

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abderrahmane Mira - Bejaia

Faculté de sciences de la nature et de la vie
Département de Microbiologie
Microbiologie Fondamentale



Réf :.....

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Optimisation de la production de l'AIA par les souches
de *Bradyrhizobium*

Présenté par :

Mlle BABOURI Rima

Soutenu le : **12/09/2022**

Devant le jury composé de :

Mme SAIDANI Karima

MCB

Président

Mlle SALMI Adouda

MCB

Encadreur

Mlle BOUAOUD Yousra

MCB

Examineur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Je voudrais dans un premier temps remercier, ma promotrice madame SALMI .A, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion. Pour avoir relu et corrigé mon mémoire. Ses conseils ont été très précieux.

Je tiens à remercier Melle MERIEM KHIDER qui a partagé ses connaissances, tout en m'accordant sa confiance et une large indépendance dans l'exécution de mon travail. Pour m'avoir accordé son temps et avoir répondu à mes questions sur mon projet de fin d'étude.

Sans oublier de remercier les membres du jury d'avoir accepté la charge d'examiné ce travail.



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ce qui, quel que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie ma réussite et tout mon respect, mon père Khaled.

A la femme qui souffre sans qu'elle me laisse souffrir ; qui n'a jamais dit non, qui m'a épargné pour me rendre heureuse, mon adorable mère Salima

A mes deux chers frères Yanis et Mehdi et ma belle-sœur Marine qui n'ont pas cessé de m'encourager et de me soutenir tout le long de mes études, que dieu les protèges et leur offre la chance et bonheur.

A la mémoire de mes deux grande mère Djamila et Saida et celle de mon grand-père maternelle Mohamed qui nous ont quitté dernièrement, que dieu puisse les accueillir dans son vaste paradis.

A mes adorable petit amour Chaïma et Amine qui savent comment procurer la joie et le bonheur dans la famille

A toute mes tantes, mes oncles, cousins et cousines sans oublier tous mes amies ; merci pour vos amours et encouragements.



Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Rhizosphère 3	3
3 I.1. Microflore rhizosphérique 4	4
I.2. Bactéries rhizosphériques 4	4
I.3. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) 5	5
II. Biodiversité des PGPR dans la rhizosphère 5	5
II.1. Rhizobia 5	5
II.1.1. Genre <i>Bradyrhizobium</i> 5	5
III. Mécanismes d'action des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes 6	6
III.1. Mécanismes indirectes 6	6
III .1.1. Production des sidérophores 7	7
III .1. 2. L'Antibiose 7	7
III.1.3. Production d'acide cyanhydrique 8	8
III .2. Mécanismes directes 8	8
III .2.1. Solubilisation du phosphate 8	8
III .2. 2. Synthèse des phytohormones 9	9
III .2.3. Production de la 1_ amino_ cyclopropane carboxylate désaminase ACC 9	9
III .2.4. fixation de l'azote 10	10
IV. Phytohormones..... 10	10
IV.1. Classes des phytohormones 10	10
IV.1. 1. Auxines 11	11
IV.1.2. Acide indole-3-acétique 11	11

IV.1.3. Rôle de l'acide-3- indole acétique	11
IV.1.4. Structure chimique de l'acide indole-3- acétique	12
IV.1.5. Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique	12
IV.1.6. Production de l'acide indole-3-acétique par les <i>Bradyrhizobium</i>	14
IV.1.7. Mécanisme d'action des bactéries productrices de l'Auxine : Acide Indole-3-Acétique	14
IV.2.cytokinine	14
IV. 3. Gibberline	15
IV.4. Ethylène	15
IV.5. Acide abscissique	16

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

I. Matériel biologique	17
II. Méthodes	17
II.1. Revivification et standardisation de l'inoculum	17
II.2. Recherche de la production de l'Auxine : Acide Indole-3-Acétique (AIA)	17
II. 3.Optimisation de la production de l'auxine : Acide Indole-3-Acétique	18
II. 3.1. Optimisation de la composition du milieu de culture sur la production de l'AIA	18
II.3.1.1. Effet des différentes sources de carbone sur la production de l'AIA	19
II. 3.1.2. Effet des différentes sources d'azote sur la production de l'AIA	19
II.3.2. Optimisation des conditions de culture sur la production de l'AIA	19
II.3.2.1. Effet du pH sur la production de l'AIA	19
II.3.2.2. Effet de la température sur la production de l'AIA	20

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I. Recherche de la production de l'Auxine : Acide Indole-3-Acétique (AIA)	21
II. Optimisation de la production de l'Auxine : Acide Indole-3-Acétique (AIA)	22
II.1.Optimisation de la composition du milieu de culture sur la production de l'AIA	22
II.2. Optimisation des conditions de culture sur la production de l'AIA	25
Conclusion	29

Liste des tableaux

Tableau I : résultats de l'effet des sources du carbone sur la production de l'AIA (moyennes des DO 530 nm)..... (Annexe 4)

Tableau II : résultats de l'effet des sources d'azote sur la production de l'AIA (moyennes des DO 530nm).....(Annexe 4)

Tableau III : résultats de l'effet du pH sur la production de l'AIA (moyennes des DO 530 nm).....(Annexe 4)

Tableau IV : résultats de l'effet de la température sur la production d'AIA (moyennes des DO530nm)..... (Annexe 4)

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère	3
Figure 2 : Représentation schématique de la promotion directe et indirecte de la croissance des plantes.....	6
Figure 3 : Structure chimique d'auxine naturelle (AIA)	12
Figure 4 : Voie de la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique dépendante du tryptophane...13	
Figure 5 : Protocole expérimentale recherche AIA sur milieu YMB modifié	18
Figure 6 : Production d'AIA par les six souches, apparition de la coloration rose.....	21
Figure 7 : Résultats des concentrations d'AIA produites sous l'effet des différentes sources de carbone par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207).....	23
Figure 8 : Résultats des concentrations d'AIA produites sous l'effet des différentes sources d'azote par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207).....	24
Figure 9 : Résultats des concentrations d'AIA produites par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207) sous l'effet de la variation du pH.....	26
Figure 10 : Résultats des concentrations d'AIA produites par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207) sous l'effet de la variation de température d'incubation.....	27
Figure 11 : Courbe d'étalonnage d'AIA	(Annexe3)

Liste des abréviations

AIA : Acide indole acétique.

PGPR : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes.

HCN : Acide cyanhydrique.

PSB : Les rhizobactéries solubilisant le phosphate.

ACC : Acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique.

ABA : Acide abscissique.

AG : Gibberline.

IPyA : Indole-3-pyruvate.

IAM : Indole-3-acétamide.

IAN : Indole-3-acétonitrile.

D.O : Densité optique.

L'application inappropriée d'engrais chimiques dans l'agriculture a entraîné de nombreux effets négatifs notamment la pollution environnementale (Chen et al., 2021) qui a des effets néfastes sur les écosystèmes terrestres et atmosphériques. Il s'agit d'un problème mondial partagé par tous les pays. Cependant, les mesures visant à trouver des solutions écologiquement durables sont considérées comme trop coûteuse (Canipari et al., 2020). L'agriculture biologique serait une alternative très prometteuse pour minimiser l'utilisation d'engrais synthétiques considérée respectueuse pour l'environnement (Maçik et al., 2020).

La rhizosphère favorise le développement et l'activité d'une communauté microbienne immense et diversifiée, dont des microorganismes capables de favoriser la croissance des plantes (Baliyan et al., 2021). Les bactéries associées aux racines des plantes et qui ayant la capacité de promouvoir sa croissance sont appelées « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » (PGPR) (Rehman et al., 2020). Leur utilisation comme biofertilisants s'est avérée très intéressante dans les pratiques agricoles durables (Goswami et al., 2016).

La promotion de la croissance des plantes est accomplie à la fois par des mécanismes directs et indirects (Mustafa et al., 2019) tels que la solubilisation du phosphate, la synthèse d'hormones de croissance, la fixation biologique de l'azote, la production de 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate déaminase et de sidérophores (Niehaus et al., 2020).

La production de phytohormones microbiennes est un mécanisme efficace de régulation de la physiologie des plantes (Backer et al., 2018), le régulateur de croissance le plus important est l'auxine, appelée « acide indole 3-acétique » (AIA). Il est naturellement synthétisé par les plantes. Remarquablement, près de 80 % des bactéries rhizosphériques peuvent également le produire et le libérer sous forme de métabolite secondaire (Mustafa et al., 2019).

Dans cette étude, la recherche de cette phytohormone chez des souches symbiotiques du genre *Bradyrhizobium* a été effectuée. Par la suite, l'influence de divers facteurs sur la capacité de ces souches à produire de l'AIA a été déterminée, ceci dans le but d'améliorer le rendement de l'association *Bradyrhizobium-Légumineuse* hôte en optimisant les paramètres physicochimiques influents.

Ce travail est reparti en trois chapitres, un premier chapitre présenté sous forme d'une synthèse bibliographique, contenant principalement des généralités sur les bactéries

favorisant la croissance des plantes (PGPR) et sur la production de l'acide indole acétique (AIA). Le deuxième chapitre décrit le matériel et la méthodologie de travail adoptée dans cette étude afin de répondre à l'objectif de notre étude. Le dernier chapitre est consacré à la représentation des différents résultats obtenus et leur discussion. Ce travail s'achève par une conclusion générale des principaux résultats obtenus et des perspectives.

I. Rhizosphère

Le mot « rhizosphère » (étymologiquement, rhiza : racine, sphère : ce qui entoure) a été introduit pour la première fois en 1904 par le chercheur Allemand Lorenz Hiltner (Agossou Noumavo et *al.*, 2016) proposé pour décrire la zone qui entoure la racine et qui est directement ou indirectement affectée par cette dernière. De nos jours, ce terme est considéré comme étant le lieu d'échange et d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes. Ces interactions sont dépendantes des conditions physiques du milieu et des microorganismes y résidents. (Hakim et *al.*, 2021)

La rhizosphère est répartie en trois composants distincts (Figure1) qui interagissent (Kenneth et *al.*, 2019) à savoir :

- L'ectorrhizosphère : elle correspond au sol qui adhère à la racine et qui reste attaché à celle-ci après une secousse vigoureuse.
- Le rhizoplan : correspond à l'interface entre le sol et la racine.
- L'endorrhizosphère : est l'espace intercellulaire entre les tissus racinaire, habité par des bactéries endophytes, qui ne forment pas de structures symbiotiques (Pac et *al.*, 2016)

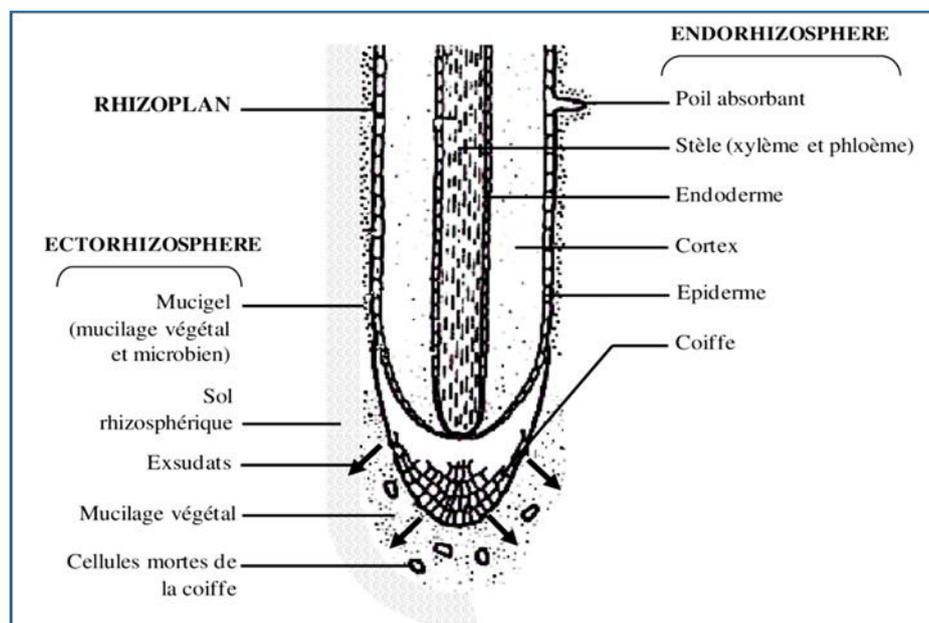


Figure 1 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère (Lynch 1983)

I.1. Microflore rhizosphérique

La microflore du sol est assez complexe et très hétérogène, elle comporte principalement les bactéries, les champignons, les protozoaires, les virus et les algues. Toutefois, les bactéries et les champignons sont les microorganismes les plus dominants (Hakim et al ., 2021 ;Kenneth et al ., 2019)

Les communautés microbiennes de la rhizosphère représentent un sous ensemble de microorganismes telluriques avec une population microbienne importante (environ 10^8 - 10^9 UFC/g de sol) (Pac et al ., 2016). La diversité et la composition de cette population sont en fonction à la fois des espèces végétales et des propriétés du sol (Ling et al ., 2022).

L'activité microbienne joue un rôle crucial dans le fonctionnement des plantes en affectant leur physiologie et leur développement. Alors que nombreux membres du microbiome rhizosphérique sont bénéfiques pour la croissance des plantes, des microorganismes phytopathogènes colonisent également la rhizosphère, brisant les boucliers microbiens protecteurs et surmontant les mécanismes de défense innés de la plante dans le but de provoquer des maladies des plantes (Ahemad et Kibret., 2014).

I.2. Bactéries rhizosphériques

La rhizosphère est peuplée par une gamme diversifiée de microorganismes et les bactéries qui colonisent cet habitat sont appelées « rhizobactéries » (Valente Lima et al ., 2021). Ces dernières contribuent significativement dans l'améliorer de la productivité des cultures (Menon et al ., 2020)

Ces micro-organismes procaryotes sont très variés, leur diversité et leur localisation dans le sol leur permettent une forme de synergie avec les plantes. Tandis que certaines bactéries recyclent les matières végétales mortes, d'autres possèdent la capacité de fournir une protection contre les agents phytopathogènes et de stimuler la croissance des plantes (Souza et al ., 2020) ; en mobilisant les nutriments dans le sol, en produisant de nombreux régulateurs de croissance des plantes, en protégeant les plantes des phytopathogènes, et en améliorant la structure des sols.(Nehra et al .,2015). Elles sont fréquemment mentionnées comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes PGPR (plant Growth promoting Rhizobacteria) car elles sont bénéfiques en agriculture. (Beneduzi et al ., 2012)

I.3. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Le terme « rhizobactéries favorisant la croissance des plantes » a été proposé pour la première fois par Kloepper et Schroth en 1981 et a été utilisé spécifiquement pour les *Pseudomonas fluorescents* impliqués dans la lutte biologique (Gupta *al.*.,2015).

Les PGPR jouent un rôle clé dans les systèmes sol-plante (Jeéthi et Kanimozhi ., 2018). Ils sont capables de se loger et de coloniser les racines (Ahemad et Kibret .,2014), cette colonisation entraîne la stimulation de la croissance, la modification de l'architecture des racines et des pousses ainsi que la synthèse de métabolites secondaire (Tsukanova et *al.*.,2017).

L'application des dernières techniques modernes dans le but d'améliorer les PGPR peut être la clé d'une agriculture durable en améliorant la fertilité des sols, la tolérance des plante, la productivité des cultures et en maintenant un cycle équilibré des nutriments (Tsukanova Ket *al.*.,2017).

II. Biodiversité des PGRP dans la rhizosphère

Une vaste communauté microbienne habite la rhizosphère, parmi laquelle des bactéries spécialisées connues sous le nom de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Wang et *al.*., 2021). Ces dernières appartiennent à cinq principaux groupes : *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*. Il est rapporté que les PGPR les plus étudiés de ces taxons sont : *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, les PGPR diazotrophes (*Bradyrhizobium*, *Rhizobium*), *Pseudomonas*, *Azoarcus*. (Verma et *al.*., 2019 ;Contador et *al.*.,2020)

II.1.Rhizobia

Le terme général « rhizobium » comprend toutes les bactéries qui induisent la Formation de nodules racinaires ou parfois sur les tiges des légumineuses hôte. D'après (De lajudie et *al.*., 2019) sur le plan taxonomique, les rhizobia représentent plusieurs lignées au sein des *Proteobacteria* elles appartiennent à des genres d'*alpha-protéobactériens* de la famille des *Rhizobiaceae* .

Les rhizobia sont des bactéries diazotrophes communes a Gram-négatives vivantes dans le sol, ces bactéries possèdent la capacité de fixer l'azote atmosphérique en établissent des

relations symbiotiques avec les légumineuses en formant généralement des nodules au niveau des racines ou des tiges. (Lindström et Mousavi ., 2020)

La croissance optimale de la plupart des souches se situe entre 25°C et 30°C et un pH de 6 à 7. Elles se développent généralement sur milieu YMA (Yeast Mannitol Agar), sur lequel les colonies de rhizobia apparaissent sous forme circulaire, souvent punctiformes, blanches ou crèmes, opaques ou laiteuses, humides, translucides et peuvent être brillantes. Les colonies jaunes sont pâles et sont rencontrées surtout dans les cultures âgées (Hamdaoui et Hammiche ., 2019).

II.1.1. Genre *Bradyrhizobium*

Bradyrhizobium est considéré comme l'un des principaux genres de rhizobia. Cette bactérie du sol possède la capacité de fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les légumineuses en formant des nodules au niveau des racines (Ormeño-Orrillo et Martínez-Romero ., 2019).

Ils sont décrits comme des bacilles à Gram négatif, de formes irrégulières, ou en forme de massue. Leurs tailles et leurs formes varient en fonction de l'âge. Cependant leurs dimensions est d'un diamètre situé entre (1,2 à 3,0 par 0,5 à 0,9 millimètre) (AGRIOS .,2005). Sur le plan taxonomique le *Bradyrhizobium* est le genre le plus grand et le plus diversifié, il appartient au phylum des *Proteobacteria* (Berrada et Fikri-Benbrahim ., 2014)

III. Mécanismes d'action des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

Les effets bénéfiques des bactéries de la rhizosphère sur la croissance végétale proviennent des différents mécanismes exercés par les PGPR (Figure 2) dont les modes d'action impliqués sont directs ou indirects Ils varient souvent en fonction du type de la plante hôte (Carlson et al ., 2020).

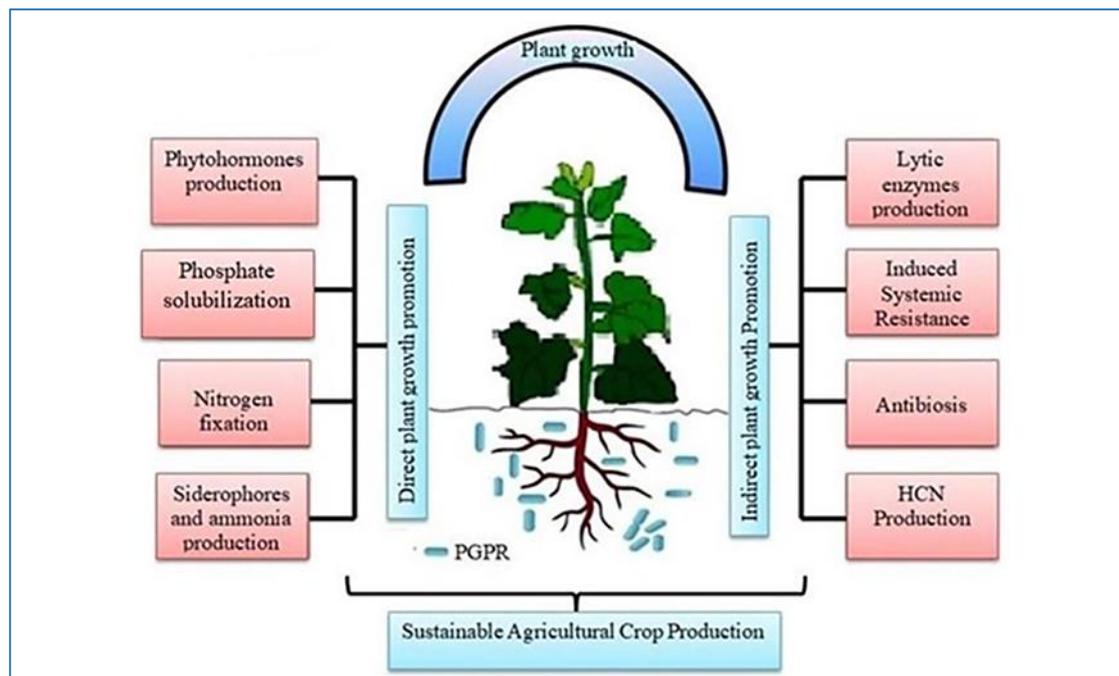


Figure 2 : Représentation schématique de la promotion directe et indirecte de la croissance des plantes (Mekonnen et Kibret ., 2021)

III .1. Mécanismes indirectes

Les mécanismes indirects ont lieu généralement en dehors de la plante. Les PGPR réduisant les effets inhibiteurs de divers agents pathogènes sur la croissance et le développement des plantes sous forme d'agents de biocontrôle, les protégeant ainsi des infections des plantes causées par ces agents pathogènes. Ce mécanisme est souvent médié par (Ahemad, et Kibret .,2014) : la production d'antibiotiques, la compétition pour les niches dans la rhizosphère, l'induction d'une résistance systémique(ISR) (Kang et *al* ., 2017), la promotion de symbioses plantes-microbes bénéfiques ainsi que l'interférence avec la production de toxines pathogènes. (Bhattacharyya et Jha ., 2012)

III .1.1. Production des sidérophores

Les sidérophores sont un groupe de molécules de faible poids moléculaire (400-1500 Da) ayant une grande affinité avec les ions ferriques. Ces petites molécules organiques sont produites par de nombreux micro-organismes en réponse à une carence en fer. (Souza et *al* ., 2019)

La production de sidérophores est l'un des mécanismes les plus utilisés par les champignons pathogènes pour l'acquisition du fer, considéré comme un élément essentiel au succès de l'infection. Cette production procure également un avantage compétitif au PGPR qui a les capacités de coloniser les racines et d'éliminer les autres microorganismes (Silva et al., 2020; Beneduzi et al., 2012)

Le mécanisme d'action des microorganismes producteurs des sidérophore, consiste à se lier d'abord à une forme ferrique du fer, ensuite à former un complexe sidérophore-fer qui pénètre dans la cellule via des récepteurs sidérophores hautement spécifiques présents dans la membrane cellulaire (Menon et al., 2017).

III .1.2.L'antibiose

L'antibiose est le mécanisme le plus souvent associé à la capacité des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) à agir comme des agents antagonistes contre les phytopathogènes.(Gupta et al., 2015). Ce mécanisme efficace est l'une des stratégies du biocontrôle par les PGPR les plus étudiées (Kenneth et al., 2019).

La production d'antibiotique par les PGPR leur confère un avantage compétitif dans la rhizosphère, en éliminant ou en arrêtant la croissance de nombreux pathogènes bactériens et fongiques (Santoyo et al., 2021). Leur mécanisme d'action consiste à inhiber la synthèse de la paroi cellulaire des agents pathogènes, à affecter la structure membranaire des cellules et à inhiber la formation de complexes d'initiation sur de petites sous-unités du ribosome (Jeyanthi et Kanimozh., 2018).

III .1.3. Production d'acide cyanhydrique

Certains rhizobactéries ont la capacité de sécréter plusieurs composants volatils dont le HCN. La production de l'acide cyanhydrique est l'un des mécanismes essentiel par lesquels les PGPR contribuent à l'amélioration de la croissance des plantes liées à la lutte biologique (Manoj et al., 2020).

Les cyanides sont des métabolites secondaires formés à partir de la glycine et catalysée par l'enzyme HCN synthase. Sa production est principalement associée aux bactéries gram- négatif tel que *Pseudomonas sp.* (Kenneth et al., 2019)

Le HCN est généralement synthétisé par le PGPR en faibles quantités, ce qui empêche le développement d'une résistance chez les champignons. De plus, des rapports récents suggèrent que le HCN microbien possède la capacité d'inhiber la croissance du mycélium de champignons pathogènes tout en inhibant la synthèse du cytochrome oxydé et médié par l'ATP. (Sehrawat et al., 2022)

III .2.Mécanismes directes

Les mécanismes directs se produisent à l'intérieur de la plante. Les effets directs des PGPR englobent deux activités principales, à savoir la biofertilisation (la solubilisation du phosphate, la fixation de l'azote), et la phytostimulation via la production d'hormones végétales. (Mustafa et al., 2021) comme l'acide indole acétique (AIA) (Jeyanthi et Kanimozhi., 2018).

III .2.1.Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est l'un des nutriments essentiels à la croissance et au développement des plantes après l'azote. Bien que cet élément soit abondant dans la plupart des sols, il est rarement disponible sous des formes assimilables par les plantes. (Aloo et al., 2020). Ce composant vital joue un rôle important dans le métabolisme des plantes. (Qureshi et al., 2012).

La solubilisation du phosphate a été principalement associée à la libération d'acides organiques de faible poids moléculaire tels que (les acides citrique, oxalique, malique et gluconique ...etc), qui chélatent les cations liés au phosphate par le biais de leurs groupes hydroxyle et carboxyle. Ces derniers les convertissant en une forme assimilable pour la plante (Mendoza-Arroyo et al., 2020)

Les rhizobactéries solubilisant le phosphate (PSB) constituent une alternative durable comme des agents biofertilisants en agriculture, leur importance a bien été documentée en raison de leur rôle crucial dans le cycle du phosphore du sol. (Maldonado et al., 2020)

III .2.2. Synthèse des phytohormones

Les régulateurs de croissance végétale sont principalement divisés en 5 classes majeures à savoir : la cytokinine, l'éthylène, la gibbérelline (GA) et l'acide abscissique

(ABA) et l'auxine ont une influence directe sur la croissance et le développement des plantes. (Shi et *al.*,2017)

L'acide indole-3-acétique (AIA) est l'une des phytohormones les plus importantes, il s'agit d'un métabolite secondaire synthétisé à partir du précurseur L-Tryptophane qui est produit par la majorité des rhizobactéries. L'AIA est impliquée dans de nombreux processus biologiques pour le développement des plantes. (Lebrazi et *al.*.,2020).

De nombreux processus de germination, d'induction florale, de développement des fleurs et des fruits incluent l'implication de la gibbérelline (GA), qui représente l'une des cinq classes des phytohormones. (Vejan et *al.*., 2016)

III .2.3. Production de la 1-Amino-cyclopropane-1-carboxylate désaminase ACC

L'AAC a été identifié par Adams et Yang (1979) comme précurseur de l'éthylène à partir des expériences d'alimentation sur les tissus de pomme en utilisant de la méthionine radiomarquée. (De Poel et Van Der Straeten ., 2014)

L'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) est un acide aminé non protéique qui occupe un rôle centrale lors de la biosynthèse du éthylène, en raison de sa capacité à agir sur la majorité des mécanismes de régulation de la biosynthèse de cette phytohormone gazeuse (Vanderstraeten et van Der Straeten .,2017).

Depuis l'étude de Mayak et al, (2004) d'autres chercheurs ont utilisé des PGPR producteurs d'ACC -désaminase pour promouvoir la production de cultures et réduire les pertes de rendement dans les cultures exposées au stress hydrique. (Ojuederie et *al.*.,2019)

III .2.4.Fixation de l'azote

La fixation d'azote est l'un des mécanismes directs exercé par les PGPR afin de s'opposer aux bactéries délétères et de promouvoir la croissance des plantes (Rehman et *al.*., 2020).

Cette fixation biologique de l'azote (N₂) atmosphérique est une activité microbienne importante pour le maintien de la vie sur le globe terrestre, car elle fournit un moyen de

recycler l'azote et joue un rôle important dans l'homéostasie de l'azote dans la biosphère. (Kenneth et *al.* , 2019 ; Sumbul et *al.* ,2020)

Les PGPR jouent un rôle majeur dans la fixation de l'azote et le rendent assimilable pour les plantes (Jeyanthi et Kanimozhi .,2018) via le processus de fixation qui permet d'immobiliser l'azote présent dans l'atmosphère (N₂) sous sa forme la plus stable et de le convertir en azote biologiquement utilisable par l'activité de la nitrogénase, une enzyme qui réduit l'azote atmosphérique N₂ en ammoniac NH₃ (Vertès et *al.* ,2010).

IV. Phytohormones

La croissance, le développement et la réponse des plantes à l'environnement sont médiés par un groupe de molécules de signalisation appelées « phytohormones » (Anfang et Shani .,2021). Ces phytohormones sont de petites molécules organiques dérivées de diverses voies métaboliques qui sont naturellement produites par les plantes, et également issu de la flore microbienne du sol. (Wagi et Ahmed ., 2019 ; Eichmann et *al.* , 2021).

De nombreuses bactéries de la rhizosphère libèrent ces phytohormones responsables de la régulation de la croissance de la plante et interviennent dans la communication entre plantes et microorganismes. (Moore ., 2012). De ce fait ces rhizobactéries possèdent la capacité de modifier le statut hormonal des plantes car elles ne jouent pas un rôle biologique unique dans les plantes, mais jouent un rôle sophistiqué et efficace à divers stades de leur développement (YU et *al.* , 2020)

IV.1. Classes des phytohormones

Cinq principaux types d'hormones végétales ont été identifiées à savoir : la gibbérelline, la cytokinine, l'éthylène, l'acide abscissique (li et *al.* , 2018) et l'auxine présenté par l'acide indole-3-acétique (AIA) qui est la principale auxine endogène des plantes supérieures (li et *al.* , 2018).

IV.1.1. Auxines

Le terme "auxine" a été inventé par les biochimistes Charles Darwin et son fils Francis. Ce terme est dérivé du mot grec "auxein", qui signifie "augmenter" ou "croître"(Shih-Feng et *al.*,2015). Elle est la première hormone végétale à avoir été découverte (Aoi et *al.* , 2020) en 1928, l'auxine diffusée a été isolé par le botaniste

néerlandais Fritz W. Went a partir des extrémités des coléoptiles de feuilles d'avoine dans un bloc de gélatine (Masuda *et al.* , 2000).

Cette molécule de signalisation est le principal régulateur de croissance des plantes produit par les (PGPR). Elle est impliquée dans de multiples processus de développement tels que : l'embryogenèse, l'organogenèse, la détermination et la division cellulaire (Benjamins *et al.* , 2005). Il existe d'autres molécules d'auxines naturelles actives mais l'auxine la plus importante est l'acide indole-3- acétique, et sa production est très répandue parmi les bactéries qui colonisent la rhizosphère des plantes (Casanova-Sáez *et al.* ,2021; Lin *et al.* ,2018)

IV.1.2.Acide indole-3-acétique

L'acide indole-3-acétique est le représentant naturel prédominant de la classe des auxines chez les plantes supérieures. (Cutler et Nelson .,2017) L'AIA est principalement produit sur les méristèmes apicaux des bourgeons et des racines par de nombreux groupes diversifiés de rhizobactéries (Lin *et al.* , 2018 ; Veerasamy *et al.* , 2021).

La production d'AIA a été reconnue comme un facteur important dans les capacités de promotion directe de la croissance des plantes des bactéries de la rhizosphère (Jeyanthi et Kanimozhi .,2018).

IV.1. 3. Rôle de l'acide indole-3-acétique (AIA)

L'hormone végétale acide indole-3-acétique (AIA) est l'un des signaux majeurs impliqués dans la communication entre l'hôte et les endophytes (Lebrazi *et al.* , 2020). L'examen du rôle de l'AIA a révélé que les bactéries utilisent cette phytohormone pour établir des interactions avec les plantes dans le cadre de leurs stratégies de colonisation, y compris la stimulation des plantes et l'intervention dans les mécanismes de défense de base de la plante. (Spaepen *et al.* ,2007)

Après sa production, une partie est absorbée par la plante et ajoutée à l'AIA endogène de la plante pour stimuler la prolifération cellulaire et la croissance des racines dans la plante. (Ahmad *et al.* , 2005).

IV.1.4.Structure chimique de l'acide indole-3-acétique (AIA)

L'acide indole-3-acétique est un acide organique faible de formule chimique $C_{10}H_9NO_2$ (Laird et al., 2020), dont la structure (figure 3) est similaire à celle de l'acide aminé tryptophane, cette molécule est formée d'un noyau indole et d'une chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle. Sa structure cristalline montre que les molécules s'associent par deux en dimères connectés par des liaisons hydrogène. (Paque et Weijers., 2016).

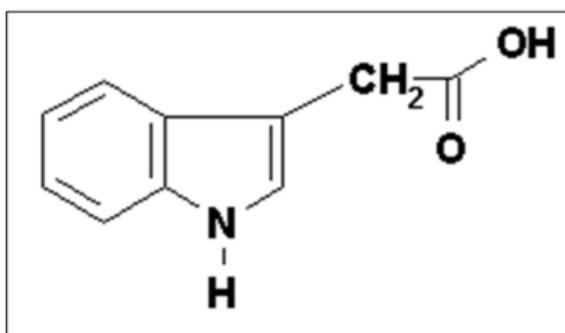


Figure 3: Structure chimique d'auxine naturelle (AIA) (le Bris., 2017).

IV.1.5. Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique

L'acide indole-3-acétique est une molécule formée par divers voies de biosynthèse, elle peut être synthétisée de manière dépendante et indépendante du tryptophane (Mano et al.; 2012) en utilisant l'indole-3-glycérol phosphate comme précurseur dans ce cas pour la biosynthèse (spaepen et al., 2007).

Trois voies principales de biosynthèse (figure 4) de l'AIA chez les plantes ont été identifiées et classées en fonction de leurs intermédiaires : IPyA (Indole-3-pyruvate), IAM (Indole-3-acétamide), IAN (Indole-3-acétonitrile) (Duca et al., 2014).

La première voie est la conversion du tryptophane en indole-3-pyruvate (IPYA) par l'activité de la famille de TAA amino-transférases, l'IPyA est d'abord décarboxylé en indole-3-acétaldéhyde (IAALD) par l'indole-3-pyruvate décarboxylase (IPPC), ensuite (IAALD) subit une oxydation afin d'arriver à la production de l'AIA (Olatunji et al., 2017).

La deuxième voie est la biosynthèse de l'AIA par la formation d'acide Indole-3-acétamide (IAM) elle est considérée comme la principale voie de synthèse de l'AIA par les rhizobactéries (Zhang et al., 2019), le tryptophane est d'abord converti en IAM par

l'enzyme trypto-phan-2-monooxygénase (IaaM). Puis l'IAM est transformé en AIA par l'activité d'IAM hydrolase (IaaH). (Zhao ., 2012).

La troisième voie est la formation de l'acide indole-3- acétique via l'acide Indole-3- acétonitrile par l'action d'une nitrilase (Duca et *al* .,2020). Cette voie de biosynthèse a été découverte chez la bactérie phytopathogène *Agrobacterium tumefaciens* et chez la bactérie légumineuse *Rhizobium* (Kobayashi et *al* .,1995).

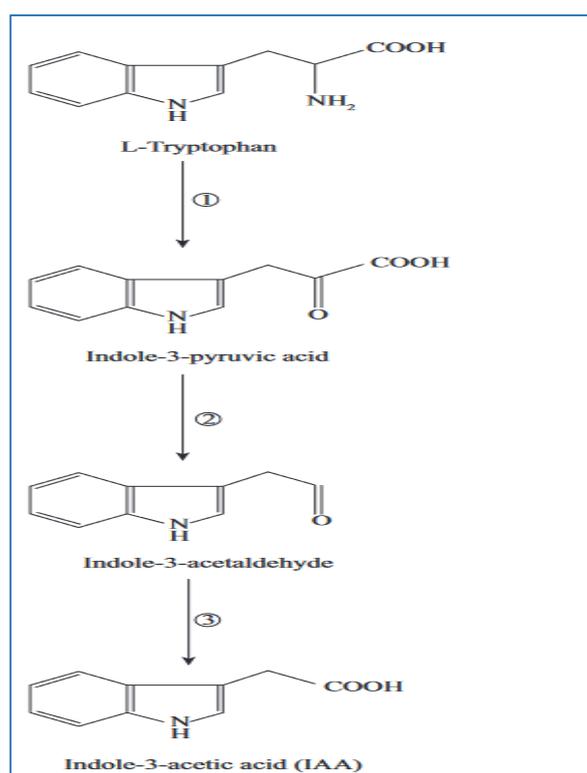


Figure 4: Voie de la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique dépendante du tryptophane. Les enzymes impliquées sont (1) le tryptophane aminotransférase ; (2) l'indole-3-pyruvate décarboxylase ; (3) l'indole-3-acétaldéhyde oxydase. (Elbakyan.,2020)

IV.1.6. Production de l'acide indole-3-acétique par les *Bradyrhizobium*

La capacité de produire de l'acide indole-3-acétique ne se limite pas aux plantes, les bactéries du sol tel que *Bradyrhizobium* sont capables de produire de l'AIA, cette capacité a été démontrée après inoculation de soja (Torres et *al* ., 2021). En outre de la synthèse d'acide indole-3-acétique, une diversité substantielle de microorganismes tels que : *Pseudomonas*, *Arthrobacter* et *Bradyrhizobium*, possèdent également la capacité de transformer ou de

dégrader l'AIA puis l'utiliser comme source de carbone et d'azote (Sun et al., 2018), ce qui soulève des questions sur la signification écologique de l'auxine. (Donoso et al., 2016)

La biosynthèse bactérienne de l'AIA peut être dépendante du tryptophane ou indépendante du tryptophane. (Duca et Glick., 2020) à l'heure actuelle, Six voies de biosynthèse ont été proposées chez les bactéries, dont la plupart utilisent le tryptophane comme précurseur. Chez les procaryotes, la biosynthèse de l'AIA semble suivre principalement deux voies principales : les voies IAM et IPyA (Torres et al., 2018)

Des études actuelles suggèrent que *Bradyrhizobium japonicum* peut être un organisme approprié pour une utilisation en tant que promoteur de croissance des plantes. (Kiruthika et Arunkumar., 2021)

IV.1.7. Mécanisme d'action des bactéries productrices de l'auxine : Acide Indole-3-Acétique (AIA)

Le mécanisme le plus fréquemment cité pour expliquer l'action directe des bactéries (PGPR) sur les plantes est la production d'hormones végétales, y compris l'auxine (AIA). (Duca et Glick., 2020). Ces bactéries améliorent la croissance des plantes, et l'absorption d'eau et de nutriments en favorisant le développement des racines et en augmentant le rapport surface/volume des racines. (Wagi et Ahmed., 2019).

De nombreuses espèces bactériennes ont la capacité de produire la phytohormone acide indole acétique (AIA), cependant les interactions entre les bactéries productrices d'AIA et les plantes entraînent des résultats divers du côté de la plante, allant de la pathogenèse à la phytostimulation (Spaepen et al., 2007).

IV.2. Cytokinine

C'est une hormone végétale, découverte à l'origine pour réguler la division cellulaire. Elle a ensuite été décrite comme étant impliquée dans la régulation de nombreux processus de développement des plantes. (Shudo., 1994). Cette phytohormone fait partie d'un réseau génétique essentiel qui contrôle le développement et la croissance des organes, et joue également un rôle crucial dans la réponse au stress biologique et abiotique. (Werner et Schmülling., 2009)

L'action des cytokinines conduit à la dominance apicale, l'expansion et la sénescence des feuilles, la mobilisation des nutriments, ainsi qu'à la différenciation des chloroplastes et l'activation du méristème des pousses. (Maxwell et Kieber.,2010)

La production de cytokinine via PGPR est une alternative innovante pour améliorer la croissance des plantes et peut être un moyen durable d'augmenter le rendement et la qualité des cultures. (Osugi et Sakakibara.,2015).

IV. 3. Gibberline

La gibbérelline fait partie d'un groupe d'acides carboxyliques diterpénoïdes tétracycliques naturels. Synthétisée à partir de plantes supérieures, de champignons ou de bactéries. La molécule (GA) a été localisée pour la première fois dans le champignon pathogène « **Gibberella fujikuroi** ». (Leitão et Enguita.,2016)

Dans la plupart des plantes, l'AG a été signalée comme étant une hormone essentielle dans de nombreux processus de développement des plantes comme : la germination des graines, l'allongement des organes et l'expansion induite par la croissance cellulaire. (Binenbaum et *al.*, 2018)

La promotion de la croissance des plantes par les PGPR producteurs des phytohormones gibbérelline a été rapportée dans plusieurs études, et cet effet bénéfique et avantageux sur la biomasse végétale est souvent associé à un accroissement de gibbérelline synthétisée à l'intérieur des tissus végétaux. (kang et *al.*.,2012)

IV.4. Ethylène

L'éthylène (C₂H₄), est l'hydrocarbure insaturé le plus simple, néanmoins il peut influencer un large éventail d'activités végétales (Larsen.,2015 ; Miransari et Smith., 2014). Généralement produit en réponse à de multiples stress (Dubois et *al.*., 2018).

L'éthylène est une hormone végétale multifonctionnelle (Iqbal et *al.*.,2017) qui régule de nombreux aspects du cycle de vie d'une plante, notamment la germination des graines, la formation des racines, le développement des fleurs, et la maturation des fruits. En revanche les concentrations élevées d'éthylène induisent l'inhibition de l'élongation des racines ainsi que la nodulation des espèces de *Rhizobium*. Grâce au mécanisme de réduction de cette phytohormone, les PGPR produisant de l'ACC-deaminase régulent le niveau l'éthylène dans la plante. (Pacôme et *al.*., 2016)

IV.5. Acide abscissique

L'ABA est un acide faible à 15 atomes de carbone qui a été identifié pour la première fois au début des années 1960 par Frederick ADDICOT, signalé à l'origine comme étant une substance qui contrôle l'abscission des fruits du coton. Nommée abscisine (Finkelstein.,2013).

Paradoxalement, des études ultérieures ont rapporté que l'abscisine favorise également l'abscission des feuilles dans les plantes de coton et inhibe la croissance des coléoptiles. Actuellement cette molécule a été rebaptisé acide abscissique (ABA). (Humplík et al ., 2017)

Il a été démontré que l'ABA induit différents mécanismes de résistance (Alazem et al .,2007), contrôlant ainsi l'invasion des feuilles par les agents bactériens via une voie de signalisation dans les cellules des stomates pour activer l'ouverture et la fermeture. (Lim et Lee ., 2015). En outre, l'acide abscissique régule le développement et la germination des graines, ainsi que l'adaptation de tissus végétatives conditions de stress environnemental. (Finkelstein., 2013).

Plusieurs bactéries produisent cette phytohormone dans les cultures telles que *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *Escherichia coli* (Karadeniz et al., 2006).

Dans le but d'optimiser la production de l'acide indole acétique (AIA) par les bactéries du genre *Bradyrhizobium*, une série de tests expérimentaux ont été réalisés au niveau du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'Université de Bejaïa, et ce durant la période de Juin-Juillet 2022. Dans cette partie nous décrivons le matériel biologique utilisé ainsi que les méthodes adoptées pour la réalisation de notre recherche.

I. Matériel biologique

Dans cette étude, six souches bactériennes ont été utilisées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381 et Csa207), isolées à partir des nodules racinaire de *Calicotome spinosa* dans différentes régions d'Algérie et identifiées comme appartenant au genre *Bradyrhizobium*, faisant partie de la collection du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'Université de Bejaïa.

II. Méthodes

II. 1. Revivification et standardisation de l'inoculum

La revivification des souches conservées à -80°C a été faite par ensemencement sur le milieu gélosé YMA (Yeast Mannitol Agar) (annexe1) puis incubée à 28°C pendant 10 jours.

Pour la préparation de l'inoculum, des tubes à essai contenant 5 ml du bouillon YMB (annexe1) ont été inoculés avec quelques colonies puis incubés à 28°C pendant 6 jours. Par la suite la D.O. à 630nm a été ajustée entre 0,08 et 0,1 en utilisant un spectrophotomètre UV-visible, permettant ainsi de standardiser l'inoculum à 10^7 cellules /ml.

II.2. Recherche de la production de L'auxine : Acide Indole-3-Acétique (AIA)

La capacité des six souches à produire de l'acide indole -3-acétique a été déterminée en se conformant à la méthode de Sheela *et al.*,(2018) modifiée (Figure5).

Le milieu YMB stérile a été additionné de 0.5 % de L-tryptophane après filtrations ($\text{Ø} = 0.22 \mu\text{m}$) sous la hotte à flux laminaire. Des tubes contenant 5ml de ce milieu ont été inoculés avec 10^7 cellules /ml des suspensions des souches étudiées. Trois répétitions ont été faites pour chaque souche et un témoin sans inoculation est également inclus. L'incubation a été faite à 28°C pendant 6 jours.

Les cultures bactériennes ont été centrifugées à 14000 tr /min pendant 5 min, ensuite 1 ml du surnageant a été récupéré et ajouté à 2 ml du réactif de Salkowski (annexe 2).

Après l'incubation du mélange pendant 30 min à l'obscurité, l'apparition de la couleur rose traduit la production de l'AIA par la souche. Leurs absorbances ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur de 530 nm.

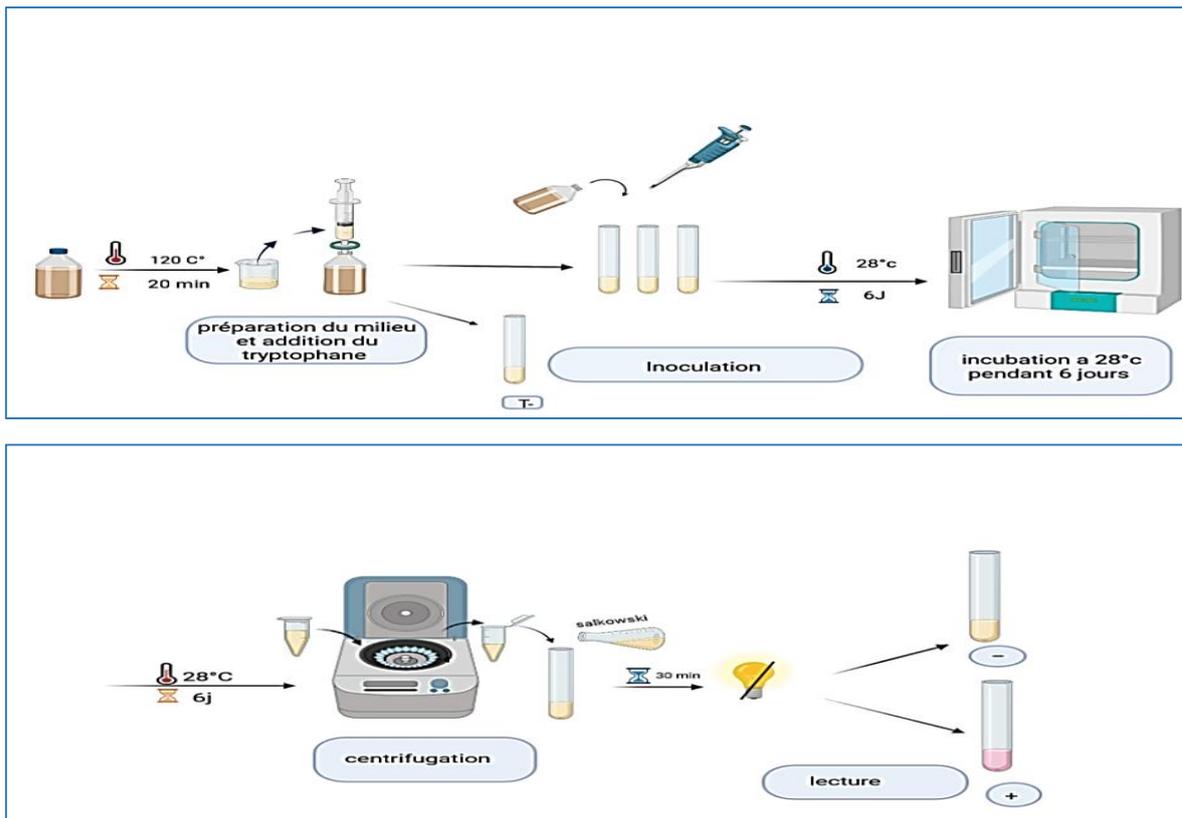


Figure 5 : Protocole expérimentale recherche AIA sur milieu YMB modifié

La quantité d'AIA produite par chaque souche a été calculée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage (Annexe 3) préparée en utilisant les D.O. des concentrations croissantes d'AIA pure préparées (0 à 100 mg /l).

II. 3. Optimisation de la production de l'auxine : Acide Indole-3- Acétique (AIA)

II.3.1. Optimisation de la composition du milieu de culture sur la production de l'AIA

Dans le but d'optimiser la production de l'AIA par les souches testées, des tubes de 5 ml de chaque milieu ont été ensemencés avec des suspensions bactériennes à raison de 10^7 cellule/ml. Trois répétitions ont été faites pour chaque souche, et un témoin sans inoculation

est également inclus. Après 6 jours d'incubations à 28°C et après 30 min de l'addition du réactif Salkowski, l'absorbance des solutions colorées a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (annexe 4) à 530 nm.

Les quantités d'AIA produite par chaque souche ont été calculées par extrapolation sur une courbe d'étalonnage comme il a été précédemment expliqué.

II.3.1.1. Effet des différentes sources de carbone sur la production de l'AIA

L'effet des différentes sources de carbone sur la capacité des six souches étudiées à produire de l'acide indole-3-acétique a été déterminé sur le milieu YMB additionné de tryptophane en suivant le protocole précédemment mentionné. A la différence, le mannitol a été remplacé par d'autres sources de carbone soit l'acide malique, saccharose ou lactose. Le NH_4Cl a été également utilisé à la place de l'extrait de levure.

II.3.1.2. Effet des différentes sources d'azote sur la production de l'AIA

Afin d'évaluer l'effet des différentes sources d'azote sur la capacité des souches bactériennes à production de l'AIA, un test a été réalisé sur le milieu de culture YMB additionnée de tryptophane comme détaillé précédemment à la différence de l'extrait de levure qui a été remplacé par d'autres sources d'azote (NH_4Cl , Urée, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$).

II.3.2. Optimisation des conditions de culture sur la production de l'AIA

L'optimisation de la production d'AIA par les six souches bactériennes a été étudiée en variant deux paramètres le pH du milieu et la température d'incubation

II.3.2. 1. Effet du pH sur la production de l'AIA

L'effet du pH sur la production d'AIA par les six souches bactérienne a été testée en ajustant le pH initial du milieu (pH 7) à différentes valeurs (pH 5, 6, 8), puis incubé à 28°C pendant 6 jours. Le test a été réalisé sur le milieu YMB additionnée de tryptophane. Trois répétitions ont été faites pour chaque souche, un témoin sans inoculation est également pris en considération. La concentration d'AIA produite a été estimée en utilisant la méthode préalablement expliquée.

II.3.2. 2. Effet de la température sur la production de l'AIA

L'expérience a été réalisée en se conformant au protocole préalablement cité sur milieu YMB additionné de tryptophane à pH 6.8 ; à la différence des températures d'incubation qui ont été variées (28 °C, 24 °C, 32 °C). Le dosage de l'AIA a été réalisé suivant le protocole standard ci-haut expliqué.

I. Recherche de la production de l'auxine : Acide Indole 3-Acétique (AIA)

La production d'AIA par les souches étudiées a été recherchée après 6 jours d'incubation. Toutes les souches de *Bradyrhizobium* étudiées ont montré une réaction positive (couleur rose) après addition du réactif de Salkowski (Annexe 2) indiquant ainsi la présence de l'AIA. Cependant, l'intensité de cette couleur est différente d'une souche à une autre (Figure 6) probablement due à une différence dans les concentrations d'AIA produites par ces dernières.

En effet, cette propriété est commune chez les souches de *Bradyrhizobium* isolées à partir de nodules d'espèces de légumineuses différentes. Toutefois, les concentrations d'AIA enregistrées étaient variables d'une souche à une autre (Dong et al., 2017).

Il est à rappeler que la production de phytohormones sous forme d'auxine soit acide indole acétique (AIA) est une propriété majeure des bactéries de la rhizosphère (Mohite .,2013). Cette aptitude est considérée comme un mécanisme direct de la promotion de croissance de plante qu'exerce les rhizobactéries (Yousef ., 2018).

Ainsi, les bactéries du sol notamment les rhizobia, sont d'une importance particulière du point de vue agricole, car elles contribuent à augmenter la fertilité du sol en fixant non seulement l'azote atmosphérique (Kanaan et al .,2021) mais en intervenant dans la promotion de la croissance des plantes. (Chandra et al ., 2018)



Figure 6 : Production d'AIA par les six souches, apparition de la coloration rose.

II. Optimisation de la production de l'auxine : Acide Indole 3-Acétique (AIA)

Cette partie représente l'ensemble des résultats obtenus lors des tests réalisés afin d'optimiser les concentrations d'Acide Indole 3-Acétique (AIA) produites par les souches de *Bradyrhizobium* étudiées.

II.1. Optimisation de la composition du milieu de culture sur la production de l'AIA

Les concentrations d'AIA produites par les souches de *Bradyrhizobium* en milieu additionné de tryptophane ont été évaluées en fonction de la composition (source de carbone et d'azote) du milieu de cultures.

II.1.1. Effet des différentes sources de carbone sur la production de l'AIA

Les concentrations d'AIA produites par les six souchesensemencées dans le milieu YMB modifiée contenant une source de carbone (acide malique, saccharose, lactose, mannitol) sont représentées dans la figure 7 (Annexe 4).

Les résultats montrent une différence dans les concentrations d'AIA produites en fonction du sucre utilisé comme seule source de carbone et d'une souche à une autre, les concentrations obtenues varient de 0,83 µg/ml jusqu'à 57,39 µg/ml.

Remarquablement, les concentrations d'AIA produites sont améliorées pour toutes les souches testées, pour atteindre des optima en présence de l'acide malique dans milieu (57,39µg/ml). En comparaison, l'utilisation du mannitol, lactose ainsi que saccharose ont permis d'obtenir des concentrations nettement plus faibles.

Il est à noter également que la concentration d'AIA la plus élevée a été enregistrée avec la souche C_{ss} 381, suivie par les souches C_{sa}207 et C_{sa}z 530 respectivement.

Les résultats obtenus concordent avec plusieurs travaux précédents qui ont démontré que les quantités d'acide indole acétique (AIA) les plus importantes ont été produites par les des rhizobia en présence de l'acide malique dans le milieu (Trahir et *al.*, 2013)

Il a été rapporté par Garcia et *al.*, (2021) que l'utilisation des sources de carbone est différentes entre les espèces microbiennes, et que les *Bradyrhizobium* se développent mieux avec l'acide malique, ce qui peut être dû à une meilleure utilisation de cette source de carbone (l'acide malique) relativement à d'autres sources de carbone (saccharose, lactose, mannitol).

Des études antérieures ont suggéré que les sources de carbone individuelles affectent différemment la production d'AIA chez les rhizobactéries (Baliyan *et al.*, 2021 ; Ham *et al.*, 2021).

A rappeler que les sources de carbone utilisées dans la production de métabolites secondaires (acide indole acétique) ont un impact significatif sur l'efficacité globale de la biosynthèse.

En effet, certaines sources de carbone ajoutées dans les milieux YMB additionnée de tryptophane fournissent de l'énergie et améliorent le recyclage des cofacteurs dans les cellules, contribuant ainsi à l'efficacité mais aussi à l'inefficacité globale de la biosynthèse de l'AIA.

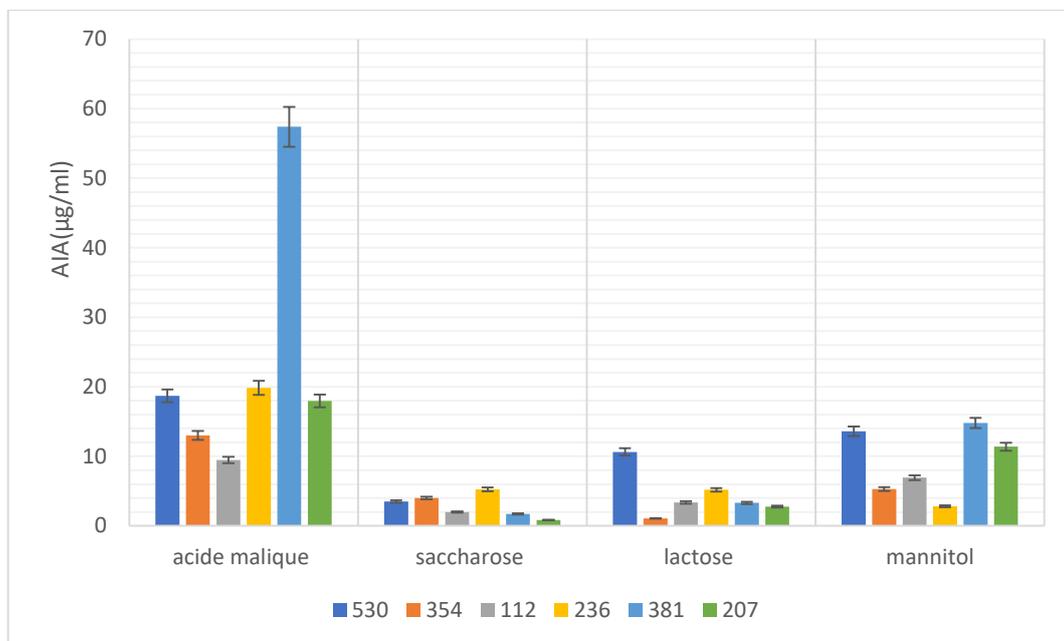


Figure 7 : Résultats des concentrations d'AIA produites sous l'effet des différentes sources de carbone par les six souches étudiées (Csaz530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207).

II.1.2.Optimisation des différentes sources d'azote sur la production de l'AIA

La figure 8 indique les concentrations d'AIA produites par les six souches étudiées en variant la source d'azote du milieu (extrait de levure, urée, NH_4Cl , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$).

Les valeurs des concentrations d'AIA obtenues (Annexe 4), ont été très diversifiées (figure 8) d'une source d'azote à une autre et en fonction des souches. En effet, une différence significative entre les concentrations d'AIA (1,27 $\mu\text{g}/\text{ml}$ - 65,38 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a été notée.

L'utilisation du NH_4Cl comme seule source d'azote dans le milieu a permis d'enregistrer les meilleures concentrations d'AIA, la valeur maximale est estimée à environ 65 $\mu\text{g}/\text{ml}$, suivit par une bonne production en utilisant l'extrait de levure. Par ailleurs, l'utilisation de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ou de l'urée n'a pas amélioré la production de l'AIA.

Une autre fois la souche Csa381 s'est distinguée des autres souches étudiées en produisant la concentration la plus élevée d'AIA en présence du NH_4Cl .

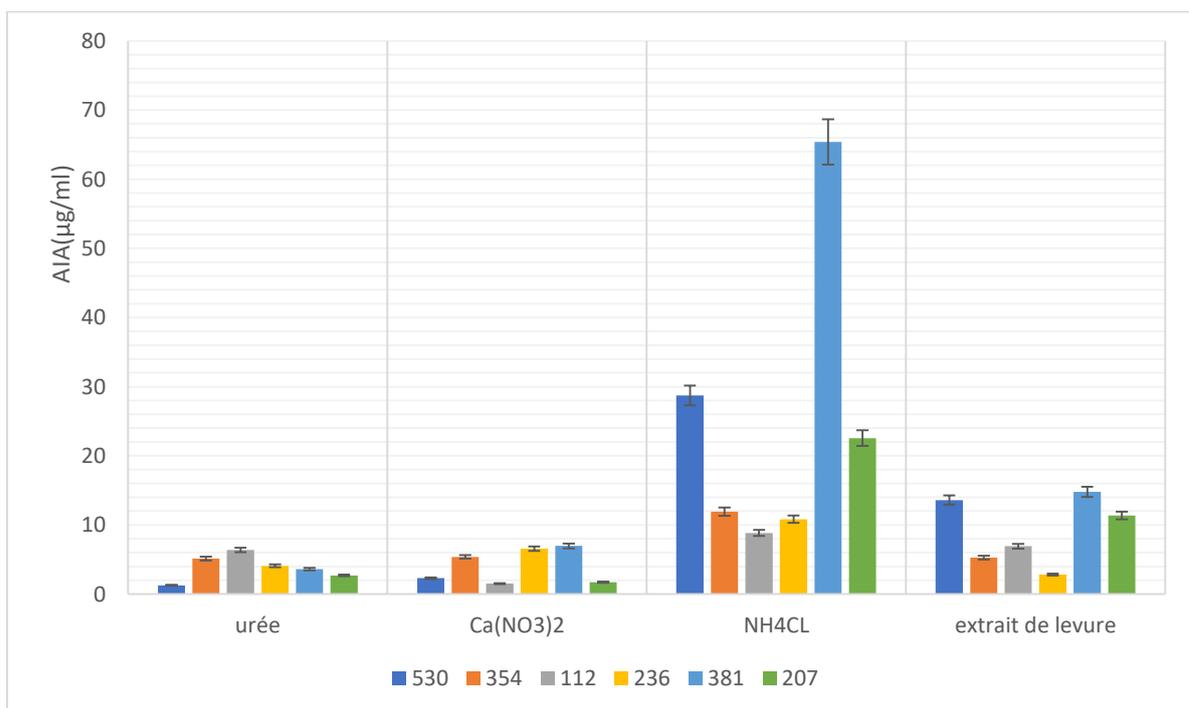


Figure 8 : Résultats des concentrations d'AIA produites sous l'effet des différentes sources d'azote par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207).

Des résultats similaires ont été rapportés par Kumari et *al.*, (2018) qui a révélé après une étude comparative que parmi les sources d'azotes testés que le NH_4Cl était le plus approprié pour une meilleure production de l'acide indole acétique (AIA).

L'azote est l'un des éléments les plus importants pour la croissance des microorganismes (Ham et *al.*, 2021), en effet, la source d'azote utilisée dans le milieu affecte significativement la croissance ainsi que la biosynthèse notamment la production d'acide indole acétique (AIA) (Suliasih et Widawati.,2020).

II.2. Optimisation des conditions de culture sur la production de l'AIA

La production d'AIA en milieu additionné de tryptophane a été évaluée en fonction des différentes conditions du milieu de culture (pH du milieu et température d'incubation)

II.2.1. Effet du pH sur la production de l'AIA

En changeant le pH du milieu de culture, les concentrations de l'AIA produites ont été notées (Annexe 4), et ont permis d'obtenir l'histogramme représenté dans la figure 9.

Les résultats ont révélé des concentrations importantes d'AIA produites par toutes les souches testées à pH 7. A souligner que la concentration maximale d'AIA est produite par la souche Csa 381 atteignant les 77,26 $\mu\text{g/ml}$. De plus, à pH 6 ou 8, la production est relativement bonne cependant elle est affectée par la variation.

Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par Shoukry et *al.*,(2018) qui ont évalué l'effet des différents pH sur la production d'AIA, ils ont démontré que le pH 7 était le pH optimal pour la production d'AIA, et que la gamme 7.0 - 7.2 est la maximale pour la croissance et la croissance des rhizobies Apine et Jadhav .,(2011).

Cependant, à pH 5 la production d'AIA est nettement affectée voire nulle dans le cas des deux souches Csa 112 et Csa 236. Probablement due à l'absence de croissance de ces souches à ce pH. Des résultats similaires ont déjà été rapportés par Kamble et *al.*,(2015) affirmant l'impact négatif du pH acide sur la croissance des rhizobies

En effet, le pH est l'un des paramètres les plus importants pour la croissance et l'activité métabolique des organismes producteurs d'AIA (Bharucha et *al.*,2013), ce dernier affecte également la fonction des systèmes enzymatiques, et la solubilité de nombreuses substances (Abd-Alla et *al.*, 2013 ; Hasuty et *al.*, (2018)

D'autre part, van Rossum et al .,(1994) en étudiant l'effet de l'acidité du sol sur la performance symbiotique arachide-*Bradyrhizobium*, a conclu que certaines souches de *Bradyrhizobium* étaient totalement inefficaces, avec perte des propriétés PGP (Plant Growth Promotion) sous le stress acide, tandis que d'autres avaient une bonne performance.

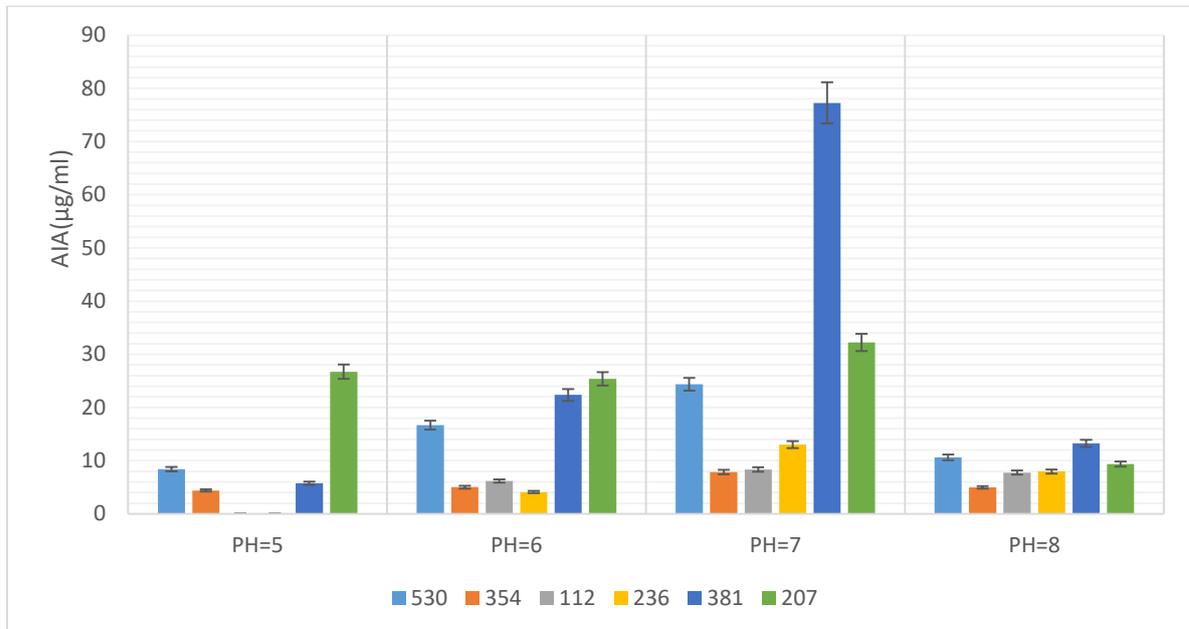


Figure 9 : Résultats des concentrations d'AIA produites par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207) sous l'effet de la variation du pH.

II.2.2. Effet de la température d'incubation sur la production de l'AIA

Ce test (Figure 10, Annexe 4) a montré que la température d'incubation est un paramètre affectant la capacité des souches de *Bradyrhizobium* étudiées à produire de l'acide indole acétique.

Il est à signaler que les effets sont variables parmi les six souches testés. Nos résultats révèlent que la performance des souches de *Bradyrhizobium* à produire de l'acide indole acétique à température 28 °C était la plus élevée pour la majorité des souches testées avec une quantité remarquable d'AIA atteignant les 77,26 µg/ml chez la Csa 381.

D'après Michel et al .,(2017), la température optimale pour la croissance des souches de *Bradyrhizobium* est 28 °C, les températures élevées peuvent réduire la croissance des *Bradyrhizobium* et affecter leurs survies .En effet, cela peut conduire à la diminution de leurs activités biologique y compris la production de l'acide indole acétique.

Les plus faibles quantités ont étaient obtenues à 32 °C d'AIA. A l'exception de la souche Csa 236 qui a montré une production optimale à 32 C° avec un taux de production maximale atteignant les 23,25 µg/ml. Cela est peut-être dû à la température de croissance optimale pour cette souche. La température D'incubation joue un rôle déterminant dans l'équilibre de croissance de ces bactéries. Van et al .,(2021)

Par ailleurs, les deux souches Csa 530 et Csa 236 ont montré une production élevée d'AIA à 24 °C avec des concentrations 33,30µg/ml et 26,32µg/ml (chez Csa 530, Csa236) respectivement, nos résultats sont conformes à ceux de Zhang et al .,(2002) qui ont rapportés que les souches de *Bradyrhizobium japonicum* tolérant les températures basses et permettant d'améliorer le rendement du Soja dans les zones de courte saison.

Il est à noter que la souche Csa 236 présente la plus forte concentration d'AIA produite (23,65 µg/ml) parmi les six souches testées. Ces données sont en accord avec de nombreuses études qui rapportent l'efficacité des souches de *Bradyrhizobium* même au-delà de 28°C (Wongdee et al ., 2021).

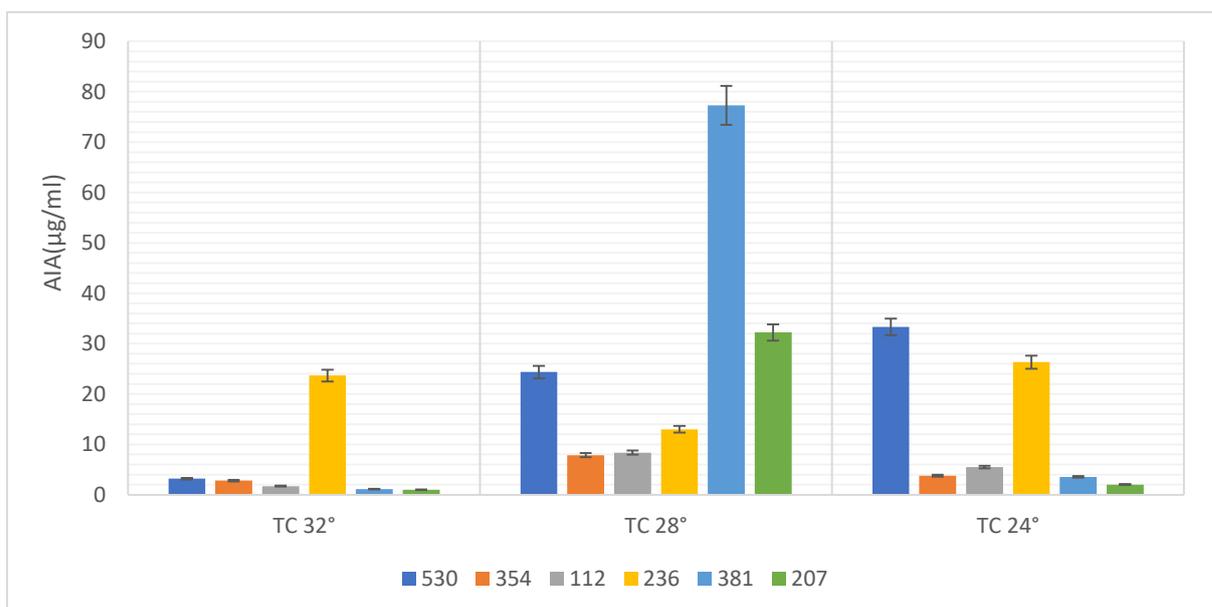


Figure 10 : Résultats des concentrations d'AIA produites par les six souches étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207) sous l'effet de la variation de température d'incubation.

L'optimisation des conditions de culture des six souches de *Bradyrhizobium* Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207 ont été évaluées afin d'améliorer le rendement de la production de l'AIA.

Les résultats issus des essais qualitatifs et quantitatifs de l'AIA reflètent parfaitement la capacité de toutes les souches testées à produire des quantités significatives d'acide indole acétique.

On constate que les quantités d'AIA produites par ces bactéries varient entre les différentes souches testées. Bien que plusieurs travaux ont montré la capacité des rhizobies à synthétiser de l'acide indole acétique Torres *et al.* (2018). Cependant, Sridevi et Mallaiah (2007) a démontré que les isolats de *Rhizobium* diffèrent significativement dans la production d'auxine (acide indole acétique). Cette variation est probablement affectée par plusieurs facteurs, telles que les conditions de culture, le stade de croissance et la disponibilité du substrat Kiruthika, Arunkumar (2021)

Dabesa, Tana (2021) ont rapporté que l'AIA est affecté par le carbone organique dans les sols qui influence à son tour sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques notamment les activités microbiologiques des *Bradyrhizobium* y compris la production d'acide indole acétique (AIA).

Les rhizobies sont la meilleure source de promotion de la croissance des plantes Kumar et Ram (2012). Le *Bradyrhizobium* est un modèle actif pour la production d'AIA, cette conception expérimentale est un outil pour tester l'importance relative des facteurs physico-chimiques dans la production et l'amélioration de l'AIA.

L'objectif principal de ce travail est la recherche de la production de l'auxine sous forme d'acide indole-3-acétique (AIA) par six souches bactériennes appartenant au genre *Bradyrhizobium* isolée à partir des nodules racinaire de *Calicotome Spinosa* puis l'optimisation des conditions de production de cette phytohormone.

Les résultats obtenus ont permis de conclure que les souches de *Bradyrhizobium* étudiées sont en effet capables de produire de l'AIA à des quantités significatives.

Notre étude a montré que les conditions de culture et la composition du milieu de culture constituent une limite absolue à l'activité des populations rhizobiennes compétentes.

L'évaluation de l'effet des conditions de culture ainsi que la composition du milieu sur la production d'AIA a révélé une variation dans la concentration d'AIA produite, aussi bien que la croissance des souches étudiées soit également affectée. En effet, un pH acide du milieu et une température de 32°C affecte négativement la croissance des souches de *Bradyrhizobium* étudiées (Csa530, Csa354, Csa112, Csa236, Csa381, Csa207), et par conséquent, leurs capacités à produire de l'AIA.

Les résultats indiquent que les souches testées ont la capacité de tolérer des températures modérées, les optima de production ont été obtenus à 28°C avec une concentration d'AIA atteignant les 77,26 µg/ml. A l'exception de la Csa236 qui a montré un optimum de production à 32°C. Les résultats suggèrent que la Csa236 est une souche pouvant être valorisé comme inoculum.

Pour un meilleur rendement en acide indole acétique (AIA), il est recommandé d'utiliser l'acide malique comme source de carbone car il a été le plus approprié pour les souches de *Bradyrhizobium* testées et l' NH_4Cl comme source d'azote, compte tenu des conditions de culture un pH 7 et une température de 28 C ° était les plus favorables pour une production maximale d'AIA atteignant les 77,26µg /ml.

Par ailleurs, nos résultats nous amènent à approuvé que Csa381 est la souche la plus performante, en raison de sa capacité à synthétiser les quantités les plus importantes d'AIA sous l'influence des deux paramètres (compositions du milieu de culture et conditions du milieu de culture).

Les concentrations d'AIA produites permettent de classer les souches (Csa381, Csa207 et Csa530) comme d'excellents phytostimulateurs. Ces souches bactériennes peuvent être utilisées avec succès à grande échelle comme des biofertilisants potentiels combinant la fixation d'azote atmosphérique et la promotion de croissance. Cette technologie prometteuse offre une alternative pour minimiser la pollution environnementale dans les champs de culture, due à l'utilisation excessive d'engrais industriels.

On tient également à encourager les agriculteurs à remplacer les pratiques actuelles (utilisation d'engrais chimique) par l'agriculture biologique, c'est une action moins coûteuse et plus respectueuse pour l'environnement, qui permet d'améliorer la productivité des cultures.

Les résultats obtenus après notre recherche sur les bouillons YMB additionnée de tryptophane nécessitent des essais bien détaillés dans les champs cultivés, pour confirmer la performance et la capacité de ces souches de *Bradyrhizobium* dans l'amélioration de la rentabilité de la production de l'acide indole acétique par ces cultures.

Il serait souhaitable ainsi de compléter ce travail par l'étude d'autres paramètres comme l'effet de la concentration du tryptophane sur la production de l'acide indole acétique et de procéder à une analyse statistique pour mieux évaluer les résultats.

Références bibliographiques

A

- **Abd-Alla, M. H., El-Sayed, E.-S. A., & Rasmey, A.-H. M. (2013).** Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Streptomyces atrovirens* isolated from rhizospheric soil in Egypt. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(2): 182-193.
- **Ahemad, M., Kibret, M. (2014).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*. Elsevier B.V, 26 (3): 1–20.
- **Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2005).** Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan. *Turk J Biology*, 29(1):29–34.
- **Alazem, M., & Lin, N. S. (2017).** Antiviral Roles of Abscisic Acid in Plants. *Frontiers in plant science*, 8:1760.
- **Aloo, B. N., Makumba, B. A., & Mbega, E. R. (2020).** Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria: Diversity, Mechanisms, and Prospects in Sustainable Agriculture. *Preprints*, 1–32.
- **Anfang, M., Shani, E. (2021).** Transport mechanisms of plant hormones. *Current Opinion in Plant Biology*, 63:102055.
- **Aoi, Y., Tanaka, K., Cook, S. D., Hayashi, K. I., & Kasahara, H. (2020).** GH3 auxin-amido synthetases alter the ratio of indole-3-acetic acid and phenylacetic acid in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*, 61(3): 596–605.
- **Apine, O. A., & Jadhav, J. P. (2011).** Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *Journal of Applied Microbiology*, 110 (5):1235–1244.

B

- **Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, Subramanian S and Smith DL. (2018).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci*, 9:1473.
- **Baliyan, N., Dhiman, S., Dheeman, S., Kumar, S., & Maheshwari, D. K. (2021).** Optimization of indole-3-acetic acid using response surface methodology and its effect on vegetative growth of chickpea. *Rhizosphere*, 17:100321.
- **Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4):1044-1051.
- **Benjamins, R., Malenica, N., & Luschnig, C. (2005).** Regulating the regulator: the control of auxin transport. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 27(12):1246–1255.
- **Berrada, H., Fikri-Benbrahim, K. (2014).** Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives. *British Microbiology Research Journal*, 4(6):616–639.
- **Bharucha, U., Patel, K., & Trivedi, U. B. (2013).** Optimization of Indole Acetic Acid Production by *Pseudomonas putida* UB1 and its Effect as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural Research*, 2(3): 215–221.
- **Binenbaum, J., Weinstain, R., & Shani, E. (2018).** Gibberellin Localization and Transport in Plants. *Trends in plant science*, 23(5):410–421.

C

- **Canipari, R., Santis, L.D., Cecconi, S. (2020).** Female fertility and environmental pollution. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(23):1–19.

- **Chang, C. (2016)** .Q&A: How do plants respond to ethylene and what is its importance?. BMC Biol, 14 (7).
- **Carlson, R., Tugizimana, F., Steenkamp, P. A., Dubery, I. A., Hassen, A. I., Labuschagne, N. (2020)**. Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Microbiological Research, 232: 126388.
- **Carolina A. Contador,^a Siu-Kit Lo,^a Siu H. J. Chan,^b Hon-Ming Lam. (2020)**. Metabolic Analyses of Nitrogen Fixation in the Soybean Microsymbiont *Sinorhizobium fredii* Using Constraint-Based Modeling. MSystems, 5(1):16-19.
- **Casanova-Sáez, R., Mateo-Bonmatí, E., & Ljung, K. (2021)**. Auxin metabolism in plants. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 11(3): 1–23.
- **Chandra, S., Askari, K., & Kumari, M. (2018)**. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. Journal, genetic engineering & biotechnology, 16(2): 581–586.
- **Chen Y,Hu S,Guo Z,Cui T,Zhang L,Lu C,Yu Y,Luo Z,Fu H,Jin Y. (2021)**. Effect of balanced nutrient fertilizer: A case study in Pinggu District, Beijing, China. Science of the Total Environment, 754:142069.

D

- **Dabesa, A., Tana, T. (2021)**. Response of Soybean (*Glycine max* L. (Merrill)) to *Bradyrhizobium* Inoculation, Lime, and Phosphorus Applications at Bako, Western Ethiopia. International Journal of Agronomy, 2021:12.
- **De Poel, B. V., & Van Der Straeten, D. (2014)**. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: More than just the precursor of ethylene! .Frontiers in Plant Science. Frontiers Media S.A, 5(640): 1–11.
- **Dong, R., Zhang, J., Huan, H., Bai, C., Chen, Z., & Liu, G. (2017)**. High salt tolerance of a *Bradyrhizobium* strain and its promotion of the growth of *Stylosanthes guianensis*. International Journal of Molecular Sciences, 18(8): 1625.
- **Dubois, M., Van den Broeck, L., & Inzé, D. (2018)**. The Pivotal Role of Ethylene in Plant Growth. Trends in Plant Science, 23(4):311–323.

- **Duca, D. R., & Glick, B. R. (2020).** Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(20):8607–8619.
- **Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014).** Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106: 85–125.

E

- **Eichmann, R., Richards, L., Schäfer, P. (2021).** Hormones as go-betweens in plant microbiome assembly. *Plant Journal*, 105(2): 518–541.
- **Elbakyan, A. (2020).** Plant Hormones and Signal Transduction. (2020). *Plant Physiology*, 468–525.
- **Eyanthi and S. Kanimozhi. (2018).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) – Prospective and Mechanisms: A Review. *Journal Metrics*, 1(2): 733–749.
- **Eyanthi V., Ganesh P. (2013).** Production, optimization and characterization of phytohormone indole acetic acid by *Pseudomonas fluorescens*. *Int. J. Pharm. Biol. Arch*, 4: 514–520.

F

- **F, R., M, K., M, A., MD, T., & A, Z. (2020).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria and their Mechanisms Involved in Agricultural Crop Production: A Review. *SunText Review of BioTechnology*, 1(2).
- **Finkelstein R. (2013).** Abscisic Acid synthesis and response. *The arabidopsis book*, 11:e0166.

G

- **G. Gupta, S. Parihar, N. K. Ahirwar, S. K. Snehi, Vinod Singh. (2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2): 96-102.

- **Garcia, M. V. C., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2021).** Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing Bradyrhizobium and Azospirillum for the soybean crop. *AMB Express*, 11(1):71.
- **George n. agrios. (2005).** plant diseases caused by prokaryotes: bacteria and mollicutes. *Plant pathology (fifth edition)*:615-703.
- **Ghosh, P. K., Kumar De, T., & Maiti, T. K. (2015).** Production and Metabolism of Indole Acetic Acid in Root Nodules and Symbiont (*Rhizobium undicola*) Isolated from Root Nodule of Aquatic Medicinal Legume *Neptunia oleracea* Lour. *Journal of Botany*, pages 11.
- **Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016).** Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food and Agriculture. Informa Healthcare*, 2(1).
- **Gupta, R., Kumari, A., Sharma, S., Alzahrani, O. M., Noureldeen, A., & Darwish, H.(2022).** Identification, characterization and optimization of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSRB) from rice rhizosphere. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1): 35-42.

H

- **Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., Imran, A. (2021).** Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems. Frontiers Media S.A.*, 5:617-157.
- **Ham, S., Yoon, H., Park, J. M., & Park, Y. G. (2021).** Optimization of Fermentation Medium for Indole Acetic Acid Production by *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502770. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(8):2567–2579.
- **Hamdaoui A. & Hammiche M. (2019).** Isolement, purification et caractérisation des souches rhizobiennes de *Spartium junceum* L. Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaïa. p. 74.

- **Hasuty, A., Choliq, A. and Hidayat, I. (2018).**production of Indole Acetic Acid (IAA) by *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* and *Rhodococcus* aff. *Qingshengii*. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(3):299-312.
- **Hattacharyya, P. N., Jha, D. K. (2012).** Plant growth-promoting Rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4):1327–1350.
- **Hewedy OA, E. A. (2015).** Molecular and Biochemical Characterization of Some Egyptian Genotypes *Rhizobium* (*Vicia Faba*) Isolates. *Journal of Bioengineering and Biomedical Science*, 5(1):2-8.
- **Humplík, J. F., Bergounoux, V., & Van Volkenburgh, E. (2017).** “To Stimulate or Inhibit? That Is the Question for the Function of Abscisic Acid.” *Trends in plant science*, 22(10): 830-841.

I

- **Iqbal, N., Khan, N. A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., & Khan, M. (2017).** Ethylene Role in Plant Growth, Development and Senescence: Interaction with Other Phytohormones. *Frontiers in plant science*, 8:475.

K

- **K.D.Kamble, D.K.Galerao. (2015).**Indole acetic acid production from *Pseudomonas* species isolated from rhizosphere of garden plants in Amravati. *International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry*, 4(1):23-31.
- **Kanaan, I. I., & Al-Barhawe, N. I. K. (2021).** Isolation,characterization and optimization of wild type *sinorhizobium meliloti* to produce high concentrations of indole acetic acid. *Iraqi Journal of Science*, 62(5):1415–1422.

- **Kang S, Khan A, Hamayun M, Hussain J, Joo G, You Y, Kim J, Lee I. (2012).** Gibberellin-producing *Promicromonospora* sp. SE188 improves *Solanum lycopersicum* plant growth and influences endogenous plant hormones. *J Microbiol*, 50(6): 902–909.
- **Kang, Y., Shen, M., Wang, H., Zhao, Q. (2017).** A possible mechanism of action of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure. *Journal of General and Applied Microbiology*, 59(4):267–277.
- **Karadeniz, A., Topcuoğlu, Ş. & İnan, S. (2006)** .Auxin, Gibberellin, Cytokinin and Abscisic Acid Production in Some Bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, 22(10):1061–1064.
- **Karnwal A. (2017).** Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere and their plant growth promoting effect on rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Protect. Res*, 57: 144–151.
- **Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U., & Unah, U. V. (2019).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Novel Agent for Sustainable Food Production. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 14(1):35–54.
- **Kiruthika, S., Arunkumar, M. (2021).** A Comprehensive Study on IAA production by *Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus subtilis* and Its Effect on *Vigna radiata* Plant Growth. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(5):570–576.
- **Kumari, S., Prabha, C., Singh, A., Kumari, S., & Kiran, S. (2018).** Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 7(2):20–27

L

- **Laird, T.S., Flores, N., and Leveau, J.H.J. (2020).** Bacterial catabolism of indole-3-acetic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(22): 9535–9550.
- **Larsen, Paul B. (2015).** “Mechanisms of ethylene biosynthesis and response in plants.” *Essays in biochemistry*, 58:61-70.
- **Le Bris, M. (2017).** Hormones in Growth and Development. In Reference Module in Life Sciences. Elsevier.
- **Lebrazi, S., Fadil, M., Chraibi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020).** Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium* sp. strain using response surface methodology. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 8(21):1-10.
- **Lebrazi, S., Niehaus, K., Bednarz, H., Fadil, M., Chraibi, M., & Fikri- Benbrahim, K. (2020).** Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization by rhizobacterial strains isolated from *Acacia cyanophylla* root nodules and their effects on its plant growth. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 18(1):71.
- **Lehmann, T., Hoffmann, M., Hentrich, M., & Pollmann, S. (2010).** Indole-3-acetamide-dependent auxin biosynthesis: a widely distributed way of indole-3-acetic acid production?. *European journal of cell biology*, 89(12):895–905.
- **Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2016).** Gibberellins in *Penicillium* strains: Challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress. *Microbiological research*, 183: 8–18.
- **Li, M., Guo, R., Yu, F., Chen, X., Zhao, H., Li, H., Wu, J. (2018).** Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis Pathways in the Plant-Beneficial Bacterium *Arthrobacter pascens* ZZ21. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2): 443

- **Lim, C.W., Lee, S.C. (2015).** Arabidopsis abscisic acid receptors play an important role in disease resistance. *Plant Mol Biol* ,88 : 313–324.
- **Lin, H.-R., Shu, H.-Y, Lin, G.-H. (2018).** Biological roles of indole-3-acetic acid in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiological Research*, 216: 30–39.
- **Ling, N., Wang, T. & Kuzyakov, Y. (2022)** .Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature communications*, 13(1) :836.

M

- **M Kobayashi, T Suzuki, T Fujita, M Masuda, S Shimizu. (1995).** Occurrence of enzymes involved in biosynthesis of indole-3-acetic acid from indole-3-acetonitrile in plant-associated bacteria, *Agrobacterium* and *Rhizobium*, *Authors Info & Affiliations*, 92 (3) :714-718.
- **M. Sridevi and K. V. Mallaiah. (2007).** Production of indole-3-acetic acid by *Rhizobium* isolates from *Sesbania* species. *African Journal of Microbiology Research*, 1 (7):125-128.
- **Maçik, M., Gryta, A., & Fraç, M. (2020).** Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. In *Advances Agronomy*, 162: 31–87.
- **Maldonado S,Rodríguez A,Ávila B,Morales P,González M,Araya Angel J,Olalde V,Bravo J,Jana C,Sierra C,Stoll A. (2020).** Enhanced Crop Productivity and Sustainability by Using Native Phosphate Solubilizing Rhizobacteria in the Agriculture of Arid Zones. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4: 607355.
- **Mano, Y., & Nemoto, K.(2012).**The pathway of auxin biosynthesis in plants.*Journal of Experimental Botany*,63 (8) : 2853–2872.
- **Manoj, S. R., Karthik, C., Kadirvelu, K., Arulselvi, P. I., Shanmugasundaram, T., Bruno, B., & Rajkumar, M. (2020).** Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 254: 109779.
- **Masuda, Y., Kamisaka, S. (2000).** Discovery of Auxin in: Discoveries. In *Plant Biology world scientific*: 43–57.
- **Maxwell, B.B., Kieber, J.J. (2010).** Cytokinin Signal Transduction. In: Davies, P.J. (eds) *Plant Hormones*. Springer: 329–357

- **Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B. R. (2004).** Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science*, 166(2):525– 530.
- **Mekonnen, H., Kibret, M. (2021).**The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1):1-11.
- **Mendoza-Arroyo, G. E., Chan-Bacab, M. J., Aguila-Ramírez, R. N., Ortega-Morales, B. O., Solís, R. E. C., Chab-Ruiz, A. O., Camacho-Chab, J. C, Cob- Rivera, k ., Dzib-Castillo ,B., Rodrigo Enrique Tun-Che . (2020).** Inorganic phosphate solubilization by a novel isolated bacterial strain enterobacter sp. Itcb-09 and its application potential as biofertilizer. *Journal Agriculture (Switzerland)*, 10(9):1–15.
- **Menon, R. R., Kumari, S., Viver, T., & Rameshkumar, N. (2020).** *Flavobacterium pokkali* sp. nov., a novel plant growth promoting native rhizobacteria isolated from pokkali rice grown in coastal saline affected agricultural regions of southern India, Kerala. *Microbiological Research*, 240 :126533.
- **Michel, D. C., Passos, S. R., Simões-Araujo, J. L., Baraúna, A. C., da Silva, K., Parma, M. M., Zilli, J. E. (2017).** *Bradyrhizobium centrolobii* and *Bradyrhizobium macuxiense* sp. Nov. isolated from *Centrobium paraense* grown in soil of Amazonia, Brazil. *Archives of Microbiology*, 199(5):657–664.
- **Miransari, M., and Smith, D.L. (2014).** Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99:110–121.
- **Mohite, B. (2013).** Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3): 638-649.
- **Moore TC. (2012).** *Biochemistry and physiology of plant hormones 2ndED*, springer Science et business Media, p: 330.

- **Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U., & Batool, R. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*, 78(2):115–123.

- **Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U., & Batool, R. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*, 78(2):115–123.

N

- **Nehra, V., Choudhary, M. (2015).** A review on plant growth promoting rhizobacteria Acting as bioinoculants and their biological approach towards the production of sustainable agriculture. *Journal of Applied and Natural Science*, 7(1):540–556.

O

- **Ojuederie, O. B., Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2019).** Plant growth Promoting rhizobacterial mitigation of drought stress in crop plants: Implications for sustainable agriculture. *Agronomy*, 9(11):712.

- **Olatunji, D., Geelen, D., and Verstraeten, I. (2017).** Control of endogenous auxin Levels in plant root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (12): 2587.

- **Ormeño-Orrillo, E., & Martínez-Romero, E. (2019).** A Genomotaxonomy View of the *Bradyrhizobium* Genus. *Frontiers in microbiology*. 10:1334.

- **Osugi, A., & Sakakibara, H. (2015).** Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC biology*, 13:102.

P

- **P. Ravi Kumar and M. Raghu Ram. (2012).** Production of indole acetic acid by Rhizobium isolates from Vigna trilobata (L) Verdc. African Journal of Microbiology Research, 6(27):5536-5541.
- **Pac ocirc me, A. N., Nad egrave ge, A. egrave A., Farid, B. M., Adolphe, A., Lamine, B. M. (2016).** Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. African Journal of Biotechnology, 15(27): 1452–1463.
- **Paque, S., & Weijers, D. (2016).** Q&A: Auxin: The plant molecule that influences almost anything. BMC Biology, 14(1):67.

Q

- **Qureshi, M. A., Iqbal, A., Akhtar, N., Shakir, M. A., & Khan, A. (2012).** Co-inoculation of phosphate solubilizing bacteria and rhizobia in the presence of L-tryptophan for the promotion of mash bean (Vigna Mungo L.). Soil and Environment, 31(1):47–54.

R

- **Rehman F, Kalsoom M, Adnan M, Toor MD and Zulfiqar A. (2020).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria and their Mechanisms Involved in Agricultural Crop Production: A Review. SunText Review of BioTechnology, 1(2).

S

- **S., V. K., Menon, S., Agarwal, H., & Gopalakrishnan, D. (2017).** Characterization and optimization of bacterium isolated from soil samples for the production of siderophores. Resource-Efficient Technologies, 3(4) :434–439.
- **Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021).** Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Biology, 10(6):475.
- **Cutler, S. R., & Nelson, D. C. (2017).** Plant Hormones .Els: 1–11.
- **SEHRAWAT, A., SINDHU, S. S., & GLICK, B. R. (2022).** Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. Pedosphere, 32(1): 15–38.

- **Shi, T.Q., Peng, H., Zeng, S.Y., Ji, R.Y., Shi, K., Huang, H., and Ji, X.J. (2017).** Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered* 8(2):124–128.
- **Shih-Feng Fu, Jyuan-Yu Wei, Hung-Wei Chen, Yen-Yu Liu, Hsueh-Yu Lu & Jui-Yu Chou .(2015).**Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms.*Plant Signaling & Behavior*, 10(8): e1048052.
- **Shoukry A. A., H. H. El-Sebaay , A. E. El-Ghomary.(2018).** Assessment of Indole Acetic Acid Production from *Rhizobium leguminosarum* Strains.*Current Science International*, 7 (1): 60-69.
- **Shudo K. (1994).** Cytokinins.*Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 114(8) :577–588.
- **Silva M .G,Silva M.G,De Curcio J,Silva-Bailão M,Lima R,Tomazett M,De Souza A,Cruz-Leite V,Sbaraini N,Bailão A,Rodrigues F,Rodrigues F,Pereira M,Gonçales R,Gonçales R ,De Almeida Soares C. (2020).** Molecular characterization of siderophore biosynthesis in *Paracoccidioides brasiliensis*. *IMA Fungus*, 11(11).
- **Souza, B. S. V. de, Silva, K. C. S., Parente, A. F. A., Borges, C. L., Paccetz, J. D., Pereira, M.,Parente-Rocha, J. A. (2019).** The influence of pH on *Staphylococcus saprophyticus* iron metabolism and the production of siderophores. *Microbes and Infection*, 21(10): 456-463.
- **Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007).**Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling.*FEMS Microbiology Reviews*, 31(4): 425–448.
- **Suliasih, Widawati, S. (2020).** Isolation of indole acetic acid (IAA) producing *Bacillus siamensis* from peat and optimization of the culture conditions for maximum IAA production. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 572: 012025.
- **Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020).** Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health Management Review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12):3634-3640.
- **Sun, S.-L., Yang, W.-L., Fang, W.-W., Zhao, Y.-X., Guo, L., & Dai, Y.-J. (2018).** The Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 Regulates the Level of Indole-3-Acetic Acid Synthesized from Indole-3-Acetonitrile. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(16).

T

- **Tahir, M., Mirza, M. S., Zaheer, A., Dimitrov, M. R., Smidt, H., & Hameed, S. (2013).** Isolation and identification of phosphate solubilizer “Azospirillum, Bacillus” and “Enterobacter” strains by 16SrRNA sequence analysis and their effect on growth of wheat (‘Triticum aestivum’ L.). *Australian Journal of Crop Science*, 7(9):1284–1292.
- **Torres D, Benavidez I, Donadio F, Mongiardini E, Rosas S, Spaepen S, Vanderleyden J, Pěncík A, Novák O, Strnad M, Frébortová J, Cassán F. (2018).** New insights into auxin metabolism in *Bradyrhizobium japonicum*. *Research in Microbiology*, 169(6):313–323.
- **Torres, D., Mongiardini, E., Donadio, F., Donoso, R., Recabarren-Gajardo, G., Gualpa, J., Spaepen, S., Defez, R., Lopez, G., Bianco, C., Cassán, F. (2021).** Molecular and physiological analysis of indole-3-acetic acid degradation in *Bradyrhizobium japonicum* E109, *Research in Microbiology*, 172(3): 103814.
- **Tsukanova, K. A., Chebotar, V., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017).** Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113: 91-102.

V

- **V. Jeyanthi, S. Kanimozhi. (2018).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) – Prospective and Mechanisms: A Review, 12(2).
- **Valente Lima, J., Tinôco, R. S., Olivares, F. L., Chia, G. S., Melo Júnior, J. A. G. de, & Silva, G. B. da. (2021).** Rhizobacteria modify root architecture and improve nutrient uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. *Rhizosphere*, 19(4):100420.
- **Van Rossum, D., Muyotcha, A., de Hoop, B. M., van Verseveld, H. W., Stouthamer, A. H., & Booger, F. C. (1994).** Soil acidity in relation to groundnut-*Bradyrhizobium* symbiotic performance. *Plant Soil*, 163(2):165–175.
- **Van Thuoc, D., Loan, T. T., & Tra, N. T. (2021).** Accumulation of Ectoin by Halophilic Bacteria Isolated from Fermented Shrimp Paste: An Adaptation Mechanism to Salinity, Temperature, and pH Stress. *Current microbiology*, 78(6):2355–2366.

- **Vanderstraeten, L., & Van Der Straeten, D. (2017).** Accumulation and transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: Current status, considerations for future research and agronomic applications. *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Media S.A, 8(38) :1-18.
- **Veerasamy, P. L., Zakry, F. A. A., King, W. S., Kasim, S., & Malahubban, M. (2021).** Indole-3-acetic acid production by rhizobacteria bacillus spp. To various abiotic stress factors. *Journal of Phytology*, 13 : 85–90.
- **Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016).** Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. *Molecules*, 21(5) : 573.
- **VenkatKumarS,SoumyaMenon,HappyAgarwal,DivyaGopalakrishnan.(2017).**Characterization and optimization of bacterium isolated from soil samples for the production of siderophores. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4) : 434-439.
- **Verma, M., Mishra, J., & Arora, N. K. (2018).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Diversity and Applications. *Environmental Biotechnology: For Sustainable Future*, 129–173.
- **Verma, M., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Diversity and Applications. In *Environmental Biotechnology: For Sustainable Future*. 129–173.
- **Vertès, F., Jeuffroy, M.-H., Justes, E., Thiébeau, P., & Corson, M. (2010).** Connaître et maximiser les bénéfices environnementaux liés à l’azote chez les légumineuses, à l’échelle de la culture, de la rotation et de l’exploitation. *Innovations Agronomiques*, 11 :25–44.

W

- **Wagi, S., & Ahmed, A. (2019).** Bacillus spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ*, 7:7258.
- **Wang, H.; Liu, R.;You, M.P.; Barbetti, M.J.; Chen, Y.(2021).**Pathogen Biocontrol Using Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR):Role of Bacterial Diversity. *Microorganisms*, 9(9):1988.
- **Liu, W. H., Chen, F. F., Wang, C. E., Fu, H. H., Fang, X. Q., Ye, J. R., & Shi, J. Y. (2019).** Indole-3-Acetic Acid in Burkholderia pyrrocinia JK-SH007: Enzymatic Identification of the Indole-3-Acetamide Synthesis Pathway. *Front. Microbio*, 10: 2559.
- **Werner, T., & Schmülling, T (2009).** Cytokinin action in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(5): 527-538.

- **Wongdee, J., Yuttavanichakul, W., Longthonglang, A., Teamtisong, K., Boonkerd, N., Teaumroong, N., & Tittabutr, P. (2021).** Enhancing the efficiency of soybean inoculant for nodulation under multi-environmental stress conditions. *Polish journal of microbiology*, 70(2): 257–271.

Y

- **Yan, J., Han, X. Z., Ji, Z. J., Li, Y., Wang, E. T., Xie, Z. H., & Chen, W. F. (2014).** Abundance and diversity of soybean-nodulating rhizobia in black soil are impacted by land use and crop management. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(17):5394–5402.
- **Yousef, N. M. H. (2018).** Capability of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. *European Journal of Biological Research*, 8(4):174–182.
- **Yu, Z., Duan, X., Luo, L., Dai, S., Ding, Z., and Xia, G. (2020).** How Plant Hormones Mediate Salt Stress Responses. *Trends in Plant Science*, 25(11): 1117–1130.

Z

- **Zhao Y. (2012).** Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Molecular plant*, 5(2): 334–338.

Annexe 1 : Milieu de culture

Milieu YMA (Yeats mannitol agar) (g/l)

Mannitol	10g
Extrait de levure.....	0.4g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ ,7H ₂ O.....	0.2g
Na cl	0.1g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

pH= 6,8

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

Milieu YMB (Yeats mannitol Broth) (g/l)

Mannitol	10g
Extrait de levure.....	0.4g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.2g
Na cl	0.1g
Eau distillée.....	1000ml

pH= 6,8

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

Annexe 2

Réactif de Salkowski

FeCl ₃	7.5 ml (1.35g/10ml d'eau)
H ₂ SO ₄	150 ml
Eau distillée	250 ml

Annexe 3

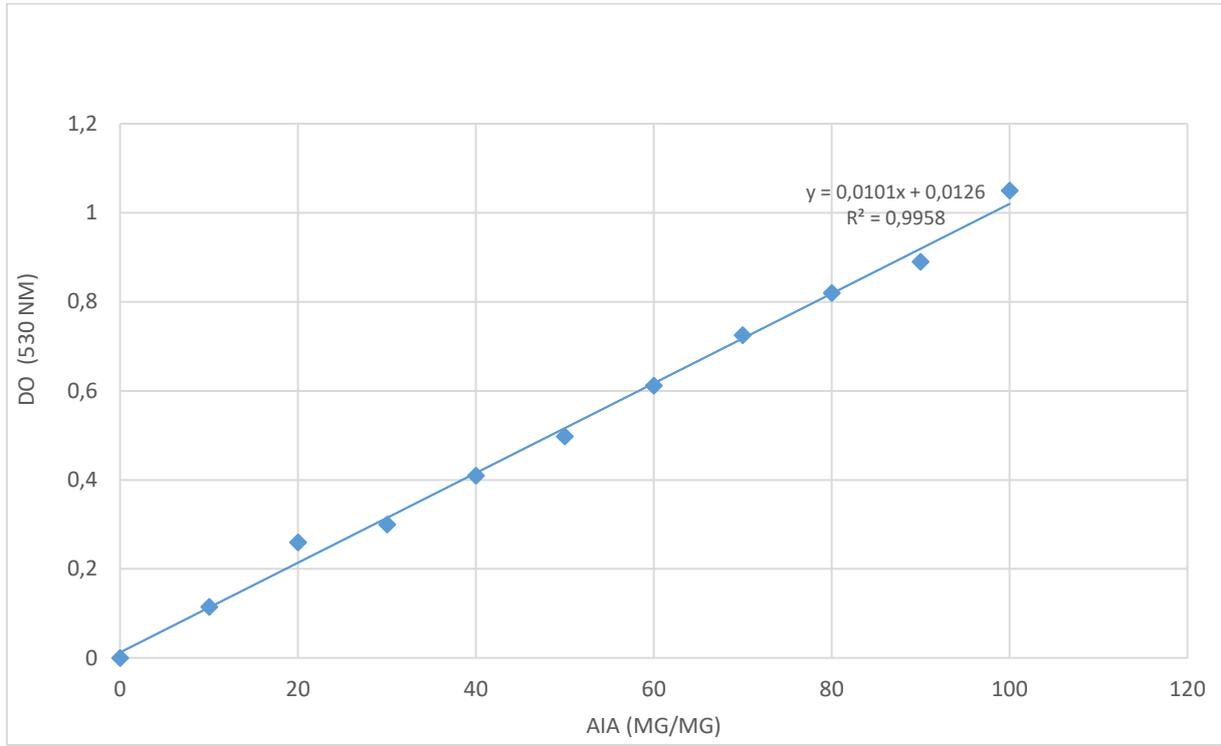


Figure 11: Courbe d'étalonnage d'AIA

Annexe 4

Résultats de l'effet des sources du carbone sur la production de l'AIA (moyennes des DO 530 nm)

Source de carbone		Acide malique	saccharose	Lactose	Mannitol
Csa 530	DO (530nm)	0,201463	0,048	0,12	0,15
	AIA (µg/ml)	18,6993069	3,504950495	10,63366337	13,6039604
Csa 354	DO (530nm)	0,14391	0,053	0,0235	0,066
	AIA (µg/ml)	13,0009901	4	1,079207921	5,287128713
Csa 112	DO (530nm)	0,1082	0,0325	0,0465	0,0825
	AIA (µg/ml)	9,46534653	1,97029703	3,35643564	6,92079208
Csa 236	DO (530nm)	0,213	0,0655	0,065	0,041
	AIA (µg/ml)	19,8415842	5,23762376	5,18811881	2,811881188
Csa 381	DO (530nm)	0,59231	0,03	0,046	0,162
	AIA (µg/ml)	57,3970297	1,72277228	3,30693069	14,7920792
Csa 207	DO (530nm)	0,19405	0,021	0,0405	0,1275
	AIA (µg/ml)	17,9653465	0,83168317	2,76237624	11,3762376

Résultats de l'effet des sources d'azote sur la production de l'AIA (moyennes des DO 530nm)

Source d'azote		Urée	Ca(NO ₃) ₂	NH ₄ CL	Extrait de levure
Csa 530	DO (530nm)	0,0255	0,036	0,302616	0,15
	AIA (µg/ml)	1,277227723	2,316831683	28,7144554	13,6039604
Csa 354	DO (530nm)	0,0645	0,067	0,1331	0,066
	AIA (µg/ml)	5,138613861	5,386138614	11,9306931	5,287128713
Csa 112	DO (530nm)	0,077	0,028	0,102	0,0825
	AIA (µg/ml)	6,37623762	1,5247525	8,85148515	6,92079208
Csa 236	DO (530nm)	0,054	0,079	0,122	0,041
	AIA (µg/ml)	4,0990099	6,57425743	10,8316832	2,811881188
Csa 381	DO (530nm)	0,049	0,083	0,673	0,162
	AIA (µg/ml)	3,6039604	6,97029703	65,3861386	14,7920792
Csa 207	DO (530nm)	0,04	0,03	0,2405	0,1275
	AIA (µg/ml)	2,71287129	1,72277228	22,5643564	11,3762376

**Résultats de l'effet du pH sur la production de l'AIA
(Moyennes des DO 530 nm)**

pH		pH=5	pH=6	pH=7	pH=8
Csa 530	DO (530nm)	0,097333333	0,193559	0,282616	0,12
	AIA (µg/ml)	8,38244345	16,683425	24,362112	10,63366337
Csa 354	DO (530nm)	0,057	0,064	0,092	0,06266666
	AIA (µg/ml)	4,3900396	5,0123364	7,8613861	4,9570357
Csa 112	DO (530nm)	0,0126	0,075	0,1051	0,091
	AIA (µg/ml)	0	6,1782178	8,364323	7,762376238
Csa 236	DO (530nm)	0,0126	0,203	0,144	0,093
	AIA (µg/ml)	0	4,0990099	13,003301	7,96039604
Csa 381	DO (530nm)	0,0706666	0,274	0,793	0,1465
	AIA (µg/ml)	5,74917492	22,362211	77,267326	13,257425
Csa 207	DO (530nm)	0,2825	0,274	0,3405	0,107
	AIA (µg/ml)	26,722772	25,381188	32,2112	9,3465346

**Résultats de l'effet de la température sur la production de l'AIA
(Moyennes des DO 530nm)**

Température		TC°32	TC°28	TC°24
Csa 530	DO (530nm)	0,045	0,282616	0,349
	AIA (µg/ml)	3,2079207	24,362112	33,306930
Csa 354	DO (530nm)	0,041	0,092	0,051
	AIA (µg/ml)	2,8118811	7,8613861	3,8019801
Csa 112	DO (530nm)	0,03	0,1051	0,068
	AIA (µg/ml)	1,7227722	8,364323	5,4851485
Csa 236	DO (530nm)	0,2515	0,144	0,2785
	AIA (µg/ml)	23,653465	13,003301	26,3267327
Csa 381	DO (530nm)	0,024	0,793	0,0485
	AIA (µg/ml)	1,1287128	77,267326	3,55445545
Csa 207	DO (530nm)	0,0225	0,3405	0,033
	AIA (µg/ml)	0,980198	32,2112	2,019801

Résumé

Dans cette étude, six souches de *Bradyrhizobium* isolées de nodules racinaires de *Calicotome spinosa* ont été testées pour leur capacité à produire l'AIA. Des tests visant à optimiser la composition du milieu et les conditions de cultures ont été réalisés. L'identification de l'AIA a été faite en vérifiant les réactions avec le réactif de Salkowski. Les résultats ont montré que les conditions de culture et de la composition du milieu conduisaient à la production de l'acide indole acétique (AIA) à des concentrations variées. Les souches étudiées présentent une production maximale d'AIA en présence de l'acide malique (57,39µg/ml) et NH₄Cl (65,38µg/ml). L'optimisation des conditions de culture (température et pH) a également permis de déterminer des optima de production d'AIA à (77,26µg/ml) à 28°C et pH 7.

Mots clés : Phytohormones, PGPR, Rhizosphère, Optimisation.

Abstract

In this study, six strains of *Bradyrhizobium* isolated from root nodules of *Calicotome spinosa* were tested for their ability to produce AIA. Tests were carried out in order to optimize the medium composition and the culture conditions. Identification of AIA was made by checking reactions with Salkowski's reagent. The results showed that the culture conditions and the composition of the medium led to the production of indole acetic acid (IAA) at various concentrations. The strains studied show maximum production of IAA in the presence of malic acid (57.39 µg/ml) and NH₄Cl (65.38 µg/ml). Optimization of culture conditions (temperature and pH) showed AIA optimum production (77.26 µg/ml) at 28°C and pH 7.

Keywords: Phytohormones, PGPR, Rhizosphere, Optimization.