REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE DR. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de **Master II** en biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Recherche et caractérisation des bactéries appartenant au genre Bacillus sur un sol cultivé par l'orge.

Présenté par :

ABDELLATIF Maroua TOUMACHE Nour El Houda YAHIA HELLALI Kaouther

Soutenu publiquement le : 16/09/2020

Devant le jury composé de :

Mme BOUHERAMA. A	MAA	UNIV de Médéa	Promotrice
Mr. BENAFRI. N	MAA	UNIV de Médéa	Président
Mr. AINAS. M	MCB	UNIV de Médéa	Examinateur
Mme. DIF.S	MAA	UNIV de Médéa	Examinatrice

2019/ 2020

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir Accordé courage et bénédiction pour accomplir ce travail.

À mes très chers parents Belkacem et BENTCHIKOU Fatma zohra

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien, d'affection, des sacrifices et des encouragements que vous m'ont prodigué tout au long de ma vie, Aucun hommage ni remerciement ne saurait être suffisant pour vous exprimer mon respect et ma vive gratitude. Que Dieu vous procure santé, bonheur et longue vie.

A mes chers frèresAbderahim et siradj, je vous souhaite tout le bonheur et toute la réussite.

À mes belles sœurs Kaouther et Israa, Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite

A toute ma famille, mes grand-pères et mes grand-mères, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines et à tous ceux qui me sont chers.

A mes copines, Kaouther, Sarah, Selma avec qui j'ai partagé des moments inoubliables, vous êtes pour moi des sœurs. Et à mes binômes Kaouther et Nour El Houda.

A notre honorable promotrice Mme BOUHERAMA, je vous remercie chaleureusement pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre patience.

À tous mes enseignants, du primaire jusqu'à ce dernier examen.

A tous ceux qui m'aiment et qui m'ont encouragé.

Maroua

Dédicace

A Dieu tout Puissant, à qui je dois tout, et surtout d'avoir honoré et éclairé mon chemin par le savoir ; mille merci mon Dieu, sans toi je n'aurais jamais existé et je ne serai jamais, et d'avoir fait de moi le petit quelqu'un que je suis.

Je dédiée ce travail

A mes chers parents :

Sources de mes joies, secrets de ma force pour leur patience et leur dévouement pour nous. Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants grandissent et prospèrent. Merci d'être tout simplement mes parents, c'est à vous que je dois cette réussite.

A mon frère Hamza ainsi que sa petite famille, à mes frères Adb Raouf et Abd Rahman, vous être mon soutien dans la vie.

A més chère sœurs Baya et son mari, à ma sœur Nouha et son mari, vous êtes tous ce que j'ai de plus chers au Monde.

A tous les enfants mignons que j'admire tant, vous êtes le secret du bonheur.

A mes tantes, à mes cousins et cousines.

A tous mes amis et collègues qui m'ont toujours encouragé à poursuivre dans cette voie, surtout Sara et mon trinôme Maroua et Nour El Houda

A mes professeurs, Pour le savoir qu'ils m'ont transmis, surtout Mme BOUHERAMA Amina, ainsi qu'à tous mes amis de la promotion 2015-2020.

A tous ceux qui me sont chères. À tous ceux qui m'aiment.

Kaouther

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents Abdelkader et Dalila pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui et j'espère qu'un jour je serai capable de leur donner au moins le minimum car quoiqu'on face on arrivera jamais à leurs rendre tout, aucune dédicace. Aucun mot, ne saurait exprimer réellement mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude, vous serez toujours le modèle Papa, dans ta détermination.

À mon aîné Chafia et son mari Mohammed, je vous souhaite une langue vie pleine de joie et de bonheur ainsi qu'à ma petite sœur Fatima Zohra, ne change rien, tu es la meilleure. Je vais jamais oublier tes conseils, ton encouragement et tous ce que tu as fait pour moi.

A mon très cher frère, l'adorable Louai Alaa Eddine à qui je souhaite la réussite dans ses parcours scolaire et à toute la famille Toumache et Bouchane.

À mes copines Fatiha et Ryma de la chambre M69 au niveau de la résidence universitaire 1500 lit de Medea. Ce fut un bonheur de passer cinq ans entouré de vous.

À tous mes enseignants, du primaire jusqu'à ce dernier examen

À Mme Bouherama Amina, ma promotrice. On ne vous oubliera jamais.

A tous mes amis surtout Asma, mon trinôme Kaouther et Maroua qui m'ont toujours aidé.

En fin à tous ce qui me connaisse et m'encourage de prés et de loin et à tout ce qui sont chers à moi.

Nour El Houda

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions notre Dieu tout Puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

La réalisation de notre travail a eu lieu au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université YAHIA FARES–MEDEA.
Ce travail ne s'est pas fait tout seul et quelques personnes ont contribué de près ou de loin à nos recherches. Nous souhaiterons donc débuter ce manuscrit en les remerciant.

Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Nous remercions particulièrement notre promotrice, Mme. BOUHERAMA Amina, pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et ses encouragements. Merci pour son accueil chaleureux au laboratoire et ses directives irremplaçables, mais aussi pour sa rigueur scientifique et ses conseils pertinents qui nous ont aidés à bien mener notre travail.

Nos remerciements les plus chaleureux au président du jury, Mr. BENAFRI. N d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de juger et d'examiner ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements également au membre de jury ; Mr. AINAS.M et Mme. DIF. S, qui nous ont honoré de leur présence et d'avoir consacré de leur temps afin d'évaluer ce travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous adressons nos vifs remerciements à Mr BENAFRI. N, M ^{elle} HOCEINI. A et M ^{elle} HANTABLI. S pour leurs précieuses aides, et à tous nos enseignants durant les cinq années de nos cursus Licence-Master. Sans oublier le personnel de Laboratoire de l'université YAHIA FARES –MEDEA, merci de nous avoir conseillé et aidé.

En fin, nous remercions tous ceux qui ont croisé notre route et ont contribué à l'accomplissement de cette thèse.
Un chapitre important de notre vie se termine avec la remise de ce manuscrit.

Encore une fois de plus merci.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABA : L’acide abscissique.

ACC : L'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique.

ADN : L'acide désoxyribonucléique.

AIA : Acide Indole Acétique.

Al : Aluminium.

ARN : L’acide ribonucléique.

ATP : Adénosine triphosphate.

C° : Degrés Celsius

Ca^{+2} : Ions Calcium.

$CaCl_2O_2$: Hypochlorite de calcium.

$Ca_3(PO_4)_2$: Phosphate de calcium

CAT : La catalase.

CK : Cytokinines.

Cl^- : Ions Chlorures

CMC : Carboxy-méthyl cellulose

CO_2 : Dioxyde de carbone

EPS : Exopolysaccharide

G+C : Guanine+Cytosine

h : Heure

HCL : Acide chlorhydrique

HCN : Le cyanure d’hydrogène.

H_2O : Eau

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

$H_2PO_4^-$: Ion dihydrogen phosphate

$H_2PO_4^{2-}$: Ion dihydrogen phosphate

IS : L’indice de solubilisation

ISR : Induced systemic resistance.

ISP : L’indice de solubilisation de phosphate

J : Jour

K : Potassium.

K : Kilomètre.

KCL : Chlorure de potassium

KOH : Hydroxyde de potassium

KSB : Les bactéries solubilisatrices des potassiums.

LP : Lipopeptides.

LPS : Lipopolysaccharides.

M : Molaire

min : Minute

ml : Millilitre

mM : MilliMolaire

mm/an : Millimètre par an.

MSP : Microorganismes solubilisant le phosphate.

Na+ : Ions de Sodium

N_2 : Azote sous la forme gazeuse.

NaCl : Chlorure de sodium.

NBRIP : Le milieu de National Botanical Research Institute phosphate.

NH3: Ammoniac

NH4 +: Ions Ammonium

NO2- : Nitrite.

NO3– : Nitrate.

O_2 : Oxygène

O^{2-} : Ion superoxyde

OH^- : L'ionhydroxyde

ONPG : Ortho-Nitro-Phényl-β-Galactoside

P : Phosphore.

PEG : Polyéthylène Glycol

PGPB : Plant Growth Promoting Bacteria.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

rpm : Rotation par minute

pH : Potentiel Hydrogène.

POX : La peroxydase.

PSB : Phosphate Solubilizing Bacteria.

ROS : Substances réactives à l'oxygène.

Sec : Seconde.

Si : Silicium

Sid : Sidérophore.

SiO2 : Dioxyde de silicium

$SnCl_2$: Chlorure d'étain

SOD : La superoxyde dismutase.

ST-PGPR : Salt Tolerant-PGPR.

TSA : Trypticase soja agar

TSB : Trypticase soja broth

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre

USTHB : Université des Sciences et de la Technologie, Houari Boumedienne.

µl : Microlitre.

$\mu l.L^{-1}$: Microlitre par litre.

$\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$: Micromoles par mètre carré par seconde.

La liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Rôle des phytohormones et les bactéries productrices.	16
Tableau II	Taxonomie du genre Bacillus.	20
Tableau III	Caractéristiques physiques et chimiques du sol cultivé par l'orge et collecté au niveau de l'oasis d'El Menia.	27
Tableau IV	Aspects macroscopiques des isolats.	44
Tableau V	Résultats de l'estimation quantitative de la capacité de solubilisation des phosphates des 28 isolats.	50

La liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Effet de la salinité sur le développement des plants	04
Figure 2	Les différents mécanismes de tolérance de stress salin par les bactéries.	08
Figure 3	Modes d'action des bactéries promotrices de croissance des plantes.	10
Figure 4	Étapes de conversion de l'azote atmosphérique en ammoniac par la nitrogénase.	10
Figure 5	Représentation schématique des mécanismes de solubilisation/ minéralisation et immobilisation du phosphate dans le sol par les MSP.	12
Figure 6	Les différents mécanismes utiliser par les KSB pour solubiliser le K et le rendre disponible pour les plants.	12
Figure 7	Représentations schématiques du rôle du PGPR producteur de sidérophore (Sid) dans l'amélioration de la disponibilité du fer pour la plante.	13
Figure 8	Forme et position des endospores chez les différents groupes du genre Bacillus.	20
Figure 9	Reconstruction phylogénétique des Bacillus.	22
Figure 10	Observation au microscope électronique de cellules végétatives de *B. cereus*(a) desspores de *B. polyfermenticus*(b) et de la ciliature péritriche de *B. subtilis*(c).	22
Figure 11	Vue satellitaire montrant la localisation de la région d'El Menia et la station de recherche expérimentale de l'université des sciences et de la technologie –USTHB.	26
Figure 12	Représentation graphique montrant la nature du climat (Classe BWh) de la région d'El Menia selon la classification de Köppen.	26
Figure 13	Evaluation de la superficie agricole utile (SAU) de la région d'El Menia entre 1962 et 2012.	27
Figure 14	Morphologie générale des colonies obtenues après isolement et après purification sur TSA 1/10.	37
Figure 15	Observation microscopique à un grossissement x 100 après la coloration de Gram de nos isolats.	39
Figure 16	Observation microscopique à un grossissement x100 de différents modes de regroupement.	39
Figure 17	Observation microscopique de la position des endospores après la coloration de Gram Gx100 à immersion.	40
Figure 18	Classification des isolats selon la position des endospores.	40

Figure 19	Aspect macroscopique des colonies sur gélose TSA 1/10.	42
Figure 20	Aspect macroscopique des colonies sur gélose TSA 1/10.	43
Figure 21	Résultats des tests biochimiques	47
Figure 22	La fixation d'azote chez les souches isolés.	48
Figure 23	La capacité de nos isolats à solubiliser les phosphates.	50
Figure 24	Nombre des isolats ayant la capacité de solubilisation des phosphates par catégorie.	51
Figure 25	La solubilisation des potassiums.	52
Figure 26	Production d'uréase chez quelques isolats de notre souchier.	53
Figure 27	Production de lipase chez quelques isolats de notre souchier.	55
Figure 28	Estimation de l'activité enzymatique par nos isolats.	55

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

RESUME

ABSTRACT

INTRODUCTION…….…….....1

CHAPITRE I. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE……..…….3

I. Stress salin ……3

1. Définition …….…….3

2. Effets ……..……3

3. Mécanismes de tolérance …….5

II. Les bactéries promotrices de croissance……...9

1. Définition …….....9

2. Mécanisme d'action …….....9

3. Diversité taxonomique ……17

III. Le genre Bacillus ……19

1. Taxonomie ……..19

2. Caractéristiques bactériologiques ……...……....21

3. Caractéristiques physiologiques ……...……..21

4. Caractères écologiques …….....23

5. Utilisation et application ……...…….....23

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES……..25

I. Matériels ……25

1. Matériel non biologique ……..25

2. Matériel biologique …….25

II. Méthodes …….....28

1. Mise en place du dispositif expérimental……...…….28

2. Dénombrement et isolement de la microflore bactérienne totale……....29

3. Sélection et identification du genre Bacillus….……...……...30

4. Caractérisation phénotypique…….. ……...……...….30

4.1. Caractérisation morphologique……...……..……30

4.2. Caractérisation biochimique ……...……...…….....32

4.3. Caractérisation physiologique …….....33
4.4. Caractérisation métabolique ……. …….....34
4.5. Caractérisation enzymatique ……..…..……35
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION ……... …….37
1. Densité de la flore bactérienne totale ……..……..37
2. Isolement des bactéries du genre Bacillus ……...38
3. Etude phénotypique …….....41
3.1. Caractérisation morphologique …….……..41
3.2. Caractérisation biochimique ……..…….....45
3.3. Caractérisation métabolique ……..…….....47
3.4. Caractérisation enzymatique…..…….…….53
CONCLUSION……...56
PERSPECTIVES …… ……..57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXES

Résumé

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries du sol qui peuvent stimuler la croissance des plantes de façon directe ou indirecte. Parmi lesquelles, les bactéries appartenant au genre Bacillus sont considérées comme étant le groupe de rhizobactéries le plus fréquemment identifiées.

L'objectif de ce travail est la sélection et la caractérisation phénotypique des bactéries appartenant au genre Bacillus à du sol rhizosphérique d'orge commune (*Hordeum vulgare* L.) cultivées dans la région d'El Meneaa W. Ghardaia - Algérie.

Nous avons isolé 484 isolats, 28 souches ont été identifiées comme appartenant au genre Bacillus grace à l'utilisation des techniques morphologiques et physiologiques.

Les 28 isolats ont été caractérisés sur le plan phénotypique et biochimique, puis ont ensuite été testés *in vitro* pour leurs traits spécifiques à la promotion de la croissance des plantes tels que la fixation d'azote, la solubilisation des phosphates et la production des enzymes lytiques. Parmi les souches testées, 71.4% étaient capables de solubiliser les phosphates sur le milieu NBRIP et la moitié de nos souches ont la capacité de synthétiser l'enzyme uréase (50%) et lipase (53.6%).

Les résultats obtenus ont montré que nos souches pourront être utilisées comme des PGPB dans le domaine de l'agriculture, mais aussi dans les industries biotechnologiques.

Mots-clés : PGPR, *Bacillus spp*, *Hordeum vulgare* L., Sélection, Rhizosphère.

Abstract

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) are soil bacteria that can stimulate plant growth either directly or indirectly. Among which the bacteria belonging to the genus Bacillus are considered the most frequently identified group of rhizobacteria.

The objective of this work is the selection and phenotypic characterization of bacteria that belong to Bacillus genus from the roots of common barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivated in the region of El Meneaa W. Ghardaia-Algeria.

In the framework of this thesis, we isolated 484 isolates, 28 strains were identified as belonging to the genus Bacillus using morphological and physiological techniques.

The 28 isolates were phenotypically and biochemically characterized and then tested in vitro for their traits specific to promoting plant growth such as nitrogen fixation, phosphate solubilization, and lytic enzyme production. Among the strains tested, 71.4% were able to solubilize phosphates on NBRIP medium and half of our strains have the capacity to synthesize the urease (50%) and lipase (53.6%) enzymes.

The results obtained have shown that our strains can be used as PGPBs in agriculture domain but also in biotechnology industries.

Keywords: PGPR, *Bacillus spp*, *Hordeum vulgare* L., Selection, Rhizosphere.

الملخص

البكتيريا الجذرية المحسنة للنمو النباتي (PGPR) هي بكتيريا التربة تعمل على تحفيز نمو النباتات بشكل مباشر أو غير مباشر. من بينها، البكتيريا التي تنتمي إلى جنس Bacillus والتي تعتبر البكتيريا الأكثر تحديدًا من بين البكتيريا الجذرية. الهدف من هذا العمل هو الانتقاء والتوصيف المظهري والجيني للبكتيريا التي تنتمي إلى جنس Bacillus من جذور الشعير العادي (*Hordeum vulgare* L.) المزروع في منطقة المنيعة- غرداية - الجزائر.

في إطار هذه الأطروحة، قمنا بعزل 484 عزلة ،28 سلالة تم تصنيفها على أنها تنتمي إلى جنس Bacillus بواسطة تقنيات مورفولوجية وفيزيولوجية.

تم تمييز 28 عزلة من الناحية المظهرية والكيميائية، ثم تم اختبار خصائصها في تعزيز نمو النباتات مثل تثبيت النيتروجين، تحليل الفوسفات وإنتاج الإنزيمات التحليلية على مستوى المختبر. من بين السلالات التي تم اختبارها ،71.4% لديهم القدرة على إذابة الفوسفات على الوسط NBRIP كما أن نصف سلالاتنا يستطيعون تصنيع إنزيم اليورياز (50٪) واللياز (6.53٪).

أظهرت النتائج المتحصل عليها أنه يمكن استخدام سلالاتنا كبكتيريا جذرية محسنة للنمو النباتي (PGPBs) في مجال الزراعة ولكن أيضًا في صناعات التكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية: PGPR، *Bacillus spp*، *Hordeum vulgare* L.، الانتقاء، التوصيف.

Introduction

L’écosystème terrestre est considéré comme un véritable réservoir de microorganismes. La communauté microbienne se caractérise par une large diversité et une complexité des relations qui s’établient entre les différents composants de cet écosystème. L’ensemble de ces interactions leur permet de jouer des rôles essentiels dans l’écosystème tellurique.

La rhizosphère, qui est le volume de sol soumis directement à l’influence des racines des plantes, représente la zone d’intense activité microbienne et possède le plus important réservoir de biodiversité au monde (Bashir et *al*., 2016). Les bactéries sont les représentantes les plus importantes quantitativement par rapport aux autres microorganismes du sol. Parmi les bactéries qui colonisent la rhizosphère, les bactéries promotrices de la croissance végétale, connues sous l’acronyme PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) (Kloepper et Schorth, 1978) sont le groupe bactérien rhizosphérique le plus étudié et exploité.

Les PGPR constituent une flore bactérienne rhizosphérique hétérogène influence favorablement la croissance et le rendement des plantes par une multitude de mécanismes. Le mode d'action de ces bactéries implique deux mécanismes majeurs : un mécanisme direct qui comprit l’amélioration de la disponibilité des éléments nutritifs (Biofertilisation) par la fixation d’azote atmosphérique, la solubilisation des phosphates et des potassiums, la production de certaines métabolites comme les sidérophores ou par la modulation des niveaux d’hormones végétales (Phytostimulation) (Ahmad et Kibret, 2014). Et un mécanisme indirect conférant aux végétaux une meilleure résistance aux agents pathogènes (stress biotique) par la production des antibiotiques et par l’induction de la résistance systémique chez la plante (kirdi, 2011), ainsi qu’aux agressions environnementales (stress abiotique) (Joseph et *al*., 2012) comme le stress salin qui constitue l’un des facteurs majeurs limitant la productivité des plantes et par conséquent la production agricole, conduisant à l’appauvrissement des sols en matières organiques et à l’accumulation d’ions toxiques, et en réponse à ce stress, les PGPR synthétisent et/ou accumulent des solutés compatibles ou d’osmoprotecteurs participant à la remédiation du sol et la restauration de la croissance des plantes stressées (Choudhary et Varma, 2016).

Le nombre d'espèces bactériennes identifiées comme PGPR a augmenté récemment en raison de nombreuses études portant sur une large gamme d'espèces végétales et sur les progrès développés dans la compréhension des différents mécanismes d'action de ces

rhizobactéries. Une large variété de microorganismes est considérée comme des PGPR, appartiennent essentiellement aux genres : Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter, Klebsiella, Enterobacter, Bacillus,…. (Kloepper et *al*., 1989 ; Glick, 1995).

Les bactéries appartenant au genre Bacillus sont les plus étudiées dans la recherche scientifique et les plus exploitées en agriculture. Elles sont très répandues dans la nature et représentent une proportion importante de la microflore (Kloepper et *al.,* 2004) et aussi possèdent une grande activité dans le contrôle biologique de maladies liées au sol. Ces rhizobactéries ont la capacité de produire de nombreux métabolites et sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler au laboratoire (Raaijmakers et *al*., 2002). En outre, le genre Bacillus possède la possibilité de sporuler dans des conditions défavorables ce qui facilite sa production industrielle et sa formulation en un produit stable (Lalloo et *al.,* 2010).

Dans le cadre de la création d'un inoculum bactérien qui permettra l'amélioration de l'établissement et le développement d'une agriculture saharienne, nous avons mené une étude qui a porté sur un isolement et la sélection des bactéries appartenant au genre Bacillus à partir d'un sol rhizosphérique associé à des plantules d'orge commune (*Hordeum vulgare.* L) cultivées sur un sol saharien provenant d'une région aride du sud d'Algérie (El Menia - Ghardaia). Les isolats obtenus ont été caractérisés sur le plan phénotypique, biochimique, physiologique et métabolique afin de déterminer leur spectre d'utilisation principalement dans le domaine de l'agriculture comme des biofertilisants et des agents de bio-contrôle, et aussi dans d'autres industries.

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I. Stress salin

1. Définition

Le stress salin correspond à l'accumulation de sels très solubles (Ben hebireche et Djafour, 2011) particulièrement le chlorure de sodium (Rengasamy, 2010) dans la partie superficielle des sols, dans les régions racinaires des plantes ou dans l'eau d'irrigation (Mermoud, 2006). Le stress salin implique un stress osmotique, hydrique et ionique qui mène finalement à un stress oxydatif.

2. Effets

Le stress salin occasionne des effets nocifs sur le sol traduit par une diminution de la fertilité des sols et de la disponibilité des nutriments pour les cultures (Singh et Singh, 2013), ainsi l'alimentation en eau des plantes est rendue plus difficile (Cheverry et Bourrié, 1998). Ce qui limite la productivité et la croissance des plantes (Bouzid, 2010) et la croissance des microorganismes dans les régions rhizosphériques, affectant ainsi les associations bénéfiques entre les plantes et les microorganismes et augmentant dans certains cas la virulence des germes phytopathogènes présents dans la rhizosphère (Dikilitas et Karakas, 2012).

2.1. Sur les plantes

La salinité affecte la plante par divers moyens qui se manifeste par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires (Fig.1) (Ashraf et Harris, 2004).

Les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif, caractérisé par une faible ramification, un faible diamètre des organes, un nombre réduit des nœuds, un raccourcissement de l'entre-nœud, une sénescence précoce et une réduction du nombre de feuilles (Munns, 2002). L'arrêt de l'expansion de la surface foliaire et la diminution de la longueur de la tige et par conséquent l'augmentation du rapport racine/tige. Une diminution de la biomasse sèche et fraiche de toutes les parties de la plante est aussi démontrée (Acosta-Motos et *al.*, 2017). La salinité influx également sur la croissance et la qualité des fruits dont l'aspect fruits plus petits et nécrosés, et la qualité organoleptique est modifiée (Levigneron et *al.*, 1995).

Le stress salin affecte aussi les différents processus physiologiques tels que la cessation de l'assimilation du carbone dans les feuilles, la réduction de la perméabilité due à la

déshydratation, la fermeture des stomates, la sénescence et la fuite ionique dans le cytosol. Ces effets conduisent à l'inactivation du transport d'électrons photosynthétiques et respiratoires (Allakhverdiev et *al.*, 2000 ; Parvaiz et Satyawati, 2008) entraînant une faible production d'énergie par les réactions de phosphorylation et photorespiration**.**

Des stress extrêmes conduisent au nanisme et à l'inhibition de la croissance. Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir terminées leur croissance et développement, et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (BenHayyim et *al.*, 1989 ; Speer et Kaiser, 1991).

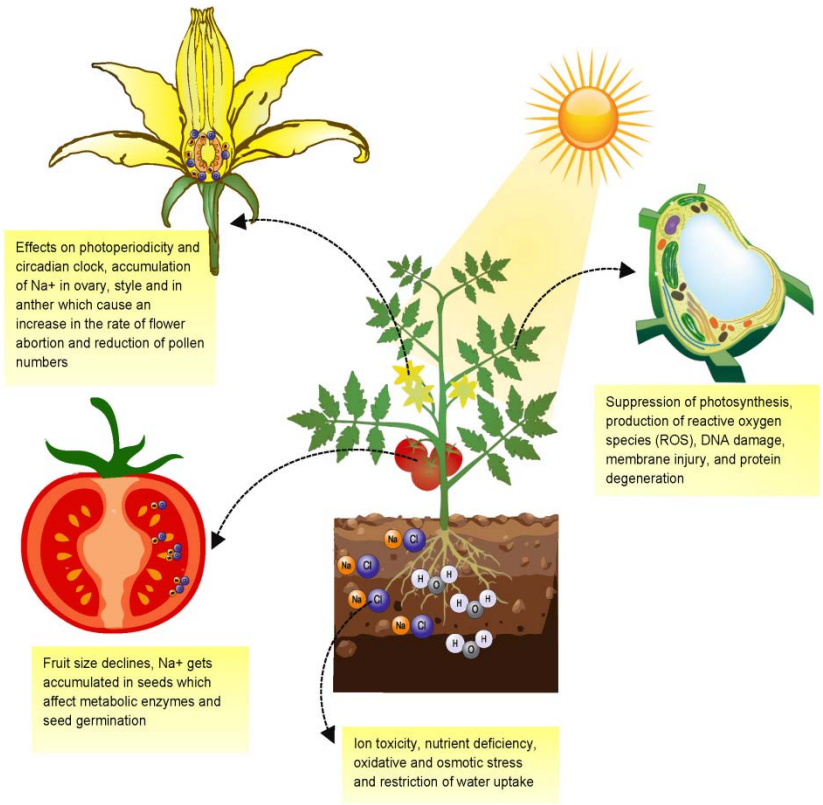


Figure 1 : Effet de la salinité sur le développement des plants (Egamberdieva et *al.*, 2019).

2.2. Sur les bactéries

La salinité a un impact négatif sur l'abondance, la diversité, la composition et les fonctions de la population microbienne dans le sol (Borneman et *al.*, 1996). Les travaux de Omar et *al* (1994) ont montré qu'avec une augmentation du niveau de salinité à plus de 5% en particulier de NaCl, le nombre total de bactéries a été considérablement réduit. Une observation similaire a été rapportée par Li et *al* (2006), qui ont trouvé des corrélations négatives entre

la conductivité électrique du sol et l'émission de dioxyde de carbone ou la biomasse microbienne.

Une augmentation brusque de l'osmolarité du milieu externe entraîne un rapide flux d'eau vers l'extérieur de la cellule, qui a pour conséquence une diminution de la pression de turgescence, le moteur de l'élongation des cellules durant la croissance, une variation de la concentration cytoplasmique en solutés, un changement du volume cellulaire (Csonka, 1989), une plasmolyse dans les cas extrêmes où les bactéries n'ont aucun moyen de répondre ou de s'adapter à l'augmentation de la force ionique (Na^+, Cl^-) dans le sol (Le Rudulier et *al.*, 2002 ; Nabti et *al.*, 2010). Aussi, l'augmentation brusque de l'osmolarité du sol modifie la disponibilité de l'eau à la cellule ce qui aboutit à une perturbation de l'activité des protéines et d'autres macromolécules et une inhibition d'un grand nombre de processus biologiques comme la synthèse des macromolécules et la réplication de l'ADN. La salinité altère aussi la composition exopolysaccharidique et lipopolysaccharidique de la surface cellulaire bactérienne. De plus, l'épuisement des ions potassium par les plantes dans des conditions salines réduit encore la capacité des rhizobactéries à utiliser les ions potassium comme osmorégulateur primaire. L'utilisation végétale d'osmolytes sous stress salin prive les rhizobactéries d'osmolytes, ce qui limite finalement la croissance bactérienne (Arora, 2020).

3. Mécanismes de tolérance

Les bactéries sont capables de développer un certain degré de tolérance contre les conditions défavorables et d'améliorer la croissance des plantes dans des milieux à forte osmolarité (Niu et *al.*, 2018). Les bactéries appartenant aux genres Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter, Agrobacterium, Streptomyces, Klebsiella et Ochromobacter sont les plus signalés pour l'amélioration de la productivité de diverses cultures dans des conditions salines (Sharma et *al.*, 2016 ; Singh et Jha, 2016 ; Sarkar et *al.*, 2018). Ces bactéries ont la capacité de développer des mécanismes moléculaires leur permettant de survivre et de croître avec l'augmentation de la salinité (Fig. 2) (Egamberdieva et *al.*, 2016 ; Hashem et *al.*, 2016), elles sont distinguées sous la nomination ST-PGPR (Salt Tolerant-PGPR) (Egamberdieva et *al.*, 2019).

3.1. Accumulation des solutés compatibles

Les micro-organismes répondent au stress osmotique essentiellement par l'accumulation des solutés compatibles pour équilibrer la pression osmotique et le milieu intracellulaire (Mishra

et *al.*, 2018). Le terme « soluté compatible » a été introduit par Brown et Simpson en 1972 pour décrire des solutés accumulés qui ne présentent pas d'activité inhibitrice, même à forte concentration, vis -à-vis les métabolismes cellulaires ou le fonctionnement des enzymes et des protéines (Oren, 2003). Ces solutés sont des composés organiques de faible poids moléculaire, sont accumulés soit par absorption à partir de l'environnement (osmolytes exogènes) ou par la biosynthèse *de novo* (osmolytes endogènes) (Roberts, 2005) et ensuite dégrader à la suite d'une réduction de la pression osmotique externe. Cependant, elles peuvent, en guise de réponse précoce et plus rapide, accumuler ou libérer dans le milieu extérieur par l'intermédiaire de systèmes de transport spécifiques responsables de l'osmorégulation (systèmes d'efflux spécifiques et aquaporines) (Galinski, 1995). Certains solutés compatibles n'ont aucun effet sur la croissance cellulaire en milieu à forte osmolarité. Les autres, par contre, ont un important effet de stimulation sur le taux de croissance lorsqu'ils sont ajoutés au milieu de culture. Ce sont des osmoprotecteurs (Ghoul, 1990).

L'accumulation d'osmolytes est une réponse au stress plus soutenue pour prévenir la perte d'eau (Bremer et Kramer, 2019). Ainsi ces molécules osmotiquement actives conservent une pression de turgescence positive nécessaire à la division cellulaire (Curatti et *al*., 1998), elles permettent aussi à une grande variété de vivants de résister aux conditions extrêmes telles que les variations de température et de salinité élevée (Smiatek et *al.,* 2012), comme elles jouent un rôle essentiel dans la stabilisation des protéines et des membranes pendant les dommages oxydatifs induits par les « ROS » (Saxena et *al.,* 2013).

La diversité des solutés compatibles est grande mais, se limite à quelques grandes catégories de produits chimiques, qui sont des acides aminés (par exemple, le glutamate et la proline), des dérivés d'aminoacide (peptides et acides aminés N-acétylés), des amines quaternaires (par exemple, la glycine bétaïne et la carnitine), des hydrates de carbone ou leurs dérivés (par exemple, le saccharose et le tréhalose) et des tétrahydropyrimidines (ectoïnes) (Karima, 2007).

3.2. Production des phytohormones

Les phytohormones produites par les bactéries jouent un rôle essentiel dans la modulation de la physiologie végétale sous stress salin (Egamberdieva et Kucharova, 2009).

L'AIA (Acide Indole Acétique) est la principale phytohormone produite par les bactéries, il est nécessaire pour la division cellulaire et l'allongement dans les plantes aux prises avec le stress salin (AbdAllah et *al.,* 2017). Outre les auxines, d'autres phytohormones auraient également atténuées l'effet du stress salin chez les plantes comme la production de

cytokinines (CK), qui sont importantes pour la prolifération et la différenciation cellulaire (TrParray et *al.*, 2016), l'ABA (Acide abscisique) agit comme un signal cellulaire et module divers gènes en réponse à une carence en eau et au stress salin (Numan et *al.*, 2018) et la Gibbérelline qui améliore essentiellement le poids, la longueur et la substance chlorophyllienne des plants (Kang et *al.*, 2014).

3.3. Activité de l'Amino-Cyclopropane-1Carboxylate

L'enzyme ACC désaminase intervient pour réguler la production massive d'éthylène en clivant l'ACC en ammoniac et en α-cétobutyrate qui sont consommés par les bactéries comme sources d'azote et de carbone (Glick, 2014), facilitant ainsi la croissance des plantes sous le stress salin (Nadeem et *al.*, 2010). La présence de ST-PGPR abaisse considérablement le niveau d'éthylène de stress et empêche l'inhibition des gènes régulés à la baisse impliqués dans le stress des plantes induit par l'éthylène et régule à la hausse les gènes impliqués dans la croissance des plantes (Glick et *al.*, 2007). Cependant, la désaminase de l'ACC a non seulement le pouvoir d'améliorer la survie des plantes dans les sols salins, mais également d'augmenter la productivité (Egamberdieva et *al*., 2011). Il a été constaté que l'ACC désaminase a des effets sur d'autres propriétés biochimiques des cellules végétales, y compris la stabilité de la membrane, la formation de solutés biocompatibles, la production de pigments photosynthétiques (Tiwari et *al*., 2018) et ainsi aide à la formation de nodules dans des conditions salines (Nascimento et *al.*, 2016).

3.4. Sécrétion des Exopolysaccharides

La production d'Exopolysaccharides (EPS) ou de polysaccharides de surface est une caractéristique générale de certaines bactéries de la rhizosphère, une quantité abondante d'EPS se forme dans des conditions défavorables (Khan et Bano, 2019). L'EPS améliore la structure du sol en formant des macroagrégats avec le sol, ce qui augmente encore la capacité de rétention d'eau du sol (Alami et *al.*, 2000). Les macroagrégats maintiennent l'équilibre dans les conditions aérobies et anaérobies dans le sol et déterminent également l'absorption progressive des nutriments du sol. En cas de stress salin, ces agrégats aident à lier des cations (Na^+) en les rendant inaccessibles aux plantes (Ashraf et *al.*, 2004). Les EPS bactériens protègent ainsi les bactéries de la dessiccation en modifiant leur microenvironnement (Roberson et Firestone, 1992).

3.5. Activité antioxydante

Dans des conditions salines, la génération des substances réactives à l'oxygène (ROS) telles que les radicaux superoxydes (O^{2-} et OH^{-}) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) modifient l'activité antioxydante. Les ROS entraînent des dommages aux lipides, aux protéines et aux acides nucléiques conduisent finalement à la mort de la plante (Del Rio et *al*., 2003). Comme réponse au stress salin les bactéries appartenant aux PGPR produisent des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la peroxydase (POX) et la catalase (CAT) et des antioxydants non enzymatiques tels que l'ascorbate, le glutathion et l'α-tocophérol (Han et Lee, 2005) pour éliminer le peroxyde d'hydrogène et autre dérivés réactifs de l'oxygène (Kim et *al*., 2005).

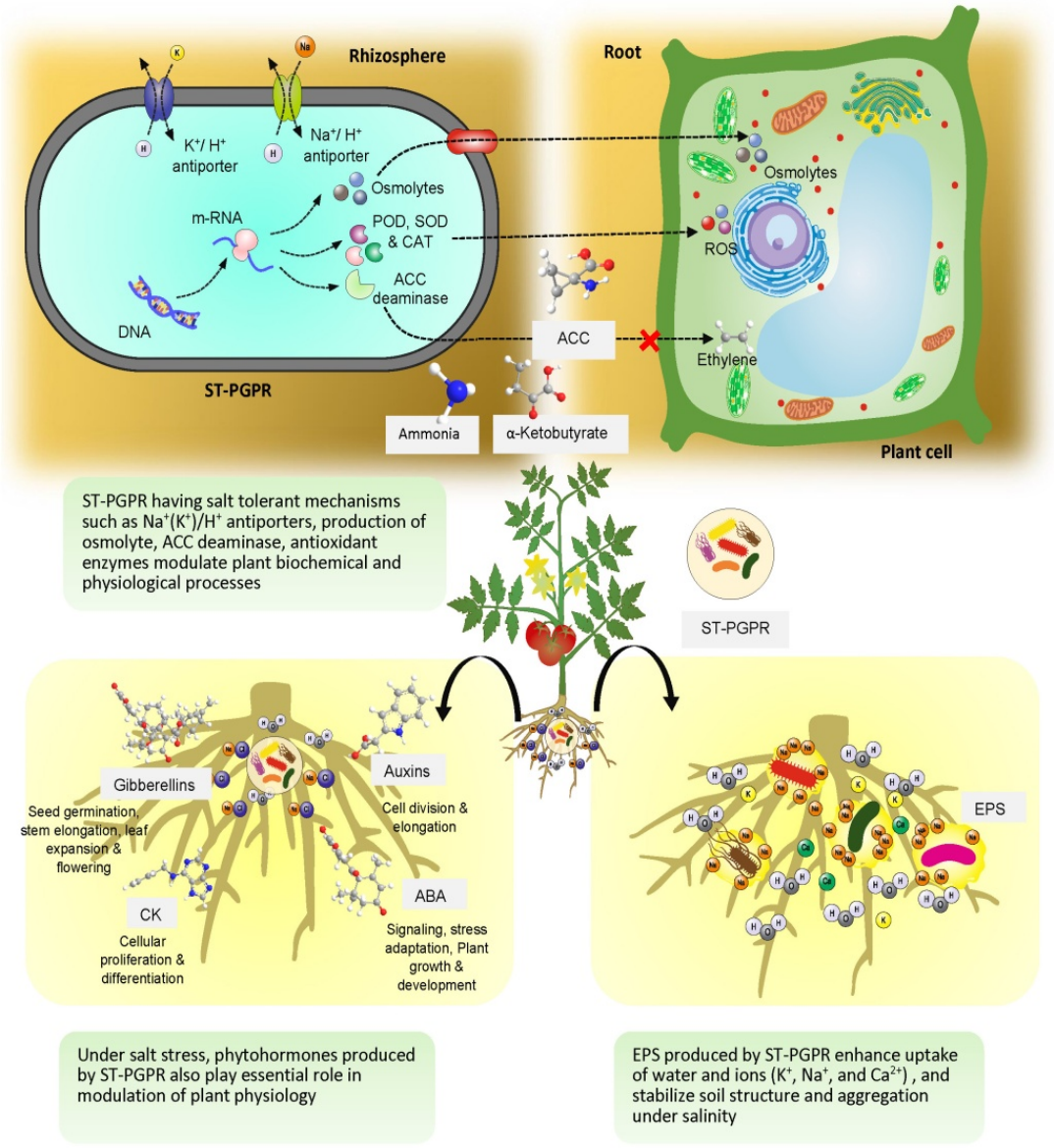


Figure 2 : Les différents mécanismes de tolérance de stress salin par les bactéries (Egamberdieva et *al*., 2019).

II. Les bactéries promotrices de croissance

1. Définition

Les bactéries promotrices de croissance sont des communautés bactériennes phyto-bénéfiques qui améliorent la croissance et le développement des plantes. Sont connues sous l'abréviation de PGPB, qui est une abréviation de l'expression anglaise « Plant Growth Promoting Bacteria » (Abnatura, 2013).

Les PGPB sont divisés en deux grands groupes en fonction de leur relation avec les plantes hôtes : les bactéries libres (non rhizosphériques), vivant dans le sol et n'utilisant pas les exsudats racinaires pour leur croissance et les bactéries sous l'influence des plantes, et qui sont soit libres (rhizosphérique) ou en associations avec les plantes et qui sont sous un effet direct des composés organiques présents dans les racines, elles sont des souches très compétitives capables de coloniser la surface des plantes (rhizoplan et phyllosphère) ou à l'intérieur des plantes (endosphère) (khan, 2005).

L'effet positif exercé par les PGPB est réalisé à travers divers mécanismes, qui peuvent être regroupés en deux groupes : mécanismes directs et indirects (Fig. 3) (Prashar et *al.*, 2013). Les mécanismes directs englobent ceux qui affectent la régulation de la croissance des plantes, alors que les mécanismes indirects sont liés aux mécanismes de défense par leur effet antagoniste contre la microflore néfaste.

2. Mécanisme d'action

Les mécanismes d'action que soit ceux qui ont un effet direct ou indirect sur la croissance et la productivité des plantes, pouvant être actifs simultanément ou séquentiellement à différentes étapes de la croissance des plantes. Les mécanismes directs permettent la promotion directe de la croissance des plantes peut se produire par deux processus : La biofertilisation et la phytostimulation alors que les mécanismes indirects impliquent les différents modes d´action des agents microbiens dans le biocontrôle.

2.1. Biofertilisation

Les biofertilisants augmentent la disponibilité des éléments nutritifs essentiels aux plantes tel que l'azote, le phosphate, le potassium grâce aux divers procédés biologiques.

- **Fixation d'azote**

L'azote est un élément nutritif essentiel pour plusieurs activités chez les plantes. Malgré sa grande disponibilité dans l'atmosphère sous la forme gazeuse (N_2), les plantes ne peuvent pas l'assimiler sous cette forme (N_2) (Pujic et Normand, 2009 ; Arora et *al.*, 2012).

L’azote atmosphérique ne peut être transféré sous une forme assimilable (ammoniaque, nitrate et nitrites) pour les plantes que sous l’action des bactéries. Les bactéries libres du sol ont le pouvoir de réaliser une série de réactions, allant de l’ammoniation, nitrification et nitrafication pour avoir comme produit finale le nitrite (NO_2^-). Les bactéries capables d’assurer ces réactions sont nombreuses, mais regroupées sous l’appellation « diazotrophes » il s’agit de : Azotobacter, Bacillus, Pseudomonas, Clostridium, Enterobacter, Klebsiella et Corynebacterium (Tilak et *al.*, 2006). Un autre groupe de bactéries dites les bactéries symbiotiques, qui sont en interaction symbiotique avec les plantes, peuvent fixer l’azote atmosphérique et le transférer en ammonium (NH_4^+) et en nitrate (NO_3^-) grâce à l’action d’un complexe enzymatique « Nitrogénase » (Fig. 4) (Etesami et Adl, 2020). Ce dernier n’est actif qu’à l’intérieur de structure spécialisée nommée « Nodules ».

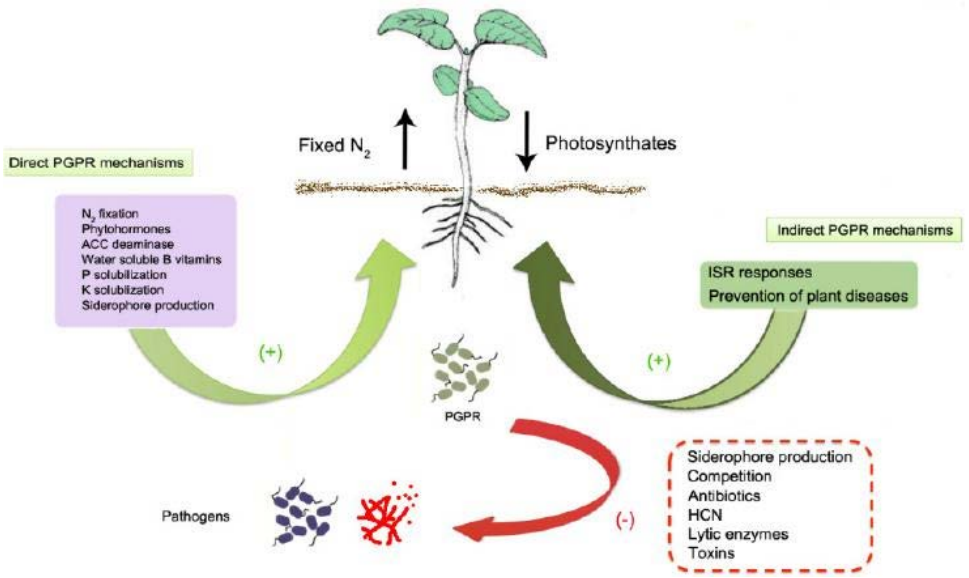


Figure 3 : Modes d’action des bactéries promotrices de croissance des plantes (Garcia et *al.*, 2015).

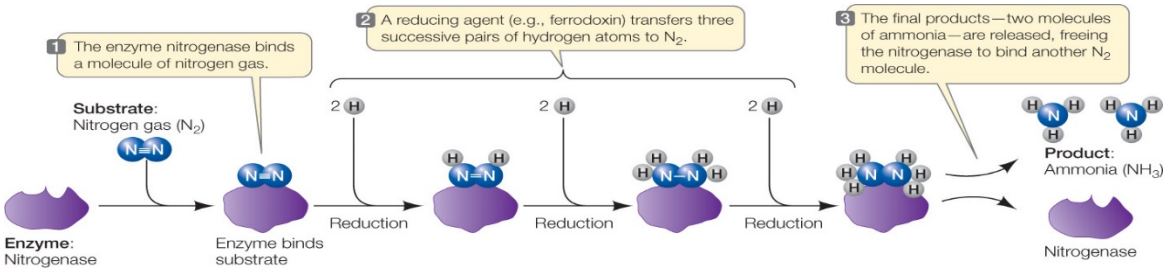


Figure 4 : Étapes de conversion de l'azote atmosphérique en ammoniac par la nitrogénase (Mouna, 2007).

- **Solubilisation des Phosphates**

Les bactéries solubilisant le phosphate ou les PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) permettent la disponibilité du Phosphore existant dans le sol (Vessey, 2003) pour les plantes par deux mécanismes (Fig. 5).

Le premier mécanisme consiste à la libération des acides organiques qui mobilisent le phosphore grâce aux interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate conduisant à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement, cette diminution de pH entraine la dissociation des liaisons dans les composés phosphorés insolubles ce qui rend le phosphate soluble (Afzal et Bano, 2008).

Le deuxième mécanisme est basé sur l'action enzymatique. Des enzymes, tels que des phosphatases non spécifiques (aussi appelés phosphohydrolase), des phytases, des phosphonatases et des C-P lypases, permettent la solubilisation de phosphate organique (Patel et Rajkumar, 2009).

- **Solubilisation des Potassiums**

Les bactéries solubilisatrices des potassiums (KSB) jouent un rôle clé dans le cycle K naturel, elles permettent de transformer le Potassium minéral insoluble et inaccessible à une forme disponible pour l'absorption par les plantes (Liu et *al.*, 2012).

Comme le mécanisme de base du PGPR pour solubiliser les P, les PGPR solubilisent les potassiums par différent mécanismes (Fig. 6) : par la production des acides organiques et inorganiques comme l'acide gluconique, oxalique α-cétogluconique et citrique qui peuvent soit dissoudre directement le minéral K, soit chélater les ions Al et Si associés aux K minérales (Romheld et Kirkby, 2010), et par l'abaissement du pH du milieu par la libération de différents acides organiques et protons par les micro-organismes solubilisants K (KeshavarzZarjani et *al.*, 2013; Parmar et Sindhu, 2013). Il a été signalé que la production de divers polymères extracellulaires principalement des protéines et des polysaccharides peut également entrainer la libération de K à partir de minéraux porteurs de K par une fort absorbation des acides organiques attachés à la surface des minéraux silicatés, ce qui entraîne une forte concentration d'acides autour du minéral (Liu et *al.*, 2006). La formation de biofilm sur les surfaces minérales rhizosphériques participe également à la dissolution des minéraux pour libérer K (Meena et *al.*, 2015).

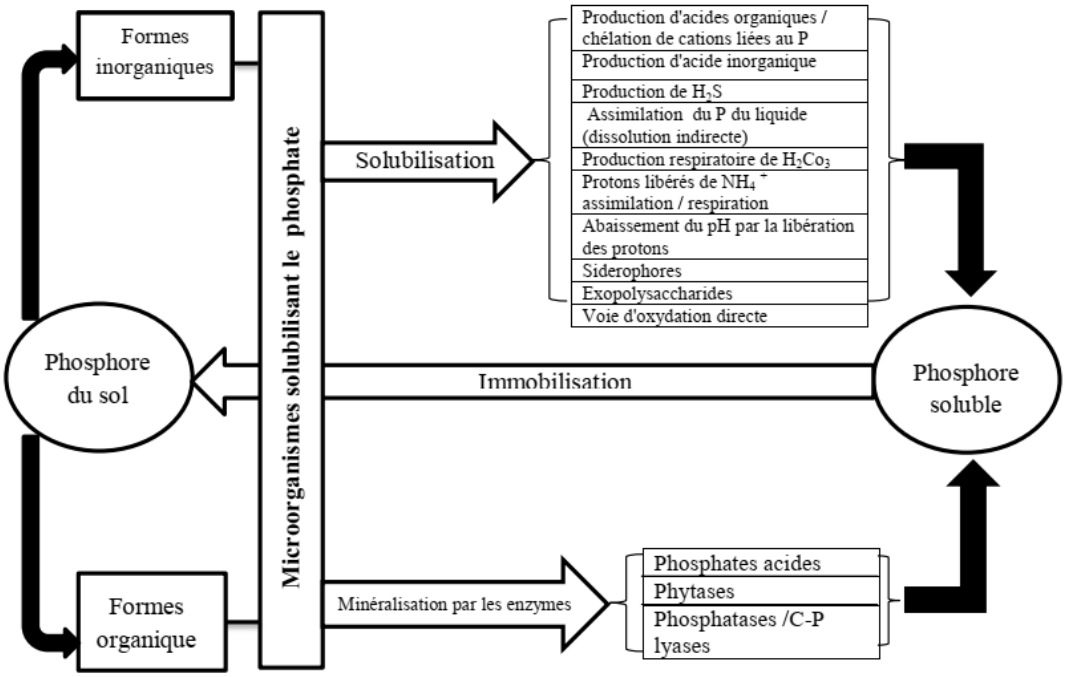


Figure. 5 : Représentation schématique des mécanismes de solubilisation/minéralisation et immobilisation du phosphate dans le sol par les PSB (Sharma et *al.*, 2013).

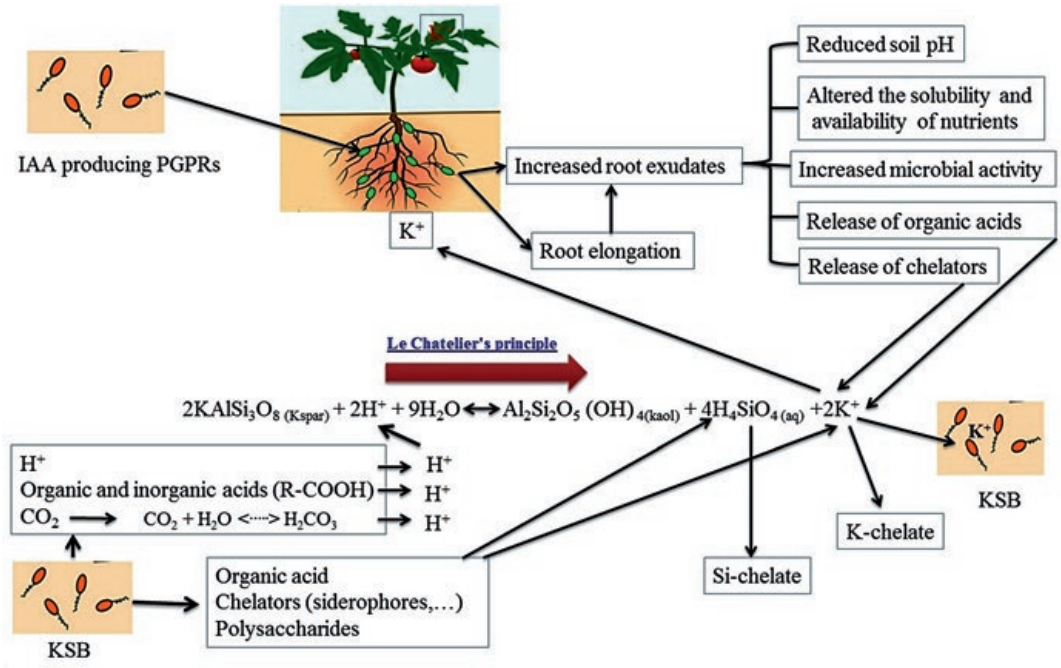


Figure 6: Les différents mécanismes de solubilisation de potassium (Etesami et Adl, 2020).

• **Production des sidérophores**

Le fer est considéré comme l'oligoélément le plus important pour la croissance microbienne, il agit comme un régulateur global de nombreux processus cellulaires, métaboliques et biosynthétiques. Dans des conditions de carence en fer, les bactéries aérobies produisent des métabolites secondaires appelés sidérophores pour combler leur besoin en fer.

Les sidérophores (sidéros = fer ; phoros = transport) (Saha et *al*., 2012) sont des composés organiques de faible poids moléculaire (400-1000 daltons) (Castignetti et Smarrelli, 1986) avec une affinité très élevée et spécifique pour chélater le fer. Ces sidérophores se fixent avec l'ion ferrique et forment un complexe sidérophore-ferrique et le transporte vers la cellule microbienne où il se lie avec des récepteurs dépendants de la suspension de fer à la surface de la cellule bactérienne (O'Sullivan et O'Gara, 1991). L'ion ferrique est ensuite relâché et actif dans le cytoplasme comme ion ferreux (forme soluble) (Fig. 7). Certains des sidérophores produits (500 sidérophores connus) sont utilisés par une grande variété de plantes et par d'autres micro-organismes comme sources de fer (Crowley, 2006).

De plus les sidérophores peuvent augmenter la disponibilité de Phosphore pour les plantes soit en chélatant les cations tels que Ca^{+2}, Al^{+2} et Fe^{+3} formant des précipitations avec le phosphore ou par échange de ligands (Sharma et *al*., 2013).

Ils sont également utilisés dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes en s'appropriant des ions ferriques présents dans la rhizosphère et ils les rendent non disponibles aux champignons pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance. Les bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres Bradyrhizobium, Pseudomonas, Rhizobium, Serait et Streptomyces (Kuffner et *al.*, 2008).

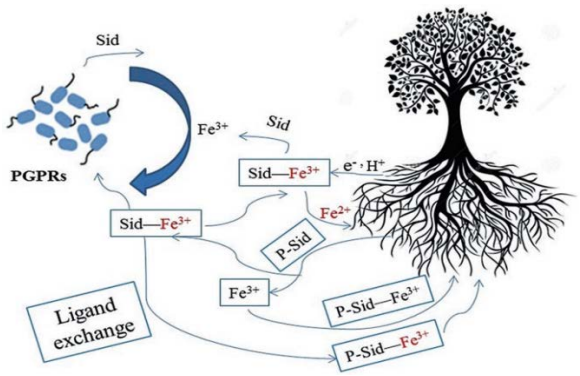


Figure 7 : Représentations schématiques du rôle du PGPR producteur de sidérophore (Sid) dans l'amélioration de la disponibilité du fer pour la plante (Etesami et Adl, 2020).

2.2. Phytostimulation

Les phytostimulateurs améliorent la croissance des végétaux par leurs facultés à produire ou à changer la concentration des régulateurs de croissance de la plante (Martinez-Viveros et *al.*, 2010).

Une large gamme de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des phytohormones pour réguler la croissance et le développement des plantes, ces hormones végétales sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration et leur synthèse est finement régulée. Elles sont chimiquement analogues aux hormones synthétisées par les plantes (Tab. I). Elles influencent les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (Fuentes-Ramírez et Caballero-Mellado, 2005), et aussi jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques (SkiryczetInze, 2010 ; Fahad et *al.,* 2015). Les phytohormones sont divisées en cinq groupes : les auxines (AIA), les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et un groupe appelé inhibiteurs, qui comprend l'acide abscissique (ABA) (Shi et *al.,* 2017).

2.3. Antibiose

L'antibiose est une activité antagoniste utilisée par les bactéries pour la prévention des attaques des pathogènes et pour la suppression et le contrôle des maladies d'origine biotique (Shilev, 2013). Elle repose sur la production à de faibles concentrations des métabolites secondaires de nature diverse aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Melin et *al*., 2007), comme : les lipopeptides cycliques, les sidérophores, le cyanure d'hydrogène HCN, oomycinA, zwittermycin,…(Akhtar et Siddiqui, 2010).

2.4. Production d'enzymes hydrolytiques

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique inclus la production par les PGPR des enzymes hydrolytiques telles que les chitinases, les lipases, les phosphatases, les protéases,…(Nadeem et *al*., 2013), qui jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes, dans l'inhibition de développement et de croissance des microorganismes phytopathogènes (Ordentlich et *al.,* 1988) et dans la protection des plantes contre les stresses biotiques et abiotiques.

2.5. Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes sur les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux nécessaires pour la vie est un mécanisme biologique utilisé par les bactéries pour éliminer les phytopathogènes en réduisant le nombre de sites habitables et par conséquent, leur croissance (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Shameer et Prasad, 2017). En effet une bactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie. Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant le potentiel colonisateur d'une souche sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote (Grover, 2004).

2.6. Résistance systémique induite

La résistance systémique induite est une forme de résistance, stimulée spécifiquement par les bactéries pour protéger les végétaux contre les attaques des virus, des bactéries et des champignons (Naznin et *al.*, 2012). Ce mécanisme permet de rendre la plante plus résistante à l´agression future par des agents pathogènes.

Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire (Cherif, 2014) ainsi de nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (Gupta et *al*., 2015 ; Shameer et Prasad, 2017).

Tableau. I : Rôle des phytohormones et les bactéries productrices.

Phytohormones	Rôle	Bactéries productrices	Références
Acide Indole Acétique (AIA)	• Il affecte principalement le système racinaire en augmentant le poids, la taille, le nombre de ramifications et la surface en contact avec le sol. • Il régule le développement des plantes en agissant sur l'organogenèse, la résistance à des conditions stressantes et les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes.	Acinetobacter Pseudomonas Rhizobium Bacillus Klebsiella	Patten et Glick (2002) ; Ahemad et Kibret (2014) ; Gupta et *al* (2015) Ryu et Patten (2008) Shilev (2013)
Cytokinine	• Elle contrôle la division cellulaire. • Elle stimule la germination. • Elle joue un rôle dans la formation et la croissance des bourgeons, des tissus en culture et des racines et l'expansion foliaire par élargissement cellulaire. • Elle retarde la sénescence.	Azotobacter Bacillus Pseudomonas Rhizobium	Nabors (2008) ABDESSELAM et LATACHE (2017)
Gibbérelline	• Elle favorise la germination des grains, la croissance des bourgeons, la floraison et le développement des fruits. • Elle joue un rôle dans la promotion de la croissance de la tige et la racine. • Elle joue un rôle dans la fermeture des stomates.	Azotobacter Pseudomonas Bacillus AcinetobacterBurkholderiaXanthomonas	MacMillan (2002) Bottini*et al* (2004) Joo*et al* (2009)
Acide abscisique (ABA)	• Elle coupe principalement la croissance des feuilles et des pousses de la plante. • Elle supprime la production excessive d'éthylène lors de stress biotique et abiotique.	Phyllobacterium Brassicacearum	Pliego et *al* (2011) Bresson et *al* (2013)

L'éthylène	• Elle stimule la croissance des plantes à des concentrations modérées. • Elle favorise la germination des graines, la maturation des fruits, la synthèse d'autres hormones végétales et la croissance des pousses et des racines. • A des fortes concentrations, elle inhibe l'élongation des racines, provoque la sénescence, ralentit la migration de l'auxine dans les tissus et affaiblit la défense de la plante contre des pathogènes.	Bacillus Pseudomonas Lactobacillus Micrococcus Serratia	Crozier (2000) Wang et *al* (2000) Saleem et *al* (2007) Davies (2013)

3. Diversité taxonomique

La diversité fonctionnelle et taxonomique des communautés bactériennes bénéfiques est fortement influencée par des facteurs biotiques et / ou abiotiques (Fierer et *al*., 2012a). Cette variation permet de caractériser de nombreux genres appartenant aux différents phylums, les plus abondants et omniprésents de ces phylotypes comprenant : Proteobacteria, Actinobacteria et Firmicutes (Janssen, 2006).

3.1. Proteobacteria

Les membres du phylum des protéobactéries telluriques sont regroupés en trois classes : Alphaproteobactéries, Bêtaproteobactéries et Gammaproteobactéries.

- **Alpha-proteobacteria**

Alpha-proteobacteria possède comme tous les classes de proteobacteria la capacité de se développer même si la quantité des nutriments est très faible (Tortora et *al*., 2011).

Les PGPB appartenant à cette classe et qui sont les plus connus sont les Rhizobia, ils sont considérés comme des PGPB grâce à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et à noduler les plantes appartenant à la famille des légumineuses (Andrews et Andrews, 2017). Les Rhizobia peuvent être aussi utilisés comme agents de bio-contrôle (Antoun et Prévost, 2005). Cette classe regroupe les bactéries faisant partie du genre Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium et Gluconacetobacter (Sawada et *al*., 2003).

- **Bêta-proteobacteria**

Cette classe, comprenant la famille Burkholderiaceae qui contient des souches PGPB omniprésentes appartiennent au genre Ralstonia et au genre Burkholderia. Le genre Burkholderia forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées (Moulin et *al*., 2001).

- **Gamma-proteobacteria**

C'est la classe de bactéries la plus nombreuse comprenant des microorganismes très diversifiés sur le plan physiologique. Parmi les familles appartenant à cette classe et considérées comme des PGBR ; la famille des Pseudomonadaceae qui renferme le genre Pseudomonas et le genre Azotobacter composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes à cause de leur capacité à fixer l'azote sans noduler les plantes (Sturz et Christie, 2003). De plus, la famille Enterobacteriaceae qui inclut des genres assurant la fonction de PGPR comme Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella et Serratia (Garrity, 2005).

3.2. Actinobacteria

Les membres du phylum Actinobacteria constituent en moyenne 13% des communautés bactériennes du sol. Ce phylum contient trois sous classes : Actinobacteridae, Acidimicrobidae et Rubrobacteridae. Dans cet embranchement, le genre Frankia est le plus connu pour sa capacité de fixation symbiotique de l'azote. De nombreuses études montrent que les Actinobactéries peuvent coloniser des environnements arides, des sols désertiques et même des déserts chauds et froids (Santhanam et *al*., 2013). Ces bactéries ont la capacité de produire une multitude de métabolites secondaires, y compris les deux tiers de tous les antibiotiques connus ainsi que de nombreux agents anticancéreux, antifongiques et immunosuppresseurs (Berdy, 2005 ; Hopwood, 2007 ; Barka et *al*., 2016).

3.3. Firmicutes

Les membres du phylum Firmicutes sont largement observés dans les sols désertiques et peuvent être comparativement plus abondants que dans d'autres biomes (Fierer et *al*., 2012b). Certains genres du phylum Firmicutes, sont capables de former des endospores qui peuvent faciliter la survie dans des conditions défavorables comme Paenibacillus et Bacillus qui est le genre le plus commun et le plus prédominant, ils représentent 95% de la flore isolée.

III. Le genre Bacillus

1. Taxonomie

Les Bactéries du genre Bacillus appartiennent à :

- Embranchement : Firmicutes.
- Classe : Bacilli.
- Ordre : Bacillales.
- Famille : Bacillaceae.

Ce genre comprend 377 espèces selon la dernière mise à jour en Janvier 2019 (Caulier et *al.,* 2019) et sont réparties en trois groupes en fonction de la morphologie et la position de l'endospore (Fig. 8). Il s'agit de :

Groupe I : Rassemble les bacilles dont les spores d'aspect ovale ou cylindrique, central ou terminal, ne sont pas déformantes (*Bacillus cereus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus megaterium*).

Groupe II : Comprend les bacilles dont les spores ont une silhouette ovale, de position centrale ou terminale, modifiant la forme du corps de la bactérie (*Bacillus circulans*, ...).

Groupe III : Réunit les bacilles dont les spores rondes, terminales ou subterminales déforment le corps bacillaire (*Bacillus sphaericus*...) (MEDANE, 2017).

Ce genre englobe une variété d'espèces phénotypiquement hétérogènes, présentant un large éventail de besoins nutritionnels, de diversité physiologique et métabolique ainsi que dans la composition en base d'ADN (Claus et Berkeley, 1986a).

Historiquement, *Bacillus subtilis* a été décrite la première fois sous le nom de *Vibrio subtilis* par Ehrenberg en 1835. En 1864 Davaine attribut le nom Bacteridium au microorganisme associé à l'anthrax. Finalement, le genre Bacillus a été proposé pour la première fois en 1872 par Ferdinand Cohn pour inclure les bactéries en forme de bâtonnets qui se développent dans les filaments (Berkeley, 2002). En 1872, Ferdinand Cohn, un élève de Robert Koch, reconnut et nomma la bactérie *Bacillus subtilis* (Logan et Vos, 2015).

Les premières tentatives de classification des espèces de Bacillus sont fondées sur deux caractéristiques : la croissance aérobie et la formation d'endospores de deux espèces formant des endospores, *Bacillus anthracis* et *Bacillus subtilis,* le genre a atteint 146 espèces dans la cinquième édition du Bergey's Manuel (Bergey et *al*., 1939). Par la suite, le nombre de nouvelles espèces a augmenté régulièrement grâce à l'application de méthodes variées pour l'enrichissement et l'isolement tenant compte de la diversité physiologique et des besoins nutritionnels et culturels de ces organismes (Maughan et van der Auwera, 2011), selon ces caractères les espèces du genre Bacillus sont regroupées en six grands groupes (Tab. II)

(Priest et *al*., 1993). La taxonomie du genre Bacillus a été loin d'être établie car plusieurs espèces initialement décrites comme Bacillus ont été transférées vers des genres voisins, suite à l'analyse comparative des séquences de base de L'ARN ribosomal 16S (Fig. 9) (dont la teneur en guanine et en cytosine (G+ C%) de ces espèces connues est comprise entre 32 et 69 moles pour cent (Vargas et *al*., 2005)).

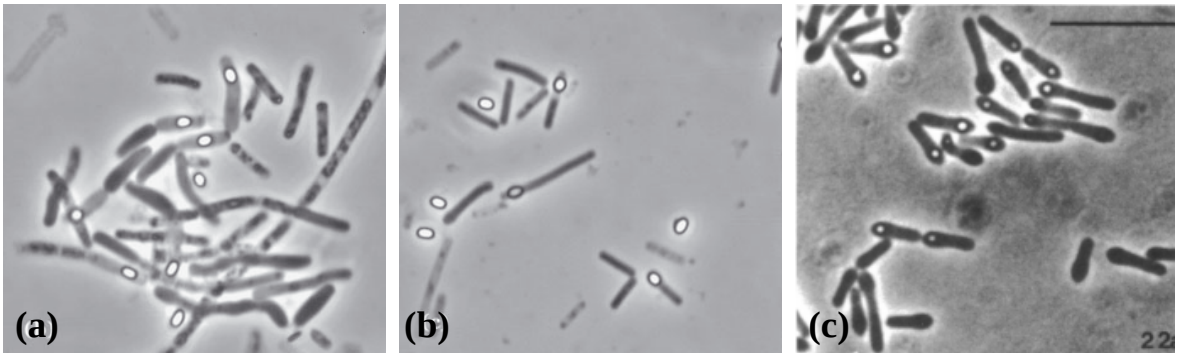


Figure 8 : Forme et position des endospores chez les différents groupes du genre Bacillus. Groupe I : *Bacillus cereus*(a) ; Groupe II : *Bacillus circulans*(b) (Logan et De Vos, 2009) ; Groupe III : *Bacillus Sphaericus*(c) (Holt et *al*., 1975) observée par microscope à contraste de phase.

Tableau II : Taxonomie du genre Bacillus (Priest et *al*., 1993).

Groupes	Espèces représentantes	Caractéristiques
Groupe I	*B. polymyxa*	Anaérobies facultatives, fermentent une variété de sucres. Besoins de croissance : vitamines et acides aminés. Sécrètent : amylases, glucanases pectinases et pullulanases.
Groupe II	*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis* et *B. amyloliquefaciens*	Endospores ovales, aérobies stricts pour la plus part des espèces. Certaines espèces sécrètent de nombreuses enzymes extracellulaires : les ß-glucanases et protéases.
Groupe III	*Brevibacillus brevis*	Taxonomiquement moins définis.
Groupe IV	*B. sphaericus*, *B. insolitus*, et *B.psychrophilus*.	Groupe phylogénétiquement homogène. Tous aérobies stricts. Méso-diaminopimélique du peptidoglycane est remplacé par de la lysine ou de ornithine.
Groupe VI	*B. stearothermophilus*	Thermophiles. Groupe physiologiquement et morphologiquement hétérogènes. Métabolisme diverses allant de la aérobies stricts à des types microaérophiles.
Groupe VII	*Alicyclobacillus (genre)*	Thermophiles acidophiles.

2. Caractéristiques bactériologiques

Les espèces du genre Bacillus sont des bacilles de taille variable (de 0,5 x 1,2 µm jusqu'à 2,5 x 10 µm), bâtonnets, rectilignes à extrémités carrées ou arrondies (Fig. 10a), à Gram positif ou à Gram variable (fréquemment, la coloration de Gram n'est positive que pour les très jeunes cultures), capables de produire des endospores (Fig. 10b) qui leurs permettent de survivre des longues périodes dans des conditions environnementales défavorables (Schleifer, 2009), parfois capsulés (*Bacillus anthracis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium* et *Bacillus subtilis* peuvent élaborer une capsule formée d'un polymère d'acide glutamique), généralement mobiles (Fig. 10c) grâce à une ciliature péritriche , aérobies ou aéro-anaérobies facultative (Guinebretiere et *al.*, 2008), le plus souvent catalase positive, donnant une réponse variable au test de l'oxydase. La gamme de température de croissance varie en fonction des souches et s'étend de 5°C à 50°C. Les espèces de ce groupe sont omniprésentes fréquemment retrouvées dans le sol, l'eau, les poussières et sur les végétaux. Certaines espèces se retrouvent dans le tube digestif des animaux où elles établissent une relation d'endosymbiose avec leur hôte (Hong et *al.*, 2005).

3. Caractéristiques physiologiques

Les Bacillus sont phénotypiquement et génétiquement hétérogènes. Ils exhibent diverses propriétés physiologiques, ils sont capables de dégrader la plupart des dérivés animaux ou végétaux (cellulose, amidon, protéines, hydrocarbures…). Ce sont des producteurs d'antibiotiques, nitrificateurs, hétérotrophes, dénitrifiants, fixateurs d'azote, précipitateurs de fer, oxydants de sélénium, oxydants et réducteurs de manganèse. Ces microorganismes sont des chimiolithotrophes facultatifs, des acidophiles, des alcalophiles, des psychrophiles et des thermophiles (Schleifer, 2009), halotolérants ou halophiles (Upadhyay et *al.*, 2009) ont constaté que la plupart des bactéries pouvaient tolérer jusqu'à 8% de NaCl et appartenir au genre Bacillus, de nombreuses espèces halophiles comme *Bacillus xiaoxiensis* (Chen et *al.*, 2010), *Bacillus chagannorensis* (Carrasco et *al.*, 2007) et *Bacillus coahuilensis* (Cerritos et *al.*, 2008), et halotolérants comme *Bacillus luteolus* (Shi et *al.*, 2011) et *Bacillus seohaeanensis* (Lee et *al.*, 2006) sont largement répartis dans différents environnements salins et hypersalins (McGenity et *al.*, 2000). Ces bactéries sont capables de croître à des valeurs de pH, de température et de concentrations de sel où peu d'autres organismes peuvent survivre. Les espèces de Bacillus sont reconnues pour produire une grande variété de molécules biologiquement actives incluant des polyketides, des lipopeptides, des sidérophores et des peptides (Hamdache et *al.*, 2013). Les Bacillus peuvent produire au

moins une enzyme extracellulaire ce qui peut inclure différentes protéases, nucléases, phosphatases et lipases (Slepecky et Hemphill, 2006).

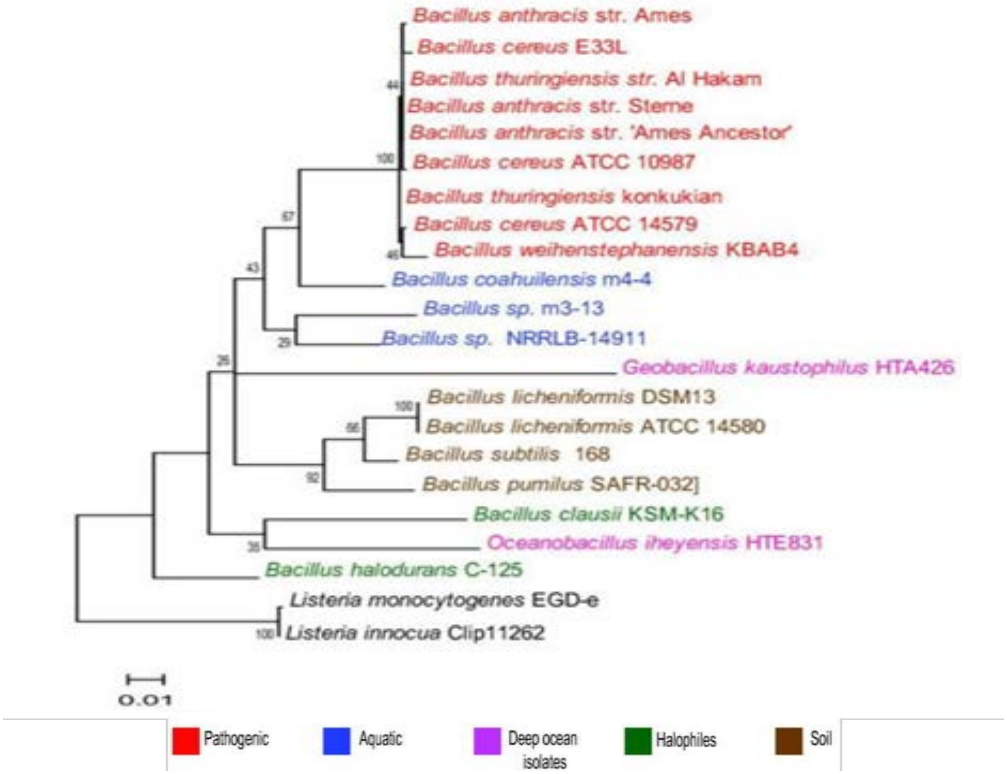


Figure 9 : Reconstruction phylogénétique des Bacillus basée sur l'ARN 16S (Maughan et Van der Auwer, 2011)

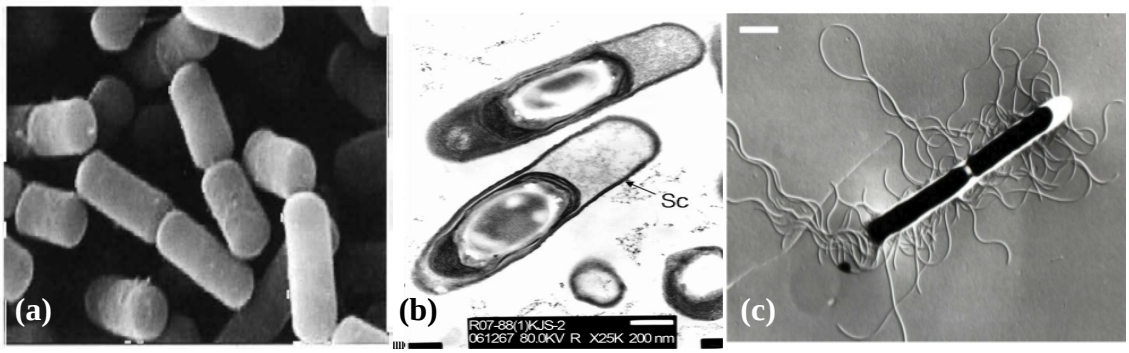


Figure 10 : Observation au microscope électronique de cellules végétatives de *Bacillus cereus*(a) (Lund et Granum, 1996), des spores de *Bacillus polyfermenticus*(b) (Kim et *al.*, 2009) et de la ciliature péritriche de *Bacillus subtilis*(c) (Luis et *al.*, 2009).

4. Caractères écologiques

Les Bacillus sont des germes de l'environnement, saprophytes et ubiquitaires ils sont largement distribués dans l'environnement (Schleifer, 2009) grâce à leurs capacités à former des spores et grâce aux capacités physiologiques et métaboliques diverses des formes végétatives qui leur permet de vivre dans une large variété d'habitats tels que les plantes, les sols, l'eau de mer, ainsi que de nombreux habitats extrêmes tels que les sables du désert et les sources chaudes, bien que quelques espèces soient pathogènes pour des mammifères (*Bacillus anthracis*) et des insectes (*Bacillus sphaericus* et *Bacillus thuringiensis*). Leur habitat principal est le sol et la rhizosphère, elles sont aussi été retrouvées dans les épiphytes ou les endophytes des plantes (Holl et Chanway, 1992). Les techniques moléculaires utilisées pour étudier la diversité ont montré que la majorité des bactéries Gram-positives de différents types de sol, sont des Bacillus (Garbeva et *al.,* 2003) qui partagent leur milieu avec des commensaux représentant principalement les genres Pseudomonas et Actinomycetes. Les espèces retrouvées en abondances dans les échantillons de sols sont *Baciluus subtilis* et *Bacillus cereus* (Pérez-Garcia et *al*., 2011).

5. Utilisations et applications

Les membres du genre Bacillus constituent de bons candidats pour diverses applications : agricoles, industriels, agroalimentaires et pharmaceutiques (Senesi et *al.,* 2004). Le genre Bacillus est le genre bactérien le plus étudié dans la recherche scientifique et le plus utilisé en agriculture, certaines espèces de Bacillus comme *Bacillus subtilis* (Qureshi et *al*., 2012) *Bacillus megaterium* (Ding et *al*., 2005 ; Anand et Chanway, 2013), *Bacillus licheniformis* (Kayasth et *al.,* 2013), *Bacillus amyloliquefaciens* (Borriss, 2015) peuvent être utilisées comme un biofertilisant efficace dans la promotion de la croissance et l'amélioration du rendement des cultures en augmentant l'offre ou la disponibilité de nutriments primaires à la plante hôte ou par la synthèse de substances améliorant la décomposition des résidus végétaux. Aussi, de nombreuses recherches montrent que le genre Bacillus possède une grande activité dans le contrôle biologique par la protection des plantes contre les maladies liées au sol soit par l'antagonisme via la production des antibiotiques (*Bacillus subtilis, Bacillus pumilus* et *Bacillus Licheniformis* (Cawoy et *al.,* 2012)) et des enzymes lytiques (Chitinases, protéases et lipases) (*Bacillus cereus* synthétise une enzyme chitinolytique qui est utilisée dans le biocontrôle contre *Rhizoctonia solani sp* (Bouznad, 2016) et *Bacillus licheniformis* (Cawoy et *al.,* 2012)). Le biocontrôle peut aussi s'interposer par l'induction de la résistance systémique (ISR) (L'espèce *Bacillus mycoides* qui induit la résistance de

betterave à sucre (Bouznad, 2016)) ou agissent comme des phytostimulateurs par la modification des niveaux hormonaux des plantes (LARADJ, 2017).

En outre, les espèces du genre Bacillus sont impliquées dans la production des métabolites primaires telle que : les ribonucléosides et les vitamines (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megateriun* (Moore et *al.*, 2014), *Bacillus amyloliquefaciens* (Byung, 2011) et *Bacillus licheniformis* (VAJARANANT et FIELDS, 1989), la production des enzymes pour les détergents, les textiles, les papiers et les aliments comme l'amylase et la protéase (Schallmey et *al*., 2004) (*Bacillus clausii*, *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus halodurans*) (Schallmey et *al*., 2004; Saeki et *al*., 2007), ainsi que la synthèse des peptides antibactériens utilisés dans le secteur alimentaire (Kivanc et *al*., 2014) à la place des additifs chimiques (Landman et Quévrain, 2016) . Ils sont aussi utilisés dans la fermentation de certains aliments (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*) (Nguimbi, et *al.*, 2012), dans la détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers (*Bacillus subtilis*) (Bagre et *al*., 2015) et certains sont susceptibles de jouer un rôle de probiotique (Vouidibio, 2016) (*Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus coagulans*) (Ripamonti et *al.*, 2009; Endres et *al.*, 2011).

De plus, les Bacillus sont aussi utilisés comme modèles dans la recherche pour mieux comprendre les processus cellulaires tels que la réplication, le cycle cellulaire, la division et la sporulation (Graumann, 2007).

Et dans le domaine pharmaceutique, ils sont utilisés en vaccinologie, dans le diagnostic de certaines pathologies (*Bacillus subtilis*) (Bouhairi, 2017) et dans la production de certains antibiotiques utilisés à des fins médicales comme la polymyxine et la subtiline, par *Bacillus subtilis* ; La gramicidine par *Bacillus brevis ;* la zwittermicine par *Bacillus cereus* ; circuline par *Bacillus circulans* ; la bacitracine par *Bacillus licheniformis* (Awais et *al*., 2010).

MATERIEL
ET
METHODES

I. Matériel

1. Matériel non biologique

Durant notre stage de fin d'étude réalisé nous avons utilisé des appareils (Annexe 1), des solutions (Annexe 2) et des milieux de culture (Annexe 3).

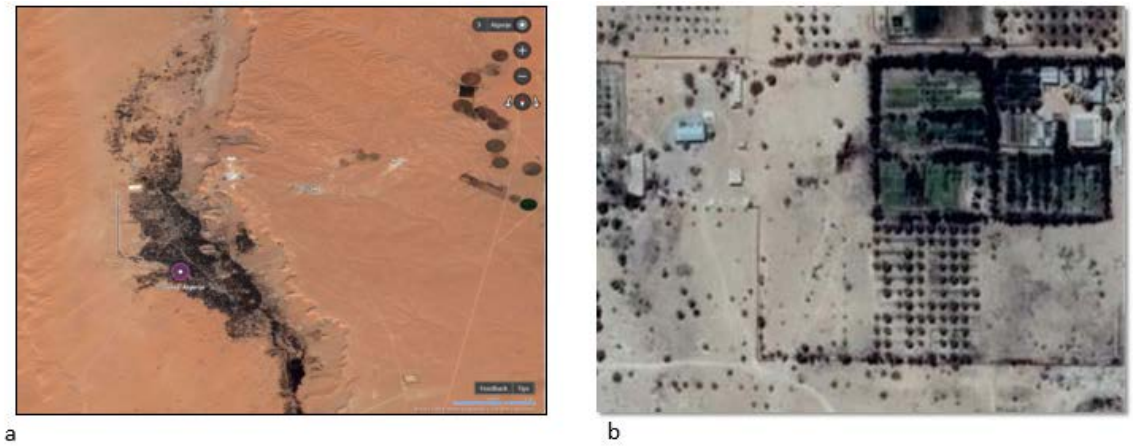
2. Matériel biologique

Pour la réalisation de notre étude nous avons utilisé le sol rhizosphérique collecté à partir des racines d'orge commune (*Hordeum vulgare* L.) à 2 rangs de la variété locale -Aaroubi- cultivée *Ex situ* sur un sol provenant de la station expérimentale de l'université des Sciences et de la technologie, Houari Boumedienne, situé au niveau de l'Oasis d'El Menia (30°37'00.8"N, 2°52'47.0"E), W. Ghardaia-Algérie.

La station de recherche d'El Menia (Fig. 11b) se situe à 10 km du centre ville d'El Menia (Fig. 11a) Ex El-Golea, elle s'étend sur une superficie de 6 hectares dont seulement 3 hectares sont exploités.

Le climat ambiant de la région est de type désertique chaud (Fig. 12) (classe BWh de la classification de Köppen). Il se caractérise par des précipitations annuelles très faibles (32,1mm/an), un air sec avec une humidité moyenne annuelle qui n'excède pas 10%, une moyenne annuelle des températures élevées (21,5°C), propice à une forte évaporation (EP = 1230,1 mm). L'activité agricole (Fig. 13) dépend exclusivement de l'exploitation pour l'irrigation de 2 nappes interdépendantes d'eau souterraine dont le renouvellement est lent et incite à une utilisation moins dispendieuse de l'eau.

La parcelle retenue pour l'étude a comme précédent cultural durant 3 mois consécutifs de l'orge. Son sol, très représentatif de l'ensemble de la surface de la station, est un sable limoneux de pH alcalin, relativement riche en calcaire et salé, très pauvre en matière organique et en azote (Tab. III). Il présente une capacité au champ de seulement 24% en accord avec sa texture et son faible contenu en matière organique.



a b

Figure 11 : Vue satellitaire montrant la localisation de la région d'El Menia (a) et la station de recherche expérimentale de l'université des sciences et de la technologie –USTHB-(b).

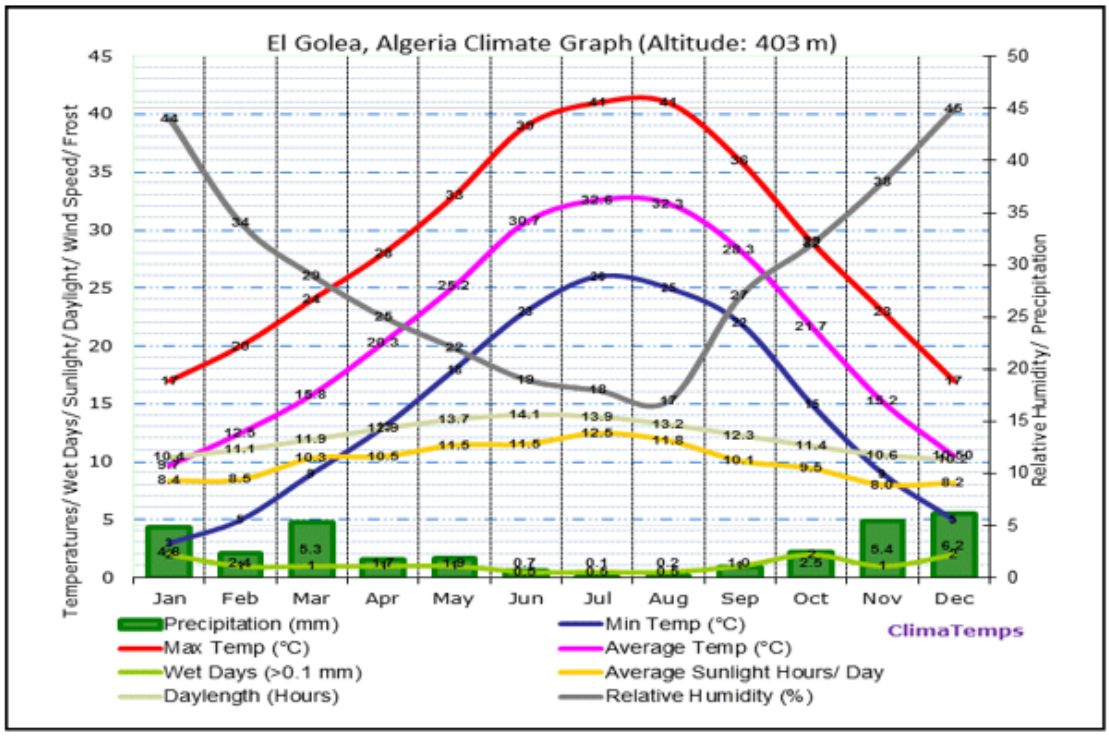


Figure 12 : Représentation graphique montrant la nature du climat (Classe BWh) de la région d'El Menia selon la classification de Köppen.

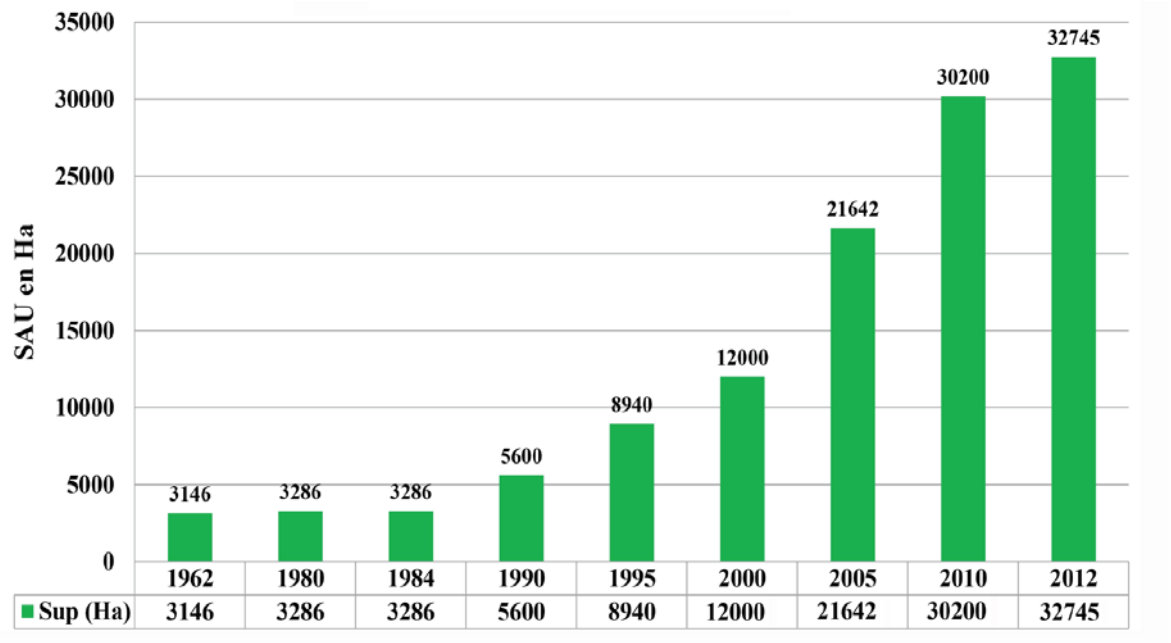


Figure 13 : Evaluation de la superficie agricole utile (SAU) de la région d'El Menia entre 1962 et 2012 (Madr, 2015).

Tableau III : Caractéristiques physiques et chimiques du sol cultivé par l'orge et collecté au niveau de l'oasis d'El Menia.

Argiles (%)	6,60	**Cl- (méq/100g)**	443,75
Limons fins (%)	9,80	**C (%)**	0,20
Limons grossiers (%)	11,40	**Matière organique (%)**	0,34
Sables fins (%)	24,80	**N (‰)**	7,00
Sables grossiers (%)	47,40	**P205 (ppm)**	137,40
CaCO3 Total (%)	6,75	**K + (Méq .100 g^{-1})**	0,32
HC03 (en méq/100g)	40,50	**Ca ++ (Méq .100 g^{-1})**	0,32
pH	8,62	**Mg ++ (Méq .100 g^{-1})**	0,03
CE saturée (mmhos/cm)	5,60	**Capacité au champ (%)**	24
		Na+ (Méq .100 g^{-1})	2 ,72

II. Méthodes

1. Mise en place du dispositif expérimental

Pour l'isolement des bactéries rhizosphériques associées aux plantules de l'orge commune, nous avons mené en place un dispositif expérimental dans les conditions de laboratoire.

1.1. Stérilisation de la surface des graines

La surface des graines a été stérilisée par une immersion dans de l'alcool 75° pendant 30s suivie d'une immersion durant 5 mn et sous agitation dans de l'hypochlorite de calcium ($CaCl_2O_2$) à 5,25% additionnée de 0,05% de Silwet L77 puis rincées avec de l'eau distillée stérile. La vérification de l'efficacité du protocole de stérilisation utilisé a été effectuée par l'inoculation des graines d'orge traitée en raison de 5 graines par boite de Petri contenant le milieu de culture TSA1/10 (Annexe. 3). Après une incubation à 25±2°C pendant 48h, une vérification de l'absence ou la présence d'une croissance bactérienne a été effectué.

Les graines à surface stérile ont été mises à germer pendant 3-4 Jours, les graines qui ont présenté la même longueur des radicules ont été choisies pour être transplantées dans les pots en raison de 10 graines par pot.

1.2. Préparation du sol

Nous avons utilisé pour notre culture deux types de sol, un sol support et un sol inoculum, le sol support est un sol non cultivé provenant de la station de recherche de la FSB-USTHB-à El Menia. Le sol non cultivé a été tamisé à 2 mm et stérilisé par autoclave pendant une heure à 120°C, trois fois de suite, entrecoupées par un séjour de 48h à 25°C. Ce traitement est destiné à éliminer la microflore endogène, en particulier les champignons et d'éventuelles bactéries.

Le sol inoculum est un sol provenant d'une parcelle cultivée par l'orge pendant 3 mois au niveau de la station de recherche d'El Menia. Il est considéré comme inoculum car il contient les microorganismes déjà sous l'influence de plantes sujette d'étude.

1.3. Conditions de culture

30 pots en plastique (500 ml de volume) ont été remplis avec un mélange du sol cultivé par l'orge et un sol non cultivé préalablement stérilisé en raison d'une ration de 1:9. Puis 10 semis ont été placés dans chaque pot.

Les pots ont été arrosés une première fois avec la solution nutritive Fareus (Annexe 2) jusqu'au avoir un 100 % de la capacité de rétention en eau du sol. Ils ont été laissés a ressuyé toute une nuit puis pesés en notant leur poids et ont été par la suite irrigués avec l'eau distillée stérile quotidiennement afin d'avoir une humidité du sol stable à 70% de la capacité de rétention en eau du sol.

Les 30 pots ont été placés dans une chambre de culture (NK-SYSTEM NC-411HH) réglée à 22°C, une humidité de 10% et un éclairement de 50.000 lux (650 $\mu molm^{-2}s^{-1}$) avec une photopériode de 16h de jour et 8h de nuit. L'ensemble de ces critères est semblable aux conditions de culture au niveau de la région d'El Menia.

1.4. Echantillonnage

Après 28 jours de culture, le temps nécessaire pour l'obtention d'un système racinaire bien développé, le contenu de chaque pot a été déposé délicatement, les plants d'orge ont été recueillis précautionneusement un à un en évitant d'endommager leur système racinaire et de perdre le sol qui adhère à leurs racines et placés dans des sacs en polyéthylène stériles.

Les racines des plantes ont été coupées et placées dans des tubes Corning contenant 25 ml d'une solution tampon phosphate (Annexe 2) additionnée de $200ul.L^{-1}$ de Silwet L77 (PBS). Après homogénéisation à l'aide d'un vortex pendant 15 sec, 1 ml de la suspension a été déposées dans des cryotubes contenant 1 ml de glycérol 80%. C'est à partir de ce stock que nous avons réalisé nos isolements du sol rhizosphérique (SR).

2. Dénombrement et isolement de la microflore bactérienne totale

50µl de la suspension 10^{-2} obtenue par une série de dilution décimale d'une solution mère du sol rhizosphérique a été ensemencé sur des boites de Petri contenant du TSA 1/10 (Annexe. 3).

Le dénombrement de la microflore bactérienne totale a été réalisé après 24-48h d'incubation à 25°C, en multipliant le nombre des colonies comptées (x) par le facteur de dilution (1/d) et par l'inverse du volume ensemencé (V), selon la loi de Kass. Le nombre total des bactéries (N) dans l'échantillon de départ est exprimé par UFC/ml.

A partir des colonies formées une série de repiquages a été effectuée suivant la méthode des stries d'épuisement jusqu'à l'obtention de cultures pures.

3. Sélection et identification du genre Bacillus

Pour la sélection du genre Bacillus uniquement, un prétraitement thermique a été réalisé, afin de sélectionner la flore sporulée et d'éliminer toutes les formes végétatives (Vinter, 1987). Les isolats ont été ensemencés dans des tubes à essai contenant un milieu liquide TSB (Bouillon Trypticase Soja) (Annexe. 3) puits incubés à 25°C sous agitation 150 rpm pendant 24h. Après l'incubation, un chauffage dans un bain marie à 80°C pendant une heure a été réalisé suivi d'un ensemencement sur un milieu TSA 1/10 et une incubation à 25°C pendant 24 à 48h.

L'appartenance des bactéries isolées par traitement thermique au genre Bacillus a été confirmée par quatre tests préliminaires qui sont suffisants selon Gordon et *al* (1973) et Claus et Berkely (1986b) :

- La réaction positive à la coloration de Gram.
- La visualisation de l'endospore par observation microscopique, grâce à sa réfringence à la lumière.
- La mobilité à l'état vital.
- La catalase positive.

4. Caractérisation phénotypique

4.1. Caractérisation morphologique

4.1.1. Etude macroscopique

Les colonies obtenues après ensemencement en stries sur milieu solide TSA1/10 après une incubation à 28 C° pendant 24h ont été observées à l'œil nu. L'étude macroscopique permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification, elle est basée sur les éléments d'identification donnés par Joffin et Leyral (2006) : la forme, la taille, l'opacité, l'élévation et l'aspect de contour et de surface.
L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température d'incubation.

4.1.2. Etude microscopique

L'observation microscopique a été réalisée à l'état frais et fixée**.**

- **Examen à l'état frai**

L'observation à l'état frais permet d'explorer la mobilité des cellules bactériennes et le mode de groupement et de faire une approche de leur morphologie (Bousseboua, 2002).

Une petite goutte d'eau physiologique stérile (Annexe. 2) a été déposée au centre d'une lame stérile, puis une partie d'une colonie bactérienne pure en phase de croissance (24 h) a été prélevée par l'anse flambée et dissociée dans la goutte, une lamelle stérile a été ensuite appliquée sur la goutte en évitant la formation des bulles d'air. L'observation microscopique a été réalisée à l'objectif X40 (Joffin et Leyral, 2005).

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est une coloration différentielle de base permet de distinguer deux grands groupes bactériens en fonction de la composition de leurs parois et de leurs affinités aux différents colorants : des bactéries à Gram positifs colorées en violette et à Gram négatifs en rose, et elle permet aussi de déterminer la forme, la taille, l'arrangement, la nature biochimique de la paroi des cellules bactériennes, la vérification de la pureté de l'isolat et permet de visualiser les endospores bactériennes, leurs formes et leurs positionnements.
La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode de Hans Christian Gram (1884).
A partir des souches jeunes et pures, un frottis fixé à la chaleur a été réalisé puis recouvert par le violet de Gentiane (Annexe. 2) pendant une minute, il a été ensuite rincé à l'eau distillée et traité pendant une minute par une solution de Lugol (Annexe. 2), et de nouveau rincé à l'eau distillée. Le frottis a été ensuite décoloré avec de l'éthanol 95% pendant 15 à 30 secondes, à ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores et les cellules Gram positives violettes, puis rincé à l'eau distillée. Ensuite, une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine (Annexe. 2) a été réalisée pour colorer les cellules Gram négative présentes. Après un bref rinçage, le frottis a été séché au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen, puis examiné sous microscope optique aux grossissements X40 et X100 après l'ajout de l'huile à immersion.

4.2. Caractérisation biochimique

Pour la caractérisation biochimique des Bacillus, plusieurs tests ont été effectués. Il s'agissait des tests de la catalase, de l'oxydase et de l'ONPG.

4.2.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme antioxydante présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs. Elle empêche l'accumulation de l'eau oxygénée (H2O2) dans la cellule bactérienne dont l'action serait létale. Elle décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène selon la réaction : $H2O2 \rightarrow H2O + ½ O2$.

Le test consiste à déposer sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée, dans laquelle un petit prélèvement d'une colonie bactérienne jeune a été dissocié à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. Un résultat positif se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O2) (Meyer et *al.*, 2004).

4.2.2. Test d'oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme (phénylène diamine oxydase) présente dans certaines chaines respiratoires cytochromiques bactériennes.

Le test consiste à mettre sur une boite de Pétri, un disque pré-imprégné d'un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) et l'imbiber avec de l'eau physiologique stérile, ensuite une colonie jeune et pure a été prélevée avec une pipette Pasteur bouclée, et déposée sur le disque. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette après quelques secondes (Joffin et Leyral, 2006).

4.2.3. Recherche de la β-galactosidase (Test d'ONPG)

Ce test est destiné à la révélation de la β -galactosidase, enzyme nécessaire au métabolisme du lactose (Lowe, 1960 ; Le minor et Ben hamida, 1962).

Pour la réalisation de ce test, un disque imprégné d'Ortho-Nitro-phényl-β-Galactoside (ONPG) a été placé dans un tube à essai contenant une suspension dense des bactéries testées en eau distillée stérile, puis incubée pendant 15 à 20 minutes et jusqu'à 24 heures si nécessaire. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur jaune qui indique l'hydrolyse de l'ONPG et donc la présence d'une β-galactosidase (Joffin et Leyral, 2006).

4.3. Caractérisation physiologique

L'identification physiologique des souches a été mise en évidence par l'étude des critères suivants : Tolérance à la température, pH, salinité et stress hydrique.

La tolérance à la température a été réalisée sur des boites de pétri alors que les autres paramètres ont été effectués dans des microplaques de titration à 96 puits. Pour la préparation de ces plaques 150 µl de milieu TSA1/10 semi solide (Annexe. 3) ont été déposés dans chacun des puits et additionné de bleu de bromothymol (Annexe. 2) qui est un indicateur de pH pour faciliter la lecture, ensuite les puits ont été ensemencés par piqure central et incubés à 25°C pendant 24h. La lecture a été effectuée par une comparaison à des puits non ensemencés, un virage de la couleur au jaune (souches acidifiantes) ou vers le vert (souches alcalinisantes) signifie la croissance des bactéries mais, dans le cas où il n'y a pas un changement de couleur, les puits ont été observés à l'œil nu pour déceler un trouble ou un développement de petites colonies indicatrices d'une croissance bactérienne qui montre la résistance de la bactérie.

4.3.1. Température

L'évaluation de l'effet de la température sur la croissance des isolats sélectionnés a été effectuée par l'incubation des souches ensemencées sur milieu TSA 1/10 (Annexe. 3) pendant 48 heures à différentes températures 4°C, 25°C, 40°C et à 60°C.

4.3.2. pH

L'influence du pH sur la croissance des bactéries a été réalisée par une série d'essais sur le milieu TSA 1/10 (Annexe. 3) ajusté par l'addition de HCl 1% et du KOH 1% pour obtenir quatre valeurs de pH 2, 7, 10 et 14.

4.3.3. La salinité

L'effet de la concentration en NaCl sur la croissance des souches a été déterminé par la culture sur milieu TSA1/10 semi solide (Annexe. 3) additionné de NaCl et KCl pour avoir différentes concentrations 100mM, 200mM, 300mM, 400mM, 500mM et 1M.

4.3.4. Stress hydrique

Pour induire les différents niveaux de stress hydrique testés, des solutions de PEG à des concentrations croissantes (PEG : 15g/L, 30g/L, 45g/L et 60g/L) ont été additionnées au milieu TSA1/10 semi solide (Annexe. 3) afin de déterminer la tolérante au déficit hydrique de nos isolats.

4.4. Caractérisation métabolique

4.4.1. Fixation d'azote atmosphérique

La recherche des souches fixatrices d'azote atmosphérique a été réalisée par ensemencement en stries des isolats d'une culture fraiche âgée de 24 h sur le milieu exempt d'azote JENSEN (Annexe. 3), les boites ensemencées ont été incubée à 28 ± 2 ° C pendant 4 jours. La capacité des bactéries à fixer l'azote se traduit par la dégradation du milieu (Thompson, 1989).

4.4.2. Solubilisation des Phosphates

La solubilisation des phosphates inorganiques a été déterminée sur le milieu NBRIP (Annexe. 3), (National Botanical Research Institut's Phosphate), contenant 0,5% du phosphate tricalcique (Ca3(PO4)2) comme seule source de phosphate insoluble (Nautiyal, 1999).

Les isolats bactériens frais et âgés de 24h, ont été ensemencées par spot sur la surface du milieu NBRIP (Annexe. 3) à raison de cinq souches par boîte de Pétri, puis incubées à 30 °C pendent 14 j. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Sagervanshi et *al*.**,** 2012). Selon le diamètre d'halo, Goldstein (2000) a démontré que la capacité de la solubilisation des phosphates est classée en 3 catégories, la première catégorie décrite comme faible (diamètre 0.5-2 mm), la deuxième comme modérée (3-10 mm) et la troisième comme forte (11-21 mm).

L'estimation de l'activité de solubilisation a été déterminée par le calcul de l'indice de solubilisation des phosphates (ISP) calculé selon la formule suivante (Sitepu et *al.,* 2007) :

$$SI = \frac{\text{Diamètre de la colonie+ diamètre de la zone claire}}{\text{Le diamètre de la colonie}}$$

4.4.3. Solubilisation des Potassiums

La capacité des souches à solubiliser les potassiums a été évaluée sur le milieu de culture Aleksandrov (Annexe. 3) donné par Shanware et *al.,* (2014), additionné de 0.1% du source de potassium insoluble (ex : mica). Les souches ont été ensemencées par spot sur la surface du milieu puis incubées à 28 ± 2 °C pendant 3-4 jours. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

L'indice de solubilisation des potassiums a été calculé selon la formule suivante (Sadiq et *al.,* 2014) :

$$SI = \frac{\text{Diamètre de la colonie+ diamètre de la zone claire}}{\text{Le diamètre de la colonie}} X100$$

4.5. Caractérisation enzymatique

Certaines enzymes produites par les bactéries du sol (cellulase, amylase, protéase etc.) jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique dans le sol en participant à sa fertilité et à la disponibilité des éléments minéraux nécessaires pour la nutrition des plantes. Les différentes activités enzymatiques des souches microbiennes sélectionnées ont été mises en évidence par l'utilisation des milieux spécifiques contenant le substrat à dégrader. (Ariffin et *al.*, 2006).

4.5.1. Amylase

Afin de mettre en évidence la capacité des souches à dégrader l'amidon, un test a été réalisé sur un milieu TSA1/10 à 1% d'amidon (Annexe. 3). Les souches ont été ensemencées par spot et incubées à 25°C pendant 5 jours. Après l'apparition des colonies, une solution de Lugol (Annexe. 2) a été éparpillée sur toute la surface du milieu et après quelques minutes de contact, l'excès a été éliminé. L'hydrolyse a été mise en évidence par l'apparition d'une zone claire autour des colonies à l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en bleu noirâtre (De Vos et *al.,* 2009).

4.5.2. Protéase

Les protéases jouent un rôle important dans la minéralisation de l'azote dans le sol, et donc contribue à la disponibilité de l'azote (Stevenson, 1986) qui est nécessaire pour la croissance des plantes. L'activité protéasique peut influencer indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'AIA et d'autres substances appariées (Mansour et *al*., 1994).

La révélation de l'activité protéasique des isolats a été déterminée par ensemencement par spot des bactéries sur un milieu de culture additionné de lait écrémé (Annexe. 3). Après 48 h d'incubation à 28°C, l'apparition d'un halo transparent autour des colonies reflète la présence d'une activité hydrolytique protéolytique (Bach et Munch, 2000).

4.5.3. Cellulase

Pour révéler l'activité cellulasique, des boites contenant un milieu de Carder (Annexe. 3) additionné de CMC (carboxy-méthyl cellulose, un dérivé de cellulose soluble, dégradable) comme seule source de carbone (Johnsen et Krause, 2014) ont été ensemencées par spot puis incubées pendant 8 jours à 30°C (Carrim et *al*., 2006). Après l'incubation, une solution aqueuse de rouge Congo (1%) (Annexe. 2) a été ajoutée à la surface des colonies. Après 20 minutes, la surface est inondée avec 1M de NaCl puis conservée une nuit à 5°C. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair entourant les colonies bactériennes.

4.5.4. Uréase

L'uréase est une enzyme responsable de l'hydrolyse de l'urée pour produire le CO2 et l'ammoniac (NH3), ce qui augmente la disponibilité de l'azote pour les plantes (Byrnes et Amberger, 1988). Elle est utilisée comme indicateur de la qualité du sol, car sa concentration est en fonction du taux de la matière organique (Martinez-Salgado et *al*., 2010).

L'activité uréasique a été déterminée par ensemencement par spot des souches sur un milieu préparé à base de la peptone (Annexe. 3). Après 48h d'incubation à 37°C, la production de l'uréase par les isolats a été décelée par l'apparition d'un halo rose autour des colonies (Christensen, 1946).

4.5.5. Lipase

Le milieu décrit par Sierra (1957) (Annexe. 3) a été utilisé pour détecter la production des enzymes lipolytiques dans lequel le tween 80 a été ajouté comme substrat lipidique. Après ensemencement des souches par spot, les boites ont été incubées à 25C° pendant 48h. La présence d'une activité se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Carrim et *al*, 2006).

4.5.6. Gélatinase

Le test a été effectué pour déterminer la capacité des micro-organismes à produire l'enzyme gélatinase (Aneja, 2003). Les cultures en croissance active (âgées de 18 à 24 h) ont été inoculées par piqure centrale dans des tubes contenant un milieu à base de gélatine (Annexe. 3) puis incubées à 25°C pendant 15 jours. Après incubation les tubes ont été placés dans un bain de glace ou un réfrigérateur (4 ° C) pendant 15-30 minutes, les cultures qui produisent de la gélatinase restent liquéfiées même après passage au froid tandis que d'autres en raison de la présence de gélatine deviennent solides.

RESULTATS
ET
DISCUSSION

1. Densité de la flore bactérienne rhizosphérique totale

Le dénombrement de la microflore totale des bactéries cultivable de la rhizosphère de l'orge a été effectué après une incubation de 48h à 25°C de nos boites (Fig. 14). Nous avons dénombré 484 colonies, que soit l'équivalent de 986.10^3 UFC.mL^{-1} (5.98 LogUFC.ml^{-1}).

La densité bactérienne trouvée dans notre sol rhizosphérique est jugée comme étant faible par comparaison au nombre des communautés bactériennes cultivables dans 1 g de sol rhizosphérique qui peut arriver à 10^9 bactéries (Hoorman et Islam, 2010). Cette comparaison reste injuste car il faut prendre un ensemble des facteurs qui peuvent influencer la densité bactérienne d'un sol rhizosphérique tels que, le genre de la plante, la nature des rhizodépôts (Badri et *al.*, 2013), la nature du sol, le climat de la région (Karimi et *al.*, 2018) et la communauté microbienne du sol (Finnegan, 2005).

La densité bactérienne rhizosphérique de nos plantules d'orge est dans les normes. Une étude réalisée par Hardoim et *al* (2012) a trouvé que le nombre des bactéries isolées à partir d'un sol provenant d'une zone aride est toujours faible en raison de la pauvreté en matière organique au niveau de ces zones.
Cette densité relativement faible peut avoir aussi une explication technique. La durée d'incubation préconisée pour nos boites (24-48 h) ne permet que la détection des colonies à croissance rapide (Dar, 2009) et par conséquent la négligence des bactéries à croissance lente.

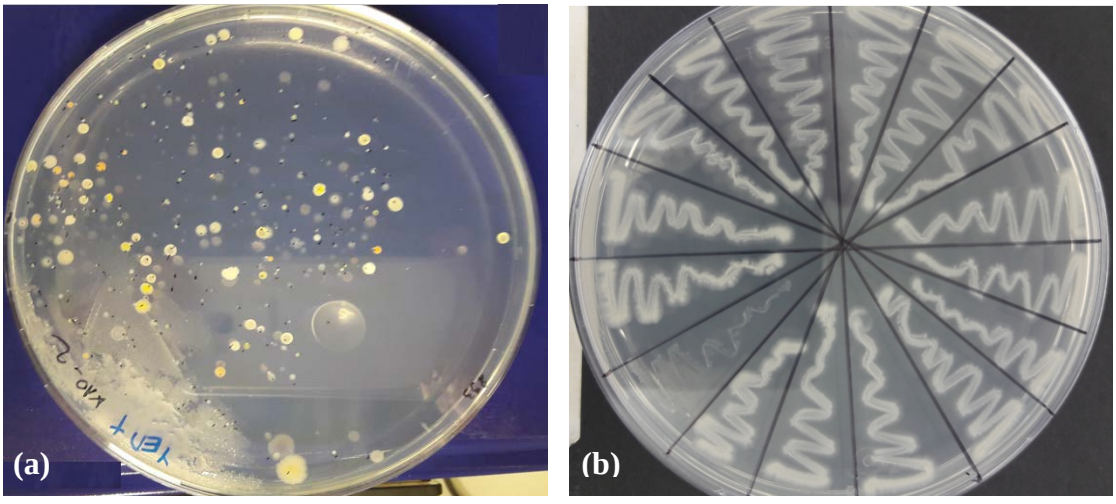


Figure 14 : Morphologie générale des colonies obtenues après isolement (a) et après purification (b) sur TSA 1/10.

2. Isolement des bactéries du genre Bacillus

La sélection des bactéries appartenant au genre Bacillus à partir de notre souchier a été réalisée en se basant sur trois critères caractérisant ce genre, il s'agit de la réaction positive lors de la coloration de Gram, la forme bacilles avec la présence des endospores et la croissance des colonies après un choc thermique.

L'ensemble des colonies obtenues ont été soumises à une coloration de Gram, seulement 28 colonies ont présenté une coloration violette (Fig. 15) et par conséquent ont été considérées comme des bactéries Gram positive (Cappuccino et Welsh, 2017).

24 isolats sur les 28 colonies Gram positive ont montré une forme bacillaire (Fig. 15a). Les 4 restants ont révélé une forme coccobacillaire (Fig. 15b).

La majorité des isolats sous une observation microscopique ont montré un mode de regroupement isolé (Fig. 16a), mais certaines ont présenté un mode de regroupement diplobacilles (Fig. 16b) et / ou regroupés en courte chaine (Fig. 16c).

L'observation microscopique des cellules bactériennes a montré que 21 des isolats possèdent des endospores non déformantes en position centrale (Fig. 17a), subterminale (Fig. 17b) ou terminale (Fig. 17c) dans le corps bactérien (Fig. 18).

L'ensemble de nos résultats et observations sont similaires avec celles décrites dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et avec les travaux de Wafula et *al* (2014); Demirkan et *al* (2014) et Mebarki et Benakli (2018) qui ont montré que les souches du genre Bacillus ont une forme de bacille, Gram positif et forment des spores non déformantes.

La prolifération sur milieu TSA 1/10 des isolats Gram+ après un traitement thermique de 80°C pendant 60 min nous a permis de dire que l'ensemble de ces isolats sont considérés comme étant des thermorésistants. D'après Cazemier et *al* (2001), la résistance aux fortes températures serait due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique. Les deux derniers facteurs induisant une augmentation de la déshydratation, c'est celle-ci qui serait à l'origine de la thermorésistance des spores (Sugiyama, 1951). La sporulation est une caractéristique principale des bactéries appartenant au genre Bacillus (Vinter, 1987)

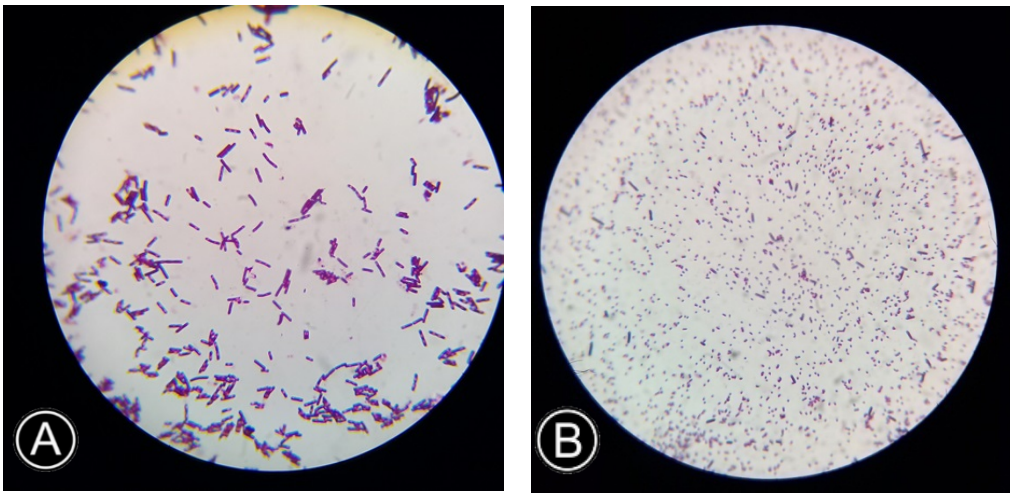


Figure 15 : Observation microscopique à un grossissement x 100 après la coloration de Gram de nos isolats.

A : Forme bacillaire, B : Forme coccobacillaire.

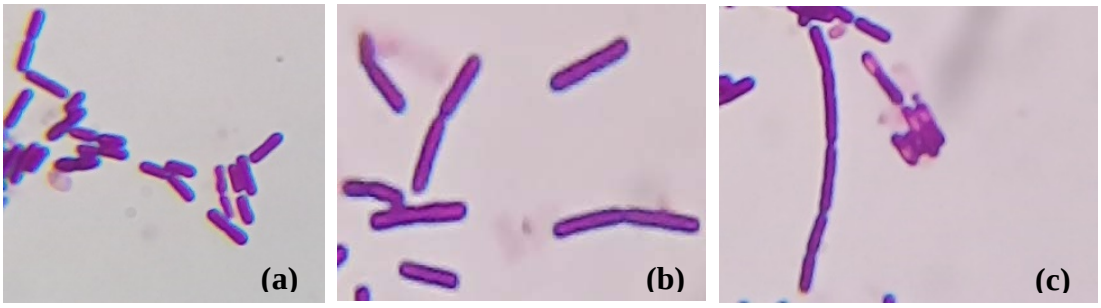


Figure 16 : Observation microscopique à un grossissement x100 de différents modes de regroupement.

(a) : Isolées, (b) : Diplobacilles, (c) : Courte chaine

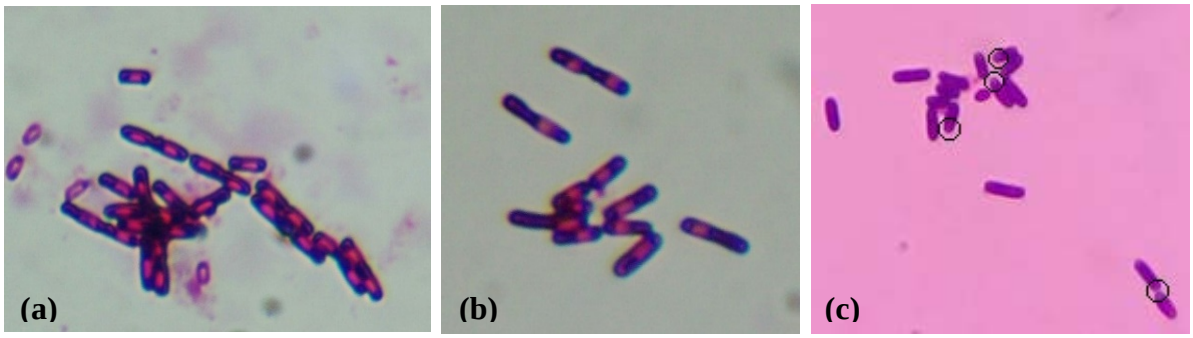


Figure 17 : Observation microscopique de la position des endospores après la coloration de Gram Gx100 à immersion.

(a) : Endospore en position centrale, (b) : Endospore en position subterminale, (c) : Endospore en position terminale.

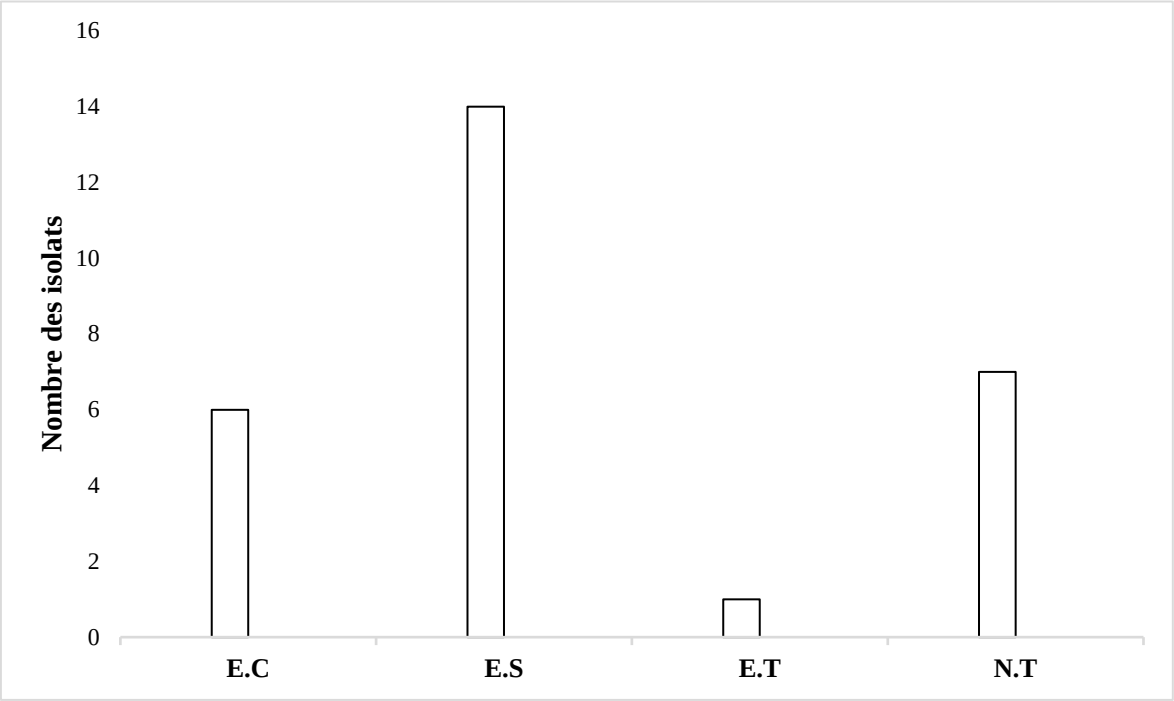


Figure 18 : Classification des isolats selon la position des endospores.

E.C. Endospore Centrale- E.S. Endospore Subterminale- E.T. Endospore Terminale- N.T. Non trouvé.

3. Etude phénotypique

La caractérisation phénotypique traditionnelle est toujours admise comme étape primordiale pour l'identification et la séparation des bactéries nouvellement isolées. Ainsi, ces approches d'ordre fondamental et pratique permettent la détermination d'une inoculation efficace et bénéfique pour les plantes hôtes. Plusieurs critères phénotypiques ont été retenus pour cette étude afin de mieux caractériser les isolats appartenant au genre Bacillus.

3.1. Caractérisation morphologique

3.1.1. Caractérisation macroscopique

Les isolats forment sur le milieu TSA1/10 des colonies visibles à l'œil nu après 18-24h d'incubation à 28°C, leur taux de croissance est donc peu variable et considéré comme rapide (Shafi et *al*., 2017).

L'observation des caractères culturaux des colonies bactériennes obtenues (Tab. IV) a été déterminée selon les critères de base (la taille, la forme, l'opacité, la couleur, l'aspect et consistance) décrits par Joffin et Leyral (2006).

L'allure de nos colonies bactériennes va du régulier à l'irrégulier et à élévation convexe, de couleur beige ou blanchâtre et ne montrent pas de pigmentation ou de fluorescence naturelle. Certaines colonies sont crémeuses alors que d'autres sont visqueuses, elles présentent un aspect lisse ou rugueux et une opacité variée entre opaque, transparente et translucide (Fig. 19) et qui peut avoir une relation avec l'excrétion de polysaccharides (exopolysaccharides ou EPS) (Bertin et *al*., 2013).

La taille des colonies formées par nos souches sur le milieu TSA après 18-24h d'incubation à 28°C est considérée comme petite (1-2mm), un seul isolat (D11) a montré une taille moyenne de 3-4 mm (Tab. IV).

L'ensemble de ses critères nous a permis de distinguer 14 morphotypes différents (Fig. 20).

3.1.2. Caractérisation microscopique

Les observations microscopiques réalisées sur des cellules vivantes non colorées à un grossissement de X40 ont montré que nos isolats sont mobiles. L'observation sous microscope du mouvement des cellules suggère que certaines souches déplacent en empruntant une direction précise et présenteraient donc une flagellation unique ou multiple à insertion polaire. D'autres au contraire se déplacent de manière erratique. Ces résultats sont conformes avec celle décrit dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et dans la Santé publique Angleterre pour l'identification des espèces de Bacillus (2018) et avec les travaux de Prescott (2002) et de Foysal et Lisa (2018).

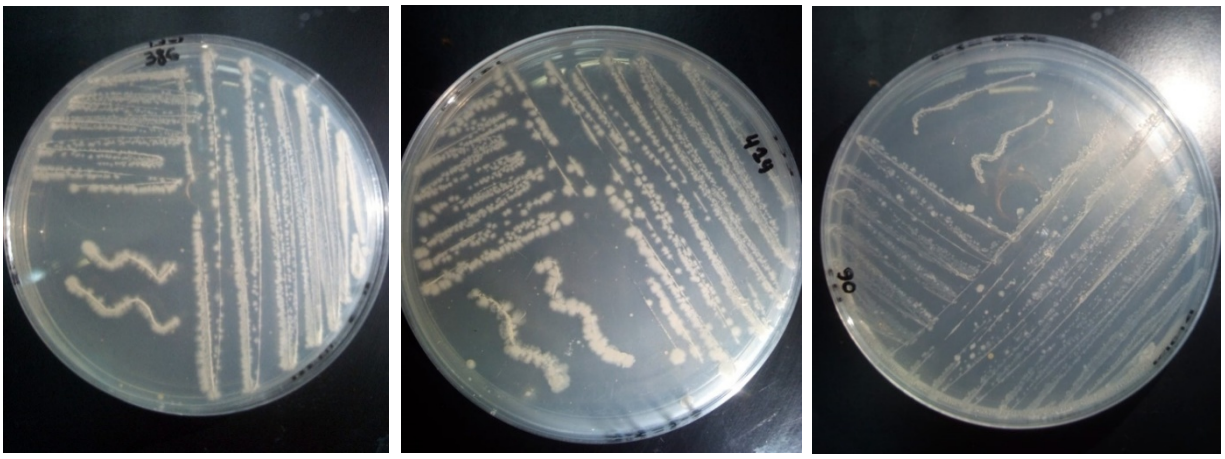
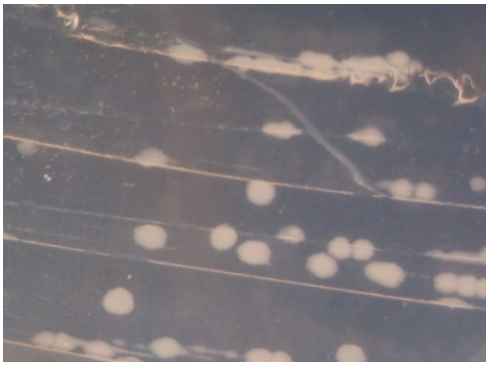


Figure 19 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur gélose TSA 1/10 après 24h d'incubation à 28ºC.



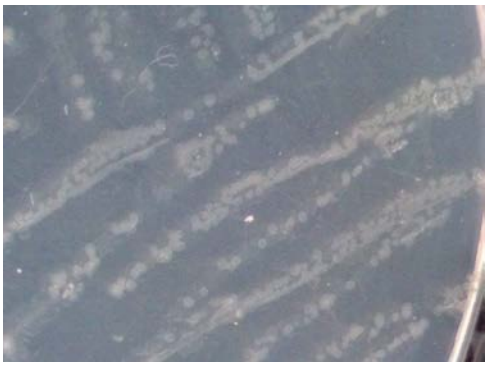
M1 : N6



M2 : N1



M4 : D17



M6 : N24



M9 : DH17



M10 : D1

Figure 20 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur gélose TSA 1/10 après 24h d'incubation à 28ºC (M : Morphotype , les souches : N6, N1, D17, N24, DH17, D1).

Tableau IV : Aspects macroscopiques des isolats sur gélose TSA1/10 après 24 h d'incubation à 28 °C.

Morphotypes	Isolats	Forme	Taille	Couleur	Opacité	Consistance	Aspect
M1	N6	Ronde	Grande	Blanchâtre	Opaque et translucide	Crémeuse	Lisse
M2	N1,D6, NH5,DH8	Ronde	Petite	Beige	Opaque ou translucide	Visqueuse	Lisse
M3	N16,D5,DH5, DH7	Ronde	Petite	Beige	Opaque ou transparente	Crémeuse	Lisse
M4	D17,NH2,NH3	Ronde	Petite	Beige	Opaque ou translucide	Crémeuse	Lisse ou Rugueuse
M5	DH45	Ronde	Moyenne	Beige	Opaque	Crémeuse	Lisse
M6	N24,NH1,NH4	Ronde	Petite	Beige	Opaque ou transparente	Crémeuse/ visqueuse	Rugueuse
M7	NH43, NH79	Ronde	Fine	Beige	Translucide	Crémeuse	Lisse
M8	NH51	Ronde	Petite	Beige	Opaque	Crémeuse	Rugueuse
M9	DH17	Ronde	Moyenne	Blanchâtre	Opaque	Crémeuse	Lisse
M10	D1	Ronde	Moyenne	Beige	Translucide	Crémeuse	Lisse
M11	D19, D11,D20, D4	Ronde	Moyenne	Beige	Opaque ou transparente	Visqueuse	Rugueuse
M12	D7	Ronde	Fine	Beige	Translucide	Crémeuse	Lisse
M13	D8	Irrégulière	Moyenne	Beige	Translucide	Crémeuse	Lisse
M14	D30	Ronde	Petite	Beige	Opaque	Crémeuse	Lisse

3.2. Caractérisation biochimique

3.2.1. Catalase

Les résultats obtenus du test catalase ont montré que la totalité de nos souches sont révélées positive donc la totalité de nos souches se sont des aéro-anérobies facultatives. Un résultat positif pour le test catalase se traduit par un dégagement gazeux. Le dégagement gazeux est expliqué par la présence de la catalase, l'enzyme responsable de la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Fig. 21a).

Cette capacité participe à la confirmation de l'affiliation a priori de ces isolats aux bactéries du genre Bacillus. Des résultats similaires ont été obtenus par Demirkan et *al* (2014) ; Avşar et *al* (2017), Verma et *al* (2018) et Bouras (2018) sur des rhizobactéries appartenant au genre Bacillus qui sont des catalase positive. De plus, plusieurs bactéries de différents genres et qui ont été isolées à partir du sol ou d'un sol rhizosphérique des régions arides à semi arides ont montré une catalase positive. En effet, l'enzyme catalase est considérée comme un moyen de survie dans les sols salins (Kim et *al.,* 2005) (Neelam, 2013) et aussi comme un moyen de protection des cellules contre le stress oxydatif (Ravarapu et Padmavathi, 2016), deux types de stress très fréquents dans la région d'El Goléa, issus de la jonction d'un côté de la salinité à la fois du sol et de l'eau d'irrigation (BAIZE, 2000) et d'un autre côté du manque d'eau disponible au niveau du système racinaire des plantes. Aussi, les températures élevées de ces régions conduisant à des fortes taux d'évaporation, la nature sableuse et perméable du sol (Chinnusamy et *al*., 2004), permet des pertes énormes d'eau par percolation (Nassah et *al*., 2018).

3.2.2. Oxydase

Le test oxydase permet de mettre en évidence la capacité d'une bactérie à produire le cytochrome oxydase, qui est une enzyme intervenant à la fin de la chaine respiratoire pour catalyser la fixation de l'hydrogène et des électrons sur l'oxygène (Joffin et Leyral, 2006).

Les résultats obtenus ont montré que la majorité de nos isolats, soit 27 isolats ont révélé une réponse positive traduite par l'apparition d'une couleur violette foncée sur le disque d'oxydase. Seul l'isolat D8 qui a montré l'absence du virage de la couleur du disque (Figure. 21b).

Le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology indique que les Bacillus sont soit oxydase positive ou négative. Cette constatation a été prouvée par les travaux d'Ait Belkacem et

Belgrade (2017) et Abe et *al* (2018) qui ont rapporté que certaines souches du genre Bacillus ont enregistré une oxydase positive, tandis que d'autres étaient négatives. Ceci nous laisse dire que l'isolat D8 peut être une Bacillus malgré sa réaction négative au test oxydase.

Les travaux d'Oren (2002) ont montré que la majorité des bactéries aérobies membres de la famille des Bacillaceae généralement montrent la présence d'une cytochrome oxydase. Aussi une analyse de cytochrome oxydase réalisée par Liu et Jurtshuk (1986) sur 342 souches appartenant au genre Bacillus indique que la majorité des souches sont oxydase positive. Ces travaux confirment nos résultats et nous laisse dire que nos 27 isolats sont des bactéries aérobies.

3.2.3. Recherche de la β-galactosidase

L'orthonitrophényl-β-d-galactoside est un analogue incolore du lactose, peut servir de substrat pour l'induction de la synthèse de la β galactosidase par les bactéries. En tant qu'inducteur, il est hydrolysé en β-D-galactose (incolore) et un ion nitrophénolate jaune (Cappuccino et Welsh, 2017).

Les résultats obtenus ont montré que sur nos 28 isolats, seulement 7 ont montré un changement de couleur de milieu vers le jaune (Figure. 21c), il s'agit de : N24, N16, D8, NH2, NH3, NH43, NH1. Ces isolats sont considérés comme capables d'hydrolyser l'ONPG donc possédant l'enzyme β-galactosidase. Il a été observé aussi que les souches N16, NH3 manifestent une coloration jaune plus foncée que les autres.

Nos résultats sont similaires avec les travaux d'Ait Belkacem et Belgrade (2017) qui ont rapporté que la majorité des souches du genre Bacillus isolées à partir de la rhizosphère de trois plantes cultivées (nèfle, orge et pomme de terre), dans la région de Boumerdes (Alliliguia) sont des ONPG négatifs. Aussi, les travaux de Bouras (2018) ont montré que la réaction des bactéries du genre Bacillus varie selon l'espèce.

La différence dans l'intensité de la couleur jaune chez les souches révélées ONPG (+) est bien illustrée par l'étude de Logan et Berkeley (1984) qui montrent les différents pourcentages de résultats positifs de test ONPG réalisé sur nombreuses espèces de genre Bacillus, donc selon cette étude on peut classer les deux souches N16, NH3 comme fort hydrolysent par rapport aux autres souches ONPG +.

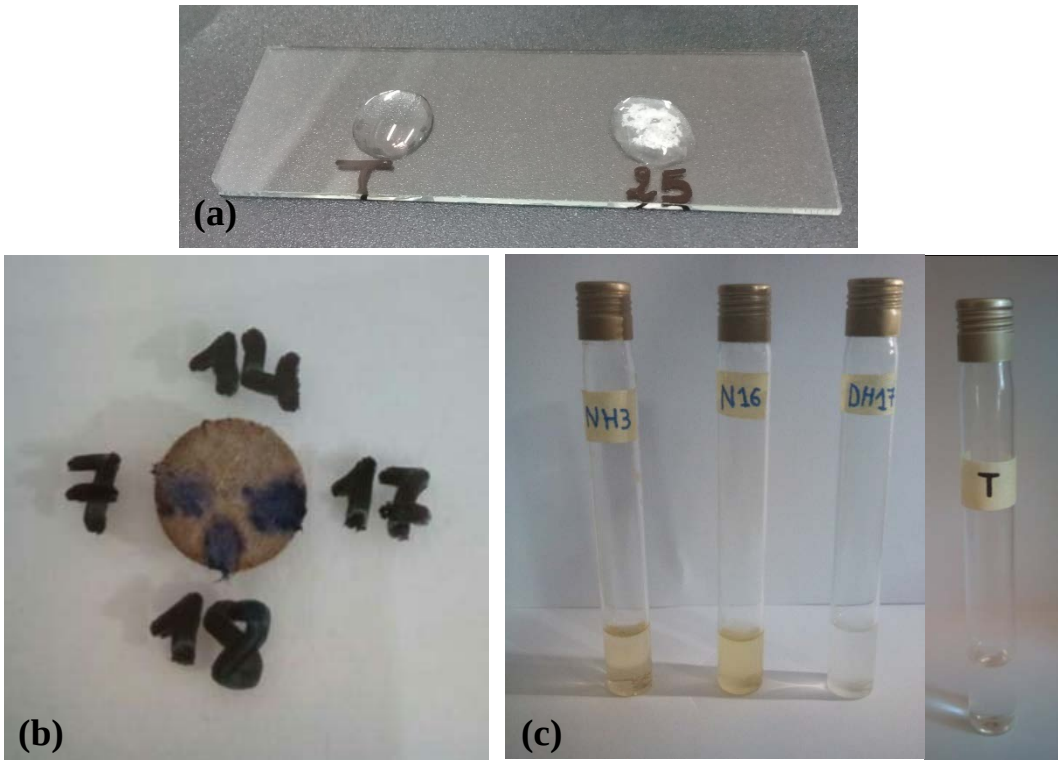


Figure 21 : Résultats des tests biochimiques (a) : Test catalase ; (b) Test oxydase (Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur violette sur le disque. 7 : Isolat D17.17 : Isolat NH3. 18 : Isolat NH43); (c): Test ONPG.

3.3. Caractérisation métabolique

3.3.1. Fixation d'azote

L'azote est considéré comme un élément nutritif clé dans la production de cultures agricoles et l'un des principaux constituants des protéines, des acides nucléiques et des autres composants cellulaires essentiels (Martinez-Vivero et *al*., 2010). La fixation d'azote moléculaire est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel la plante bénéficie de l'association microbienne, et elle constitue une source majeure de l'azote pour les plantes dans le cadre d'une pratique agricole respectueuse de l'environnement (Cakmakci et *al*., 2006).

La mise en évidence de la fixation de l'azote atmosphérique chez nos isolats a été démontrée par la capacité de ces isolats à se développer sur un milieu dépourvu d'une source d'azote assimilable (Fig. 22). Nos résultats ont montré que sur les 28 souches de Bacillus, 5 seulement soit un pourcentage de 18% ont été capables de fixer l'azote atmosphérique. Il

s’agit de N6, N24, NH79, DH17, DH5**.** Étant donné que la capacité de fixer l’azote n'est pas un trait caractéristique des Bacillus (Addison et *al*., 2010), il est normal que très peu de nos isolats démontrent la capacité de fixer l'azote. En effet, des recherches réalisées par Wahab (1975) et Satapute et *al* (2012) ont trouvé que parmi les 25 isolats obtenus, seuls 5 isolats (20%) sont capables de fixer l’azote sur un milieu dépourvu de l’azote. La capacité à fixer l’azote peut être mesurée par l’activité nitrogénase existante chez des Bacillus et des Peanibacillus (Guemouri-Athmani et *al*., 2000)

Parmi les cinq isolats fixateurs d’azote, 3 isolats (N6, N24, DH5) ont une forte capacité fixatrice d’azote (Fig. 22 a, b). La forte ou faible capacité a été mise en évidence par la taille de l’halo développé autour de la colonie (Karagoz et *al*., 2018).

Les bactéries possédant la nitrogénase et par conséquent capables de fixer l’azote atmosphérique sont dites diazotrophiques (Franche et *al*., 2009 ; Santi et *al*., 2013). Elles interviennent dans la nutrition azotée des plantes par l’assurance de la disponibilité de l’azote assimilable en échange avec le carbone libéré sous forme d'exsudats racinaires, cela constitue un avantage majeur pour les plantes. De nombreux travaux (Ding et *al.*, 2005) ont rapporté sur l'application de diazotrophes libres, telles que les Bacillus dans l’augmentation des rendements accrus de diverses cultures et l’absorption élevée des éléments tels que le phosphore et l'azote dans les plantes inoculées (Araujo, 2008).

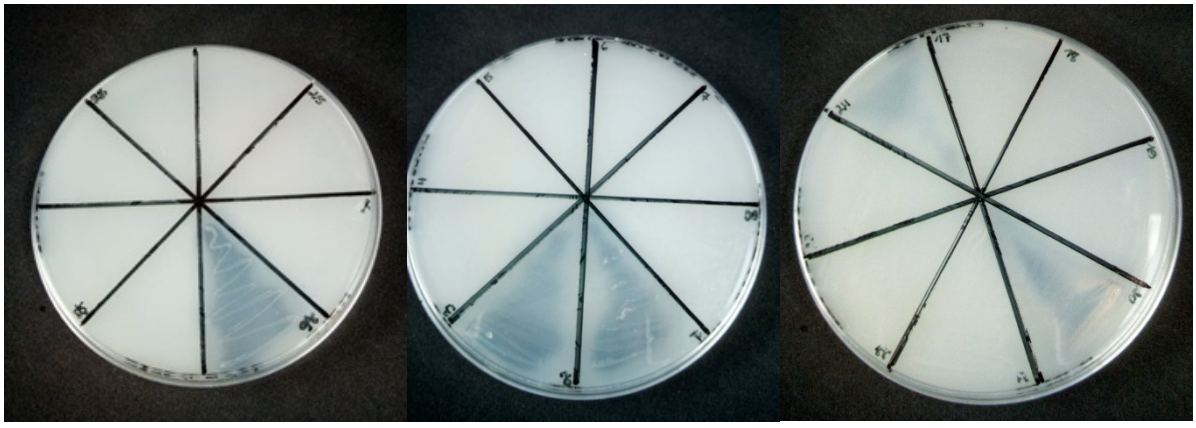


Figure 22 : La capacité de nos isolats à fixer l’azote atmosphérique.

(a) et (b) : Isolats avec forte capacité de fixation d’azote. (c) : Isolats avec faible capacité de fixation d’azote.

3.3.2. Solubilisation des phosphates

Le phosphore, avec l'azote et le potassium sont des trois éléments nutritifs majeurs pour la croissance des végétaux. Il est impliqué dans les premiers stades de développement de la plante, il joue un rôle primordial dans la croissance racinaire, dans la rigidité des tissus, ou encore dans la formation des inflorescences et des fruits. Il est aussi essentiel dans la synthèse de la matière vivante végétale qui permet aux plantes de se nourrir.

Malgré sa teneur relativement importante dans le sol, tout le phosphore n'est pas présent sous une forme assimilable pour les plantes. En effet, les plantes sont uniquement capables d'assimiler le phosphore sous ses formes $H_2PO_4^{1-}$ et HPO_4^{2-} (Nautiyal, 1999). La présence du phosphate en faible concentration limite considérablement la croissance des racines, le processus de photosynthèse, la translocation des sucres et la fixation de l'azote par les légumineuses (Olivera et *al*., 2004). Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes (Richardson, 2001).

L'étude qualitative de la solubilisation des phosphates inorganiques ($Ca_3(PO_4)$) par nos isolats a été effectuée sur le milieu de culture gélosé NBRIP et a été mise en évidence par la présence d'un halo autour de la colonie.

Nos observations ont montré que 20 isolats soit 71.4 % ont eu la capacité de développer un halo de transparence autour de la colonie sur la surface de la gélose après 7 jours d'incubation à une température de 25°C (Fig. 23). Des résultats similaires ont été trouvés par Rodriguez et Fraga (1999) et Bhattacharyya et Jha (2012) qui ont rapporté que les espèces du genre Bacillus solubilisent des phosphates et augmentent la disponibilité du phosphore dans le sol. La quantité des phosphates solubilisés dépend de plusieurs facteurs environnementaux tels que le pH et le type de sol (Bouali, 2017).

L'estimation de la quantité de solubilisation des phosphates de chaque isolat a été effectuée à l'aide du diamètre de l'halo (Tab. V). La variation du diamètre de l'halo exprime une variabilité dans le pouvoir de solubilisation du phosphate d'une souche à une autre. Goldstein (2000) a démontré que la capacité de la solubilisation des phosphates est classée en 3 catégories, la première catégorie décrite comme faible (diamètre 0.5-2 mm), la deuxième comme modérée (3-10 mm) et la troisième comme forte (11-21 mm). Un seul isolat (NH43) parmi nos souches solubilisatrices de phosphates a présenté une forte solubilisation, 50% se

sont révélées moyennement solubilisatrices et 17.85% ayant une faible capacité de solubilisation des phosphates (Fig. 24).

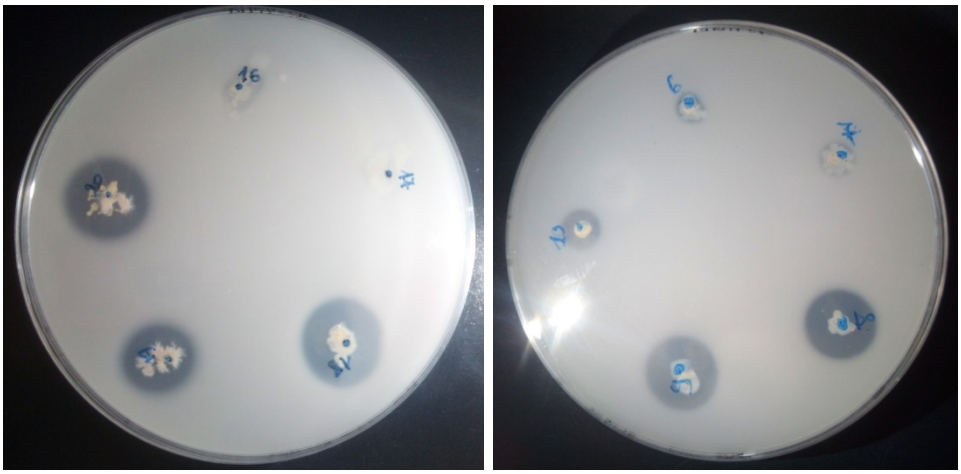


Figure 23 : La capacité de nos isolats à solubiliser les phosphates. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo de solubilisation autour de la colonie.

18 : NH43 Isolat avec forte capacité de solubilisation. 8 : D19 Isolat avec capacité modérée de solubilisation. 6 : D11 Isolat avec faible capacité de solubilisation des phosphates.

Tableau V : Résultats de l'estimation quantitative de la capacité de solubilisation des phosphates des 28 isolats.

Isolats	**Diamètre du l'halo (mm)**		**Indice de solubilisation**		**Catégories de solubilisation des phosphates**
	Après 7 j	**Après 14 j**	**Après 7 j**	**Après 14 j**	
N6	1	1	1.25	1.25	Faible
N24	8	8	3	3	Modérée
N1	0	2	1	1.4	Négative
N16	0	0	1	1	Négative
D1	5	5	2	2	Modérée
D11	1	1	1.2	1.2	Faible
D17	0	0	1	1	Négative
D19	9	11	3.25	3.75	Modérée
D20	10	14	3.5	2.27	Modérée
D4	5	5	2.67	2.25	Modérée
D5	0	0	1	1	Négative

D6	0	0	1	1	Négative
D7	2	2	1.3	1.3	Faible
D8	0	0	1	1	Négative
D30	2	2	1.67	1.67	Faible
NH2	0	0	1	1	Négative
NH3	0	0	1	1	Négative
NH43	12	12	3.4	3.4	Forte
NH51	8	8	2.6	2.6	Modérée
NH79	8	8	2.14	2.14	Modérée
NH1	4	4	2	2	Modérée
NH4	2	4	1.3	1.67	Faible
NH5	4	4	1.8	1.8	Modérée
DH17	8	8	2.3	2.3	Modérée
DH45	8	8	1.8	1.8	Modérée
DH5	8	8	1.8	1.8	Modérée
DH7	9	9	2.28	2.28	Modérée
DH8	8	8	2.3	2.3	Modérée

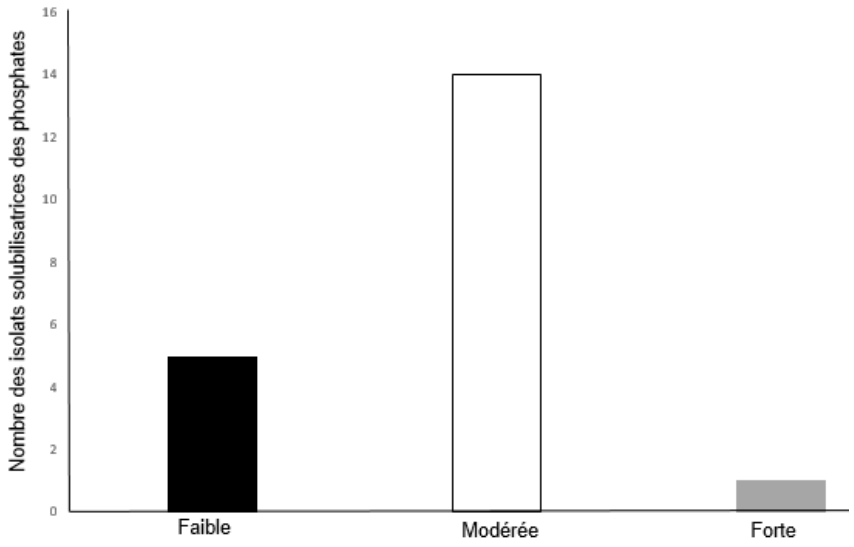


Figure 24 : Nombre des isolats ayant la capacité de solubilisation des phosphates par catégorie.

3.3.3. Solubilisation des potassiums

Le potassium (K) fait partie des trois éléments majeurs nécessaires à la croissance des plantes avec l'azote et le phosphore (Ghitri, 2018). Le potassium soluble assimilable pour les végétaux existe en très faibles concentrations dans le sol et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013). Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles (Kumar et Dubey, 2012). Certains micro-organismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle K naturel et les rendent disponibles pour l'absorption par les plantes (Rogers et *al.*, 1998).

Nos résultats ont montré que tous nos isolats sont incapables de solubiliser le potassium sur le milieu de culture Aleksandrov (Fig. 25). Ce résultat est exprimé par les travaux de Parmar et Sindhu (2013) ; Dong et *al* (2019) qui montrent qu'un très peu nombre des bactéries rhizosphériques peuvent solubiliser les potassiums, où à partir de 137 souches de rhizobactéries testées dans la première étude, seulement 27,7% des souches ont montré une solubilisation du K sur le milieu Aleksandrov et 5,46% sur 531 isolats sont considérés comme KSB pour la deuxième étude. De plus Dong et *al* (2019) trouvent que les KSBs les plus abondantes dans la rhizosphère font partie de la famille des protéobactéries alors que le genre Bacillus est le genre le plus abondant que les autres, mais les KSBs d'Enterobacter ont montré une plus grande capacité de solubilisation des potassiums par rapport aux Bacillus.

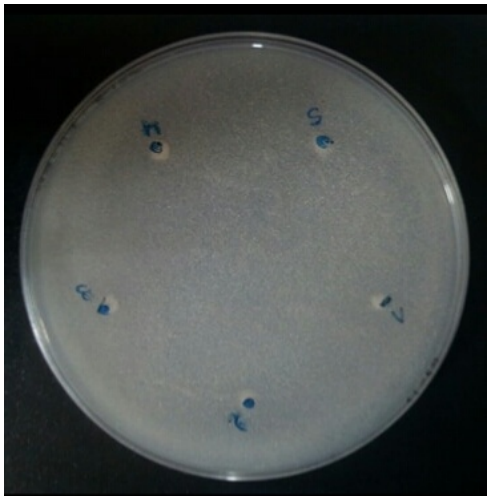


Figure 25 : La solubilisation des potassiums par nos isolats sur milieu Aleksandrov après 14J d'incubation.

Un résultat négatif se traduit par l'absence d'un halo de solubilisation autour de la colonie.

3.4. Caractérisation enzymatique

3.4.1. Uréase

L'uréase est une enzyme extracellulaire qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et carbamate. La libération du carbonate d'ammonium alcalinise le milieu d'où le virage de l'indicateur coloré de l'orange en rose (Harley et Prescott, 2002). Cette enzyme permet aux organismes d'utiliser l'urée comme source d'azote pour leur croissance, suite à l'hydrolyse de l'urée en CO2 et ammoniac (NH3) (Andrews et *al.*, 1984 ; Mobley et Hausinger, 1989). Nos résultats ont montré que 50% de nos isolats (N24, D1, D11, D17, D19, D20, D4, D8, NH2, NH3, NH1, NH4, DH17 et DH45) ont une activité uréase positive (Fig. 26). La comparaison du diamètre d'halo de dégradation a révélé que l'isolat N24 a la meilleure activité avec un diamètre d'halo de lyse de 23 mm. Par contre la plus faible activité a été détectée chez l'isolat D8 avec un diamètre de 5 mm (Fig. 28).

Nos résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Wafula et *al* (2014) et Abe et *al* (2018) qui ont montré que certaines souches du genre Bacillus sont uréase positives.

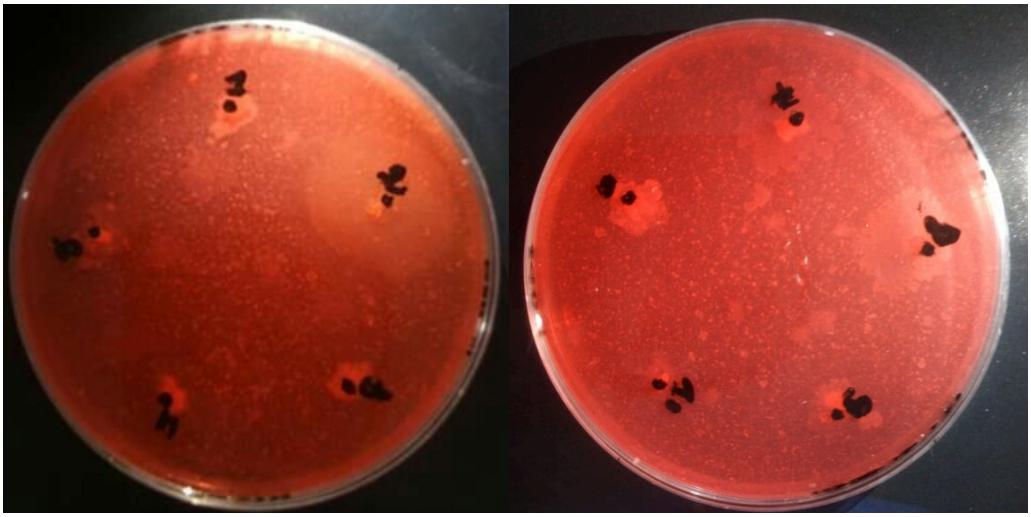


Figure 26 : Production d'uréase chez quelques isolats de notre souchier.

Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo de lyse autour de la colonie.

2 : N24 Isolats avec forte activité uréasique.

3.4.2. Lipase

Les lipases ou les triacylglycérol acyl-hydrolases sont des sous classes de la superfamille des hydrolases, sont des enzymes atypiques par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. Elles ont la capacité d'hydrolyser les triglycérides en acides gras et en glycérol (Ghanem, 2007). La présence de lipase chez de nombreux micro-organismes leur permet d'utiliser des « sources non-conventionnelles » de carbone comme les triglycérides ou d'autres lipides contenant des liaisons ester (Sharma et *al.,* 2001) (Najjar, 2010).

Les lipases microbiennes sont des enzymes polyvalents importants d'un point de vue biotechnologique, elles montrent plusieurs propriétés intéressantes pour les applications industrielles soit dans l'industrie alimentaire, les détergents, la synthèse des arômes ou dans les industries pharmaceutiques (Sarkar et *al.,* 1998).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que 15 souches soit 53.6% de nos isolats ont montré un pouvoir de production de lipase, il s'agit des isolats :N6, N1, N16, D1, D19, D20, D4, NH43, NH51, NH79, NH5, DH17, DH5, DH7 et DH8 (Fig. 27). Cependant, le diamètre d'halo peut nous informer sur l'intensité de cette activité, de ce fait les isolats D1, D4, DH5 et DH8 ont révélé une meilleure activité avec un diamètre d'halo de 10 mm et la plus faible activité lipolytique a été détectée chez l'isolat D19 avec un diamètre de 2 mm (Fig. 28).

Nos résultats sont compatibles avec les travaux réalisés par Ait Belkacem et Belgrade (2017) sur des souches de *Bacillus sp*. Isolées à partir des sols rhizosphèriques qui ont montré une dégradation de plusieurs substrats tels que les lipides, les protéines et les sucres complexes (amidon, cellulose et chitine) par la production d'une gamme très diversifiée d'enzymes extracellulaires tels que les lipases, les protéases, les amylases, les cellulases et les chitinases. Du même Acuña et *al* (2011) ont signalé que les bactéries font partie du genre Bacillus ont la capacité de synthétiser des enzymes lipolytiques.

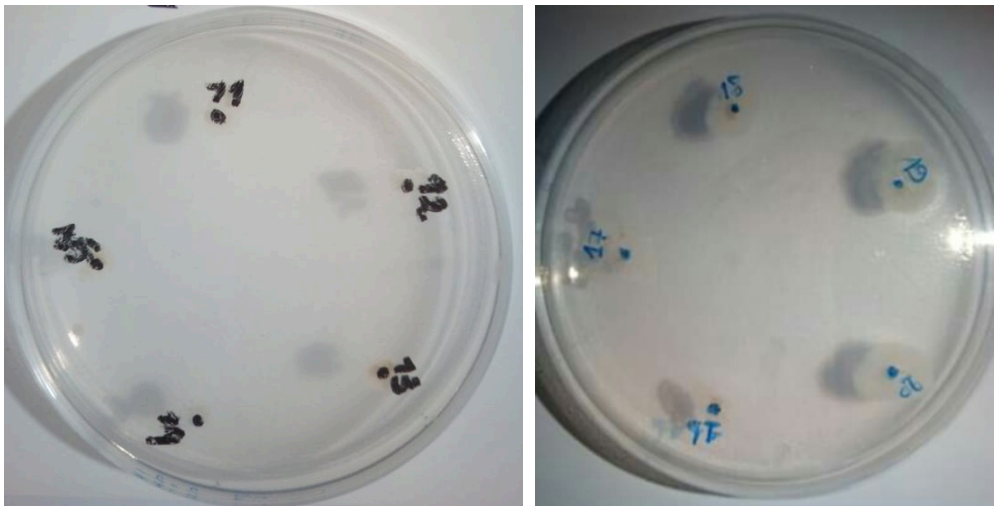


Figure 27 : Production de lipase chez quelques isolats de notre souchier.

Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo de lyse autour de la colonie.

Absence d'un halo (résultat négatif) pour la souche D8 (14), Présence d'un halo (résultat positif) pour la souche NH51 (19).

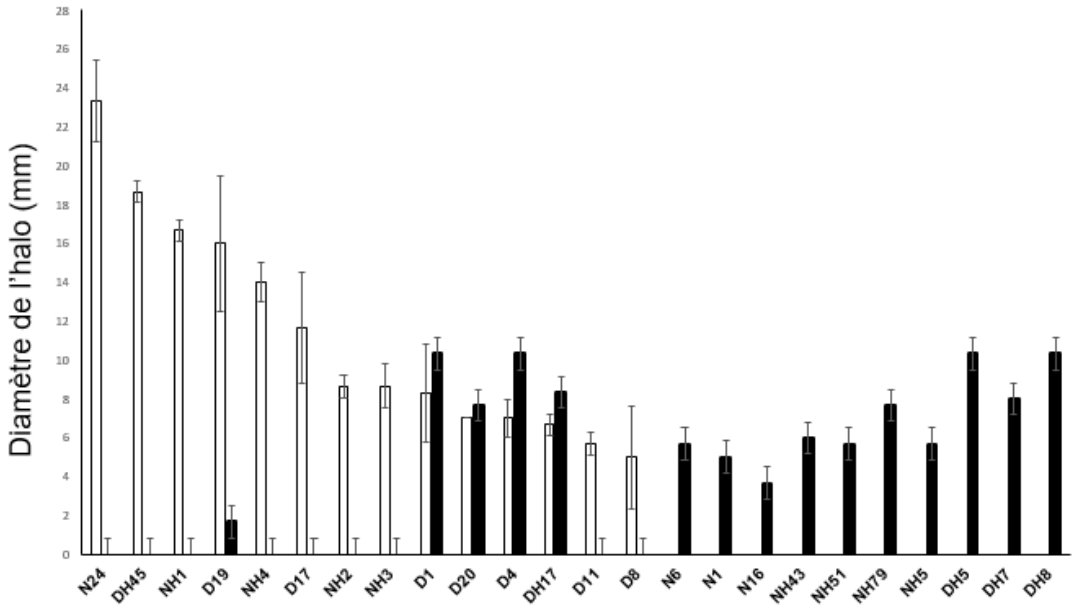


Figure 28 : Estimation de l'activité enzymatique par nos isolats.

Les valeurs sont données comme la moyenne de trois répétitions indépendantes,

■ : Enzyme lipase; □ : Enzyme uréase.

CONCLUSION
ET
PERSPICTIVES

Conclusion

L'utilisation des technologies microbiennes dans l'agriculture s'étend très rapidement par l'identification de nouvelles souches bactériennes efficaces dans l'amélioration de la croissance des plantes. En général ces bactéries rhizosphériques exercent sur les plantes de différents effets influençant leurs développements en améliorant leurs compétitivités et leurs réponses aux facteurs de stress extrêmes.

Notre étude a été fondée sur trois objectifs principaux. Le premier consistait à un isolement d'une flore bactérienne rhizosphérique associée à des plantules d'orge commune cultivées sur un sol saharien et dans les mêmes conditions *in vivo.* Le deuxième objectif a visé la sélection des bactéries appartenant au genre Bacillus en se basant sur une analyse phénotypique et enfin, le troisième, est la détermination des potentialités des isolats de Bacillus et l'identification de ces isolats.

Le sol rhizosphérique a montré une densité bactérienne élevée, de 986.10^3 UFC.mL^{-1}. Cette densité relativement élevée pour un sol provenant d'une région saharienne, nous a permis de dire que la région aride d'EL Menia renferme une grande abondance bactérienne.

La sélection primaire des isolats appartenant au genre Bacillus a été effectuée après la réalisation de la coloration de Gram, la visualisation des endospores et la croissance des colonies après le traitement thermique. Un résultat positif aux trois tests retenus, nous a permis de sélectionner 28 isolats. Cette sélection a été solidité par un ensemble de tests basant sur leurs caractères culturaux et biochimiques, ce qui nous a permis de s'assurer que notre sélection d'isolats appartient au genre Bacillus.

Les 28 isolats sélectionnés se sont avérées des biofertilisants par l'apport d'éléments nutritifs à la plante. Elles ont montré une faible capacité de fixer l'azote atmosphérique (17%) mais une grande capacité de solubiliser les phosphates (71.4%), 50% des isolats se sont révélé moyennement solubilisatrices.

Les bactéries considérées comme des biofertilisants peuvent constituer une alternative prometteuse aux produits chimiques utilisés en agriculture et de ce fait les considéré comme une bactérie à effet PGPR.

Nos résultats ont montré que 50% de nos isolats possèdent une capacité uréasique soit 14 isolats et 53.6% des isolats possèdent une capacité lipolytique. Ces résultats confirment l'immense capacité des Bacillus à synthétiser des enzymes extracellulaires qui sont des métabolites essentiels permettant aux bactéries de cataboliser les éléments nutritifs existants dans le milieu pour assurer leur survie. De plus, ces enzymes microbiennes sont facilement purifiées avec des procédés peu couteux, c'est pourquoi sont très recherchées dans les biocatalyses dans différentes transformations industrielles dans divers domaines.

A l'issue de ce travail, plusieurs perspectives et recommandations semblent nécessaires à réaliser :

-L'utilisation de nos isolats comme inoculum pour l'amélioration de la solubilisation des phosphates et des potassiums, doit être compléter avec une estimation de la quantité des phosphates solubilisé sur milieu liquide (NBRIP) et une détermination de cette quantité à l'aide d'un courbe étalon, et l'évaluation de l'effet de différentes conditions de milieu (NaCl, KCl, pH, Température…) sur la quantité solubilisée.
-La réalisation des tests croisés par l'intéraction entre les facteurs tels que le pH et la salinité via des cultures mixtes, sur les bactéries ayant un effet de solubilisation des potasiums important, a fin d'améliorer l'effet PGPR des isolats.
-Dépistage d'autres activités enzymatiques (gélatinase, amylase, cellulase, chitinase…..).
-Caractérisation d'autres mécanismes d'action directes (la production des hormones et des sidérophores) ou indirectes (la production des antibiotiques et des molécules antifongiques) impliqués dans leur potentiel stimulateur de la croissance végétale ou antagoniste.
-Purification et caractérisation des antibiotiques synthétisés par les isolats.
-Utilisation des souches identifiées comme agent de fertilisation et de lutte biologique.
-Identification phylogénétique des souches isolées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Hashem, A., Radhakrishnan, R., Al-Huqail, A. A., Al-Otibi, F. O. N., ... & Egamberdieva, D. (2017). Endophytic bacterium Bacillus subtilis (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. *Journal of plant Interactions*, *13*(1), 37-44.

Abdesselam, N., & Latache, N. (2017). IDENTIFICATIONS ET CARACTÉRISATIONS DES BACTÉRIES ISOLEES A PARTIR DE DIFFERENTS SOLS (Mémoire de master).

Abe, A. M. K., Assanvo, J. B., Sanogo, M., & Koffi, K. M. (2018). Caractérisation phénotypique de 52 souches des Bacillus isolées à partir de racines fraîches de manioc cultivées en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *12*(5), 2284-2293.

Abnatura, R.D. (2013, avril). Les Rhizobactéries PGPR. Technique du bulletin. http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin

Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J., & Hernandez, J. A. (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, *7*(1), 2-37.

Acuña, J. J., Jorquera, M. A., Martínez, O. A., Menezes-Blackburn, D., Fernández, M. T., Marschner, P., ... & Mora, M. L. (2011). Indole acetic acid and phytase activity produced by rhizosphere bacilli as affected by pH and metals. *Journal of soil science and plant nutrition*, *11*(3), 1-12.

Addison, S. L., McDonald, I. R., & Lloyd-Jones, G. (2010). Identifying diazotrophs by incorporation of nitrogen from 15 N 2 into RNA. *Applied microbiology and biotechnology*, *87*(6),2313-2322.

Afzal, A. F. T. A. B., & Bano, A. S. G. H. A. R. I. (2008). Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (Triticum aestivum). *Int J Agric Biol*, *10*(1), 85-88.

Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University-science*, 26(1), 1-20.

Ait Belkacem., et Belgrade. (2017). Extraction et caractérisation de quelques molécules bioactives à partir des souches de *Pseudomonas* fluorescents et *Bacillus* sp.

Akhtar, M. S., & Siddiqui, Z. A. (2010). Role of plant growth promoting rhizobacteria in biocontrol of plant diseases and sustainable agriculture. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 157-195). Springer, Berlin, Heidelberg.

Alami, Y., Achouak, W., Marol, C., & Heulin, T. (2000). Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing Rhizobium sp. Strain isolated from sunflower roots. *Appl. Environ. Microbiol.*, *66*(8), 3393-3398.

Allakhverdiev, S. I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., & Murata, N. (2000). Inactivation of photosystems I and II in response to osmotic stress in Synechococcus. Contribution of water channels. *Plant Physiology*, *122*(4), 1201-1208.

Anand, R., & Chanway, C. (2013). N 2-fixation and growth promotion in cedar colonized by an endophytic strain of Paenibacillus polymyxa. *Biology and fertility of soils*, *49*(2), 235-239.

Andrews, M., & Andrews, M. E. (2017). Specificity in legume-rhizobia symbioses. *International journal of molecular sciences*, *18*(4), 705.

ANDREWS, R. K., BLAKELEY, R. L., & Zerner, B. U. R. T. (1984). Urea and urease. *Advances in inorganic biochemistry*, (6), 245-283.

Aneja, KR (2003). *Expériences en microbiologie, phytopathologie et biotechnologie* (4th Eds). New Age International. New Delhi, India.

Antoun, H., & Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In *PGPR: Biocontrol and biofertilization* (pp. 1-38). Springer, Dordrecht.

Araujo, F. D. (2008). Inoculação de sementes com Bacillus subtilis, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. Ciência e Agrotecnologia, 32(2), 456-462.

Ariffin, H., Abdullah, N., Umi Kalsom, M. S., Shirai, Y., & Hassan, M. A. (2006). Production and characterization of cellulose produced by Bacillus pumilus EB3. *Int. J. Eng. Technol*, *3*(1), 47-53.

Arora, N. K., Tewari, S., Singh, S., Lal, N., & Maheshwari, D. K. (2012). PGPR for protection of plant health under saline conditions. In *Bacteria in agrobiology: stress management* (pp. 239-258). Springer, Berlin, Heidelberg.

Arora, S. (2020). Halotolerant Microbes for Amelioration of Salt-Affected Soils for Sustainable Agriculture. In *Phyto-Microbiome in Stress Regulation* (pp. 323-343). Springer, Singapore.

Ashraf, M. P. J. C., & Harris, P. J. C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science*, *166*(1), 3-16.

Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., & Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of soils*, *40*(3), 157-162.

Avşar, C., Koyuncu, H., & Aras, E. S. (2017). Isolation and molecular characterization of *Bacillus spp*. isolated from soil for production of industrial enzymes. *Biological and Chemical Research*, *3*(9), 72-86.

Awais, M., Pervez, A., Yaqub, A., & Shah, M. M. (2010). Production of antimicrobial metabolites by Bacillus subtilis immobilized in polyacrylamide gel. *Pakistan Journal of Zoology*, 42(3), 267-275.

Bach, H. J., & Munch, J. C. (2000). Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biology and Fertility of Soils*, *31*(3-4), 219-224.

Badri, D. V., Chaparro, J. M., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. (2013). Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of Arabidopsis to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. Journal of Biological Chemistry, 288(7), 4502-4512.

Bagré, T. S., Samandoulougou, S., Traoré, M., Illy, D., Bsadjo-Tchamba, G., Bawa-Ibrahim, H., ... & Barro, N. (2015). Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, *87*(1), 8105-8112.

Baize, D. (2000). Guide des analyses en pédologie, 2ème édition revue et augmentée. INRA, Paris, 257.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *80*(1), 1-43.

Bashir, O., Khan, K., Hakeem, K. R., Mir, N. A., Rather, G. H., & Mohiuddin, R. (2016). Soil microbe diversity and root exudates as important aspects of rhizosphere ecosystem. In *Plant, Soil and Microbes* (pp. 337-357). Springer, Cham.

Ben -Hayyim, G., Vaadia, Y., et Williams, BG (1989). Protéines associées à l'adaptation du sel dans les cellules d'agrumes et de tomates: implication de polypeptides de 26 kDa. *Physiologia Plantarum*, *77* (3), 332-340.

BEN HEBIRECHE, N et DJAFOUR., (2011). Effet du stress salin sur l'accumulation de la chlorophylle chez le blé dur, 9. (mémoire étude de l'effet du stress salin sur la germination de blé dur (triticumdurum).

Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics*, *58*(1), 1-26.

Bergey, D. H., Breed, R. S., Murray, E. G. D., & Hitchens, A. P. (1939). Manual of determinative bacteriology. *Manual of determinative bacteriology. Fifth Edn.*

Berkeley, R., Heyndrickx, M., Logan, N., & De Vos, P. (Eds.). (2002). Applications and systematics of Bacillus and relatives. John Wiley & Sons.

Bertin, C., Pau-Roblot, C., Courtois, J., Manso-Silván, L., Thiaucourt, F., Tardy, F., ... &Gaurivaud, P. (2013). Characterization of free exopolysaccharides secreted by Mycoplasma mycoides subsp. mycoides. *PloS one*, *8*(7), e68373.

Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(4), 1327-1350.

Borneman, J., Skroch, PW, O'Sullivan, KM, Palus, JA, Rumjanek, NG, Jansen, JL, ... & Triplett, EW (1996). Diversité microbienne moléculaire d'un sol agricole au Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol., 62* (6), 1935-1943.

Borriss, R. (2015). Bacillus, a plant-beneficial bacterium. In *Principles of plant-microbe interactions* (pp. 379-391). Springer, Cham.

Bottini, R., Cassán, F., & Piccoli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied microbiology and biotechnology*, *65*(5), 497-503.

BOUALI, W. (2017). *Contribution à l'élaboration d'un souchier bactérien et caractérisation de la flore Bacillus cereus dans le Sud-Ouest Algérien* (Doctoral dissertation).

BOUHAIRI, S. (2017). *Bacillus subtilis: Caractères et applications* (Doctoral dissertation).

Bouras, F. Z. (2018). Isolement et caractérisation des microorganismes stimulateurs de la croissance de lentille (lensculinaris) (Thèse de doctorat).

Bousseboua H, 2002. Techniques d'étude des bactéries. Dans Microbiologie générale. Université Mentouri, Constantine (Algérie), 145-157.

Bouzid, S. (2010). Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysiologique de deux variétés de plantes de l'espèce Phaseolus vulgaris L. *Mémoire de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie Végétale. Université Mentouri, Constantine, Algérie*, 178.

Bouznad, A. (2016). Isolement et caractérisation des rhizobactéries libres et endophytes (*Bacillussp et Pseudomonassp*): Etude de leur pouvoir protecteur vis-à-vis de *Fusariumoxysporum*f. Sp*lycopersici* et leurs caractères liés à la promotion de lacroissance des plantes (Thése de doctorat).

Bremer, E. et Krämer, R. (2019). Réponses des micro-organismes au stress osmotique. *Revue annuelle de microbiologie*, *73*, 313-334.

Bresson, J., Varoquaux, F., Bontpart, T., Touraine, B., & Vile, D. (2013). The PGPR strain Phyllobacterium brassicacearum STM 196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in A rabidopsis. *New Phytologist*, *200*(2), 558-569.

Byrnes, B. H., & Amberger, A. (1988). Fate of broadcast urea in a flooded soil when treated with N-(n-butyl) thiophosphorictriamide, a urease inhibitor. Fertilizer research, 18(3), 221-231.

Byung Yong, A. (2011). Strain of bacillus amyloliquefaciens having a high vitamin k2 producing ability. *Korea patent, Application number PCT/KR2010/007796, Publication number WO/2011/158998A1*.

Cakmakçi, R., Dönmez, F., Aydın, A., & Şahin, F. (2006). Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. Soil Biology and Biochemistry, 38(6), 1482-1487.

Cappuccino, J. G., & Welsh, C (2017). T. Microbiology: A Laboratory Manual, Global Edition.

Carrasco, I. J., Márquez, M. C., Xue, Y., Ma, Y., Cowan, D. A., Jones, B. E., ... & Ventosa, A. (2007). Bacillus chagannorensis sp. nov., a moderate halophile from a soda lake in Inner Mongolia, China. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *57*(9), 2084-2088.

Carrim, A. J. I., Barbosa, E. C., & Vieira, J. D. G. (2006). Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of Jacaranda decurrens Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *49*(3), 353-359.

Castignetti, D., &Smarrelli, J. (1986). Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *FEBS letters*, *209*(2), 147-151.

Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C., &Mahillon, J. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the Bacillus subtilis group. *Frontiers in microbiology*, *10*, 302.

Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2012). Bacillus-based biological control of plant diseases. Pesticides in the modern world-pesticides use and management, 273-302.

Cazemier, A. E., Wagenaars, S. F. M., & Ter Steeg, P. F. (2001). Effect of sporulation and recovery medium on the heat resistance and amount of injury of spores from spoilage bacilli. *Journal of Applied Microbiology*, *90*(5), 761-770.

Cerritos, R., Vinuesa, P., Eguiarte, L. E., Herrera-Estrella, L., Alcaraz-Peraza, L. D., Arvizu-Gomez, J. L., ... & Souza, V. (2008). Bacillus coahuilensis sp. nov., a moderately halophilic species from a desiccation lagoon in the Cuatro Cienegas Valley in Coahuila, Mexico. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *58*(4), 919-923.

Chen, L., Wang, G., Bu, T., Zhang, Y., Wang, Y., Liu, M., & Lin, X. (2010). Phylogenetic analysis and screening of antimicrobial and cytotoxic activities of moderately halophilic bacteria isolated from the Weihai Solar Saltern (China). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *26*(5), 879-888.

Cherif, H. (2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec bacillus sp. Et pantoea agglomerans isolées de sols (Doctoral dissertation).

CHEVERRY, C. BOURRIE. G., 1998. La salinisation des sols. *Sol, interface fragile, STENGEL P. et GELIN I. [Éditeurs], INRA Edition*, 109-123.

Chinnusamy, V., Schumaker, K., & Zhu, J. K. (2004). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of experimental botany*, *55*(395), 225-236.

Choudhary, D. K., & Varma, A. (Eds.). (2016). *Microbial-mediated induced systemic resistance in plants*. Singapore: Springer.

Christensen, W. B. (1946). Urea decomposition as a means of differentiating Proteus and paracolon cultures from each other and from Salmonella and Shigella types. *Journal of bacteriology*, *52*(4), 461.

Claus, D., & Berkeley, R. C. W. (1986a). Genus Bacillus Cohn 1872, p 1105–1140 Murray RGE, Sneath PHA, Sharpe ME, Holt JG, editors., Bergey's manual of systematic bacteriology.

Claus, D., & Berkely, R. C. W. (1986b). The genus Bacillus. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2659-2663.

Crowley, D. E. (2006). Microbial siderophores in the plant rhizosphere. In *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms* (pp. 169-198). Springer, Dordrecht.

Crozier, A. (2000). Biosynthesis of Hormones and Elicitor Molecules. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants.*

Csonka, L. N. (1989). Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *53*(1), 121-147.

Curatti, L., Folco, E., Desplats, P., Abratti, G., Limones, V., Herrera-Estrella, L., & Salerno, G. (1998). Sucrose-phosphate synthase from Synechocystis sp. strain PCC 6803: identification of the spsA gene and characterization of the enzyme expressed in Escherichia coli. *Journal of bacteriology*, *180*(24), 6776-6779.

Dar, GH (2009). *Microbiologie et biochimie des sols*. New India Publishing.

Davies, P. J. (Ed.). (2013). *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Springer Science & Business Media.

De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, The *Firmicute* (2e eds., Vol. 3, pp. 63-67). Springer, New York.

Del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., & Barroso, J. B. (2003). Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *IUBMB life*, *55*(2), 71-81.

Demirkan, E., Baygın, E., & Usta, A. (2014). Screening of phytate hydrolysis Bacillus sp. isolated from soil and optimization of the certain nutritional and physical parameters on the production of phytase. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, *39*(2).

Dikilitas, M., & Karakas, S. (2012). Behaviour of plant pathogens for crops under stress during the determination of physiological, biochemical, and molecular approaches for salt stress tolerance. In *Crop Production for Agricultural Improvement* (pp. 417-441). Springer, Dordrecht.

Ding, Y., Wang, J., Liu, Y., et Chen, S. (2005). Isolement et identification des bacilles fixateurs d'azote des rhizosphères végétales de la région de Pékin. *Journal of Applied Microbiology*, *99* (5), 1271-1281.

Dommergues, Y., & Mangenot, F. (1970). *Ecologie microbienne du sol* (No. 631.46). Masson.

Dong, X., Lv, L., Wang, W., Liu, Y., Yin, C., Xu, Q., ... & Liu, X. (2019). Differences in distribution of potassium-solubilizingbacteria in forest and plantation soils in Myanmar. *International journal of environmental research and public health*, *16*(5), 700.

Egamberdieva, D., & Kucharova, Z. (2009). Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and fertility of soils*, *45*(6), 563-571.

Egamberdieva, D., Jabborova, D., & Berg, G. (2016). Synergistic interactions between Bradyrhizobium japonicum and the endophyte Stenotrophomonas rhizophila and their effects on growth, and nodulation of soybean under salt stress. *Plant and soil*, *405*(1-2), 35-45.

Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., ... & Lugtenberg, B. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. Biology and fertility of soils, 47(2), 197-205.

Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019). Salt-Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Enhancing Crop Productivity of Saline Soils. *Frontiers in Microbiology*, *10*.

Endres, J. R., Qureshi, I., Farber, T., Hauswirth, J., Hirka, G., Pasics, I., & Schauss, A. G. (2011). One-year chronic oral toxicity with combined reproduction toxicity study of a novel probiotic, Bacillus coagulans, as a food ingredient. *Food and chemical toxicology*, *49*(5), 1174-1182.

Etesami, H., & Adl, S. M. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their action mechanisms in availability of nutrients to plants. In *Phyto-Microbiome in Stress Regulation* (pp. 147-203). Springer, Singapore.

Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., ... & Tabassum, M. A. (2015). Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(7), 4907-4921.

Fierer, N., Lauber, C. L., Ramirez, K. S., Zaneveld, J., Bradford, M. A., & Knight, R. (2012a). Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *The ISME journal*, *6*(5), 1007-1017.

Fierer, N., Leff, J. W., Adams, B. J., Nielsen, U. N., Bates, S. T., Lauber, C. L., ... & Caporaso, J. G. (2012b). Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(52), 21390-21395.

Finnegan, S. & Droser, M. L. Relative and absolute abundance of trilobites and rhynchonelliform brachiopods across the Lower/ Middle Ordovician boundary, eastern Basin and Range. *Paleobiology* 31, 480–502 (2005).

Foysal, M. J., & Lisa, A. K. (2018). Isolation and characterization of Bacillus sp. strain BC01 from soil displaying potent antagonistic activity against plant and fish pathogenic fungi and bacteria. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *16*(2), 387-392.

Franche, C., Lindström, K., & Elmerich, C. (2009). Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and soil*, *321*(1-2), 35-59.

Fuentes-Ramirez, L. E., & Caballero-Mellado, J. (2005). Bacterial biofertilizers. In PGPR: Biocontrol and biofertilization (pp. 143-172). Springer, Dordrecht.

Galinski, E. A. (1995). Osmoadaptation in bacteria. In *Advances in microbial physiology* (Vol. 37, pp. 273-328). Academic Press.

Garbeva, P., Van Veen, J. A., & Van Elsas, J. D. (2003). Predominant *Bacillus spp*. In agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. *Microbial Ecology*, *45*(3), 302-316.

García-Fraile, P., Menéndez, E., & Rivas, R. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, *2*(3), 183.

Garrity, G.M. (2005). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 1–1085.

Ghanem, A. (2007). Trends in lipase-catalyzed asymmetric access to enantiomerically pure/enriched compounds. Tetrahedron, 63(8), 1721-1754.

GHITRI Imane (2018). Caractérisation du potentiel PGP de la flore *Bacillus cereus* isolée du sol. UNIVERSITE de TLEMCEN.

Ghoul, M. (1990). *Halotolerance de Escherichia coli effet des osmoprotecteurs naturels* (Doctoral dissertation, Université de Rennes I).

Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*, *41*(2), 109-117.

Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, *169*(1), 30-39.

Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & Mc Conkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *26*(5-6), 227-242.

Gordon, R. E., Haynes, W. C., & Pang, C. H. N. (1973). *The genus bacillus* (No. 427). Agricultural Research Service, US Department of Agriculture (pp. 116-119).

Graumann, P. (2007). Bacillus: *Cellular and Molecular Biology* (ed. G. Peter Graumann) University of Freiburg. Caister Academic Press, 454.

Grover, J. P. (2004). Predation, competition, and nutrient recycling: a stoichiometric approach with multiple nutrients. *Journal of theoretical biology*, *229*(1), 31-43.

Guemouri-Athmani, S., Berge, O., Bourrain, M., Mavingui, P., Thiéry, J. M., Bhatnagar, T., & Heulin, T. (2000). Diversity of Paenibacillus polymyxa populations in the rhizosphereof wheat (Triticum durum) in Algerian soils. *European Journal of Soil Biology*, *36*(3-4), 149-159.

Guinebretiere, M. H., Thompson, F. L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., ... & De Vos, P. (2008). Ecological diversification in the Bacillus cereus group. *Environmental Microbiology*, *10*(4), 851-865.

Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J MicrobBiochem Technol*, *7*(2), 096-102.

Hamdache, A., Azarken, R., Lamarti, A., Aleu, J., & Collado, I. G. (2013). Comparative genome analysis of *Bacillus spp*. and its relationship with bioactive nonribosomal peptide production. *Phytochemistry reviews*, *12*(4), 685-716.

Han, H. S., & Lee, K. D. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Res J Agric Biol Sci*, *1*(3), 210-215.

Hardoim, P., Nissinen, R. et van Elsas, JD (2012). Écologie des endophytes bactériens dans l'agriculture durable. Dans *Bacteria in agrobiology: plant probiotics* (pp. 97-126). Springer, Berlin, Heidelberg.

Harley, J., &Prescott, H. J. (2002). *Laboratory exercises in microbiology*, 5th Eds, pp.449.

Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Al-Huqail, A. A., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2016). The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of Acacia gerrardii under salt stress. *Frontiers in microbiology*, *7*, 1089.

Holl, F. B., &Chanway, C. P. (1992). Rhizosphere colonization and seedling growth promotion of lodgepole pine by *Bacillus polymyxa*. *Canadian Journal of Microbiology*, *38*(4), 303-308.

Holt, S. C., Gauther, J. J., & Tipper, D. J. (1975). Ultrastructural studies of sporulation in Bacillus sphaericus. *Journal of Bacteriology*, 122(3), 1322-1338.

Hong, H. A., Duc, L. H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS microbiology reviews*, *29*(4), 813-835.

Hoorman, J. J., & Islam, R. (2010). Understanding soil microbes & nutrient Recycling. Fact Sheet for Agriculture and Natural Resources.

Hopwood, DA (2007). *Streptomyces dans la nature et la médecine : les fabricants d'antibiotiques.* Presse d'université d'Oxford.

Janssen, P. H. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, *72*(3), 1719-1728.

Joffin, J. N., & Leyral, G. (2005). Microbiologie Technique Tome 1" Dictionnaire des techniques". *Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine*, 171-189.

Joffin, J. N., & Leyral, G. (2006). Microbiologie Technique Tome 1" Dictionnaire des techniques" (4è éd.). *Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine*.

Johnsen, H. R., & Krause, K. (2014). Cellulase activity screening using pure carboxymethylcellulose: application to soluble cellulolytic samples and to plant tissue prints. *International journal of molecular sciences*, *15*(1), 830-838.

Joo, G. J., Kang, S. M., Hamayun, M., Kim, S. K., Na, C. I., Shin, D. H., & Lee, I. J. (2009). Burkholderia sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. *The Journal of Microbiology*, *47*(2), 167-171.

Joseph, B., Ranjan Patra, R., & Lawrence, R. (2012). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (Cicer arietinum L.). *International Journal of Plant Production*, *1*(2), 141-152.

Kang, S. M., Khan, A. L., Waqas, M., You, Y. H., Kim, J. H., Kim, J. G., ... & Lee, I. J. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in Cucumis sativus. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 673-682.

Karagoz, K., Dadasoglu, F., Mohammadi, P., & Kotan, R. (2018). Screening bacterial antagonists to common scab disease. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, *28*(4), 1068-1073.

Karima, K. 2007. Identification et étude moléculaire des bactéries et des archéobactéries aérobies halophiles de la sebkha Ezzemoul (Ain M'Lila). Thèse de doctorat, Université Mentouri–Constantine, 04 / SN / 2007. Soutenu publiquement le: 09 / 09 / 2007.

Karimi, B., Terrat, S., Dequiedt, S., Saby, N. P., Horrigue, W., Lelièvre, M., ... & Cruaud, C. (2018). Biogeography of soil bacteria and archaea across France. Science advances, 4(7), eaat1808.

Kayasth, M., Kumar, V., & Gera, R. (2013). Exploring the potential of PGPR strain Bacillus licheniformis to be developed as multifunctional biofertilizer. *Central European Journal of Biology*, *2*(1), 12-17.

Keshavarz Zarjani, J., Aliasgharzad, N., Oustan, S., Emadi, M., & Ahmadi, A. (2013). Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *59*(12), 1713-1723.

Khan, A. G. (2005). Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of trace elements in medicine and biology*, *18*(4), 355-364.

Khan, N., &Bano, A. (2019). Exopolysaccharide producing rhizobacteria and their impact on growth and drought tolerance of wheat grown under rainfed conditions. *PLoS One*, *14*(9).

Kim, K. M., Kim, M. J., Kim, D. H., Park, Y. S., & Kang, J. S. (2009). Characterization of Bacillus polyfermenticus KJS-2 as a probiotic. *J. Microbiol. Biotechnol*, *19*(2), 000-000.

Kim, S. Y., Lim, J. H., Park, M. R., Kim, Y. J., Park, T. I., Seo, Y. W., ... & Yun, S. J. (2005). Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *BMB Reports*, *38*(2), 218-224.

KIRDI, B. (2011). *Rôle des PGPR « PlantGrowthPromotingRhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites* (Doctoral dissertation).

Kivanc, S. A., Takim, M., Kivanc, M., & Güllülü, G. (2014). *Bacillus Spp*. isolated from the conjunctiva and their potential antimicrobial activity against other eye pathogens. *African health sciences*, *14*(2), 364-371.

Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, *71*(6), 642-644.

Kloepper, J. W., Lifshitz, R., & Zablotowicz, R. M. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology*, *7*(2), 39-44.

Kloepper, J. W., Ryu, C. M., & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp*. *Phytopathology*, *94*(11), 1259-1266.

Kuffner, M., Puschenreiter, M., Wieshammer, G., Gorfer, M., &Sessitsch, A. (2008). Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant and Soil*, *304*(1-2), 35-44.

Kumar, P., & Dubey, R. C. (2012). Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of Phaseolus vulgaris. J Curr Pers Appl Microbiol, 1(6), 38.

Lalloo, R., Maharajh, D., Görgens, J., & Gardiner, N. (2010). A downstream process for production of a viable and stable Bacillus cereus aquaculture biological agent. *AppliedMicrobiology and Biotechnology*, *86*(2), 499-508.

Landman, C., & Quévrain, E. (2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de médecine interne*, *37*(6), 418-423.

Laradj Zazou, K. (2017). Isolement et caractérisation des rhizobactériespromotrices de la croissance des plantes capables delutter contre le *Fusarium* (Thése de doctorat).

Le Minor, L., & Ben Hamida, F. (1962). Avantages de la recherche de la β-galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des Enterobacteriaceae. Ann. Inst. Pasteur, 102, 267-277.

Le Rudulier, D., Mandon, K., Dupont, L., Trinchant, J.C. (2002). Salinity effects on physiology of soil microorganisms, p. 2774-2789. In G. Bitton (ed.), Encyclopedia of environmental microbiology. AWiley-Interscience Publication. Canada.

Lee, J. C., Lim, J. M., Park, D. J., Jeon, C. O., Li, W. J., & Kim, C. J. (2006). Bacillus seohaeanensis sp. nov., a halotolerant bacterium that contains L-lysine in its cell wall. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *56*(8), 1893-1898.

Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., & Casse-Delbart, F. (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, *4*(4), 263-273.

Li, Y. Q., Zhao, H. L., Yi, X. Y., Zuo, X. A., & Chen, Y. P. (2006). Dynamics of carbon and nitrogen storages in plant-soil system during desertification process in Horqin sandy land. *Huan jingkexue= Huanjingkexue*, *27*(4), 635-640.

Liu, H., Li, X., Xiao, J., & Wang, S. (2012). A convenient method for simultaneous quantification of multiple phytohormones and metabolites: application in study of rice-bacterium interaction. *Plant methods*, *8*(1).

Liu, J. K., & JURTSHUK JR, P. E. T. E. R. (1986). N, N, N′-N′-Tetramethyl-p-Phenylenediamine-Dependent Cytochrome Oxidase Analyses of Bacillus Species. *International Journal of Systematic and EvolutionaryMicrobiology*, *36*(1), 38-46.

Liu, W., Xu, X., Wu, X., Yang, Q., Luo, Y., & Christie, P. (2006). Decomposition of silicate minerals by Bacillus mucilaginosus in liquid culture. *Environmental Geochemistry and Health*, *28*(1-2), 133-140.

Logan, N. A., & Berkeley, R. C. W. (1984). Identification of Bacillus strains using the API system. Microbiology, 130(7), 1871-1882.

Logan, N. A., & Vos, P. D. (2015). Bacillus. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-163.

Logan, N.A et De Vos, P. (2009). Genre I. bacillus. Manuel de Bergey de bactériologie systématique, 3, 21-128.

Lowe, G. H. (1960). A study of the factors controlling lactose-fermentation in the coliform and paracolon groups. Microbiology, 23(1), 127-135.

Luis, H. Cisneros., Raymond, E., Goldstein., and Alex, Cronin (2008). The organized melee: emergence of collective behavior in concentrated suspensions of swimming bacteria and associated in the graduate college for the degree of doctor of philosophy. PhD thesis, The university of Arizona.

Lund, T., & Granum, P. E. (1996). Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from Bacillus cereus isolated after a foodborne outbreak. *FEMS microbiology letters*, *141*(2-3), 151-156.

MacMillan, J. (2002). Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. *Journal of plant growthregulation*, 20(4), 387-442.

Madr (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural) (2015). Revue de secteur agricole en Algérie Analyse de l'évolution des politiques de développement du secteur. Rapport de synthèse. Version première. Ministère de l'agriculture et du développement rural. Alger. Mai 2015

Mansour, F. A., Aldesuquy, H. S., & Hamedo, H. A. (1994). Studies on plant growth regulators and enzymes production by some bacteria, 14 (2), 281-288.

Martinez-Salgado, M. M., Gutiérrez-Romero, V., Jannsens, M., &Ortega-Blu, R. (2010). Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology (pp. 319-328).

Martinez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. M. L. M., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, *10*(3), 293-319.

Maughan, H., & Van der Auwera, G. (2011). Bacillus taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Infection, Genetics and Evolution*, *11*(5), 789-797.

McGenity, T. J., Gemmell, R. T., Grant, W. D., & Stan-Lotter, H. (2000). Origins of halophilic microorganisms in ancient salt deposits: Minireview. *Environmental Microbiology*, *2*(3), 243-250.

Mebarki, H., & Benakli, L. (2018). Evaluation de l'activité antagoniste de deux bacteries: *Pseudomonas* sp *et Bacillus* sp vis-àvis des champignons phytopathogénes (Mémoire de master).

Medane, H. (2017). Identification et caractérisation de la thermorésistance des spores *Bacillus Cereus* isolées de la poudre de cacao (Mémoire de master).

Meena, V. S., Maurya, B. R., Verma, J. P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K., & Bajpai, V. K. (2015). Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. *Ecological Engineering*, *81*, 340-347.

Melin, P., Sundh, I., Håkansson, S., & Schnürer, J. (2007). Biological preservation of plant derived animal feed with antifungal microorganisms: safety and formulation aspects. *Biotechnology letters*, *29*(8), 1147-1154.

Mermoud, A. (2006). Cours de physique du sol: Maîtrise de la salinité des sols. *Ecole polytechnique fédérale de Lausanne*, *23*.

Meyer, J. J., Staley, J.T., et Lorey.,2004. Cour de questions revision. PCEM.PCEP. 2 ème cycle master. Ed. Dunod. Paris. PP. 480-481. Molecular Plant-Microbe Interactions 5, 4-13.

Mishra, J., Fatima, T., & Arora, N. K. (2018). Role of secondary metabolites from plant growth-promoting rhizobacteria in combating salinity stress. In *Plant microbiome: Stress response* (pp. 127-163). Springer, Singapore.

Mobley, H. L., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *53*(1), 85-108.

Moore, S. J., Mayer, M. J., Biedendieck, R., Deery, E., & Warren, M. J. (2014). Towards a cell factory for vitamin B12 production in Bacillus megaterium: bypassing of the cobalamin riboswitch control elements. *New biotechnology*, *31*(6), 553-561.

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.

Mouna, S. A. O. U. D. I. (2007). Les bactéries nodulant les legumineuses (BN LP): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse Astragalus armatus.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, *25*(2), 239-250.

Nabors, M. (2008). Biologie végétale structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies.3e ed. Pearson, France. 614.

Nabti, E., Sahnoune, M., Ghoul, M., Fischer, D., Hofmann, A., Rothballer, M., ... & Hartmann, A. (2010). Restoration of growth of durum wheat (Triticum durum var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium Azospirillumbrasilense NH and extracts of the marine alga Ulva lactuca. *Journal of Plant Growth Regulation*, *29*(1), 6-22.

Nadeem, S. M., Naveed, M., Zahir, Z. A., & Asghar, H. N. (2013). Plant–microbe interactions for sustainable agriculture: fundamentals and recent advances. In *Plant microbe symbiosis: fundamentals and advances* (pp. 51-103). Springer, New Delhi.

Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Asghar, H. N., & Arshad, M. (2010). Rhizobacteria capable of producing ACC-deaminase may mitigate salt stress in wheat. *Soil Science Society of America Journal*, *74*(2), 533-542.

Najjar, A. (2010). *Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez Yarrowialipolytica lors de sa croissance en présence d'huile d'olive* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).

Nascimento, F. X., Brígido, C., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2016). The role of rhizobial ACC deaminase in the nodulation process of leguminous plants. *International Journal of Agronomy*, 2016.

Nassah, H., Er-Raki, S., Khabba, S., Fakir, Y., Raibi, F., Merlin, O., & Mougenot, B. (2018). Evaluation and analysis of deep percolation losses of drip irrigated citrus crops under non-saline and saline conditions in a semi-arid area. *Biosystems Engineering*, *165*, 10-24.

Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology Letters*, *170*(1), 265-270.

Naznin, H. A., Kimura, M., Miyazawa, M., & Hyakumachi, M. (2012). Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungus Phoma sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. Microbes and environments, 28(1), 42-49.

Neelam, S. (2013). Enhancement of catalase activity under salt stress in germinating seeds of Vigna radiata. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, *3*(17), 6-8.

Nguimbi, E., Ahombo, G., Moyen, R., Ampa, R., Vouidibio, A., Ontsira, E. N., ... & Louembé, D. (2012). Optimization of Growth, Fibrinolytic Enzyme Production and PCR Amplification of Encoding Fibrinolytic Enzyme Gene in Bacillus amyloliquefaciens Isolated from Ntobambodi at Brazzaville. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 2799-2803.

Niu, X., Song, L., Xiao, Y., & Ge, W. (2018). Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. *Frontiers in microbiology*, *8*, 2580.

Numan, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., ... & Ahmed, A. H. (2018). Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review. *Microbiological research*, *209*, 21-32.

Olivera, M., Tejera, N., Iribarne, C., Ocana, A., & Lluch, C. (2004). Growth, nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (Phaseolus vulgaris): effect of phosphorus. *Physiologia Plantarum*, 121(3), 498-505.

Omar, S. A., Abdel-Sater, M. A., Khallil, A. M., & Abd-Alla, M. H. (1994). Growth and enzyme activities of fungi and bacteria in soil salinized with sodium chloride. *Folia Microbiologica*, *39*(1), 23-28.

Ordentlich, A., Elad, Y., & Chet, I. (1988). The role of chitinase of Serratia marcescens in biocontrol of Sclerotium rolfsii. *Phytopathology*, *78*(1), 84-88.

Oren, A. (2002). Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 56-63.

Oren, A. (2003). Organic compatible solutes. *Halophilic Microorganisms and their Environments. (vol. 5)*, 279-305.

O'Sullivan, D. J., & O'Gara, F. (1991). Regulation of iron assimilation: nucleotide sequence analysis of an iron-regulated promoter from a fluorescent pseudomonad. *Molecular and General Genetics MGG*, *228*(1-2), 1-8.

Parmar, P., & Sindhu, S. S. (2013). Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. *J Microbiol Res*, *3*(1), 25-31.

Parvaiz, A., & Satyawati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. *Plant Soil and Environment*, *54*(3), 89.

Patel, S. and Rajkumar, S. (2009) Genetics of phosphate solubilization. Icfai Univ, *l. Biotechnology* (3), 7-19.

Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Role of Pseudomonas putida indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, *68*(8), 3795-3801.

Pérez-García, A., Romero, D., Zeriouh, H., & de Vicente, A. (2011). Biological control of phytopathogenic fungi by aerobic endospore-formers. In *Endospore-forming Soil Bacteria* (pp. 157-180). Springer, Berlin, Heidelberg.

Pliego, C., Kamilova, F., & Lugtenberg, B. (2011). Plant growth-promoting bacteria: fundamentals and exploitation. In *Bacteria in agrobiology: Crop ecosystems* (pp. 295-343). Springer, Berlin, Heidelberg.

Prashar, P., Kapoor, N., & Sachdeva, S. (2013). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *13*(1), 63-77.

Prescott, H. (2002). Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition.

Priest F.G., Sonenshein A.L., Hoch J.A. and Losick R., (1993). *Bacillus subtilis and Other GramPositive Bacteria: Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics*. Washington D.C., AmericanSociety for Microbiology, USA.

Public Health England. (2018). Identification of Bacillus species.

PUJIC, P., & NORMAND, P. (2009). La symbiose racinaire entre la bactérie Frankia et les plantes actinorhiziennes: Interactions plantes/micro-organismes. *Biofutur (Puteaux)*, (298), 26-29.

Qureshi, M. A., Ahmad, Z. A., Akhtar, N., Iqbal, A., Mujeeb, F., & Shakir, M. A. (2012). Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *J. Anim. Plant Sci*, *22*(1), 204-210.

Raaijmakers, J. M., Vlami, M., & De Souza, J. T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van leeuwenhoek*, *81*(1-4), 537-547.

Ravarapu, VB et Padmavathi, T. (2016). EFFET DE *Bacillus sp* ET *Glomus monosporum* SUR LA CROISSANCE ET L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DU POIVRE CLOCHE (Capsicum annuum) SOUS LE STRESS DE SALINITÉ. Journal of Global Agriculture and Ecology, 6 (1), 57-67.

Rengasamy, P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology*, *37*(7), 613-620.

Richardson, AE (2001). Perspectives d'utilisation des micro-organismes du sol pour améliorer l'acquisition de phosphore par les plantes. *Biologie fonctionnelle des plantes*, *28* (9), 897-906.

Ripamonti, B., Agazzi, A., Baldi, A., Balzaretti, C., Bersani, C., Pirani, S., ... &Domeneghini, C. (2009). Administration of Bacillus coagulans in calves: recovery from faecal samples and evaluation of functional aspects of spores. *Veterinary research communications*, *33*(8), 991.

Roberson, E. B., & Firestone, M. K. (1992). Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil Pseudomonas sp. *Appl. Environ. Microbiol.*, *58*(4), 1284-1291.

Roberts, M. F. (2005). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *Saline systems*, *1*(1), 5.

Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology advances, 17(4-5), 319-339.

Rogers, J. R., Bennett, P. C., & Choi, W. J. (1998). Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. American Mineralogist, 83(11-12_Part_2), 1532-1540.

Romheld, V., & Kirkby, E. A. (2010). Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant and soil*, *335*(1-2), 155-180.

Ryu, R. J., & Patten, C. L. (2008). Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by TyrR in Enterobacter cloacae UW5. *Journal of bacteriology*, *190*(21), 7200-7208.

Sadiq, H. M., Jahangir, G. Z., Nasir, I. A., Iqtidar, M., & Iqbal, M. (2014). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere soil. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *27*(6), 4248-4255.

Saeki, K., Ozaki, K., Kobayashi, T., & Ito, S. (2007). Detergent alkaline proteases: enzymatic properties, genes, and crystal structures. *Journal of bioscience and bioengineering*, *103*(6), 501-508.

Sagervanshi, A., Kumari, P., Nagee, A., & Kumar, A. (2012). Media optimization for inorganic phosphate solubilizing bacteria isolated from Anand argiculture soil. *Life*, *50*, 245.

Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. S., & Bestervelt, L. L. (2012). Microbial siderophores: a mini review. *Journal of basic microbiology*, *52*(4), 1-15.

Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., & Bhatti, A. S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, *34*(10), 635-648.

Santhanam, R., Rong, X., Huang, Y., Andrews, B. A., Asenjo, J. A., & Goodfellow, M. (2013). Streptomyces bullii sp. nov., isolated from a hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *103*(2), 367-373.

Santi, C., Bogusz, D., & Franche, C. (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of botany*, *111*(5), 743-767.

Sarkar, A., Ghosh, P. K., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., Pandey, S., ... & Maiti, T. K. (2018). A halotolerant Enterobacter sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Research in microbiology*, *169*(1), 20-32.

Sarkar, S., Sreekanth, B., Kant, S., Banerjee, R., & Bhattacharyya, B. C. (1998). Production and optimization of microbial lipase. *Bioprocess Engineering*, *19*(1), 29-32.

Satapute, P. P., Olekar, H. S., Shetti, A. A., Kulkarni, A. G., Hiremath, G. B., Patagundi, B. I., ... & Kaliwal, B. B. (2012). Isolation and characterization of nitrogen fixing Bacillus subtilis strain as-4 from agricultural soil. *International Journal of Recent Scientific Research*, *3*, 762-765.

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.

Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Petla, B. P., Andugula, V. R., & Majee, M. (2013). Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions. In *Plant acclimation to environmental stress* (pp. 197-232). Springer, New York, NY.

Schallmey, M., Singh, A., & Ward, O. P. (2004). Developments in the use of Bacillus species for industrial production. *Canadian journal of microbiology*, *50*(1), 1-17.

Schleifer, K. H. (2009). Phylum XIII. Firmicutes Gibbons and Murray 1978, 5 (Firmacutes [sic] Gibbons and Murray 1978, 5). In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 19-1317). Springer, New York, NY.

Senesi, S., Ricca, E., Henriques, A. O., & Cutting, S. M. (2004). Bacillus spores as probiotics products for human use. *Bacterial spores: Probiotics and Emerging Applications*, *132*, 141.

Shafi, J., Tian, H., & Ji, M. (2017). Bacillus species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *31*(3), 446-459.

Shameer, S., & Prasad, T. N. V. K. V. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 84(3), 603-615.

Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology advances*, *19*(8), 627-662.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, *2*(1), 587-597.

Sharma, S., Kulkarni, J., & Jha, B. (2016). Halotolerant rhizobacteria promote growth and enhance salinity tolerance in peanut. *Frontiers in microbiology*, *7*, 1600.

Shi, R., Yin, M., Tang, S. K., Lee, J. C., Park, D. J., Zhang, Y. J., ... & Li, W. J. (2011). Bacillus luteolus sp. nov., a halotolerant bacterium isolated from a salt field. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *61*(6), 1344-1349.

Shi, T. Q., Peng, H., Zeng, S. Y., Ji, R. Y., Shi, K., Huang, H., & Ji, X. J. (2017). Microbial production of plant hormones: opportunities and challenges. *Bioengineered*, *8*(2), 124-128.

Shilev, S. (2013). Soil rhizobacteria regulating the uptake of nutrients and undesirable elements by plants. In *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances* (pp. 147-167). Springer, New Delhi.

Singh, J. S., & Singh, D. P. (2013). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): microbes in sustainable agriculture. In *Management of microbial resources in the environment* (pp. 361-385). Springer, Dordrecht.

Singh, R. P., & Jha, P. N. (2016). The multifarious PGPR Serratia marcescens CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLos one*, *11*(6).

Sitepu, I. R., Hashidoko, Y., Santoso, E., &Tahara, S. (2007, August). Potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from dipterocarps grown in peat swamp forest in Central Kalimantan and their possible utilization for biorehabilitation of degraded peatland. In *Proceedings of the international symposium and workshop on tropical Peatland, Yogyakarta* (pp. 27-29).

Skirycz, A., & Inzé, D. (2010). More from less: plant growth under limited water. *Current Opinion in Biotechnology*, *21*(2), 197-203.

Slepecky R. and Hemphill E. (2006) The genus *Bacillus.* Nonmedical. *The Prokaryotes, voL* 4 (DworkinM, FalkowS, RosenbergE, SchleiferK-H &StackebrandtE, eds), pp. 530-562. Springer, New York.

Smiatek, J., Harishchandra, R. K., Rubner, O., Galla, H. J., & Heuer, A. (2012). Properties of compatible solutes in aqueous solution. Biophysical chemistry, 160(1), 62-68.

Speer, M., & Kaiser, W. M. (1991). Ion relations of symplastic and apoplastic space in leaves from Spinacia oleracea L. and Pisum sativum L. under salinity. *Plant Physiology*, *97*(3), 990-997.

Stevenson, F. J. (1986). Cycles of Soil Carbon, Phosphorus, Sulphur, Micro-nutrients (pp.380). Wiley New York.

Sturz, A. V., & Christie, B. R. (2003). Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research*, *72*(2), 107-123.

Sugiyama, H. (1951). Studies on factors affecting the heat resistance of spores of *Clostridium botulinum*. *Journal of bacteriology*, *62*(1), 81-96.

Thompson, J. P. (1989). Counting viable Azotobacter chroococcum in vertisols. *Plant and soil*, *117*(1), 17-29.

Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., & Manoharachari, C. (2006). Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and Rhizobium on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (Cajanus cajan). *European Journal of Soil Science*, *57*(1), 67-71.

Tiwari, G., Duraivadivel, P., Sharma, S., & Hariprasad, P. (2018). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase producing beneficial rhizobacteria ameliorate the biomass characters of Panicum maximum Jacq. by mitigating drought and salt stress. Scientific reports, 8(1), 1-12.

Tortora., G.J, Funke., B.R et Case., C.L. (2011). *Introduction à la microbiologie* (2e éd.). Pearson.

TrParray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., & Ahmad, P. (2016). Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant growth regulation*, *35*(3), 877-902.

Upadhyay, S. K., Singh, D. P., & Saikia, R. (2009). Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizospheric soil of wheat under saline condition. *Current microbiology*, *59*(5), 489-496.

VAJARANANT, K., & FIELDS, M. L. (1989). The production of vitamin B6 by microorganisms in corn meal. *Journal of food protection*, *52*(11), 827-828.

Vargas, V. A., Delgado, O. D., Hatti-Kaul, R., & Mattiasson, B. (2005). Bacillus bogoriensis sp. nov., a novel alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from a Kenyan soda lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *55*(2), 899-902.

Verma, J. P., Jaiswal, D. K., Krishna, R., Prakash, S., Yadav, J., & Singh, V. (2018). Characterization and screening of thermophilic Bacillus strains for developing plant growth promoting consortium from hot spring of Leh and Ladakh region of India. *Frontiers in microbiology*, *9*, 1293.

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*(2), 571-586.

Vinter, V. (1987). The effect of cystine upon spore formation by Bacillus megaterium. *J. appl. Bact*, *20*, 325.

VouidibioMbozo, A. (2016). Identification génotypique et étude du potentiel fermentaire et probiotique des Bacillus du Ntobambodi. Université Marien Ngouabi.

Wafula, E. N., Kinyua, J., Karuiki, D., Muigai, A., & Mwirichia, R. K. (2014). Isolation and characterization of bacillus species from soil in Ngere tea catchment area of Murang'a county, Kenya.

Wahab, A. A. (1975). Nitrogen fixation by Bacillus strains isolated from the rhizosphere of Ammophilaarenaria. *Plant and soil*, *42*(3), 703-708.

Wang, C., Knill, E., Glick, B. R., & Défago, G. (2000). Effect of transferring 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into Pseudomonas fluorescens strain CHA0 and its gac A derivative CHA96 on their growth-promoting and disease-suppressive capacities. *Canadian Journal of Microbiology*, *46*(10), 898-907.

Welch, S. A., & Vandevivere, P. (2009). Effect of microbial and other naturally occurring polymers on mineral dissolution. *Geomicrobiology journal*, *12*(4), 227-238.

ANNEXES

Annexe 01 : Appareillages et verreries utilisés au cours de l'expérimentation.

Appareillages	Verreries	Autres matériels
✓ Autoclave. ✓ Bain marie. ✓ Balance électrique. ✓ Étuve. ✓ Incubateur sous agitation. ✓ Réfrigérateur. ✓ Microscope optique. ✓ Plaque agitatrice chauffante. ✓ Vortex.	✓ Barreau magnétique. ✓ Béchers. ✓ Eprouvette graduée. ✓ Flacons stériles. ✓ Tubes à essai stériles. ✓ Lames et lamelles. ✓ Pipette Pasteur. ✓ Verre de montre.	✓ Anse de platine. ✓ Bec benzen. ✓ Boites de pétri. ✓ Gants jetables. ✓ Marqueurs. ✓ Micro pipette. ✓ Microplaque de titration. ✓ Papier aluminium, film et absorbant. ✓ Pince en bois et en platine. ✓ Pipette compte-gouttes en plastique. ✓ Pissette. ✓ Portoir pour tube. ✓ Spatule.

Annexe 02 : Composition des solutions utilisées.

Solution nutritive Fareus

$MgSO_4.7H_2O$…….....0.12g

KH_2PO_4.....0.1g

$Na_2HPO_4.12H_2O$…….....0.358g

15mM Fe-Citrate……...1ml

Sporen-elements ß…….2.5ml

Solution tampon phosphate

$NaH_2PO_4.2H_2O$…….6.33g

NaH_2OPO_4……10.96g

Eau physiologique

Eau distillée stérile …….....1000ml

Chlorure de sodium NaCl ……....9g

Cristal violet

Violet de gentiane ……...1g

Acide phénique……2 g

Alcool à 95% ……..10ml

Eau distillé ……..100ml

Lugol

Iode métalloïde I2 ……..1g

Iodure de potassium KI…….....2g

Eau distillée ……....100ml

Fuchsine

Fuchsine basique …….....1g

Acide phénique.....5g

Alcool à 95%.....10ml

Eau distillée…….....100ml

Bleu de bromothymol

Bleu de bromoyhymol...……..0.4g

Alcool 95° ……...20ml

Soude 0.1 mol/l…….....7.4ml

Eau déminéralisée…….....100ml

Rouge Congo

Rouge Congo……...1g

Ammoniaque filtrée…….....100ml

Solution d'urée

Urée …….20g

Eau distillée ……1000ml

Annexe 03 : Composition des milieux de culture utilisés.

Technique de préparation

Pour la préparation des milieux de culture, les ingrédients sont pesés à l'aide d'une balance puis mélangés au volume d'eau distillée (1000ml), homogénéisés et dissoutes totalement par chauffage et agitation sur une plaque chauffante. Après refroidissement à 50-60 °C, le milieu est distribué dans des flacons stériles à 250 ml en vue d'être stérilisé à 120°C pendant 15-20 min.

Certains milieux nécessitent l'adjonction de produits qui ne supportent pas l'autoclavage (solution d'urée), ces derniers doivent être stérilisés par filtration à l'aide d'un micro-filtre stérile de 0.22 µm de diamètre avant d'être apportés dans la gélose en surfusion.

TSB

Extrait pancréatique de la caséine……0.17g

Digestion papaique de Farine de soja.....…….....0.3g

NaCl…….....0.5g

K2HPO4…….....0.25g

Glucose Monohydrate…….....0.25g

TSA 1/10

TSB……...3g

Agar …….15g

TSA 1/10 semi solide

TSB……...3g

Agar …….7.5g

Gélose au lait

Peptone pancréatique ……...5g

Extrait de levure……2.5g

Glucose…….....1g

Lait écrémé……100 ml

Agar……..15g

TSA à amidon 1%

TSB ……..3g

Amidon ……10g

Agar …….15g

Milieu à base de peptone

Peptone……..….1g

Glucose……...1g

NaCl ……...5g

Na2HPO4 ……...1.2g

KH2PO4…….0.8g

Rouge de phénol …….0.012g

Solution d'urée……50ml

Agar……15g

Eau distillée…….950ml

Gélose au tween 80

peptone……10g

NaCl ……5g

CaCl2 2H2O……....0.1g

Tween 80 ……1%, v/v

l'Agar……18g

Milieu Carder

Na2HPO4……6g

KH2PO4……..3g

NaCl…….0.5g

NH4Cl……..1g

Extrait de levure……...3g

CMC (Carboxy-Méthyl-Cellulose)……...5g

Agar……..15g

Milieu à base de gélatine

TSB……3g

Gélatine …….12g

Agar ……..15g

Milieu JENSEN

CaCO3…….2g
K2HPO4……..1g
MgSO4.7H2O……..0.5g
NaCl…….0.5g
FeSO4.7H2O……0.1g
Na2MoO4.2H2O……..0.005g
Glucose…….....20g
Agar …….15g

Milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's phosphate)

Glucose ……10g
Ca3(PO4)2 ……...5g
(NH4)2SO4 …….0.1g
NaCl ……0.2g
MgSO4.7H2O …….0.25g
KCl ……..0.2g
Agar ……15g

Milieu Aleksandrov

Glucose……....5g
MgSO4.7H2O…….0.5g
CaCO3…….0.1g
FeCl3……0.006g
Ca3(PO4)2 ……...2g
Potassium aluminium silicate……...3g
Agar……..20g

Annexe 04 : Résultats des différents tests appliqués sur les souches isolées à partir du sol rhizosphérique.

Les tests / Les souches	Morphologie	Gram	Spore	Catalase	Oxydase	Lipase	Uréase	Fixation d' azote moléculaire	Solubilisation des phosphates	Solubilisation des potassiums
N6	Coccobacille	+	-	+	+	+	-	+	+	-
N24	Bacille	+	-	+	+	-	+	+	+	-
N1	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	-	-
N16	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	-	-
D1	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-
D11	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	+	-
D17	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	-	-
D19	Bacille	+	-	+	+	+	+	-	+	-
D20	Coccobacille	+	+	+	+	+	+	-	+	-
D4	Bacille	+	+	+	+	+	+	-	+	-
D5	Bacille	+	-	+	+	-	-	-	-	-
D6	Coccobacille	+	+	+	+	-	-	-	-	-
D7	Bacille	+	-	+	+	-	-	-	+	-
D8	Bacille	+	-	+	-	-	+	-	-	-
D30	Bacille	+	+	+	+	-	-	-	+	-
NH2	Bacille	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NH3	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NH43	Coccobacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-
NH51	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-
NH79	Bacille	+	+	+	+	+	-	+	+	-
NH1	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NH2	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NH5	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-
DH17	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	+	-
DH45	Bacille	+	+	+	+	-	+	-	+	-
DH5	Bacille	+	+	+	+	-	-	+	+	-
DH7	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-
DH8	Bacille	+	+	+	+	+	-	-	+	-