

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Biotechnologie microbienne



Réf :

Mémoire de fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
Master
Thème

**Activités Biologiques d'intérêt
chez les espèces de genre
rhizobium**

Présenté par : AMARA Thanina

Soutenu le 13-09-2022

Devant le jury composé de :

Promoteur : BELHADI .DJ.....MCA

Présidente : BOUAOUD.YMCB

Examinatrice : IDRESS. N MCB

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier monsieur BELHADI pour tous ses conseils et sa patience.

Je tiens à remercier les membres de jury à savoir Mes dames IDRES SN.et BOUAOUD Y.

Je remercie vivement tous les enseignants qui m'ont aidé et soutenu durant tout mon parcours, sans vous, je ne serai pas là aujourd'hui.

Je ne serai terminée sans souligner le soutien amical et chaleureux de tous mes camarades à l'université, je m'abstiens de les nommer tous tellement la liste est longue, cependant je nommerai mon collègue Afroun Mohand Arazki.

Dédicaces

Je dédie mon travail pour les personnes les plus cher à mon cœur commençant par :

❖ *Mes parents* : à la plus douce mère Faroucja , ma force et mon courage, à mon père Mchand

❖ *Mes frères* : Abed, Ahmed, Zindine, Amar, Yanis

❖ *Mes belles sœurs* : Kahina, Souad, Hania, Assia

❖ *Mes neveux* : Ayan, Liam, Massinissa, Kais , Lana et Ania

❖ *Mes tentes* : Hassina et Dahbia

❖ *Mes cousines* : Lydia, Hiam, Lili, Lyla , Dyhia et Kanza

❖ *Mes copines* : Imene , Celine , Radia, Nawel , Wissem

❖ *Mes amis* : Yanis, Mazigh,, Moumou et Mcho

❖ *A mes grands-parents* : qui ne sont malheureusement pas de ce monde,
paix à leurs âmes

❖ *A tout mes amis (es) en général*

Amara Thanina

Liste des figures et tableaux

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de la plante et ces besoins nutritionnels.....	5
Figure2 : Mécanismes d'action des PGPR.....	12
Figure 3 : Cycle d'azote.....	14
Figure 4 : Structure de la nitrogénase.....	15
Figure 5 : Mécanisme moléculaire de la réduction de l'azote atmosphérique.....	16

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des Rhizobium et le nombre d'espèces de bactéries identifié comme Rhizobiums	10
---	----

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures et tableaux	
Introduction	1
Chapitre I:Généralités sur les légumineuses	
I.1.Les légumineuse	2
I.2.Besoins de la plante	2
I.2.1. Les éléments nutritifs NPK	3
I.2.2. Autres éléments.....	5
I.3. Source des nutriments pour les plantes	6
I.3.1. L’atmosphère	6
I.3.2. Sol	6
I.3.3. Les engrais chimiques	7
I.4.Interactions sol-plantes-microorganismes	7
I.4.1. La rhizosphère.....	7
Chapitre II:Les Rhizobiums et leurs activités enzymatiques	
II.1 Les Rhizobiums	9
II.1.1. Définition.....	9
II.1.2. Classification des rhizobiums	9
II.2. Activités promotrices de la croissance des plantes	11
II.2.1. Mode d’action direct.....	13
II.2. 2.Mode d’action indirect.....	21
II.3. Utilisations des PGPR en agriculture.....	25
Chapitre III: Production d’inoculant de Rhizobium	
III.1. Critères de Sélection des souches de rhizobiums	27
III.1.1. Tolérance à la salinité.....	27
III.1.2. Effet du pH	28
III.1.3. Effet de la température	28

III.1.4. Résistance aux antibiotiques	29
III.1.5. Résistance aux métaux lourds	29
III.1.6. Compétition	29
III.2. Processus de production d'inoculant	30
III.2.1. Sélection des souches	30
III.2.2 Fermentation.....	30
III. 3. Différents types de support d'inoculant.....	31
III. 3 .1. L'inoculant solide.....	31
III. 3 .1. 2. La tourbe	31
III. 3 .1.3. La vermiculite	31
Conclusion.....	32
References bibliographiques	

Introduction

La forte croissance démographique des dernières années a entraîné une forte pression sur les ressources en terre cultivable. L'augmentation de la population a entraîné même une augmentation de la demande en produit végétaux utile à l'Homme et l'animal. Cette forte pression sur le couvert végétale influence la capacité des sols à produire de la biomasse nécessaire aux besoins d'une population de plus en plus nombreuse (Sédogo, 1981).

Pour subvenir à ces besoins, en augmentation permanente, la recherche des moyens nécessaires s'avère indispensable. L'utilisation des engrais chimiques pour améliorer le rendement est devenu l'assise de la croissance démographique dans le monde, toute fois l'utilisation excessive et irrationnelle des engrais chimiques a engendré des problèmes environnementaux sévères et des menaces à l'état sanitaire des végétaux et des animaux (Karhagomba, 2013).

Alors On recherche une meilleure solution pour ce problème sans faire de dégâts environnementaux., l'intérêt a été porté sur un genre bactérien appelé rhizobium, qui peut entrer en symbiose avec les légumineuses et fixer l'azote biologiquement. Cette association peut être utilisée comme une solution alternative à l'utilisation des engrais chimiques.

Une importance considérable doit donc être attribuée au développement des possibilités offertes par cette association symbiotique fixatrice d'azote, dans les zones arides et semi arides, comme c'est le cas des pays du bassin méditerranéen et donc l'Algérie. Cette discipline est devenue très sollicitée vue la détérioration rapide de notre environnement.

Dans ce mémoire, on s'est intéressé aux activités enzymatiques qui pourraient être présentes chez les rhizobiums et qui pourraient améliorer les rendements et la qualité des cultures en diminuant ainsi l'utilisation des engrais chimiques et en réduisant la pollution des sols et des eaux. Puis dans une autre partie on s'est intéressé aux étapes de processus de production d'inoculant à partir des souches de Rhizobium bien sélectionné selon des critères bien spécifiques.

Chapitre I

Généralités sur les légumineuses

I.1. Les légumineuses

Les légumineuses constituent une des familles les plus abondantes et diversifiées des plantes supérieures avec plus de 650 genres et 18000 espèces (Sebihi, 2008). Cette famille comprend des espèces des formes herbacées se rencontrent surtout dans les régions tempérées et les formes arborescentes dans les régions chaudes (Michel et *al.*, 2005). Elle présente des nodules sur leurs racines et sur les tiges dans lesquels se trouvent les bactéries, fixant l'azote atmosphérique (Murielle et Daniel, 2004).

Les légumineuses présentent une importance économique majeure, de nombreuses espèces constituent des ressources en fourrage telle que la Luzerne (*Medicago sativa*), l'aliment Soja (*Glycine max* L.), Haricot (*Phaseolus sp.*), Arachides (*Arachis hypogaea* L.) et Horticoles (*Mimosas*) où présentent des propriétés médicinales (Sebihi, 2008).

Les légumineuses jouent un rôle clé en introduisant de l'azote. La culture des légumineuses ne nécessite pas l'apport d'engrais azotés, elle permet de réduire les apports azotés sur la culture suivante de la rotation. Les Romains avaient déjà observé ce rôle bénéfique des légumineuses et les civilisations précolombiennes avaient généralisé la culture en association d'une légumineuse par exemple le Haricot (*Phaseolus sp.*) avec une céréale comme le Blé (*Triticum durum*) (Anonyme, 2000).

Les légumineuses jouent également un rôle important dans le maintien de la fertilité des sols agricoles, elles sont utilisées en rotation ou en association dans les systèmes de culture, elles apportent une certaine contribution en azote, en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique dans le système (Sebihi, 2008).

Parmi les légumineuses on trouve les espèces du genre *Vicia* qui est un genre de plantes dicotylédones sous la famille des fabaceae, Comprend environ 200 espèces, elles peuvent être utilisées comme foin pour l'alimentation de bétails ou en grain pour l'alimentation humaine comme légumes secs. Ces vesces se cultivent en association avec une céréale fourragère (l'avoine, l'orge ou le triticale) et donnent un foin d'excellente qualité (Rihawy et *al.*, 1987).

I.2. Besoins de la plante

Chaque espèce de plantes se développe dans des températures bien spécifiques à l'espèce, sans lumière la croissance de la plante est juste pas possible, car au niveau des feuilles, les plantes réalisent la photosynthèse, ce mécanisme permet de capter l'énergie lumineuse du soleil et d'absorber le carbone atmosphérique CO₂. L'eau est absorbée au niveau des racines et

s'évapore au niveau des feuilles, cette eau contient des minéraux qui sont indispensables à la croissance de la plante. Parmi les 14 macro- et micro minéraux indispensables à la croissance des plantes, l'azote, le phosphore et le potassium représentent les 3 principaux macroéléments essentiels (Maathuis, 2009).

I.2.1. Les éléments nutritifs NPK

I.2.1.1. L'azote (N)

L'azote (N) est un élément clé pour le vivant puisqu'il est fondamental dans la composition de l'ADN, des protéines et des enzymes. Sa forme la plus abondante, le diazote atmosphérique (N₂), constitue 79% du volume de l'air, mais il n'est pas directement assimilable par la majorité des êtres vivants. L'azote est ainsi considéré comme l'un des premiers facteurs limitant le développement de la vie (Vitousek et Howarth, 1991 ; Kaye et Hart, 1997 ; Galloway *et al.*, 2003).

La conversion de N₂ en espèces réactives de l'azote (Nr) est nécessaire à la croissance de la plupart des organismes et correspond à des formes biodisponibles de l'azote pour les organismes. Les molécules assimilables de l'azote se présentent sous différentes formes, oxydées ou réduites et sont solubilisables dans la solution du sol, tels que le nitrate (NO₃⁻) et l'ammonium (NH₄⁺). Les différents processus, flux et équilibres liés à l'azote dans l'environnement, constituent le cycle de l'azote. En prenant le sol comme élément central dans un écosystème terrestre, il est possible de distinguer deux types de flux d'azote : les entrées et les sorties. Cependant, la majorité des écosystèmes ont une demande d'azote biodisponible dépassant largement ce que peuvent apporter les processus naturels, et de ce fait, la plupart des écosystèmes sont limités par leurs ressources azotées (Aber *et al.* 1989).

L'azote est le principal élément indispensable à la croissance des plantes et à leur productivité (Cleland et Harpole, 2010). Les processus naturels majeurs capables de former de l'azote biodisponible, dans les écosystèmes terrestres et aquatiques, sont la foudre et la fixation biologique (Fowler *et al.* 2013). On peut utiliser des engrais azotés mais ces derniers conduisent à des conséquences sur les environnements terrestres, aquatiques, la santé humaine et le climat, favorisant notamment des phénomènes d'eutrophisation (blooms d'algues entraînant une désoxygénation), d'acidification des milieux, de création de particules fines (inférieures à 2,5

µm), de réduction de la couche d'ozone, de formation de pluies acides, (Galloway *et al.*, 2003 ; Fowler *et al.*, 2011)

L'un des objectifs majeurs des sciences agronomiques est ainsi de trouver une alternative à ce procédé, notamment en utilisant le potentiel des microorganismes naturellement présents dans les sols. En effet, certaines bactéries et champignons sont capables d'interagir avec les plantes et de former des associations bénéfiques qualifiées de symbioses. Dans certains cas, ces symbioses peuvent influencer le cycle de l'azote, comme par exemple en utilisant la fixation biologique de l'azote (Vincent, 2018).

I.2.1.2. Phosphore (P)

Second élément indispensable à la croissance et au développement végétal, après l'azote, le phosphore (P) joue un rôle important dans de nombreux processus biologiques, la photosynthèse et la fixation biologique d'azote. C'est un constituant des acides nucléiques entrant dans la jonction entre les nucléotides. Constituant des phospholipides des membranes végétales. Le phosphore joue un rôle énergétique ; L'ATP (adénosine tri-phosphate) est la source principale d'énergie du métabolisme, l'hydrolyse de l'ATP produisant un phosphate inorganique (qui se lie au substrat à phosphoryler) et libérant l'énergie nécessaire à cette phosphorylation (Hawkesford *et al.*, 2012).

Le phosphore joue également un rôle métabolique ; la phosphorylation des glucides ainsi que d'autres substrats organiques les rendent plus réactifs aux réactions biochimiques du métabolisme. Il intervient également comme catalyseur de la synthèse des glucides à partir de CO₂ et de H₂O (Marschner, 2012).

I.2.1.3. Potassium (K)

Le Potassium (K) joue un rôle important dans la turgescence des cellules végétales et dans l'activation des enzymes impliquées dans la respiration et la photosynthèse. Favorisant le transfert des hydrates de carbone des feuilles aux racines, le potassium contribue à une bonne croissance racinaire et améliore le nombre et la taille nodulaire chez les légumineuses. L'apport en K dans les sols favorise les processus physiologiques impliqués dans la croissance et le développement des plantes (Marschner, 2012).

Le potassium est apporté sous forme de fertilisants inorganiques : chlorure de potassium, sulfate de potassium, sulfate de magnésium potassique et nitrate de potassium et sous forme organique : composte, cendre de bois, fumier, comme on peut extraire le potassium dans des lacs souterrains, salés et des océans. La carence en K est rare, mais la croissance des plantes est généralement stimulée par apport de K (Mvolo, 2010).

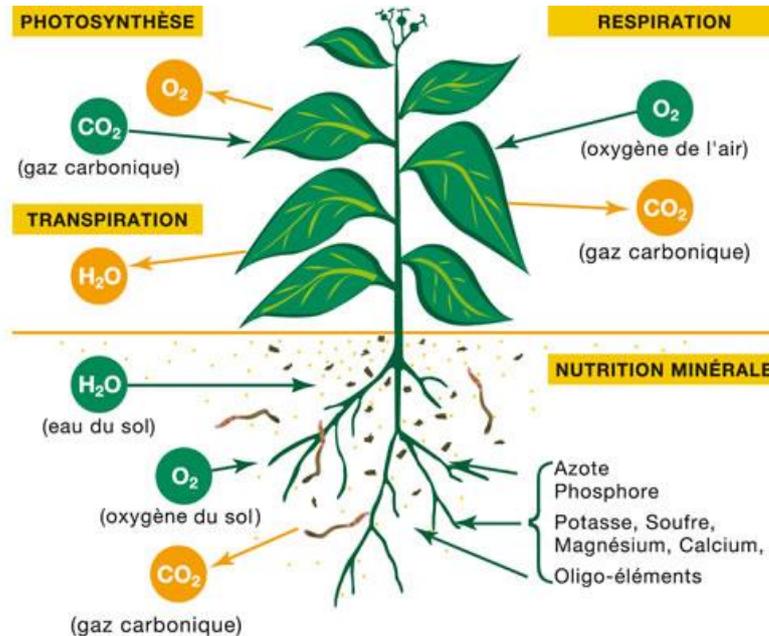


Figure 1 : morphologie de la plante et ces besoins nutritionnels (Jean-Luc, 2012).

I.2.2. Autres éléments

I.2.2.1. Magnésium (Mg)

Cet élément est l'un des constituants de la chlorophylle et joue par conséquent un rôle essentiel dans la photosynthèse. Ce rôle métabolique du magnésium est important, mais en général, le sol est suffisamment riche naturellement en cet élément pour combler les besoins des plantes. Le magnésium est classiquement incorporé dans les engrais spécifiques pour les rosiers et le plus souvent pour les légumes (formule NPK+Mg) (Marschner, 2012).

I.2.2.2. Calcium (Ca)

Il assure les besoins métaboliques des végétaux par sa présence naturelle dans le sol. On apporte en général du calcium dans le sol pour améliorer sa structure ou modifier son acidité (pouvoir tampon de calcium) (Marschner, 2012).

I.2.2.3. Fer (Fe)

Le fer, 4ème élément de la croûte terrestre et oligo-élément essentiel, est présent dans les sols, essentiellement dans les minéraux primaires issus de la roche mère ou secondaires issus de l'altération, il est souvent peu disponible. Son rôle pour la plante est la contribution à la fonction photosynthétique qui réside dans les étapes de transfert d'électrons (Francis-André Wollman, 2004).

C'est un élément dont la carence a des effets bien connus, qui consistent en un jaunissement de la plante (chlorose ferrique). Cette carence est due à un blocage de l'assimilation du fer dans les sols riches en calcaire actif, avec un pH élevé. On peut corriger ces carences par l'apport de fer chélate. Les plantes qui montrent des chloroses chroniques devraient être cultivées en pot dans les régions où le sol n'est pas adapté (Marschner, 2012).

I.2.2.4. Soufre (S)

Le soufre (S) est quantitativement un élément majeur de la nutrition minérale des plantes au même titre que l'azote, le phosphore et le potassium. Le S est d'abord un élément constitutif puisqu'il entre dans la composition des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine, cystine...). Il constitue un agent de liaison essentiel entre les protéines, et un régulateur des activités enzymatiques. Il est par ailleurs nécessaire à l'assemblage des éléments constitutifs de la chlorophylle. De nombreux travaux évoquent également le rôle des composants soufrés dans le système de défense des plantes pour prévenir les infections fongiques ou le stress oxydatif. (Denis Piron, 2020).

I.3. Source des nutriments pour les plantes**I.3.1. L'atmosphère**

L'air fournit à la plante, sous forme de gaz carbonique, le carbone nécessaire à la photosynthèse et à l'assimilation chlorophyllienne. L'oxygène présent dans l'air, mais aussi dans le sol, est indispensable à la respiration de la plante qui lui fournit son énergie (Ablain-Barrière, 2016).

I.3.2. Sol

En interaction permanente avec l'atmosphère et la biosphère, le sol est un élément d'une importance capitale à l'échelle de la planète. Il est le substrat qui permet le développement des

végétaux terrestres dont dépendent la majorité des chaînes alimentaires, mais aussi l'agriculture humaine. Il abrite d'innombrables organismes qui décomposent la matière organique et la rendent assimilable pour les plantes. Impliqué dans plusieurs grands cycles de la matière (carbone, azote), il tient également un rôle majeur dans la régulation du climat. Le sol est formé à partir de la dégradation d'un matériau du sous-sol : la roche-mère. Sa formation nécessite des milliers d'années. C'est donc une ressource considérée comme non renouvelable à l'échelle humaine. À l'époque actuelle, en de multiples lieux, le sol se dégrade du fait de causes naturelles mais aussi du fait de l'activité humaine ; il est donc crucial de bien le connaître et d'apprendre à le respecter (Clémence et Jules Papeil, 2020).

I.3.3. Les engrais chimiques

L'épuisement des sols en nutriments conduits à l'utilisation des engrais chimiques pour assurer un meilleur rendement et une bonne qualité. Le plus connue des engrais est l'engrais azoté, mais l'utilisation abusive de ce dernier peut causer des problèmes environnementaux majeurs (Zaidi, 2007). Les effets néfastes des engrais résultent au premier degré de l'utilisation excessive et inefficace qui est faite. Celle-ci entraîne des pertes de nutriments dans l'environnement et d'autres conséquences préjudiciables telles que la contamination des eaux potables et l'eutrophisation des systèmes d'eaux douce et des zones côtières (Bossy, 2019).

I.4. Interactions sol-plantes-microorganismes

Les plantes ont un effet sur le fonctionnement et la structure de sol, plus précisément sur le cycle de l'azote comme aussi sur le cycle de carbone, et influence sa teneur en eau ainsi que sa biodiversité (Freschet et *al.*, 2018).

Les microorganismes (bactéries et champignons) sont essentiels dans les fonctions clés du sol, ils sont nécessaire pour la minéralisation de la matière organique et contribuent à une meilleure structure de sol ; ils participent à la dégradation des polluants organique et un meilleur état sanitaire dans les sols (Lionel Ranjard, 2014).

I.4.1. La rhizosphère

C'est la zone du sol qui est sous l'influence des exsudats racinaires. Dans cette zone se trouve un groupe particulier de bactéries, les rhizobactéries. Ces dernières sont capables de se

multiplier et de rivaliser avec les autres microorganismes pour occuper cette zone riche en éléments nutritifs(Suslow, 1982 ; Weller, 1988).

Chapitre II

Les Rhizobiums et leurs activités enzymatiques

II.1 Les Rhizobiums

II.1.1. Définition

Le terme rhizobium vient du grec Rhiza = racine et bios = vie, il provient de la première appellation au XIX^{ème} siècle du premier genre bactérien vivant dans le sol. Les rhizobiums sont des bactéries du sol qui aboutissent à la formation des nodules au niveau des racines et la fixation d'azote atmosphérique. Ils se trouvent dans l'environnement sous deux formes : symbiotique, dans les nodules racinaires des légumineuses, et saprophyte dans l'environnement du sol. À l'intérieur de la racine, ces bactéries se différencient en bactéroïdes fixateurs d'azote. Le rôle principal de rhizobium dans une symbiose est de réduire l'azote en ammoniac directement assimilable par la plante avec la participation d'un complexe enzymatique de nitrogénase (Gawryjolek *et al.*, 2021).

Ainsi, les rhizobia (ou rhizobiums) sont utilisés comme engrais biologiques et en tant qu'inoculant dans l'agriculture (Van Kessel et Hartley, 2000). Le terme rhizobium désigne communément les bactéries fixatrices d'azote, symbiotes des légumineuses, alors que “*Rhizobium*” est un genre bactérien (Domergue, 2017).

II.1.2. Classification des rhizobiums

Les rhizobiums sont des bactéries en bâtonnets, à Gram négatif, aérobies, non sporulé. Phylogénétiquement, ils appartiennent à la sous-division alpha des protéobactéries. Le spectre de l'hôte n'était pas le seul critère pour la classification des rhizobiums, Les espèces de *Rhizobium* ont d'abord été reclassées en deux genres, le genre *Rhizobium* révisé, y compris les souches rapides en croissance, et le nouveau genre *Bradyrhizobium*, créé pour ceux à croissance lente. Depuis, l'isolement de rhizobiums d'un nombre croissant d'espèces végétales dans le monde et leur caractérisation par la modernité taxonomie polyphasique a conduit à la description de nouveaux genres et espèces supplémentaires Basé sur Séquences d'ADN ribosomal 16S, les symbiotes des légumineuses les plantes appartiennent à trois principaux groupes phylogénétiques (Zakhia et Lajudie, 2001).

Tableau 01 : Classification des Rhizobium et le nombre d'espèces de bactéries identifié comme Rhizobiums (Emanoel G. Moura *et al.*, 2020).

Famille	Genre/Type d'espèces	Les espèces de Rhizobia avec le genre Accordé à la liste de Procaryote noms avec Standing dans la Nomenclature
<u>Rhizobiaceae</u>	<i>Rhizobium</i> . Type d'espèces <i>R. Leguminosarum</i>	133 espèces
	<i>Ensifer/Sinorhizobium</i> Type d'espèces : <i>E. adhaerens</i> ; <i>S. fredii</i> ; <i>S. xinjiangensis</i> .	Le genre <i>Ensifer / Sinorhizobium</i> couvre 24 espèces
	<i>Allorhizobium</i> . Type d'espèces: <i>A. undicola</i>	9 espèces
	<i>Pararhizobium</i> Type d'espèces : <i>P. giardinii</i> .	<i>P. giardinii</i> ; <i>P. herbae</i>
	<i>Shinella</i> Type d'espèces : <i>S. granuli</i>	<i>S. kummerowiae</i>
	<i>Neorhizobium</i> . Type d'espèces: <i>N. galegae</i>	<i>N. alkalisoli</i> , <i>N. galegae</i> et <i>N. huautlense</i>
<u>Hyphomicrobiaceae</u>	<i>Azorhizobium</i> . Type d'espèces: <i>A. caulinodans</i>	<i>A. caulinodans</i> , <i>A. doebereineriae</i> et <i>A. oxalatifilum</i>
	<i>Devosia</i> . Type d'espèces: <i>D. riboflavina</i>	<i>D. neptuniae</i>
<u>Bradyrhizobiaceae</u>	<i>Bradyrhizobium</i> Type d'espèces <i>B. japonicum</i>	60 espèces
	<i>Blastobacter</i> . Type d'espèces: <i>B. tienricii</i>	<i>B. denitrificans</i>
	<i>Mesorhizobium</i> : Type d'espèces: <i>M. loti</i>	59 espèces
	<i>Aminobacter</i> .: Type d'espèces : <i>A. aminovorans</i>	<i>A. anthyllidis</i>
<u>Phyllobacteriaceae</u>	<i>Phyllobacterium</i> Type d'espèces: <i>P. myrsinacearum</i>	8 espèces : <i>P. trifolii</i> , <i>P. leguminum</i> , <i>P. bourgognense</i> , <i>P. brassicacearum</i> , <i>P. endophyticum</i> , <i>P. loti</i> , <i>P. sophorae</i> , <i>P. trifolii</i>
<u>Methylobacteriaceae</u>	<i>Methylobacterium</i> . Type d'espèces: <i>M. organophilum</i>	<i>M. nodulans</i>

	<i>Microvirga</i> : Type d'espèces <i>M. subterranea</i>	<i>M. lupini</i> , <i>M. lotonononidis</i> , <i>M. zambiensis</i> et <i>M. vignae</i>
<u><i>Brucellaceae</i></u>	<i>Ochrobactrum</i> . Type d'espèces: <i>O. anthropi</i>	<i>O. lupini</i> , (synonyme de <i>O. anthropic</i>); <i>O. cytisi</i>
<u><i>Burkholderiaceae</i></u>	<i>Burkholderia</i> . Type d'espèces: <i>B. cepacian</i> . <i>Burkholderia</i> et <i>Paraburkholderia</i> ,	Le genre <i>Burkholderia</i> a 32 Espèces et <i>Paraburkholderia</i> à 69 espèces
	<i>Cupriavidus</i> . Type d'espèces: <i>C. necator</i>	<i>C. taiwanenses</i>
	<i>Ralstonia</i> . Type d'espèces <i>R. pickettii</i>	<i>R. taiwanensis</i> (Sinonimous: <i>Cupriavidus taiwanensis</i> ; <i>Wautersiataiwanensis</i>

II.2. Activités promotrices de la croissance des plantes

Le terme PGPR "Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria" a été inventé par **Kloepper** vers les années 1970. (Gray *et al.*, 2005). Il correspond aux bactéries du sol, amélioratrices de la croissance des plantes, qui colonisent la rhizosphère et stimulent les interactions entre la microflore symbiotique et la plante-hôte (Masciarelli *et al.*, 2014).

Les PGPR protègent les plantes contre les phytopathogènes grâce à la production d'antibiotiques, de phénazines et de métabolites antifongiques. Certaines souches renforcent la nodulation des légumineuses et la fixation d'azote et/ou influencent positivement la symbiose mycorhizienne en augmentant la solubilisation et la minéralisation du phosphore du sol, la production de sidérophores (Ahemad, 2015), la sécrétion de phytohormones et la diminution du niveau d'éthylène (Jiang *et al.*, 2008).

Les PGPR comprennent diverses espèces comme ; *Arthrobacter*, *Variovorax*, *Azosprillum*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Azobacter*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Flavobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Bashan *et al.*, 1998 ; 2013).

Les PGPR régulent la croissance par divers mécanismes indirects et directs (figure 02). Elles peuvent inclure l'ajout des composés liés au métabolisme microbien (Singh *et al.*, 2017), comme elles peuvent également agir et être bénéfique par la production de divers composés inhibiteurs, bactériocines, enzymes lytiques, sidérophores, solubilisation du phosphate et pourraient jouer un rôle dans la synthèse des phytohormones (Anithet *et al.*, 2004).

PGPR appartiennent aux genres *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Rhizobium*, les endophytes et les espèces de *Frankia* qui peuvent tout deux fixer en symbiose l'azote atmosphérique chez les végétaux supérieurs (Bhattacharyya *et al.*, 2012).

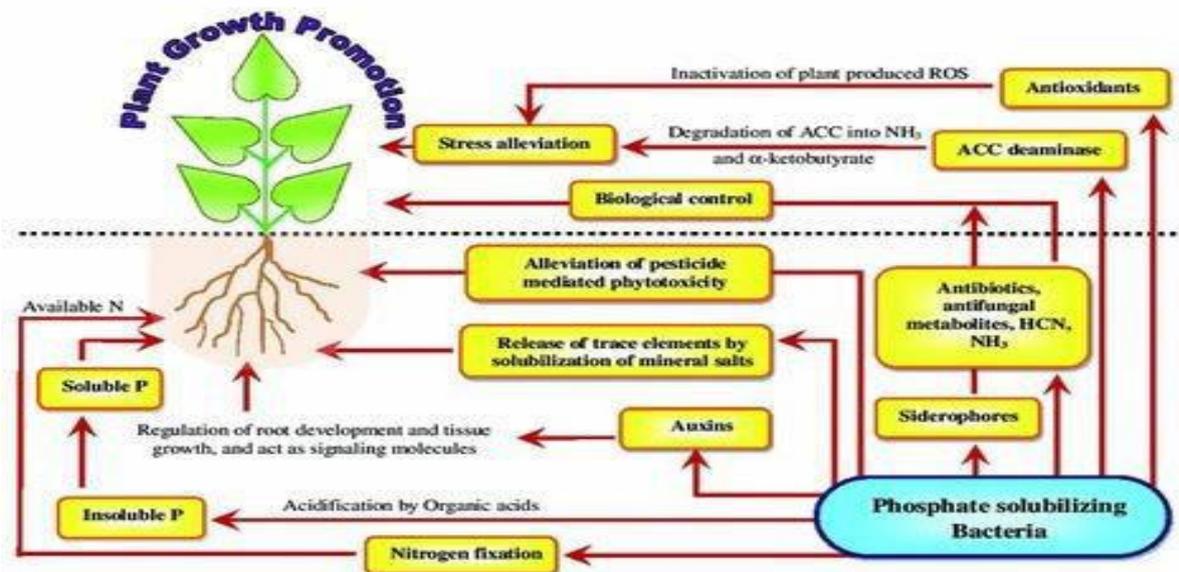


Figure 2 : mécanismes d'action des PGPRs (Domergue, 2017)

Une attention considérable a été accordée au PGPR pour remplacer les produits agrochimiques (engrais et pesticides) pour l'augmentation de la croissance des plantes par une variété de mécanismes qui impliquent la formation et la structuration du sol, décomposition de matière organique, recyclage des éléments essentiels, solubilisation des nutriments minéraux, production de nombreux régulateurs de croissance des plantes, dégradation des polluants organiques, stimulation de la croissance racinaire, fertilisation des sols, biocontrôle des pathogènes transmis par les semences et dans la promotion des changements dans la végétation (Sivasakthi *et al.*, 2014).

Certaines PGPR stimulent la croissance des plantes en l'absence de pathogènes. Ces effets directs regroupent les accroissements de la masse aérienne et racinaire, les elongations racinaires et les levées accélérées des plantules. Ces augmentations s'expliquent généralement par de meilleurs prélèvements et assimilation des éléments nutritifs par la plante, la production de phytohormones et le développement de résistance induite chez les plantes (Beauchamp, 1993).

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique et de l'apporter aux plantes par deux mécanismes : symbiotique et non

symbiotique. La fixation symbiotique de l'azote est une relation mutualiste entre un microorganisme et la plante ; le microorganisme pénètre d'abord dans la racine et forme ensuite des nodules dans lesquels la fixation d'azote se produit. Les rhizobiums sont un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité à établir des interactions symbiotiques par la colonisation et la formation de nodules racinaires avec des plantes légumineuses (Singh, 2018).

D'autres PGPR produisent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes en présence d'un pathogène ou d'un rhizobia. Ces modes d'action indirects sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et à la détoxification du milieu ; chez les légumineuses, les PGPR mènent à l'accroissement du nombre de nodosités produites par les rhizobia. Par ailleurs, la levée plus hâtive des plantules et la croissance plus rapide des racines liées aux PGRP permettent aux plantes d'échapper plus rapidement aux pathogènes (Grimes et Mount, 1987 ; Polonenko *et al.*, 1987).

II.2.1. Mode d'action direct

II.2.1.1. Fixation d'azote biologique

La fixation biologique d'azote présente des avantages économiques et environnementaux, ainsi qu'une solution alternative à l'utilisation des engrais chimiques coûteux et polluants (Ferguson *et al.*, 2010 ; Stoddard *et al.*, 2009).

L'azote, bien qu'il soit très abondant sur la planète mais inaccessible à la plupart des êtres vivants. En effet, les seuls organismes capables de l'utiliser sont des bactéries dites diazotrophes, qui possèdent le complexe enzymatique réducteur appelé nitrogénase. En conditions de faible teneur en oxygène, cette enzyme catalyse la réduction de l'azote atmosphérique N₂ en ammoniac NH₃ (Day *et al.*, 2001 ; Downie, 2005).

Le bilan de la réaction de fixation biologique de l'azote est comme suivant ;



Certaines espèces bactériennes ont été trouvées associées à la rhizosphère de la plante et augmentent la croissance de ces dernières. Ces espèces appartiennent essentiellement aux genres *Erwinia*, *Azospirillum*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Alcaligènes*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Serratia* (Tilaket *al.*, 2005).

La diversité des espèces au niveau de la rhizosphère est en fonction de la disponibilité de

différents types de matières organiques et de leurs concentrations spécifiques. La sélection dépend aussi de la capacité du microorganisme à utiliser la matière organique comme source de nutrition. Elles ont un mécanisme efficace et spécifique pour l'absorption des nutriments ainsi que son passage à la forme qui pourrait probablement être utilisée comme source de nutrition (Dilfuza, 2005).

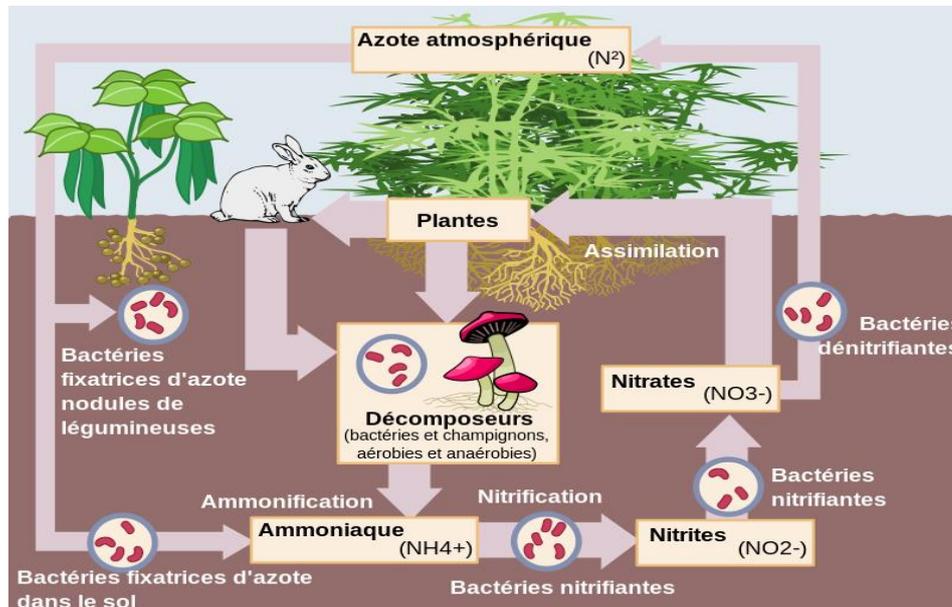


Figure3 : cycle d'azote (Domergue, 2017)

II.2.1.1.1. La nitrogénase

Le complexe enzymatique nitrogénase est composé de deux sous unités fonctionnelles à groupement prosthétique, la dinitrogénase réductase et la dinitrogénase (protéine Mo-Fe). Le gène *nifH* code pour la dinitrogénase réductase (protéine Fe) constituée de deux chaînes identiques, alors que les gènes *nifD* et *nifK* codent pour et la dinitrogénase (protéine Mo-Fe) qui est un hétérotétramère (figure04) (Fisher1994 ; Newton, 2007).

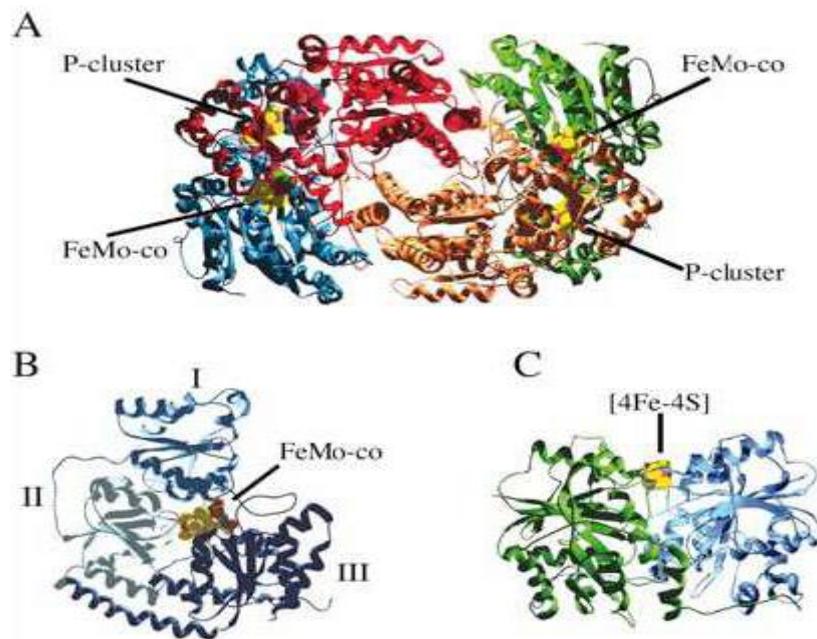


Figure 4 : Structure de la nitrogénase (Rubio et Ludden, 2005)

Le complexe nitrogénase catalyse la réaction de fixation de l'azote atmosphérique. Cette enzyme n'existe que chez les organismes procaryotes. Elle est constituée de deux composants : le composant I est un hétérotétramère constitué de deux sous-unités α représentées en bleu et vert et deux sous-unités β représentées en rouge et orange (A) dans la figure 04, le détail de la sous-unité α est donné (B) et le composant II est un homodimère (C). La nitrogénase est un complexe enzymatique très sensible à l'oxygène, qui est rapidement inactivé dans un environnement aérobie. La nodosité lui confère une niche protectrice grâce à la présence d'une protéine végétale, la leghémoglobine qui fixe l'oxygène et permet de le maintenir à faible pression partielle. Elle se lie à l'oxygène et permet ainsi de réguler la diffusion de l'oxygène aux bactéroïdes (Ott *et al.*, 2005).

La structure du complexe nitrogénase et des séquences codant les différentes unités polypeptidiques sont très conservées chez les diazotrophes libres et symbiotiques (Franchet *et al.*, 2009). Ce sont les gènes *nif* et *fix* bactériens qui sont impliqués dans l'activité nitrogénase et la fixation d'azote. La caractérisation et l'organisation des gènes *nif* ont principalement été étudiées chez un fixateur libre : *Klebsiella pneumoniae*. Plus de vingt gènes *nif* organisés en opérons interviennent dans la synthèse et le fonctionnement du complexe nitrogénase dont les gènes *nifHDK* qui représentent les gènes de structure. Les gènes *nifDK* codent les chaînes $\alpha\beta$ de la protéine I, à cofacteur FeMo de la nitrogénase, responsable de la réduction de N_2 en NH_3 . Le

gène *nifH* code pour la protéine II, ou réductase, qui assure le transfert d'électrons nécessaires à la réduction de N_2 comme montré dans la figure 5 (Glick, 2012)

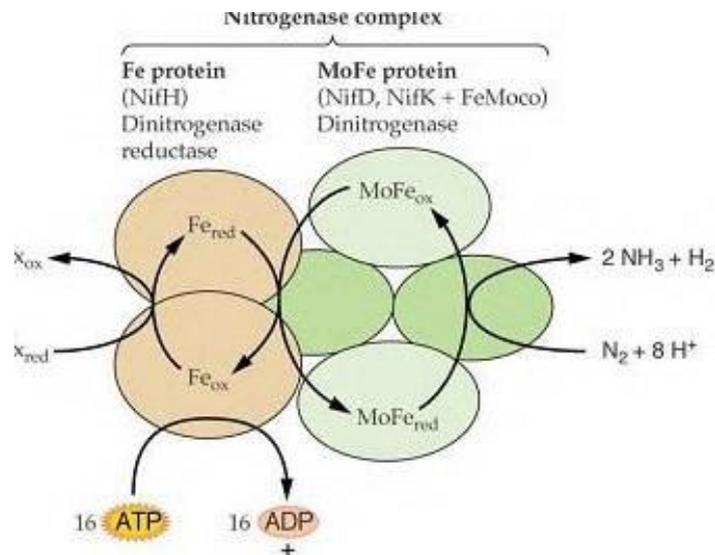


Figure 5 : Mécanisme moléculaire de la réduction de l'azote atmosphérique (Domergue, 2017).

II.2.1.2. Les fixateurs symbiotiques

Bactéries qui vivent en symbiose avec des plantes, c'est le système fixateur le plus efficace. La plupart sont des espèces économiquement importantes, telles que les *Rhizobiums*, vivant au sein de nodosités spécialisées sur les racines de légumineuses. La formation de ces nodosités exige une relation génétique intime entre les bactéries et la plante puisqu'on connaît de nombreuses mutations dans leurs génomes respectifs qui peuvent bloquer le développement d'une nodosité fonctionnelle. *Rhizobia* et *Frankia* ont un discours dominant dans la fixation symbiotique d'azote. *Frankia* s'est avéré être efficace dans près de huit familles différentes avec expansion à environ 280 espèces différentes (Schwintzer *et al.*, 1990).

En plus d'augmenter la croissance, le rendement, la fixation de l'azote, ils sont en outre signalés pour réguler le dépôt de phosphate qui provient de matière organique et inorganique dans le sol et qui s'est avéré si instrumental dans la détermination de la nutrition du sol (Sahgal *et al.*, 2003).

II.2.1.2.1. La symbiose *Rhizobium*–légumineuse fixatrices d'azote

La symbiose est une association réciproquement bénéfique entre deux organismes, qui souvent s'établit entre un partenaire autotrophe et un partenaire hétérotrophe. Les symbioses

fixatrices d'azote les plus connues font intervenir la famille des Légumineuses avec ses symbiontes bactériens, les Rhizobia. D'autres bactéries fixatrices d'azote sont capables, d'interagir avec des plantes, comme les actinomycètes. Dans les deux cas, la symbiose avec les bactéries aboutit à la formation d'un nouveau organe au niveau des racines (et/ou tiges), le nodule fixateur d'azote. Dans les nodules, les bactéries vont pouvoir se loger et se différencient en bactéroïdes capables de fixer l'azote, protégées et nourries par la plante, lui fournissent en échange de l'azote fixé. Présents à l'état saprophytique dans la rhizosphère, les rhizobia répondent à un chimiotactisme positif induit par les exsudats racinaires de la légumineuse. Ils sont ainsi attirés par des acides organiques, des enzymes, des ions inorganiques, des acides aminés, des sucres, des acides dicarboxyliques de la rhizosphère mais également par des composés plus spécifiques tels certains flavonoïdes présents en faible concentration dans les exsudats racinaires des légumineuses (Dakora et Phillips, 2002).

Ces flavonoïdes sont excrétés par des plantes reconnues spécifiquement par des protéines régulatrices bactériennes (essentiellement NodD). L'interaction NodD-flavonoïde entraîne un changement de conformation de NodD qui peut ainsi se fixer aux *nodbox* promotrices des gènes *nod* (Spini *et al.*, 2016).

L'activation des protéines régulatrices conduit, par l'intermédiaire des boîtes régulatrices (*nodbox*) situées en amont des gènes *nod*, à l'expression de gènes bactériens (gènes *nod*, *noe* et *nol*). Ces gènes codent pour des enzymes (chitine synthase, déacétylase, Nacétyltransférase,) qui interviennent dans la construction du squelette de base des facteurs de nodulation (facteurs Nod) et le greffage de groupements chimiques responsables de la spécificité d'hôte ; molécules "signal" reconnues de manière spécifique par la plante, les facteurs Nod (FNs) sont responsables des premières étapes de l'infection et de la morphogénèse nodulaire (Oldroyd, 2008).

II.2.1.3. Solubilisation du phosphate

Le phosphore est l'un des macronutriments essentiels à la croissance des végétaux et la fixation de l'azote symbiotique (Korir *et al.*, 2017) Il joue un rôle pratiquement important dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (Khan *et al.*, 2010). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate

uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasiques (H_2PO_4) et basique (HPO_4^{2+}). (Govind *et al.*, 2015).

Plusieurs espèces microbiennes ont été rapportées comme étant des microorganismes ayant une capacité de solubilisation du phosphore. Ces microorganismes sont appelés des PSM (Phosphate Solubilizing Microorganismes) et comprennent des bactéries, des champignons, des actinomycètes et des algues. Les PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) comprennent plusieurs genres tels que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacters*, *Xanthomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Klebsiella* ainsi et quelques rhizobiums (Kumar *et al.*, 2013 ; Zaidi *et al.*, 2009).

Les micro-organismes solubilisant les phosphates dissolvent les phosphates insolubles en produisant des acides inorganiques ou organiques et/ou par la baisse du pH. Cette chute de pH a été observée en raison de la production d'acides organiques jusqu'à 48h mais, après 48h, il ya une augmentation soudaine du pH. Cela peut être dû à l'utilisation d'acides organiques produits lors de la solubilisation du phosphate par les souches décrites précédemment dans *Arthrobacter* et *Pseudomonas* (Zaidi *et al.*, 2009).

La solubilisation du P organique est aussi appelée minéralisation. Le P sous forme organique peut donc être minéralisé par des enzymes secrétées par les microorganismes. Elles sont classées en trois catégories dont les plus abondantes sont les phosphomonoestérases qui sont capables de déphosphoryler les liaisons phosphoesters et les liaisons phosphoanhydrides de la matière organique (Nannipieri *et al.*, 2011).

II.2 .1.4. Solubilisation du potassium

Le potassium (K) est le troisième macronutriment essentiel à la croissance des plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de silicates minéraux. (Etesami *et al.*, 2017).

La carence en potassium devient une des contraintes majeures des cultures et de production. Sans potassium adéquat, les plantes auront du mal à se développer bien, on trouve des racines non développées, poussent lentement, produisent des petites graines et des rendements plus petits. Cela a mis l'accent sur la recherche d'une alternative indigène pour source de potassium absorbé par des plantes et pour maintenir le niveau de potassium dans les sols et pour soutenir la production agricole (Duval, 2012).

Les rhizobactéries favorisent la croissance des plantes par leur capacité à solubiliser le potassium de la roche en le libérant sous une forme plus accessible par la production et la sécrétion d'acides organiques. On trouve les rhizobactéries comme *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus sp.* Et *Pseudomonas* (Glick, 2012).

La solution est donc l'utilisation des rhizobactéries solubilisant le potassium comme biofertilisant pour l'amélioration de l'agriculture et peuvent réduire l'utilisation des produits agrochimiques et soutenir la production végétale respectueuse de l'environnement (Govind Gupta *et al.*, 2015).

II.2.1.5. Production de régulateurs de croissance des plantes (phytohormones)

Les régulateurs qui favorisent la croissance des plantes on peut citer, les auxines, l'acide abscissique, l'IAA (l'acide indole-3-acétique), l'éthylène et Les cytokines qui sont également connues par le nom (hormones de plantes exogènes) qui pourraient être synthétiques ou naturelle et similaire aux hormones produites naturellement par la plante. Ils ont un rôle essentiel dans le terme de stimulation de la production agricole. Ces phytohormones sont présents en moindre montant, mais influence les variétés de dimensions de la croissance des plantes comme la morphologique, processus physiologiques et biochimiques de la plante (Lugtenberg *et al.*, 2002).

II.2.1.5.1. Rôles des phytohormones pour les plantes

A). Les auxines

L'auxine est une phytohormone importante. Les auxines sont impliquées dans la division des cellules, l'élongation cellulaire et la différenciation des tissus cellulaires, embryogénèse, formation des racines, dominance apicale, phyllotaxie, et les réponses tropiques. Les gènes d'auxine sont des cibles importantes en biotechnologie pour modifier la taille et la forme des plantes et améliorer le rendement. Par conséquent, ils jouent un rôle vital dans la croissance et le développement des cellules (Asgher *et al.*, 2015). Les auxines jouent également un rôle dynamique dans la médiation et l'amélioration de la tolérance des plantes aux contraintes, telles que les conditions de carence (Kazan, 2013).

La production d'auxine (AIA) est considérée comme le mécanisme direct, le plus important, utilisé par les PGPR pour stimuler et augmenter remarquablement la croissance des

plantes et le rendement des récoltes (Khalid et *al.*, 2004 ; Baca et Elmerich, 2007 ; Ali et *al.*, 2009). Selon Zakharova et *al.*, (1999).

B). Les cytokinines

Les cytokinines ont été découvertes en 1950, et elles sont les plus importantes phytohormones qui stimulent la division cellulaire (Miller, 1961).

Les cytokinines sont utiles dans les techniques de culture des tissus végétaux et soutenir l'étude des processus biologiques des plantes, tels que la croissance des parties de la plante et le stade de la floraison. Ces composés sont responsables de la stimulation des différents processus pendant la croissance et le développement des gamètes femelles et embryons d'une plante. Notamment, les cytokinines participent également dans la germination des graines, développement vasculaire, photomorphogénèse, développement du méristème apical des pousses, développement sénescence floral et feuille. Il aide également les plantes à induire des réponses adaptatives à la sécheresse et aux conditions écologiques défavorables (Mao et *al.*, 2020).

C). Les gibbérellines

Les gibbérellines sont des diterpénoïdes tétracycliques d'acides carboxyliques. Le rôle principal des GA dans les plantes est d'être une hormone de croissance et fournir une résistance contre la sécheresse et d'autres facteurs de stress abiotiques. L'objectif principal des gibbérellines est d'améliorer le développement des tissus végétaux par élongation cellulaire et augmentation de processus de division cellulaire, améliorer les stades immatures et adultes de la croissance des plantes, Il contribue également à améliorer la croissance végétative et stades de reproduction des plantes (Colebrook et *al.*, 2014 ; Kang et *al.*, 2019).

D). L'acide abscissique

L'acide abscissique est une importante phytohormone de signalisation de stress hydrique (De Ollas et *al.*, 2013). L'acide abscissique joue un rôle important dans la régulation de la fermeture stomatique, Les voies de signalisation de l'acide abscissique ont un rôle vital dans l'expression des gènes sensibles au stress hydrique parce que diverses situations de stress peuvent survenir chez les plantes. Les récepteurs de l'acide abscissique sont très importants dans la transduction des signaux. Dans l'état sous-cellulaire, de nombreux récepteurs sont reconnus, Sous des conditions normales, L'ABA est exprimé à faible concentration dans les plantes (Parveen et *al.*, 2021).

II.2. 2.Mode d'action indirect

II.2.2.1. Production de sidérophore

Le fer est un micronutriment essentiel pour presque tous les organismes de la biosphère. Malgré le fait que le fer est le quatrième élément le plus abondant sur terre, dans les sols aérobies, par contre, il n'est pas facilement assimilable par les bactéries ou les plantes car l'ion ferrique ou Fe^{+3} , qui est la forme prédominante dans la nature, est peu soluble de sorte que la quantité de fer assimilable par les organismes vivants est extrêmement faible (Saharan *et al.*, 2011).

Les microorganismes ont évolué des mécanismes spécialisés pour l'assimilation du fer, y compris la production des composés chélateurs de fer de faible poids moléculaire connus comme les sidérophores, qui transportent cet élément dans leurs cellules (Nadeem *et al.*, 2010).

Les sidérophores se divisent en trois grandes familles selon le groupe fonctionnel caractéristique, à savoir les hydroxamates, les catécholâtes et carboxylates (El-Iklil *et al.*, 2000).

Les sidérophores ont été impliqués à la fois pour l'amélioration direct et indirecte de la croissance des plantes. Les bénéfices directs des sidérophores bactériens sur la croissance des plantes ont été démontrés en utilisant du fer marqué comme seule source de fer (Glick *et al.*, 2007).

II.2.2.2. Production d'antibiotique

Elle est considérée comme l'un des mécanismes de biocontrôle des plantes les plus puissants et les plus étudiés chez les rhizobactéries promotrices de croissance (Swarajet *al.*, 1999).

Une variété d'antibiotiques a été identifiée. Il s'agit de composés tels que l'amphisine, 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), oomycine A, phénazine, pyrolutéorine, pyrrolnitrine, tensine, tropolone et lipopeptides cycliques produit par les *pseudomonas* (Bhargava *et al.*, 2003) et l'oligomycine A, la kanosamine, la zwittermicine A, et la xanthobaccine produite par *Bacillus*, *Streptomyces*, et *Stenotrophomonas sp.* Ces agents antimicrobiens empêchent la prolifération des pathogènes de plantes (généralement des champignons) (Sgroy *et al.*, 2009).

Outre que la production d'antibiotiques, certains rhizobactéries sont également capables de produire un composé volatil appelé cyanure d'hydrogène (HCN) pour la lutte biologique contre la pourriture noire des racines du tabac, causée par *Thielaviopsis basicola* (Hajiboland *et al.*, 2009).

II.2.2.3. Résistance Systémique Induite (RSI)

La résistance systémique induite (RSI) est caractérisée par une colonisation des racines de l'hôte par des rhizobactéries non pathogènes qui sont en mesure de conférer à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par des phytopathogènes (Zaidi *et al.*, 2015).

Les PGPR induisent une résistance des plantes contre les maladies fongiques, bactériennes et virales, les insectes et les nématodes à travers l'expression de mécanismes de défense inductibles chez la plante. La résistance systémique induite est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise (Ramamoorthy *et al.*, 2001 ; Annapurna *et al.*, 2013).

Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « éliciteurs » produites par les microorganismes bénéfiques. Ce phénomène fait appel à la reconnaissance par l'hôte d'éliciteurs produits par l'agent inducteur, à la transmission d'un signal pour propager l'état induit dans tous les organes de la plante et à l'expression de mécanismes de défense *sensu stricto* qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante (Jourdan *et al.*, 2008). Cette étape nécessite des changements structurels comme la formation de nouveaux obstacles, l'activité accrue des enzymes lytiques, la production des métabolites secondaires et des enzymes extracellulaires (Labuschagne *et al.*, 2010).

La résistance systémique induite (RSI) implique différentes voies ; la voie de l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial dans la stimulation des réponses de la défense de la plante hôte contre une variété de pathogènes fongiques, bactériens et viraux, et aussi *vis-à-vis* des maladies causées par certains insectes et nématodes (Gupta *et al.*, 2015).

Ce mécanisme se déroule en trois principales étapes : (Jourdan *et al.*, 2008).

A- Élicitation : les PGPR interagissent avec les racines de l'hôte et produisent des éliciteurs qui sont perçus par la plante

B-Reconnaissance des déterminants : un signal est transmis dans l'ensemble de la plante afin de l'alerter

C-Expression des mécanismes de défense de l'hôte : lors d'une éventuelle attaque par un agent phytopathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression.

Chez les bactéries, la liste des espèces décrites ayant de la Résistance systémique induite a augmenté rapidement au cours des dernières années. Elle inclut plusieurs espèces bactériennes comme *P. fluorescens*, *Burkholderia phytofirmans*, *B. pumilus*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium leguminosarum*, *P. putida* et *Serratia marcescens*(Dos Santos *et al.*, 2020).

En effet, plusieurs Actinobacteria sont également intensivement étudiées dans le contexte de la lutte biologique basée sur l'induction de la résistance en particulier les espèces de *Streptomyces* qui selon de nombreuses études, se sont montrées comme inducteurs efficaces de la résistance d'une gamme de plantes hôtes, y compris les cultures fourragères, les cultures maraîchères et les espèces ligneuses économiquement importantes telles que l'*Arabidopsis*, la pomme de terre, le chêne et l'eucalyptus (Sathya *et al.*,2017).

II.2.2.4. Production d'enzymes lytiques chez les Rhizobiums

La production d'enzymes est un autre mécanisme de lutte biologique utilisé par les PGPR pour limiter la prolifération des agents phytopathogènes. Ces bactéries sont capables de synthétiser une grande variété d'enzymes extracellulaires. (Martinez-Hidalgo *et al.*, 2014), telles que les nucléases, lipases, glucanases, xylanases, amylases, protéinases, peptidases, peroxydases, chitinases, cellulases, ligninases, pectinases, hemicellulases et kératinases pouvant lyser les cellules des germes pathogènes (Sathya *et al.*, 2017).

Grâce à l'action de ces enzymes, ces rhizobactéries jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en les protégeant contre le stress biotique par la suppression des champignons pathogènes (Gupta *et al.*, 2015). Ainsi que dans l'amélioration du rendement, de la croissance et la qualité des fruits et légumes en offrent un moyen pour remplacer les fertilisateurs et les fongicides chimiques(El-Gamal *et al.*, 2016).

A) Activité cellulasique

Les cellulases sont des enzymes synthétisées par un grand nombre de microorganismes comprenant aussi bien les champignons (*Trichoderma*, *Aspergillus* et *Thermomonospora*) que les bactéries (*Clostridium*) (Kuhad et al., 2011).

La dégradation de la cellulose joue un rôle clé dans le cycle de carbone (Lee et al., 2007), elle est principalement convertie par les microorganismes en dioxyde de carbone et en méthane (Eriksson, 1985). Plusieurs bactéries rhizosphériques de genre *Pseudomonas* et *Bacillus*, ont la capacité de produire l'enzyme cellulase. Cette dernière exerce un mécanisme important d'inhibition fongique, et ceci, par la dégradation de la paroi cellulaire du champignon (Reetha et al., 2014).

Par conséquent, la cellulase peut être considérée comme un moyen potentiel dans le biocontrôle pour la stimulation et la favorisation de la croissance des plantes grâce à l'accélération de la décomposition de la matière organique et de l'augmentation de la fertilisation du sol (Ramamoorthy et al., 2001).

B) Activité lipasique et estérasique

La production des lipases est influencée par le type et la disponibilité de la source du carbone et d'azote. Les lipases sont produites durant la croissance bactérienne, où cette période de production peut varier de quelques heures à plusieurs jours selon les bactéries et les conditions environnementales (De Guzmán et al., 2008). Ces peptides antifongiques inhibent la croissance d'un grand nombre de champignons y compris les genres *Aspergillus*, *Penicillium*, et *Fusarium*, les bactéries et les oomycètes (Munimbazi et Bullerman, 1998).

La synthèse des lipases et des estérases par les bactéries EST testées pour participer au recyclage de la matière organique en fournissant les éléments nécessaires aux plantes (Ajar Nath Yadav et al., 2020).

C) Activité protéasique

Les protéases constituent un groupe important d'enzymes jouant un rôle dans la nutrition et dans la dégradation de la matière organique. En plus, ce sont les enzymes les plus importants dans le domaine industriel. Elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire, l'industrie fromagère, les détergents, domaine de la pharmacologie et la production de médicaments (Muthulakshmi et al., 2011). Il est bien établi que la production des protéases est l'un des mécanismes d'action

indirecte appliquée par les PGPR dans l'élimination des microorganismes nuisibles (Ajar Nath Yadav *et al.*, 2020).

D) Activité chitinase

La chitinase est une enzyme hydrolytique. Comme la cellulose, la chitine est un polymère de chaînes droites de sucre (N-acétyl-glucosamine) (Patil *et al.*, 1999). L'implication des microorganismes producteurs de la chitinase dans la lyse enzymatique des parois des pathogènes fongique par l'intermédiaire des chitinases extracellulaires, ont été signalés comme agents de lutte biologique et mécanismes de défense des plantes, par conséquent le bio-contrôle, des différents types de maladies fongique (Bensidhoum *et al.*, 2015).

E) Activité amylasique

Les amylases sont des enzymes qui décomposent l'amidon ou le glycogène. Elles peuvent être produites par plusieurs sources ; microbiennes, animales et même végétales, mais la plus demandée en industrie est l'amylase microbienne grâce à sa disponibilité et à sa production volumineuse (Vidylakshmi, 2009 ; Mathew *et al.*, 2016). Avoir une activité amylasique veut dire la capacité de solubilisation des nutriments, donc un milieu riche en nutriments cela offre un endroit favorable pour le développement et la croissance des plantes, cette fonctionnalité peut être utilisée en agriculture pour améliorer les rendements (Nabti *et al.*, 2014).

F) Activité uréasique

L'uréase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'urée pour former deux molécules d'ammoniac (NH₃) et une molécule de dioxyde de carbone (Sirko et Brodzik, 2000). La production de cette enzyme peut être considérée comme un mécanisme indirect de la stimulation de la croissance des plantes. (Tabli *et al.*, 2013) et (Nabti *et al.*, 2014). Ainsi qu'elle permet à de nombreuses bactéries du sol d'utiliser l'urée comme source d'azote. L'uréase est également un facteur de virulence qui améliore la survie des bactéries pathogènes dans des conditions difficiles au sein de l'hôte et provoque directement des dommages dus à l'ammonium et au CO₂ (Toffanin *et al.*, 2002).

II.3. Utilisations des PGPR en agriculture

Depuis les dernières décennies, la réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde dans les champs et

sous serres. Sur la base des données obtenues, il est évident que l'inoculation a entraîné des augmentations significatives des rendements de différentes cultures, sous différentes conditions. Elles peuvent affecter la croissance et le rendement d'une large gamme de cultures telles que les céréales ou les légumes. Les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruits et des graines (Van Loon *et al.*, 1998 ; Ramamoorthy *et al.*, 2001).

Diverses formulations commerciales De PGPR sont en vente. Des formulations bactériologiques de *Rhizobium spp.* Sont disponibles dans plusieurs pays afin de favoriser la nodulation des légumineuses et de diminuer la fertilisation azotée des cultures. La formulation « Zea-nit Plus », en vente en Italie, est un inoculum à base d'*Azospirillum sp.* Développé pour inoculer le maïs (Zeamays.)(KIoepfer, ,1993). De même, la formulation Quantum 4000, à base de *Bacillus subtilis* (Ehremberf) souche A13 (Broadbent *et al.*, 1977), est commercialisée aux États-Unis pour lutter contre le *Rhizoctonia solani* (chez l'arachide (*Arachis hypogaea L*), le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) et le coton (*Gossypium hirsutumL.*). En Chine, des PGPR qui augmentent les rendements sont utilisées dans plusieurs cultures, et ce, depuis 1985 (KIoepfer, 1993).

Si on rassemble les bénéfices de l'utilisation des PGPR en agricultures on va trouver que, les PGPR augmentent la qualité de la productivité agricole en offrant les pratiques les plus fiables et les meilleurs rendements, comme ils sont en mesure d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes telle que l'augmentation du taux de germination des graines, et considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles(Yang *et al.*, 2009).

Chapitre III

Production d'inoculant de Rhizobium

III.1. Critères de Sélection des souches de rhizobiums

La souche bactérienne choisie entraîne une nodulation effective, qu'elle soit capable de survivre dans des conditions environnementales défavorables, de se reproduire et de coloniser les racines. Les souches doivent donc posséder les caractéristiques requises pour s'adapter aux diverses contraintes de l'environnement (Cacciari *et al.*, 2003).

Les qualités microbiennes souhaitables des rhizobiums à utiliser dans la préparation des inoculants rhizobiens décrits par (Brockwell *et al.*, 1982), sont résumés comme suit :

1. Capacité à induire la formation de nodules et la fixation de N₂ sur la légumineuse cible ou légumineuses
2. Capacité d'infecter et de produire des nodules en présence de rhizobiums concurrents populations
3. Capacité de fixation de N₂ dans une gamme de conditions environnementales
4. Formation de nodules et fixation de N₂ en présence de N du sol
5. Bonne croissance dans les milieux, dans le matériau de support et dans le sol
6. Persistance dans le sol, notamment pour le réensemencement des légumineuses annuelles
7. Capacité à migrer depuis le site initial d'inoculation
8. Capacité à coloniser le sol en l'absence d'influence de la racine de l'hôte
9. Capacité à tolérer les stress environnementaux
10. Capacité à soutenir la fixation de N₂ en association avec un large éventail de géotypes d'hôtes ou cultivars
11. Stabilité génétique pendant le stockage
12. Compatibilité avec les produits chimiques agricoles et autres pansements de semences

III.1.1. Tolérance à la salinité

Généralement, le stress salin diminue le nombre de nodules ainsi que le poids frais des plantes et des nodules (Bordeleau et Prevost, 1994). La salinité inhibe la fixation symbiotique de l'azote en augmentant la résistance à la diffusion de l'oxygène dans les nodosités ayant pour

conséquence une inhibition de l'activité de la nitrogénase (Saadallah *et al.*, 2001). De plus, la salinité diminue la survie des rhizobia et inhibe l'expansion et la courbure des poils absorbants. La fixation des rhizobia sur les poils absorbants semble sensible au stress salin, ce qui entraîne une réduction du nombre de ces organes symbiotiques (Saadallah *et al.*, 2001, Benkhaled, 2003).

La salinisation du sol est un facteur limitant, trouver des souches tolérantes à ce phénomène est un facteur à prendre en considération, cela dans le but de développer le domaine de l'agriculture (Singleton *et al.*, 1962).

III.1.2. Effet du pH

Les pH extrêmes affectent les deux partenaires symbiotiques. La majorité des légumineuses nécessitent des pH neutres ou légèrement acides pour s'établir dans le sol. Cependant, dans les sols acides, les fortes teneurs en manganèse et surtout en aluminium inhibent la croissance racinaire, le nombre des nodosités et l'activité de la nitrogénase diminue ainsi que l'ultrastructure nodulaire se trouvent très affectées. Le pH du sol a une grande influence sur la survie et la multiplication des Rhizobiums. Face à l'acidité, les souches de *Rhizobium* varient largement dans leur tolérance (Bordeleau et Prevost, 1994).

III.1.3. Effet de la température

Les rhizobia sont des bactéries mésophiles et qui peuvent se développer à des températures se situant entre 10°C et 37°C, la température optimale de croissance de la plupart des souches étant de 28°C. Toutefois, il existe des souches qui tolèrent des températures extrêmes comme celles qui nodulent certaines légumineuses dans les régions arctiques (Lipsanen et Lindström, 1989) ou bien celles isolées dans l'environnement chaud et sec de la savane du sahel en Afrique et qui peuvent aller à des températures au-delà de 40°C (Eaglesham et Ayanaba, 1984 ; Karanja et Wood, 1988).

Les bradyrhizobia sont plus thermo-tolérants que les souches à croissance rapide (Robert *et al.*, 1982 ; Munevar et Wollum, 1981) et une tolérance à 48.7°C a été prouvée pour quelques souches de *B. japonicum* (Munevar et Wollum, 1981). Néanmoins quelques souches de *R. phaseoli* peuvent tolérer des températures de 45°C à 47°C. Ces souches peuvent bien tolérer les hautes températures en revanche elles perdent leur capacité infective (Karanja et Wood 1988).

III.1.4. Résistance aux antibiotiques

L'aptitude des souches de *Rhizobium* résistantes à des niveaux élevés d'antibiotiques a été suggérée par Obaton (1971) pour l'étude écologique des *Rhizobium*. Par conséquent, la résistance intrinsèque aux antibiotiques (IAR) indique la capacité du *Rhizobium* à résister aux substances antimicrobiennes présentes dans le sol (Danso *et al.*, 1973 ; Kuykendall et Weber, 1978, Brockwell *et al.*, 1995).

La sélection de souches présentant une résistance multiple aux différents antibiotiques est très intéressante du fait que cette résistance peut être utilisée comme un marqueur important pour leur identification et l'étude de leur diversité (Josey *et al.*, 1979 ; Shishido et Pepper, 1990 ; Sawada *et al.*, 1990).

III.1.5. Résistance aux métaux lourds

La sélection de souches résistantes aux métaux lourds présente un grand intérêt pratique. Plusieurs recherches se penchent sur l'utilisation de la symbiose entre des rhizobia et des légumineuses résistantes comme un moyen efficace de "bioremédiation" contre la contamination des sols par les métaux lourds. Les bactéries rhizosphériques, peuvent diminuer le stress métallique induit par les métaux lourds par des mécanismes comme l'efflux d'ions métalliques vers l'extérieur de la cellule végétale, la biostimulation, la réduction des métaux ou la biosorption (Outten *et al.*, 2000). Ces mécanismes de résistance sont codés par des gènes plasmidiques, des transposons et probablement par le transfert des gènes ou des mutations spontanées qui permettent aux bactéries d'acquérir une résistance aux métaux lourds (Gremion, 2003).

Les souches de *Bradyrhizobium* sont plus résistantes aux métaux lourds puisqu'elles ont la capacité d'alcaliniser le milieu et rendent ainsi les métaux moins disponibles dans leur environnement. Cependant, une grande variabilité de résistance à différents métaux lourds a été observée entre les souches appartenant à la même espèce *B. japonicum*. (Kinkle *et al.*, 1987).

III.1.6. Compétition

Pour qu'une implantation réussisse, il est important que les bactéries inoculées survivent dans le nouvel environnement. Il est toutefois difficile, de fait de la grande hétérogénéité du milieu qui peut empêcher les bactéries d'atteindre et d'occuper les microhabitats les plus propices à leur survie (Postma *et al.*, 1989) et de prévoir le taux de survie des souches introduites dans un sol.

Les différentes souches de rhizobia coexistant simultanément dans un sol présentent des différences de capacité à rivaliser pour l'occupation des nodules, et le succès dans la symbiose est influencé par les facteurs environnementaux, la plante hôte, la taille initiale de la population de rhizobia et sa répartition dans le sol. (Heijnen et Van Veen, 1991 ; Postma *et al.*, 1989). A ces contraintes, il faut ajouter la prédation, surtout par les protozoaires, qui est souvent responsable du déclin des rhizobia, après leur introduction dans le sol (Habte et Alexander, 1977). Les autres facteurs biotiques qui peuvent réduire le nombre des rhizobia incluent les bactériophages, les parasites comme le *Bdellovibrio* (Keya et Alexander, 1975), les antibiotiques produits par d'autres microorganismes et les bactériocines produites par d'autres rhizobia (Hirsch, 1979).

Une résistance intrinsèque aux antibiotiques peut donc être importante, du point de vue écologique, pour les microorganismes du sol, en raison d'une compétitivité plus élevée et d'une plus grande aptitude à survivre, principalement dans les sites arides où la sécheresse et le pH alcalin favorisent la croissance d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques (Keya et Alexander, 1975).

III.2. Processus de production d'inoculant

III.2.1. Sélection des souches

La première étape essentielle dans la production d'inoculant pour légumineuses est la sélection des souches qui vont être utilisées pour cela. Les souches de Rhizobium les plus performantes pour une légumineuse poussant dans une zone donnée souvent sont celles isolées à partir de zones ayant des conditions similaires (Chatel et Greenwood, 1973). Cependant, il n'est pas exclu de tester l'effectivité et la compétitivité des souches isolées dans des zones particulières bien qu'il n'y ait pas de milieu de culture sélectif pour isoler les rhizobiums. (Vincent, 1970).

III.2.2 Fermentation

III.2 .2.1 Culture en masse

La production commerciale d'inoculant nécessite la culture de grands volumes de rhizobium. Les ingrédients qui sont utilisés dans la formulation de la culture liquide doivent contribuer à la rentabilité globale de la production d'inoculant (Burton, 1979).

Contrairement aux micro-organismes industriels qui sont cultivés pour leurs sous-produits ou constituants, la production de masse de rhizobiums vise à produire un grand nombre de cellules viables en peu de temps. Cependant, comme d'autres micro-organismes industriels, les rhizobiums sont cultivés aseptiquement dans des fermenteurs. Le milieu de culture, la souche de rhizobium, la température, l'agitation, le pH et l'aération sont les principaux facteurs affectant la croissance de la population et la densité contrôlables (Burton ,1979).

III. 3. Différents types de support d'inoculant

Le support d'un bon inoculum est une substance solide, semi-solide ou liquide qui peut contenir un certain nombre de cellules bactériennes durant un temps donné (Khavazi et Redjali, 2000).

III. 3 .1.L'inoculant solide

L'inoculum solide est le plus utilisé pour l'inoculation des légumineuses (Beck et *al.*, 1993). Deux types de supports sont le plus souvent utilisés

III. 3 .1. 2. La tourbe

De la plupart des formes d'inoculum disponibles, celle de la tourbe est la forme la plus populaire : elle n'est pas difficile à obtenir et à produire et elle maintient une grande concentration de bactéries viables (Graham-Weiss et *al.*, 1987).

III. 3 .1.3. La vermiculite

Sa nature non organique fait qu'elle est facilement stérilisée sans risque de production de toxines ou causer de nouveaux changements structuraux. La structure multi-lamellaire de la vermiculite fournit une aération supérieure et de l'espace pour une prolifération microbienne (Grahams-weiss et *al.*, 1987).

Ce support a été choisi car, microbiologiquement pur (contient $> 10^9$ *Rhizobium* par gramme et délivre $> 10^5$ *rhizobia* par graine) et possède une grande propriété à couvrir les graines (Graham-Weiss et *al.*, 1987).

Conclusion

Conclusion

Les légumineuses établissent une relation symbiotique avec les bactéries de sol appelé les *Rhizobium*, cette symbiose se manifeste par la formation de nodosité racinaire, dans laquelle se passe le processus de fixation symbiotique d'azote, cette fixation symbiotique présente un intérêt économique et agronomique très important, c'est une solution alternative à l'utilisation des engrais azotés très coûteux, dangereux pour la santé humaine et polluant pour l'environnement.

Dans ce travail j'ai mis en avant les différentes activités enzymatiques présentes chez les rhizobiums qui peuvent être utilisés en agriculture durable pour améliorer les rendements et la qualité de production agricole, tout en évitant la pollution causée par l'excès d'utilisation d'engrais chimiques. Comme on trouve aussi les différentes étapes de processus de production d'inoculant de *Rhizobium*, tout en précisant les critères de sélection des souches.

References bibliographiques

A

Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM. (1989). Nitrogen saturation in northern forest ecosystems excess nitrogen from fossil fuel combustion may stress the biosphere. *BioScience*39:378–386.

Ablain-Barriere, (2016). Le sol et la gestion de la fertilité. *Agriculture biologique* ,103 :1-16

Ajar NY, Ali AR, Neelam Y, Divjot K. (2020). Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture Diversity and Biotechnological Applications. Chapter 10: Biofertilizers and Biopesticides: *Microbes for Sustainable Agriculture*, 19: 260-262.

Ali S, Hameed S, Shahid M, Iqbal M, Lazarovits G, Imran A.(2020). Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. *Microbiol. Res.* 232, 126-389.

Anith KN, Anith MT, Momol JW, KloepperJJ, Marois SM, Olson, Jones JB,(2004). Efficacy of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Acibenzolar-S-Methyl, and Soil Amendment for Integrated Management of Bacterial Wilt on Tomato. *Plant Disease*, Vol. 88, No. 6, 669-673

Annapurna K, Amod KL, Vithal K, Govindasamy V, Pranita B, Ramadoss D. (2013). PGPR-Induced Systemic Resistance (ISR) in Plant Disease Management. Chapter 15. Division of Microbiology, *Indian Agricultural Research Institute*. India.

B

Baca BE, Elmerich C, (2007). Microbial Production of Plant Hormones. In: Elmerich C., Newton W.E. (Eds). *Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*, Springer Netherlands, 113-143.

BashanY. (1998). Inoculants for plant growth promoting bacteria in agriculture, *biotechnol Adv*, 16:726-770.

Beauchamp C.(1993). Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74 (1): 19–27.

Beck DP, Materon LA, Afandi F.(1993). Practical *Rhizobium*-Legume Technology Manual. ICARDA, Syria.

Benkhalid A, Arshad M, Zahir Z A. (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *App microbial.* 96(3): 473-80

Bensidhoum L, Rai A, Tabli N, Kahouadji N, Khaber M, Nabti E. (2015). Biological Control of *Botrytis cinerea* by *Bacillus Sp.* Strain S7LiBe under Abiotic Stress. 1(6): 07-14

Bhattacharyya PN, Jha DK, (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1327–1350.

Bhattacharjee S, Sharma GD.(2012). Act of dual inoculation of arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* on the chlorophyll, nitrogen and phosphorus contents of pigeon pea (*Cajanus cajan L.*). *Adv. Microbiol.* 2, 25945

Bordeleau LM, Prévost D. (1994). Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant and Soil* 161: 115–125

Bossy T, Aurélien E. (2019). Communauté épistémique. Laurie Boussaguet; Sophie Jacquot; Pauline Ravinet (dir.). Dictionnaire des politiques publiques : 5e édition, Presses de Sciences : 140-146

Brockwell J, Bottomley PJ, Thies JE. (1995). Manipulation of rhizobia micro flor for Improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. *Plant and Soil: 174:* 143-180.

Burton M, EkhanG, (1985). Multiple antibiotic resistance in *Rhizobium*, *Environ microbial.*37.867-870.

C

Cacciari I, Dimattia E, Quatrin P. Réponses adaptatives des isolats de *Rhizobium* au stress, *Irid Paris* ;183-200.

Chatel DL, Greenwood RM. (1973). Differences between strains of *rhizobium trifolii* in ability to colonize soil and plant roots in the absence of their specific host plants. *Soil biology and biochemistry.* Volume 5, Issue 6, 809-813

Cleland EE, Harpole WS. (2010). Nitrogen enrichment and plant communities. *Ann N Y Acad Sci.*

Colebrook EH, Thomas SG, Phillips AL, Hedden P. (2014a). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *J. Exp. Biol.* 217,67–75.

Colebrook EH, Thomas SG, Phillips AL, Hedden P. (2014b). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *J. Exp. Biol.* 217, 67–75.

D

Danso SKA, Eskew DL. (1973). Comment renforcer la fixation biologique de l'azote. *Alimentation agricole, AIEA BULLETIN*, 26, no 2, 26-33

Dakora FD, (1985). Nodulation and Nitrogen Fixation by Groundnut in Amended and unamended Field Soil in Ghana. In *Biological fixation in Africa. Proceedings of the first conference of the African association for biological nitrogen fixation (AABNF), Nairobi, Kenya:* 324-339

Dakora FD, Phillips DA. (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil* 245:35–47.

Day JM, Dobereiner J. (1976); Associative Symbioses in Tropical Grasses: Characterization of Microorganisms and Dinitrogen-Fixing Sites. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation;* Washington State University Press: Pullman, WA, USA; 2,518–538.

De Ollas C, Hernando B, Arbona V, Gómez-Cadenas A. (2013). Jasmonic acid transient accumulation is needed for abscisic acid increase in citrus roots under drought stress conditions. *Physiol Plant*, 147: 296–306.

Dilfuza E. (2005). The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied soil Ecology*, 36, Issues 2–3 , 184-189

Dommergues Y, Duhoux E, Diem HG. (1998). Les arbres fixateurs d'azote caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux, avec référence particulière aux zones subhumides et arides. Editions espaces 34, Montpellier, France

Domergue O. (2017). Diversité fonctionnelle des rhizobia associés à la féverole en agro-écosystème Sud de France. Thèse de Doctorat en science, l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres. 232p.

Dawson JO. (1990). Interaction among actinorhizal and associated plant species. In *The biology of Frankia and actinorhizal plants* C. R. Schintzer et J. D. Tjepkema (Eds): San Diego Academic press. 299-316

Downie Kaló P, Gleason C, Edwards A, Marsh J, Mitra RM, Hirsch S, Oldroyd, G E. (2005). Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators. *Science*, 308(5729), 1786-1789.

Dos Santos Lima Fagotti D, Abrantes, JLF, Cerezini P, Fukami J, Nogueira MA, del Cerro, P, Valderrama-Fernández R, Ollero FJ. (2019); Megías, M.; Hungria, M. Quorum sensing communication: Bradyrhizobium-Azospirillum interaction via N-acyl-homoserine lactones in the promotion of soybean symbiosis. *J. Basic Microbiol*, 59, 38–53

Dos Santos RM, Diaz PAEL, LoboLB, Rigobelo EC. (2020). Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in maize and sugarcane: Characteristics and applications. *Front. Sustainable Food Sys*, 4 (136):1-15

E

Eaglesham ARJ, Ellis JM, Evans WR, Fleischman DE, Hungria M, Hardy RWF. The first photosynthetic N₂-fixing *Rhizobium*: characteristics, in: Gresshoff P.M., Roth L.E., Stacey G., Newton W.L. (Eds.), Nitrogen fixation

Egamberdiyeva, D, Höflich, GE. (2004), effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of cotton and pea in a semi-arid region of Uzbekistan. *J. Arid Environ.* 56, 293–301.

El-Gamal NG, Shehata AN, Hamed ER. Shehata HS. (2016). Improvement of Lytic Enzymes Producing *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* Isolates for Enhancing their Biocontrol Potential against Root Rot Disease in Tomato Plants. *Research J. Pharma Biologi Chemic. Sci.* 7: 1

El-Esawi MA, Alaraidh IA, Alsaahli AA, Alamri, SA, Ali HM.; Alayafi AA(2018)*Bacillus firmus* (SW5) augments salt tolerance in soybean (*Glycine max* L.) by modulating root system architecture, antioxidant defense systems and stress-responsive genes expression. *Plant Physiol. Biochem*, 132, 375–384.

Emanoel G. Moura, Cristina S. Carvalho, Cassia PC, Bucher, Juliana LB, Souza, Alana CF. Aguiar , Altamiro SL, Ferraz J , Carlos A, Bucher , Katia P, Coelho.(2020). Diversity of Rhizobia and Importance of Their Interactions with Legume Trees for Feasibility and Sustainability of the Tropical Agrosystems. *Diversity*, 16, 20

Etesami, H, Alikhani HA, Mirseyed Hosse H.(2015). Indole-3-acetic acid and l-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase: Bacterial traits required in rhizosphere, rhizoplane and/or endophytic competence by beneficial bacteria. In *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*; Maheshwari, D.K., Ed.; Springer: Cham, Switzerland, 183–258.

F

Ferguson BJ, Ross JJ, Reid JB.(2005), Nodulation phenotypes of gibberellin and brassinosteroid mutants of pea. *Plant Physiol.* 138, 2396–2405.

Fisher R, Long SR. (1992). Rhizobium-plant signal exchange; *Nature* 357: 655-660

Fowler D, Coyle M, Skiba U, Sutton MA, Cape JN, Reis S, Sheppard LJ, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway JN, et al. 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*368: 201 -301.

Fowler C. William E, Julianne S, James M. (2011). Distribution and trends in Arctic sea ice age through spring *Geophysical Research Letters*.38, Issue 13

Franche C, Lindström K, Elmerich C. (2009). Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil.* 321: 35–59

Francis DD, Schepers JS, Vigil MF. (1993). Post-Anthesis Nitrogen Loss from Corn. *Agronomy Journal*, 85(3), 659.

Freschet, GT, Violle C, Roum et C. Garnier E. (2018) Interactions entre le sol et la végétation : structure des communautés de plantes et fonctionnement du sol. Les sols au cœur de la zone critique : *écologie* (eds P. Lemanceau & M. Blouin), ISTE editions, London, UK. 83-99

G

Galloway JN, Aber JD, Erisman JW, Seitzinger SP, Howarth RW, Cowling EB, Cosby BJ. (2003). The nitrogen cascade. *Bio Science* 53: 341–356.

Gawryjolek, K, Furtak K., Grzadziel J. Galazka A. 2021. Identification and characterization of metabolic potential of different strains from genus *Rhizobium*. Multidisciplinary Digital Publishing Institut Proceedings, 19.

Glick BR. (2010) Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology advances* 28: 367-374.

Glick BR, (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*: 1-15.

Glick BR, Patten CL.(2002) Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol*, 68, 3795–3801

Glick BR. (2014) Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30-39.

Gupta KJ, Brotman Y, Segu S, Zeier T, Zeier J, Persijn, ST, et al. (2013). The form of nitrogen nutrition affects resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in tobacco. *J. Exp. Bot.* 64, 553–568.

Graham-Weiss, Bennet ML, Paau AS, (1987). Production of bacterial inoculants by direct fermentation, *Environ Microbiol*, 53:2138-2140.

Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M. (2001). Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature* 414 : 271–276

Gremion Fabienne, Antonis Chatzinotas(2003). Comparative 16S rDNA and 16S rRNA sequence analysis indicates that *Actinobacteria* might be a dominant part of the metabolically active bacteria in heavy metal-contaminated bulk and rhizosphere soil. *Applied Microbiology*.05, 896-907

Grimont, F, Grimont PAD. (1991). La carte moléculaire des bactéries. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*6, 9-12.

H

HabteM, AlexanderM, 1977. Further evidence for the regulation of bacterial populations in soil by protozoa. *Arch. Microbiol.* 113, 181–183

Hawkesford M, Ismail C, Devrim C, Luit J De Kok, Hans L, Jan K Schjoerring, Philip J White,(2012), Marschner's Mineral Nutrition of Plants, *Fonctions of macronutrients*. 201-281

Harish S, Manjula K, Podile AR. (1998), *Fusarium udum* is resistant to the mycolytic activity of a biocontrol strain of *Bacillus subtilis* AF1. *FEMS Microbiol. Ecol*, 25, 385–390

J

Jiang G, Krishnan AH, Kim YW, Wacek TJ, Krishnan H.B. (2001). A functional *myo*-inositol dehydrogenase gene is required for efficient nitrogen fixation and competitiveness of *Sinorhizobium fredii* USDA191 to nodulate soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *J. Bacteriol.* 183(8): 2595–2604.

Josey D P, Beynon, JL, Johnston AWB, Beringer BE. (1979). Strain Identification in *Rhizobium* Using Intrinsic Antibiotic Resistance. *Journal of Applied Bacteriology*, 46, 343–350

Jordan, D.C. (1984). *Rhizobiaceae*. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Edited by N.R. Kreig. Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 234–241.

Jourdan E, Ongena M, Thonart P(2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12(4) : 437-449.

K

Kang SM, Radhakrishnan R, Khan AL, Kim MJ, Park J.M, Kim BR, Shin DH.; Lee IJ. (2014) Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiol. Biochem*, 84, 115–124.

Kaye JP, Hart SC. 1997. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution* 12: 139–143.

Kazan K. (2013). Auxin and the integration of environmental signals into plantRoot development. *Ann. Bot.* 112, 1655–1665.

Khalid S, Shahid M, Abbas G, Shahid N, Nadeem M, Sabir M, Aslam M, Dumat C.(2015). Heavy metal stress and crop productivity. In: Hakeem KR, ed. *Crop Production and Global Environmental Issues*. Cham: Springer International Publishing, 1–25.

Khavazi K, Rejali F. (2000). Perlite as a carrier for soybean inoculant. X the international colloquium for the optimization of plant nutrition. Cairo, Egypte.

Kinkle BK, Angle JS, keysere HH. (1987). Long-terme effects of metal sewagesludge application on soil population of *Bradyrhizobiumja ponicum*, *Applied andEnvironmental Microbiology* 5. 3: 3 15 - 31 9

Kloepper JW, Ryu, CM.(2006). Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. In *Microbial Root Endophytes*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 33–52.

Kloepper JW. (2017). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Radishes. In *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic*, *Plant Sci.*, 8,141; 2, 879–882.

Kuhad RC, Yogender Pk, Deepa D.(2011). Optimization of cellulase production by a brown rot fungus *Fomitopsis sp.* RCK2010 under solid state fermentation. *Biorecourse Technology*, 102: 6065-6072

Kumar GP, DesaiS, Reddy G, Amalraj ELD, Rasul A, Ahmed SKMH. (2015), Seed bacterization with fluorescent *Pseudomonas spp.* enhances nutrient uptake and growth of *Cajanus cajan* L. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46, 652–655

Kuykendall LD, Saxena B, Devine TE, Udell SE. 1992. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum* Jordan 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii sp.* *Canadian Journal ofMicrobiology*38: 501–505.

L

Labuschagne I, Phan K, Wood A. et al. (2010). Oxytocin Attenuates Amygdala Reactivity to Fear in Generalized Social Anxiety Disorder. *Neuropsychopharmacol* 35, 2403–2413.

Lionel R, Pascal L, Sébastien T, Nicolas C, Prévost-Bour, Virginie N, Tiffanie Régnier, et al. 2014. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland, *Agron. Sustain. Dev.* 34, 525–533.

Lugtenberg B, Kamilova F, (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-556.

Lugtenberg BJJ, Dekkers LC. (1999). what makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent? *Environmental Microbiology*, 1: 9-13.

Lundberg DS., Lebeis SL, Paredes SH, Yourstone S, Gehring J, Malfatti S. et al. (2012) Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, 488: 86-90.

M

Mathesius U, Charon C, Rolfe BG, Kondorosi A, Crespi M.(2000a) Temporal and spatial order of events during the induction of cortical cell divisions in white

Marschner H. (1991). Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant Soil* , 134: 1-20.

Marschner P, Crowley D. Yang CH.(2004). Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. *Plant and Soil*; 261: 199-208.

Marschner P, Crowley D, Rengel Z. (2011). Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis – model and research methods. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 883-894

Mao CHE, Liu L, Deng Q, Yao X, Liu C, et al. (2020). OsNAC2 integrates auxin and cytokinin pathways to modulate rice root development. *Plant Biotechnol. J.* 18, 429–442.

Masciarelli O, Analía L, Virginia L,(2014). A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation, *Microbiological Research*, 168: 609-615

Matthew JJ, Vazhacharickal PJ, Sajesh h Kumar NK and Ashokan A. (2016). Amylase production by *Aspergillus niger* through submerged fermentation using starchy food byproducts as substrate. *International journal of herbal medicine.* 4(6): 34-40.

Miller JT, Bayer RJ. (2001). Molecular phylogenetics of *Acacia* (*Fabaceae: Mimosoideae*) based on the chloroplast MATK coding sequence and flanking TRNK intron spacer regions. *American Journal of Botany*, 88: 697–705.

Miller CO. (1961). A kinetin-like compound in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. U SA* 47, 170–174.

Munévar F, Wollum AG,(1981). Effect of High Root Temperature and Rhizobium Strain on Nodulation, Nitrogen Fixation, and Growth of Soybeans. *Soil Microbiology and Biochemistry*,45: 1113-1120

Munimbazi, Bullerman, (1998). Isolation and partial characterization of antifungal metabolites of *Bacillus pumilus*, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 84, Issue 6, Pages 959–968

Murielle Figeat-Hug, Daniel Jeanmond (2004), Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales, *Botanique systématique des plantes à fleurs*, 03 ; 413 ; 210-235

Mvolo CS.(2010). Valorisation thermochimique et biochimique de la biomasse ligneuse forestière au Québec : possibles implications pour l'aménagement forestier et les industries traditionnelles de la fibre. Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue.

N

Nabti EH,Bensidhoum L, Tabli N, Dahel D, Weiss A, Rothballer M., Schmid M. Hartmann.A. (2014). Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium sp.* strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *Europ. J. Soil Biolog.* 61: 20-26.

Nadeem SM, Zahir M,Naveed , Nawaz S. (2013). Mitigation of salinity induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting Rhizobacteria in naturally saline conditions. *Ann. Microbiol.*, 63(1):225–32.

Nadeem SM, Zahir, ZA, Naveed M, Arshad M., (2007). Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maizethrough inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Can. J. Microbiol.*53, 1141–1149.

Nadeem SM, Zahir, ZA, Naveed M, Arshad M, (2009). Rhizobacteria containing ACC-deaminase confer salt tolerance inmaize grown on salt-affected fields. *Can. J. Microbiol.* 55, 1302–1309.

Nannipieri P, Giagnoni L, Renella G, Puglisi E, Ceccanti B, Masciandaro G. (2012). Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biol Fertil Soils*, 48: 743-762.

Newton MA, Quintana FA, Den Boon JA, Sengupta S, Ahlquist P.(2007). Random-set methods identify distinct aspects of the enrichment signal in gene-set analysis.

O

Oldroyd GED. (2013). Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Reviews. Microbiology*, 11: 252–263.

Ott T, van Dongen JT, Gunther C, Krusell L, Desbrosses G, Vigeolas H, Bock V, Czechowski T, Geigenberger P, Udvardi MK.(2005).Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Curr Biol*. 15: 531-535

P

Parveen A, Ahmar S, Kamran M, Malik Z., Ali A, Riaz M,et al. (2021). Abscisic acid signaling reduced transpiration flow regulated Na⁺ ionhomeostasis and antioxidant enzyme activities to induce salinity tolerance inwheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Env. Technol.Innov.* 24:101-808.

PatilAA,Kale G, Ajane R, Sheikh, Pati HS. *et al.* (2017). *In: Rhizobium* Biology and Biotechnology, *Soil Biology*. (Eds.). Springer International Publishing.105-134

Polonenko, DR, F. M. Scher JW. Kloepper CA, Singleton, EM. Laliberté et I. Zaleska. (1987). Effects of root colonizing bacteriaon nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. *Can. J. Microbiol.*33: 498-503.

Postma J, van Veen JA, Walter S. (1989). Influence of different initial soil moisture contents on the distribution and population dynamics of introduced *Rhizobium leguminosarum* biovar *Trifolii*. *Soil Biology and Biochemistry*, 21: 437–442.

R

Ramamoorthy VR, Viswanathan T, Raghuchander V, Prakasamet RS (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot.* 20:1–11.

Reetha S, Bhuvanewari G, Thamizhiniyan P, Mycin, TR. (2014). Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 568-574.

Rihawy Abd El Moneim, AM. (1993). Agronomic potential of three vetches (*Vicia spp.*) under rainfed conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 170(2), 113-120.

Rubio LM, Ludden, PW, (2008). Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. *Annu. Rev. Microbiol.* 62, 93–111

S

SSaadallah K, Drevon JJ, Abdelly C, (2001). Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. *Agronomie* 21: 627-634.

Saharan, BS, Nehrav. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sci. Med. Res.*, 2011:1-30.

Sahgal M, Johri, BN. (2003), The changing face of rhizobial systematics. *Current science*. 84:43-48.

Sathya A, Vijayabharathi R, Varshney, RK, Gowda CLL, Krishnamurthy L.(2015), Plant growth promoting rhizobia: Challenges and opportunities. *Biotech* 5, 355–377.

Sawada H, Kuykendall LD, Young JM. (2003). Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *The Journal of General and Applied Microbiology* 49: 155–179.

Schwintzer CR. (1979). Nitrogen fixation by *Myrica* gale root nodules Massachusetts wetland. *Oecologia* 43: 283–294.

Sebihi F, (2008). Les Bactéries Nodulants les Légumineuses (B.N.L) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la Légumineuse Fourragère, *Hedysarum perrauderianum*. Thèse de Magister en Génétique et Amélioration des plantes. Université Mentouri Constantine, Algérie.

Sédogo MP. (1997). Evaluation des sols lessivés sous culture : incidence des modes de gestion sur la fertilité. Thèse doctorat ES Sciences. Univ de côte d'ivoire .295pp

Sgroy Cassán F, Perrig DV, Masciarelli O, Penna C, Luna V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of soil biology*,45(1), 28-35.

Singh BK, Munro S, Potts JM, Millard P. (2007) Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils. *Applied Soil Ecology*,36: 147-155.

Shishido M, Pepper IL.(1990).Identification of dominant indigenous *Rhizobium meliloti* by plasmid profiles and intrinsic antibiotic resistance. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(1), 11-16.

Singleton PW, El Swaify SA, Bohlool BB. (1982). Effect of salinity on *Rhizobium* growth and survival. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 884-890.

Sirko A, Brodzik R.(2000). Plant Ureases: Roles and Regulation. *Acta Biochimica Polonica*. Institute of Biochemistry and Biophysics, *Polish Academy of Sciences*, 1. 47 No. 4/2000.1189–1195.

Sivasakthi, S, Usharani G, Saranraj P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: a review. *African journal of agricultural research*, 9(16), 1265-1277.

Spini D, Pin S. (2016). Impact of falling on social participation and social support trajectories in a middle-aged and elderly European sample. *SSM-population health*, 2, 382-389.

Stoddard ST, Morrison, AC, Vazquez-Prokopec, GM, Paz Soldan, V, Kochel, TJ, Kitron U, Scott, TW. (2009). The role of human movement in the transmission of vector-borne pathogens. *PLoS neglected tropical diseases*, 3(7), e481.

Suslow TV, (1982). Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth. in M.S. Mount et G.H. Lacy. (réds.), *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 1. Académie Press, New York Pages 187-222

Swaraj K, Bishnoi NR. (1999). Effect of salt stress on nodulation and nitrogen fixation in legumes.

T

Tabli N, Nabti EH, Dahel D, Mokrane N, Manyani H, Dary M, Mergias MG. (2014). Impact of diazotrophic bacteria on germination and growth of tomato, with biocontrol effect, isolated from Algeria soil. *Journal of ecology of health and environment*. 2(1): 1-7.

Tabli N, Rai Abdelwahab, Bensidhoum L, Palmieri G, Gogliettino Marta, Cocca Ennio, Consiglio C, Cillo F, Bubici G, Nabti E. (2017). Plant growth promoting and inducible antifungal activities of irrigation well water-bacteria. *Biological Control*. 117: 78-117.

Toffanin, A, Sbrana, C, Agnolucci, M, Bedini S, Lepera, A, Giovannetti, M, Nuti MP. (2002). Diversity of culturable bacterial populations associated to *Tuber borchii* ectomycorrhizas and their activity on *T. borchii* mycelial growth. *FEMS Microbiology Letters*, 211(2), 195-201.

V

Van KC, Farrell RE, Roskoski P, Keane KM, (1995). Recycling of the naturally occurring ^{15}N in an established stand of *Leucaena leucocephala* Soil. *Biol. Biochem.* 26: 757-762.

Van Loon LC. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-254.

Vijayakumari K, Jisha KC, Puthur JT (2016) GABA/BABA priming: a means for enhancing abiotic stress tolerance potential of plants with less energy investments on defence cache. *Acta Physiol. Plant.* 38: 230

Vincent B, Jourand P, Juillot F, Ducouso M, Galiana A. (2018). Biological *in situ* nitrogen fixation by an *Acacia* species reaches optimal rates on extremely contrasted soils. *European Journal of Soil Biology*, 86: 52–62.

Vincent JM. (1970). A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Published for the International Biological Program by Blackwell Scientific.

Vitousek PM, Howarth RW. (1991). Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? *Biogeochemistry*, 13, 87-115.

W

Weller DM, Raaijmakers JM, Gardener BBM, Thomashow LS. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*40: 309-348.

Y

Young JPW, Crossman LC, Johnston AWB, Thomson NR, Ghazoui ZF, Hull KH, Wexler M, Curson ARJ, Todd JD, Poole PS, et al.(2006). The genome of *Rhizobium leguminosarum* has recognizable core and accessory components. *Genome Biology*. 7: R34

Z

Zaidi, AE, Ahmad MS, Khan S, Saif, Rizvi A. (2015). Role of plant growth promoting Rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Scientia horticultrae*,193:231-239.

Zaidi A, Khan MS. (2006) Co-inoculation effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-*Bradyrhizobium* symbiosis. *Turk. J. Agric. For* 30,223–230.

Zakharova EA, Shcherbakov AA, Brudnik, VV, Skripko NG, Bulkhin NS.(1999). Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. *Eur. J. Biochem.*259: 572–576.

Zakhia F, Jeder H, Domergue O, Willems A, Cleyet-Marel JC, Gillis M et al (2004) Characterisation of wild legume nodulating bacteria (LNB) in the infra-arid zone of Tunisia. *Syst Appl Microbiol*27 : 380–395.

Résumé

Les Rhizobiums sont un groupe particulier de bactéries du sol à Gram négative qui peuvent entrer en symbiose avec les légumineuses et fixer l'azote, cette relation présente un intérêt économique et agronomique très important. L'objectif de ce travail c'est maitre en avant certains activités enzymatiques présentes chez les rhizobiums (cellulastique, lipastique ,estérasique, protéasique ,amylastique ,uréastique) qui peuvent être utiliser dans l'agriculture ,mais aussi l'étude de la capacité des Rhizobiums de solubilisation de potassium et le phosphate, la dernière partie de ce travail est consacrée pour le processus de fabrication d'inoculant de Rhizobium pour l'utiliser dans le domaine de l'agriculture pour améliorer les rendements et la qualité des culture.

Abstract

The Rhizobia are a particular bacteria group of soil with Gram negative, that can enter into symbiosis with legumes and fix nitrogen this relationship present a good interest for economic and agronomic, the objective of this work is to master some enzymatic activities present in rhizobia (cellulose,lipase,esterase ,protease,amylase,urease) ,which can be used in agriculture ,but also study the capacity of solubilization of potassium and phosphate, the last part of this work is devoted to the different step of process Rhizobia inoculants used in agriculture to improve crop yields and quality.