) Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing Pseudomonas putida strain GAP-P45. Biol Fertil Soils 46:17–26. https://doi.org/10.1007/s00374-009-0401-ztrichodermaatroviride: possible role of indole 3 acetic acid (IAA) Soil Biol Biochem 39(8):

Santoro et *al.*, 2016) : Santoro, M. V., Bogino, P. C. Nocelli, N., Cappellari, L. R., Giordano, W. F., Banchio, E. (2016). Analysis of plant growth promoting effects of *Fluorescent Pseudomonas* strains isolated from Mentha piperita Rhizosphere and effects of their volatile organic compounds on eesential oil composition. Front***.*** ***Microbial***. 7: 1-17

***Sawada*et*al*., 2003): Sawada, H., Kuykendall, L. D., Young, J. M. (2003).** Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. The Journal of *general and applied microbiology*, 49(3), 155- 179)

Scavino et Pedraza ., 2013) -Scavino, A. F., and Pedraza, R. O. (2013). "The role of siderophores in plant growth-promoting bacteria," in Bacteria in Agrobiology: Crop Productivity, eds D. K. Maheshwari, M. Saraf, and A. Aeron (Berlin: Springer), 265–285. doi: 10.1007/978-3-642-37241-4-11

Sehrawat et *al*., 2022).-Sehrawat, A., Sindhu, S. S., & Glick, B. R. (2022). Hydrogen cyanide production by soil bacteria : Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. Pedosphere, 32(1), 15-38. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60058-9

Seiler, 2013 Seiler, C., Stoller, M., Pitt, B., & Meier, P. (2013). The human coronary collateral circulation : Development and clinical importance. European Heart Journal, 34(34), 2674-2682. https://doi.org/10.1093/eurheartj/eht195

Shah et al., 2021): **Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., Rabileh, M., Zajonc, J., & Smith, D. L. (2021).**PGPR in Agriculture : A Sustainable Approach to Increasing Climate Change Resilience. Frontiers in Sustainable Food Systems, 5. https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667546

Sharma et *al*., 2007): Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar et R. Sharma (2007). Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of Cicer arietinum seed sand seedling growth. J. ***Herb. Toxicol.***, 1: 61-63.

Sharma et *al.*, 2017: Rashmi Sharma, Minakshi, Anjali Chauhan, Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics, Rhizosphere Microbiome and Its Role in Plant Growth Promotion

Sharma, A. Vashishtha, A.L.M. Jos, A. Khosla, N. Basu, R. Yadav, A. Bhatt, A. Gulani, P. Singh , S. Lakhera, M. Verma (2022), Phylogenomics of the Phylum Proteobacteria: Resolving the Complex RelationshipsCurr. Microbiol., 79 **,**p. 224,)

Shiraishi et *al.* (2015): Shrivastava et Kumar, 2015 -Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity : A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria asone of the tools for its alleviation. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(2), 123-131. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001

SicilianoetGermida, 1998). Siciliano, S. D., &Germida, J. J. (1998). Mechanisms of phytoremediation : Biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. EnvironmentalReviews, 6(1), 65-79. https://doi.org/10.1139/a98-005

Siddiqui et Mahmood, 1999) : Siddiqui, Z. A., Mahmood, I. (1999). Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes : a review. ***Bioresource Technology***, 69(2), 167-179.

Singh et al., 2014) : Singh P, Kumar V, Agrawal1 S.(2014). Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their Plant Growth Promoting Activities, International Journal of Microbiology, 1-7.

Sohrabi et *al*., 2023).-Sohrabi, R., et al. (2023). Microbiome de la phyllosphère. AnnualReview of Plant Biology.

Solanki et *al.*, 2024: Manoj Kumar Solanki, Naveen Chandra Joshi , Prashant Kumar Singh , Sandeep Kumar Singh , Gustavo Santoyo, Lucas Carvalho Basilio de Azevedo , Ajay Kumar, Microbiological Research, From concept to reality: Transforming agriculture through innovative rhizosphere engineering for plant health and productivity

Solomon et *al.*,2024 ;Wogene Solomon, Tibor Janda, Zoltán Molnár, Plant Physiology and Biochemistry, Unveiling the significance of rhizosphere: Implications for plant growth, stress response, and sustainable agriculture

Son et *al*., 2006 : Son, TTN., CN. Diep et TTM. Giang (2006). Effect of brady rhizobia and phosphate solubilizing Bacteria application on soy bean inrotational system in the Mekong delta***. omonrice***14: 48-57

Spaepen et *al*., 2009): Spaepen S., Vanderleyden J., Okon Y. (2009). Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. In: van Loon LC (ed) Advances in ***botanical*** research, vol 51. Academis, Burlington, 283-320.

Spinelli et *al*., 2012 ;D. Spinelli et al.Integrated environmental assessment of sunflower oil productionProcess Biochemistry(2012)

Stajner et *al*., 1997 ;D. Stajner, S. Kevresan, O. Gasic, N. Mimica-Dukic, H. Zongli Nitrogen and Azotobacter chroococcum enhance oxidative stress tolerance in sugar beet Biol. Plantarum, 39 (3) (1997), pp. 441-445

stanton et *al.*, 2019) -D.E. Stanton, S.A. Batterman, J.C. Von Fischer, L.O. Hedin Rapid nitrogen fixation by canopy microbiome in tropical forest determined by both phosphorus and molybdenum Ecology, 100 (9) (2019)

Stone et *al*., 2018; -Stone BW, Weingarten EA, Jackson CR. 2018. The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. Annual Plant Reviews Online 1: 533–556.

Sundin et Jacobs., 1999) -Sundin, G. W., and J. L. Jacobs. 1999. Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (Arachis hypogeae L.). Microb. Ecol.38:27-38

Sundin, G. W. 2002. Ultraviolet radiation on leaves: its influence on microbial communities and their adaptations, p. 27-42. In S. E. Lindow, E. I. Hecht-Poinar, and V. Elliott (ed.), Phyllosphere microbiology. APS Press, St. Paul, Minn

Surayah Osman et *al*. (2018):
SurayahOsman,etal.(2018).TransformationdescoquesdetournesolenalternativedenourritureanimaleTurner,N.C.(1991).WaterrelationsandgrowthofsunflowerVijayakumar,M.,Vasudevan,D.M.,Sundaram,K.R.,Krishnan,S.,Vaidyanathan,K.,Nandakumar,S.,…Mathew,N.(2016).Arandomizedstudyofcoconutoilversussunfloweroiloncardiovascularriskfactorsinpatientswithstablecoronaryheartdisease.IndianHeartJournal,68(4),498–506 https://doi.org/10.1016/j.ihj.2015.10.384

Surendra et *al.*, 2025 :Sarsaiya Surendra, Jain Archana, Singh Ranjan, Gong Qihai, Wu Qin, Chen Jishuang, Shi Jingshan, Frontiers in Microbiology, Unveiling the rhizosphere microbiome of Dendrobium: mechanisms, microbial interactions, and implications for sustainable agriculture

T. Osono,2014-Diversity and ecology of endophytic and epiphytic fungi of tree leaves in Japan, a review Advances in Endophytic Research, Springer, New Delhi (2014), pp. 3-26

Tanji, 2002): **Tanji KK. (2002).** Salinity in the soil environment. Chap2. In A. Lauchli et U. Luttig (eds.), Salinity : environment-plants-molecules. Kluwer, Dordrecht. Netherlands.pp. 21-51.

Tejeraet*al* ., 2003) : Tejera, N. A., Ortega, E., Gonzalez-Lopez, J., Lluch, C. (2003).Effect of some abiotic factors on the biological activity of Gluconacetobacterdiazotrophicus. Journal of *applied microbiology*, 95(3), 528- 535)

Thakur et Sohal, 2013; M. Thakur, B.S. Sohal Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review ISRN Biochem., 2013 (2013), pp. 1-10, 10.1155/2013/762412

Thapa et Prasanna, 2018; S. Thapa, R. Prasanna, K. Ranjan, K. Velmourougane, B. Ramakrishnan Nutrients and host attributes modulate the abundance and functional traits of phyllosphere microbiome in rice Microbiol. Res., 204 (2018), pp. 55-64

Thapa et *al*., 2018 -Thapa S, Prasanna R. 2018. Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome. Annals of Microbiology 68: 229–245.

Thapa, R. Prasanna, K. Ranjan, K. Velmourougane, B.,2017-Ramakrishnan Nutrients and host attributes modulate the abundance and functional traits of phyllosphere microbiome in rice Microbiol. Res., 204 (2017), pp. 55-64

Thomashow et *al*., 1997 -Thomasnow, L. S., Bonsall, R. F., Weller, D. M. (1997). Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ. Manual of environmental microbiology, ASM Press, Washington, DC, USA. pp. 493-499

Timmusk et *al*., 1999 :Timmusk. SNS., B. Nicander, U. Granhallet E. Tillberg (1999). Cytokine production by *Paenibacilluspolymyxa*. Soil ***Biol. Biochem***. 31: 1847-1852

Tsakelova et *al*., 2006 :Tsakelova, EA., SY. Klimova, TA. Cherdyntsena, AI. Netrusov (2006).Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Appl. ***Biochem. Microbial***. 42: 117-12 6

Turner, 1991 ; -Turner LB. 1991. The effect of water stress on the vegetative growth of white clover (Trifolium repens L.): Comparison of longterm water deficit and short-term developing water stress. J. Exp. Bot., 42: 311-316

UmaMaheswar et al., 2012 ;

Vacher et *al.*, 2016 -C. Vacher, A. Tamaddoni-Nezhad, S. Kamenova, N. Peyrard, Y. Moalic, et al. Learning ecological network from NGS data Adv. Ecol. Res., 54 (2016), pp. 1-39

Vacher et *al*., 2016) -C. Vacher, A. Tamaddoni-Nezhad, S. Kamenova, N. Peyrard, Y. Moalic, et al. Learning ecological network from NGS data Adv. Ecol. Res., 54 (2016), pp. 1-39

van der Heijden et al., 2015) : van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M.-A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution : The past, the present, and the future. New Phytologist, 205(4), 1406-1423. https://doi.org/10.1111/nph.13288

van Lenteren et *al.*, 2018). -J.C. van Lenteren, K. Bolckmans, J. Köhl, W.J. Ravensberg, A. Urbaneja Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities Biol. Control, 63 (1) (2018), pp. 39-59, 10.1007/s10526-017-9801-4

Van Loon et *al.*, 2006) : Van Loon, LC., PBJ. Geraatset HJM. Linthorst (2006). Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. Trends ***Plant Sci***. 11: 184-190.

Van Loon, 2000).-Van Loon, L. C. (2000). Systemic Induced Resistance. Dans Mechanisms of Resistance to Plant Diseases (pp. 521–574)

Vanegas, 2003 : Vanegas R 2003 La transición: la búsquedadelcambiohaciasistemassustentables de producciónagropecuaria. ForoAgrario «SistemasAgrícolasSustentables». Quito: Universidad Central del Ecuador. p. 18-19

Verma et *al.*, 2014). -P. Verma, A.N. Yadav, S.K. Kazy, A.K. Saxena, A. Suman Evaluating the diversity and phylogeny of plant growth promoting bacteria associated with wheat (Triticum aestivum) growing in central zone of India Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci., 3 (5) (2014), pp. 432-447

Vijayakumar et *al.*, 2016). -Vijayakumar, M., Vasudevan, D. M., Sundaram, K. R., Krishnan, S., Vaidyanathan, K., Nandakumar, S., … Mathew, N. (2016). A randomized study of coconut oil versus sunflower oil on cardiovascular risk factors in patients with stable coronary heart disease. Indian Heart Journal, 68(4), 498–506. https://doi.org/10.1016/j.ihj.2015.10.384

Voisard et al., 1989 ;-Voisard, C., Keel, C., Haas, D., and Defago, G.1989. Cyanide production by Pseudomonasfluorescens helps suppress black root of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO J.8:351-358

Vorholt, 2012): (Julia A. Vorholt ;2012) Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(12), 828-840. https://doi.org/10.1038/nrmicro2910

Warren S. Wooster -« Redefinition of salinity » by Warren S. Wooster, Arthur J. Lee et al. (s. d.). Consulté 19 mai 2025, à l'adresse https://elischolar.library.yale.edu/journal_of_marine_research/1167/

Weller et Cook, 1983 ;Weller D.M. & Cook R.J. (1983) Suppression of takeall of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. Phytopathology 73, 463–469

Wen et *al.*, 2016:Xinya Wen , Eric Dubinsky , Yao Wu, Fu Chen , Journal of Integrative Agriculture, Wheat, maize and sunflower cropping systems selectively influence bacteria community structure and diversity in their and succeeding crop's rhizosphere

Whipps et *al.*, 2008;--Whipps J, Hand P, Pink D, Bending GD. 2008. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. Journal of Applied Microbiology 105: 1744–1755**.**

Whitelaw, 2000 : Whitelaw, M A. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. Adv. *Agron.* 69: 99-151.

Wilson et Knight (1952) et Park et al. (2005): Wilson, P.W. & Knight, S.C. (1952). Experiments in bacterial physiology Minneapolis, minn: Burgess Publishing Co, USA, pp. 49 1968-1977

Wu et *al*., 2024) : Wu, Wei-Feng, et al. (2024). Nitrogen Fertilization Modulates Rice Phyllosphere Functional Genes and Pathogens through Fungal Communities. Science of The Total Environment, 929, 172622

Yadav et *al*., 2008) : R.L.YADAV, D.V.YADAV AND S.K. DUITAMAJUMDER -Mars 2008- Rhizospheric environment and crop productivity:A review)

Yancey et *al.*,1982 ; - Yancey, P., Clark, M. E., Hand, S. C., Bomlus, R. D., Somero, G. N. (1982). Living with water stress: evolution of osmolyte system. Science. 21: 1214-1222

Yang et *al*., 2001) -Yang, C.-H., D. E. Crowley, J. Borneman, and N. T. Keen. 2001. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. Proc. Natl. Acad. Sci. USA98:3889-3894.

Yang et *al*., 2024 :Kailin Yang, Yaping Zheng , Kangmeng Sun, Xinyan Wu, Zheng Zhang , Chunnian He , Peigen Xiao, Chinese Herbal Medicines, Rhizosphere microbial markers (micro-markers): A new physical examination indicator for traditional Chinese medicines

Yegorov et *al*., 2019 ;-Yegorov, B., Turpurova, T., Sharabaeva, E., & Bondar, Y. (2019). Prospects of using by-products of sunflower oil production in compound feed industry. Journal of Food Science Technology Ukraine, 13, 106–113. https://doi.org/10.15673/fst.v13i1.1337

York1, et *al* ., 2016) (Larry M. York1, et al ,2016)

Zablotowicz et al., 1991 :Zablotowicz et al.,(1991) Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers

Zah et al., 2007 --R. Zah et al. Life cycle assessment of energy products: environmental assessment of biofuels (2007**)**

Zehra et *al*., 2015: A. Zehra, M.K. Dubey, A. Tiwari, M. Meena, P. Kumari, V.K. Singh, V.K. Gupta, R.S. Upadhyay Fungal biomolecules and their implications

Zehra et *al*., 2021a) : Zehra, A., Raytekar, N. A., Meena, M., & Swapnil, P. (2021).Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. Current Research in Microbial Sciences, 2, 100055. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100055

Zhang *et al.*,2015: Effects of straw incorporation on the stratification of the soil organic C, total N and C:N ratio in a semiarid region of ChinaSoil Till. Res.(2015)

Zhu et *al*., 2022 -Zhu, Y.-G., Xiong, C., Wei, Z., Chen, Q.-L., Ma, B., Zhou, S.-Y.-D., Tan, J., Zhang, L.-M., Cui, H.-L., & Duan, G.-L. (2022). Impacts of global change on the phyllosphere microbiome. New Phytologist, 234(6), 1977-1986. https://doi.org/10.1111/nph.17928

Zlatev et *al*., 2012; -Zlatev, Z.; Lidon, F.C. An overview on drought induced changes in plant growth, water relationsand photosynthesis. Emir J. Food Agr. 2012, 24, 57–72

Zukosky,1950: Zukosky,P.M.(1950).CultivatedPlantsandTheirWildRelatives.CommonwealthAgriculturalBureaux:FarnhamRoyal,UK;Kolos:Leningrad,USSR.Bakker,A.W.,&Schippers,B.(1987).Microbialcyanideproductionintherhizosphereinrelationtopotatoyieldreductionand Pseudomonasspp.-mediatedplantgrowth-

stimulation.SoilBiologyandBiochemistry,19(4),451-457.https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90037-x

Annexes

Annexes:

Annexe 01:

Composantes du milieu de culture milieu « LB» :

Tryptone	10g/l
Extrait de levure	5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Agar bactériologique	15g/l
Eau distillée	1000ml
PH du milieu	7.2 ± 0.2

Composantes du Milieu «NBRIP» :

Glucose	10,0 g/l
$Ca_3(PO_4)_2$ (phosphate tricalcique)	5,0 g/l
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	5,0 g/l
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,25 g/l
KCl	0,2 g/l
$(NH_4)_2SO_4$	0,1 g/l
Agar	15,0 – 20,0 g/l

Le Tampon PBS :

Kcl	0,2 g/l
NaCl	8 g/l
$Na2hpo_42H_2o$	3,51 g/l
$KH2po_4$	0,48 g/l
Eau distillée	1000 ml
pH	7

Milieu YMA :

Mannitol	10g/l
K_2HPO_4	0,5g/l
$MgSO_4H_2O$	0,2g/l
Extrait de levure	0,5g/l
NaCL	0,1g/l
Eau distillée	1000ml
PH	6,8

Milieu«KingB» :

Peptone	20g/l
Glycérol	10ml
K_2HPO_4	1,5g/l
$MgSO_47H_2O$	1,5g/l
Agar	15g/l
Eau distillée	1000ml
PH	7,2

Milieu«King A» :

Peptone	20g/l
Glycérol	10ml
K2SO4	10g/l
MgCl2	1,4g/l
Eau distillée	1000ml
Agar	15g/l
PH	7,1

Milieu «BK131» :

Peptone	10g/l

Chlorure de sodium	5g/l
Phosphate disodique anhydre	3,56g/l
Phosphate monopotassique	1,50g/l
Eau distillée	1000 ml

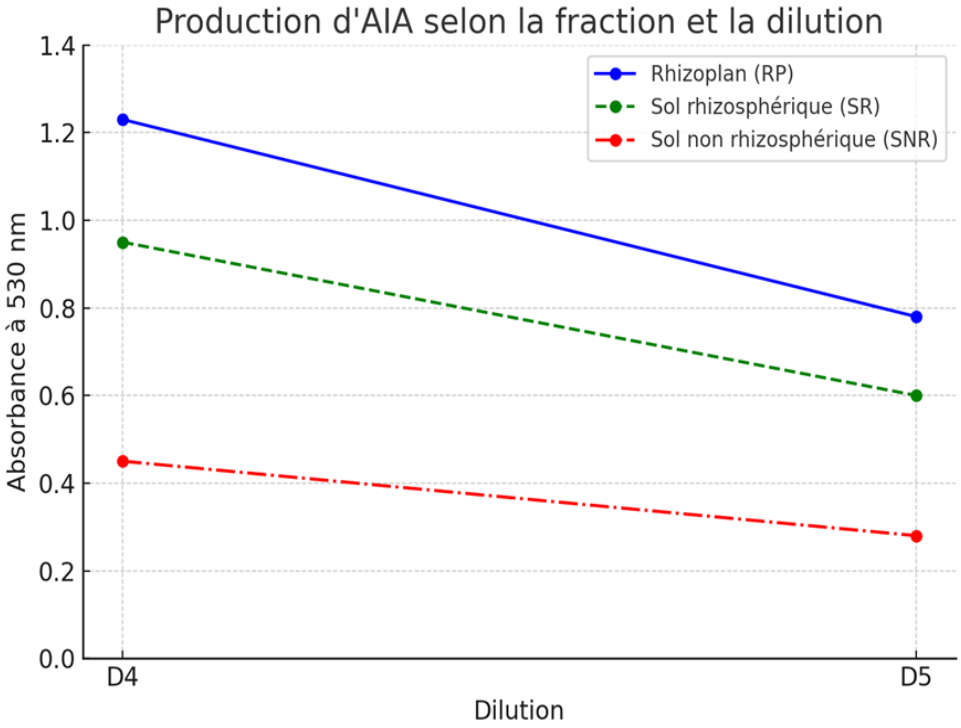
Réactif de Salkowski :

Acide sulfurique (H_2SO_4) à 95–98%	50 mL
Ferric chloride ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	0,5 g
Eau distillée	50 mL

Milieu ASAHBY :

Mannitol	20,0 g
KH_2PO_4 (phosphate mono potassique)	0,2g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2g
NaCl	0,2g
$CaSO_4$	0,1g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,0001g
Agar	15 à 20g

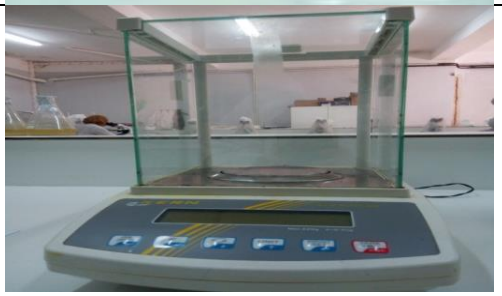
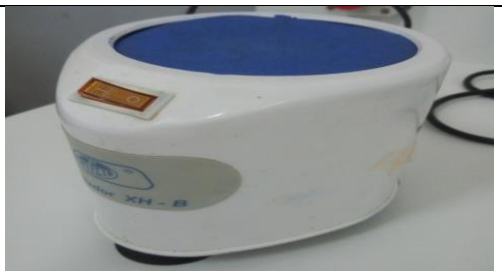
Annexe 02 :Courbe d'étalonnage de l'auxine (AIA)



Annexe 03 :

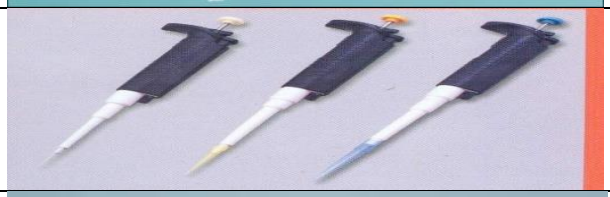
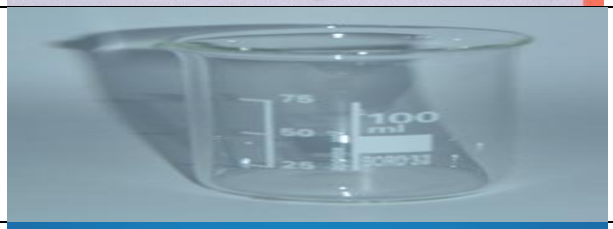
Liste du matériel utilisé durant les étapes du traitement:

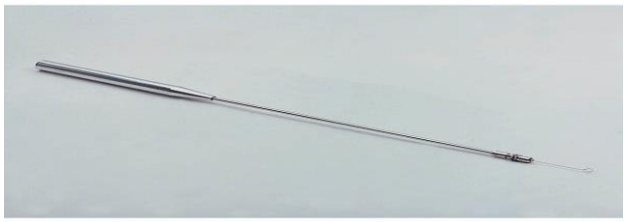
Instruments	Utilisation	Type d'appareillage
1- Bec bensène	Pour assurer une stérilisation instantanée.	
2- Bain marie	pour la transfusion des milieux de culture	

3-Autoclave	stérilisation á la vapeur	
4-Réfrigérateur	conservation des souches et des réactifs	
5-Microscope optique	Observation des micro-organismes	
6-Balance de précision	Pèse les produit et les composantes des milieux	
7-Agitateur magnétique de type vortex	Agitation et homogénéisation des solutions	
8-Incubateur	Incubation des cultures de micro-organismes	

9-Centrifugeuse	Séparation des fractions des solutions	

2-Verrerie :

1-Pipettes Pasteur et en plastique	-pour l'inoculation et l'ensemencement -coloration de Gram	
2-Micropipette	pour une prise très précise	
3-Becher á différents volumes	Contenir les solutions, les suspensions	
4-Verre á pied (200cc, 60cc)	Utilisation pendant la filtration	
5-Lames et lamelles	Faciliter l'observation microscopique	
6-Tubes à essai	Préparation des dillutions des suspensions bactériennes	

7-Boites de Pétri	Mise en culture dans des milieux nutritifs	
8-Anse de platine	Ensemencement des colonie bactériennes	
9-Portoirs	Porte les tubes à essai	
10-Poires	Aspirer les solutions	