

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 microbiologie
Filière : Science biologique
Option : Écologie microbienne



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Utilisation de deux algues marines *Cystoseira* sp. et
Enteromorpha intestinalis et de deux souches
bactériennes dans la restauration de la croissance
du blé cultivé sous stress du Cadmium**

Présenté par :

LOURABI Dahbia
LALOU Kenza Amera
Soutenu le : **21 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M. BELHADI D.	MAA	Président
M. NABTI El-Hafid	Professeur	Encadreur
Mlle BENSIDHOUM L.	Docteur	Co-promotrice
Mlle DJINNI I.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé courage et bénédiction pour accomplir ce travail.

Nous remercions particulièrement Mr. NABTI EL HAFID. Merci pour votre patience, vos encouragements et votre confiance. Votre rigueur scientifique, votre pédagogie et vos conseils rédactionnels nous ont aidés à mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercions très sincèrement M. BELHADI D. d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance, ainsi que Mlle DJINI I. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

On tient à exprimer nos profondes reconnaissances à Mlle BENSIDHOUM Leila, notre Co-promotrice, pour son suivi attentif, son soutien, son enthousiasme et ses conseils avisés tout au long de ce travail.

Nous remercions également, l'équipe du Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables : Abdelwaheb, Nacera, Nouria, Fatiha, Hachemi, Hmanou, Fares, Sylia, et Nadia pour leurs encouragements et les bons moments passer ensemble.

Merci à tous qui ont participé, de près ou de loin, à la réussite de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mon frère et mes sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Amera

Dédicace

Je dédie ce travail à ma Famille bien aimée,

à mon Père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

à mon oncle pour son admiration silencieuse qui me pousse à avancer

à mes chers Douadi, Boubker, Brahim, et Salim qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

à Chikh Kamel AISSAT qui m'a assisté dans des moments difficiles et m'a servi d'exemple.

Dahbia

Liste des Figures

N°	Titre	Page
1	Les différentes stratégies de la phytoremédiation (Dengra Grau, 2016)	11
2	Site de prélèvement des échantillons d'algues marines	13
3	Les étapes suivies pour la préparation de la poudre d'algue	14
4	les microplaques remplies par les différents milieux testés	18
5	Préparation de mélange du Sol/Tourbe avec ou sans algue	19
6	Schéma illustrant la position des différents lots préparés	21
7	Quelques étapes d'évaluation des paramètres de la croissance du blé	22
8	Les étapes suivies pour le dosage de la chlorophylle	22
9	Production de l'AIA par les souches bactériennes	27
10	Effet des algues sur la tolérance des bactéries au cadmium	28
11	Production de l'AIA par les souches bactériennes en présence du Cadmium	30
12	Valeurs des paramètres de croissance du blé inoculé par les souches bactériennes N5 et E5	31
13	Quantités de chlorophylle a, b et totale du blé inoculé par les souches Bactériennes	32
14	Effet des deux algues <i>Cystoseira</i> sp. et <i>Enteromorpha intestinalis</i> sur la croissance du blé	34
15	Effet des algues sur la teneur en chlorophylle a,b et totale du blé	34
16	Influence du Cadmium sur les différents paramètres de la croissance du blé.	36
17	Impact du Cadmium sur la quantité de chlorophylle a, b et totale du blé.	37
18	Effet des souches bactériennes sur la restauration de la croissance des différents paramètres du blé	39
19	Effet des souches bactériennes sur la teneur en chlorophylle a, b et totale du blé cultivé sous stress du Cd	39
20	Effet de la poudre d'algues sur les différents paramètres de la croissance du blé en présence du Cadmium.	41
21	Teneur en chlorophylle a, b et totale du blé cultivé en présence de <i>Cystoseira</i> et <i>Enteromorpha intestinalis</i> dans un sol pollué.	41
22	Effet des consortia algue-bactérie sur la longueur des tiges et des racines	43
23	Effet des consortia algue-bactéries sur le poids frais des tiges et des racines	43
24	Effet des consortia algue-bactéries sur le poids sec des tiges et des racines	43
25	Effet des souches bactériennes et des algues marines et de leur association sur la quantité des chlorophylles a, b et totale du blé cultivé sur sol pollué	44

Liste des Tableaux

N°	Titre	page
I	Taxonomie des algues récoltées	18
II	La répartition sur microplaques des différents milieux préparés	19
III	Résultats de la tolérance des souches bactériennes aux métaux lourds	24
IV	Résultats de la solubilisation du phosphate	26

Liste des Abréviations

ACC : AminoCyclopropane-1-Carboxylique

AIA : Acide Indole Acétique

ANOVA : Analyse of Variance (Analyse de la variance)

Cd : Cadmium

DMSO : Diméthylsulfoxyde

INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité

LB : Luria Bertani

MT : Métallothionéines

PBS: Phosphate Buffereed Saline

PC : Phytochélatines

PCA: Plat Count Agar

PGPB : Plantes Growth Promoting Bacteria (Bactéries Promotrices de la Croissance des Plantes)

PGPR : Plantes Growth Promoting Rhizobacteria (Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes)

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse Bibliographique

1. Les métaux lourds 3

1.1. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds 3

1.2. Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds 3

1.3. Impact des métaux lourds 4

1.4.1. Impact sur la plante 4

1.4.2. Impact sur microorganismes du sol 4

2. Le Cadmium 5

2.1. Origine du Cadmium dans le sol 5

2.1.1. Teneur naturelle des sols 5

2.1.2. Origine anthropique 5

2.2. Cadmium et plantes 5

2.2.1. Phytotoxicité du cadmium 5

2.2.2. Réponses des plantes au cadmium 6

2.3. Cadmium et bactéries 6

2.4.1. Toxicité du Cadmium 6

2.4.2. Mécanismes de toxicité du cadmium chez les bactéries 6

2.4.3. Mécanismes de résistance au Cadmium 7

II. La bioremédiation 8

1. Assainissement des métaux lourds 8

2. La bioremédiation 8

2.1. La bioremédiation aux micro-organismes 8

2.1.1. Les types de bioremédiation microbienne.....	8
2.2. La phytoremédiation	9
2.2.1. Phyto-stimulation	10
2.2.2. Phyto-extraction	10
2.2.3. Phyto-stabilisation.....	10
2.2.4. Phyto-volatilisation	10
2.3. La phyto-remédiation et les PGPR.....	11
2.4.La phyto-remédiation et les algues.....	12

Matériels et Méthodes

1. Souches bactériennes.....	13
2. Algues marines	13
2.1. Site de récolte	13
2.2.Récolte et lavage des algues.....	14
2.3. Préparation de la poudre d'algue	14
2.4. Taxonomie des algues récoltées	14
3. Tolérances des souches bactériennes au Cadmium.....	15
4. Mise en évidence de quelques caractères PGP chez les souches N5 et E5	15
4.1. Solubilisation du phosphate	15
4.2.Production d'AIA	15
5. Effet du Cadmium sur la production de l'AIA par les souches N5 et E5	16
6. Effet des algues sur la tolérance des bactéries au Cadmium.....	16
7. Effet des algues et des souches bactériennes sur la croissance de blé dans un sol polluéou non par le Cadmium	18
7.1. Choix de la plante.....	18
7.2. Caractéristiques du sol utilisé.....	19
7.3. Stérilisation des graines de blé	19
7.4. Préparation des cultures bactériennes.....	19
7.5. Plan d'expérience	19
7.6. Dosage de la chlorophylle	22

8. Analyse statistique.....	23
-----------------------------	----

Résultats et Discussion

1. Tolérances des souches bactériennes au Cadmium.....	24
2. Mise en évidence de quelques caractères PGP chez les souches N5 et E5	25
2.1. Solubilisation du phosphate	25
2.2. Production d'AIA	26
3. Effet des algues sur la tolérance des bactéries au Cadmium.....	28
4. Effet du Cadmium sur la production de l'AIA par les souches N5 et E5	29
5. Effet des souches bactériennes et des algues marines sur la stimulation de la croissance de blé	31
5.1. Effet des souches N5 et E5.....	31
5.2. Effet des algues <i>Cystoseira</i> sp. et <i>Enteromorpha intestinalis</i>	33
6. Effet des algues et des souches bactériennes sur la restauration de la croissance du blé dans un sol pollué par le Cadmium	36
6.1. Effet du Cadmium sur la croissance de blé	36
6.2. Effet des souches bactériennes et des algues marines sur la restauration de la croissance de blé sur sol pollué.....	38
6.2.1. Effet des souches bactériennes	38
6.2.2. Effet des algues	40
6.2.3. Effet de l'association algues-souches sur la croissance de blé sur un sol pollué	42
Conclusion.....	46
Références Bibliographiques	47
Annexes	



Introduction

I. Introduction

L'accumulation de métaux lourds dans les sols est une préoccupation majeure pour les agriculteurs et les consommateurs, en raison de leurs effets néfastes sur la croissance des cultures, la qualité des produits alimentaires et la santé humaine et environnementale (Augusto Costa, 2001).

Le Cadmium est un élément très toxique. Sa toxicité est considérée supérieure de 2 à 20 fois plus que celle des autres métaux lourds (Das et *al.*, 1997). Plusieurs études ont été réalisées pour recenser les niveaux de contamination des productions de grande culture, telle que le blé dur par le cadmium, pour contribuer à la sûreté sanitaire des aliments et participer à la protection de la santé humaine.

Le blé est l'une des principales céréales, il constitue la ressource alimentaire pour toute l'humanité. En Algérie, la superficie réservée à la céréaliculture est, aujourd'hui de 3,3 millions d'hectares (90% des terres cultivées). 40% de cette surface sont destinés à la production du blé dur (Nedjah, 2015). Les rendements, restent très bas malgré les efforts fournis pour répondre aux besoins alimentaires de la population qui est toujours croissants. Cette faible production est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions associées, notamment à la pollution par les métaux lourds (Selmi, 2000).

Le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre (Raskin et *al.*, 1997). De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante. La bioremédiation regroupe différentes techniques d'assainissement du sol, faisant appel aux microorganismes et aux plantes pour stabiliser ou extraire les polluants.

C'est dans ce contexte que se situe le présent travail dont l'objectif principal est de proposer un bioprocédé visant à restaurer la croissance du blé sur un sol pollué par le Cadmium.

Ce travail est scindé en trois parties :

- La première, présente une synthèse bibliographique sur les métaux lourds et la bioremédiation ;
- La seconde est réservée au matériel et méthodes utilisés dans cette investigation ;
- La dernière est consacrée aux résultats et discussion obtenus lors de ce travail, et enfin on termine avec une conclusion.



Synthèse
Bibliographique

I. Les métaux lourds

Les métaux lourds sont définis comme étant des éléments métalliques ayant une densité supérieure à 5 g/cm^3 , il s'agit du : Cadmium, Mercure, Plomb, Cuivre, Nickel, Zinc, Cobalt, Manganèse et Chrome (Arris, 2008). Ces éléments sont présents naturellement dans la croûte terrestre et dans tout organisme vivant, à des concentrations variables suivant les milieux et les organismes (Zorrig, 2011)

En fonction de leurs effets physiologiques et toxiques, on en distingue deux types : Métaux essentiels et métaux toxiques.

- **Les métaux essentiels**

Ce sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Lorsque la concentration dépasse un certain seuil, certains peuvent devenir toxiques c'est le cas du Cuivre (Cu), Nickel (Ni), Zinc (Zn), Fer (Fe) (Kadouche, 2013).

- **Les métaux toxiques**

En plus de leur caractère polluant, ces métaux ont des effets néfastes sur les organismes vivants même à une faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule, c'est le cas du plomb (Pb), mercure (Hg) et du Cadmium (Cd) (Baker et Walker, 1989).

1.1. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds

Les métaux lourds présents dans les sols peuvent avoir deux origines : naturelle ou anthropique.

- **Origine naturelle** : Elle comprend les émissions atmosphériques provenant des volcans, le transport des poussières continentales et l'altération des roches enrichies en métal (Ernst, 1998).

- **Origine anthropique** : C'est la source majeure de contamination comme : l'exploitation des mines et des fonderies ; l'application de pesticides à base de métaux et de boues d'épuration enrichies en métal dans l'agriculture; la combustion des fossiles ; les industries métallurgiques et électronique, etc., (Alloway, 1995).

1.2. Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds

La pollution des sols par les métaux traces est un problème majeur car, contrairement aux autres milieux (atmosphère et eau), le sol possède une faible capacité à s'épurer. De plus, les polluants sont principalement liés aux particules de sols et sédiments (Berthelin et Bourrelier, 1998).

La connaissance de la teneur totale en métaux lourds ne suffit pas à estimer l'impact sur l'environnement. Deux autres notions sont à prendre en compte :

- **La biodisponibilité** : C'est la capacité d'un élément à passer d'un compartiment du sol à un être vivant (racine d'une plante, micro-organisme, ...).
- **La mobilité** : C'est la capacité d'un élément à passer d'un compartiment du sol à un autre (Joubert *et al.*, 2006).

1.3. Impact des métaux lourds

La pollution de l'environnement par les métaux lourds constitue un problème majeur de part le monde. Étant donné que les métaux lourds ne peuvent pas être biodégradés en produits inoffensifs et par conséquent persistent indéfiniment dans l'environnement. La contamination des sols agricoles par ces métaux constitue un sérieux problème environnemental et présente plusieurs désavantages sur la santé humaine et sur l'agriculture (Zhang *et al.*, 2011).

1.3.1. Impact sur la plante

Tous les métaux lourds peuvent, à partir d'une concentration seuil, induire une toxicité chez les plantes. Ces métaux peuvent affecter le développement et la santé des plantes en inhibant la croissance ou la germination de ses graines ; en altérant sa structure ou en affectant les pigments photosynthétiques (Neelima et Reddy, 2003 ; Oancea *et al.* 2005).

1.3.2. Impact sur les microorganismes du sol

En plus de leur effet sur les plantes, les métaux lourds sont réputés par leur toxicité sur la plupart des microorganismes telluriques ayant par la suite des conséquences sur le fonctionnement de l'écosystème (Huynh, 2009). Leur effet sur la dénaturation des protéines ou sur l'intégrité de la membrane cellulaire affecte la croissance, la morphologie et le métabolisme des microorganismes (Leita *et al.*, 1995).

Un autre effet néfaste des métaux lourds dans le sol consiste en l'inhibition des activités enzymatiques dans le sol. (Renella *et al.*, 2003 ; Landi *et al.*, 2000 et Huynh, 2009). Les sols contaminés par les métaux lourds peuvent donc perdre certaines de leurs propriétés biochimiques indispensables au bon fonctionnement de l'écosystème (Huynh, 2009).

2. Le Cadmium (Cd)

Le Cadmium est un métal lourd peu répandu dans la croûte terrestre. Il est bio-accumulable et répertorié comme toxique par l'INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité) sous ses formes sulfure et oxyde de Cadmium.

Le Cadmium peut être adsorbé à la surface de la plupart des minéraux argileux, des carbonates ou des hydroxydes de fer ou de manganèse. Des études ont montré que les mécanismes d'adsorption peuvent être considérés comme le processus le plus important de rétention du Cadmium dans les sols (Dudley et *al.*, 1988, 1991).

2.1. Origine du Cadmium dans le sol

2.1.1. Teneur naturelle des sols

La croûte terrestre renferme en moyenne de 0,1 à 0,2 mg de Cadmium par kg de sol sec, avec des différences importantes selon l'origine des sols. Les gisements sédimentaires jouent un rôle déterminant dans l'accumulation du Cadmium, avec dans certains sites, des teneurs pouvant atteindre 300 mg/Kg (Juste et *al.*, 1995).

2.1.2. Origine anthropique

La production mondiale de Cadmium est en continuelle expansion. Elle est de l'ordre de 24200 tonnes en 2015 (Société chimique de France, 2017). Le Cadmium est présent dans des minerais de plomb, de cuivre et de zinc, ainsi la production d'une tonne de zinc s'accompagne obligatoirement de 3 à 4 Kg de Cadmium (Juste et *al.*, 1995).

Outre les secteurs environnant les usines de production de zinc, de très nombreuses activités anthropiques sont sources de pollution par le Cadmium : Usines chimiques (pigments, matières plastiques, peintures, batteries, etc.) ; Usine de matériaux de construction, de pâte à papier et les raffineries de pétrole. Les égouts ou émissions de particules résultant de ces différentes activités ainsi que l'utilisation massive de fertilisants et de pesticides sont responsables de la contamination de notre écosystème. (Aoun, 2008).

2.2. Cadmium et plantes

2.2.1. Phytotoxicité du Cadmium

Chez les plantes, le Cadmium n'a aucune fonction biologique connue (Pokorny et *al.*, 2004), il est toxique à de faibles concentrations (De la Rosa et *al.*, 2004). L'inhibition de la croissance des plantes cultivées en présence du Cadmium peut être liée à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (Hasenstein et *al.*, 1988), à une action délétère du Cadmium sur la composition des parois cellulaires (Chaoui et El Ferjani, 2005), ainsi qu'à des perturbations de la machinerie photosynthétique, notamment la structure des chloroplastes et la biosynthèse de la chlorophylle (Mobin et Khan, 2007 ; Ebbs

et Uchil, 2008). La diminution de la biomasse végétale se manifeste par une réduction de la croissance des parties aériennes et racinaires (Ghnaya *et al.*, 2005 ; Zorrig *et al.*, 2010), la chlorose, la nécrose, la perturbation des flux d'eau due à l'inhibition de la division et de l'élongation des cellules xylémiques, la déficience en phosphore et en azote, l'accélération de la sénescence et la décélération de développement des jeunes bourgeons (Cosio, 2005; Clemens, 2006).

2.2.2. Réponses des plantes au Cadmium

Les plantes ont mis en œuvre des mécanismes « spécifiques » pour diminuer la toxicité des métaux. Ces mécanismes incluent l'inactivation des métaux par chélation et par leur exclusion des compartiments cellulaires dans lesquels ils sont toxiques. Ceci suppose cependant que les métaux sont séquestrés dans des organites spécifiques comme les vacuoles ou dans certaines structures telles que les trichomes (Clemens, 2006).

2.3. Cadmium et bactéries

2.3.1. Toxicité du Cadmium

La toxicité du cadmium a été mesurée essentiellement sur la croissance bactérienne, la respiration ou l'activité déshydrogénasique, et certaines activités enzymatiques.

D'une manière générale, l'effet toxique du Cadmium s'exprime au niveau de la croissance bactérienne le plus souvent en terme d'augmentation du temps de latence et parfois d'inhibition du taux de croissance et de la biomasse produite.

D'après Jakubczak *et al.* (1981), les bactéries gram positif sont plus sensibles à l'action du Cadmium que les bactéries gram négatif.

Beveridge et Murray, (1976) et Beveridge et Koval, (1981) l'accumulation des métaux par les parois gram positives est 10 fois supérieure à celle observée dans les parois gram négatives. La comparaison de la répartition cellulaire du Cadmium chez des souches bactériennes sensibles et résistantes à ce métal a montré que 3 fois plus de Cadmium s'accumulait dans le cytoplasme des bactéries sensibles (Remacle *et al.*, 1982). La localisation du métal toxique serait donc intracellulaire. Toutefois il est impossible de préciser si la répartition cellulaire du Cadmium observée chez les bactéries sensibles est la cause ou la conséquence de leur sensibilité.

2.3.2. Mécanismes de toxicité du cadmium chez les bactéries

Le cadmium est susceptible d'agir à plusieurs niveaux simultanément dans la cellule bactérienne : au niveau membranaire, sur les activités enzymatiques et avec les acides nucléiques (Bauda, 1986).

- *Effets sur les membranes*

Sur la membrane, le Cadmium interagit avec les phospholipides et par conséquent modifie la fluidité membranaire (Caffrey et Feigenson, 1984).

- *Effets sur les activités enzymatiques*

De nombreuses activités enzymatiques sont modifiées en présence du Cadmium, comme par exemple celle de la phosphatase alcaline (Chlebowski et *al.*, 1977). La phosphatase alcaline est une métallo-enzyme possédant du zinc dans son site actif, et le remplacement du zinc par le cadmium a été observé (Sowadski et *al.*, 1981). La β galactosidase et les déshydrogénases sont aussi inhibées en présence de cadmium (Cenci et *al.*, 1985).

- *Effets sur les acides nucléiques*

La toxicité du Cadmium sur le matériel génétique peut provenir d'une interaction métal-acides nucléiques et/ou d'une interaction métal-enzymes du métabolisme des acides nucléiques. En effet, si le cadmium peut se complexer au niveau des protéines, il est également susceptible de réagir avec les atomes d'azote des bases puriques et pyrimidiques et avec les atomes d'oxygène des groupements phosphates du squelette « sucre-phosphate » des acides nucléiques. D'après Jacobson et Turner (1980), la complexation du Cadmium au niveau des phosphates stabiliserait la structure en double hélice de l'ADN, tandis que sa complexation au niveau des bases aurait un effet déstabilisant sur cette structure.

2.3.3. Mécanismes de résistance au Cadmium

Les bactéries développent des mécanismes de résistance aux métaux qui commencent à être explicités. Six mécanismes principaux de résistance au Cadmium ont été décrits chez les bactéries : la fixation du métal à la périphérie cellulaire, l'accommodation, la synthèse de molécules intracellulaires qui piègent le métal, la précipitation de complexes métallique insolubles, une accumulation de métal réduite et la méthylation (Bauda, 1986).

II. La bioremediation

1. Assainissement des métaux lourds

L'élimination des métaux lourds de l'environnement est extrêmement importante (Murphy et al. 2007). Les différents cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sites contaminés, qu'il est hautement souhaitable d'appliquer des approches correctives appropriées pour les sols pollués, ce qui peut réduire le risque de contamination par les métaux (Wuana et al., 2010 ; Vesely et al., 2012).

Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre ce qui a encouragé les entreprises à ignorer le problème (Raskin et al., 1994). Ces méthodes peuvent également causer des problèmes environnementaux secondaires du fait de la création de boues porteuses du métal qui sont extrêmement difficiles à éliminer (Murphy et al., 2007). Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante (Huynh., 2009).

2. La bioremédiation

La bioremédiation est une technique écologique qui emploie des processus biologiques en utilisant des micro-organismes, des champignons, des plantes ou de leurs enzymes pour éliminer les contaminants toxiques et remettre l'environnement naturel altéré à son état d'origine (Akshata et al., 2012).

2.1. La bioremédiation aux micro-organismes

La bioremédiation utilise des microorganismes pour réduire, éliminer, contenir et transformer des contaminants présents dans les sols, les sédiments, l'eau ou l'air. Les 15 dernières années ont connu une augmentation des types de contaminants auxquels la bioremédiation est appliquée, y compris les solvants, les explosifs, les hydrocarbures, etc. Maintenant, les processus microbiens commencent à être utilisés dans l'assainissement des contaminants radioactifs et métalliques (Henry et al., 2005).

2.1.1. Les types de bioremédiation microbienne

Les microorganismes peuvent être indigènes dans une zone contaminée ou ils peuvent être isolés d'ailleurs et amenés sur le site contaminé (Akshata et al., 2012). La mise en place de procédés de bioremédiation implique dans un premier temps de mieux comprendre les interactions entre les bactéries et les métaux, puis d'identifier des candidates intéressantes avant d'appuyer leur action dans les sols par différentes méthodes. Parmi elles :

La bio-stimulation : elle implique la modification de l'environnement pour stimuler les bactéries existantes capables de la bioremédiation. Cela peut se faire en ajoutant diverses formes de nutriments limitants et d'accepteurs d'électrons, tels que le phosphore, l'azote, l'oxygène ou le carbone (Elektorowicz, 1994; Piehler et *al.*, 1999; Rhykerd et *al.*, 1999 ; Dung et *al.*, 2014)

La bio-augmentation : celle-ci signifie l'introduction de microorganismes isolés du site contaminé, soigneusement sélectionnés et génétiquement modifiés pour soutenir l'assainissement des sites contaminés (Dung et *al.*, 2014).

L'activité microbienne joue un rôle crucial dans l'assainissement des métaux dans les résidus du sol. L'étude des interactions des microorganismes avec les métaux lourds ont un intérêt croissant ces dernières années. L'absorption de métal microbien peut se produire soit activement (bioaccumulation) soit passivement (biosorption) (Akshata et *al.*, 2012)

La biosorption : Peut être définie comme l'absorption microbienne d'espèces de métaux par des mécanismes physico-chimiques tels que l'adsorption. La biosorption peut également fournir des sites de nucléation pour la formation de minéraux stables (Beveridge et Doyle, 1989; Southam, 2000; McLean et *al.*, 2002).

La bioaccumulation : En plus de la sorption sur les surfaces cellulaires, certaines espèces cationiques peuvent être accumulées dans les cellules via des systèmes du transport membranaire d'affinité et de spécificité variable. Une fois dans les cellules, les espèces métalliques peuvent être liées, précipitées, localisées dans des structures intracellulaires ou organelles, ou translatées à des structures spécifiques (Gadd, 1997; White et *al.*, 1997; Gadd et Sayer, 2000 ; Geoffrey et *al.*, 2004).

2.2. La phytoremédiation

Elle est définie comme une technique de dépollution basée sur l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et inorganiques. La capacité de certaines plantes à tolérer ou même à accumuler des métaux a permis d'ouvrir de nouvelles voies de recherche sur le traitement des sols (Huynh, 2009). La phyto-remédiation est considérée comme la technique d'assainissement qui génère l'impact environnemental négatif le plus bas sur les sites d'assainissement (Noori et *al.*, 2012).

Les types de stratégies de phyto-remédiation (Fig. 1) particulièrement utilisés dans la dépollution des métaux lourds sont décrits ci-dessous :

2.2.1. *Phyto-stimulation*

Les plantes sécrètent des exsudats racinaires qui peuvent être utilisés par les communautés microbiennes et promouvoir leur développement et leurs activités. Cette stimulation microbienne dans la rhizosphère modifie la bioaccumulation, l'oxydation/réduction biologique et la biométhylation des métaux lourds (McGrath, 1998).

2.2.2. *Phyto-extraction*

C'est un phénomène dans lequel les plantes hyper-accumulatrices absorbent les métaux du sol par leur système racinaire et les transportent vers les parties aériennes récoltables (Xu et al., 2012). Puisque les métaux lourds ne sont pas dégradables, la rhizo-dégradation est exclue, et la phyto-extraction des métaux se limite à accumuler l'élément toxique dans la plante. Le rendement de la dépollution dépend étroitement de la quantité de biomasse produite (Vavasseur, 2014).

2.2.3. *Phyto-stabilisation*

Les mécanismes impliqués dans la phyto-stabilisation comprennent les précipitations, la sorption des racines, la complexation ou la réduction de la valence des métaux. La phyto-stabilisation, contrairement à la phyto-extraction, se concentre principalement sur la séquestration des métaux lourds dans la rhizosphère mais pas sur les tissus végétaux (Paz-Ferreiro et al., 2014).

2.2.4. *Phyto-volatilisation*

La technique de phyto-volatilisation s'applique à des éléments non dangereux une fois dilués. Pour les éléments comme le sélénium ou le mercure qui deviennent volatils une fois méthylés, il est possible de transformer une plante et lui faire exprimer une méthylase, qui permettra la dispersion de la pollution par volatilsation tout en restant à des niveaux de concentration atmosphérique inférieurs aux normes en vigueur (Vavasseur, 2014).

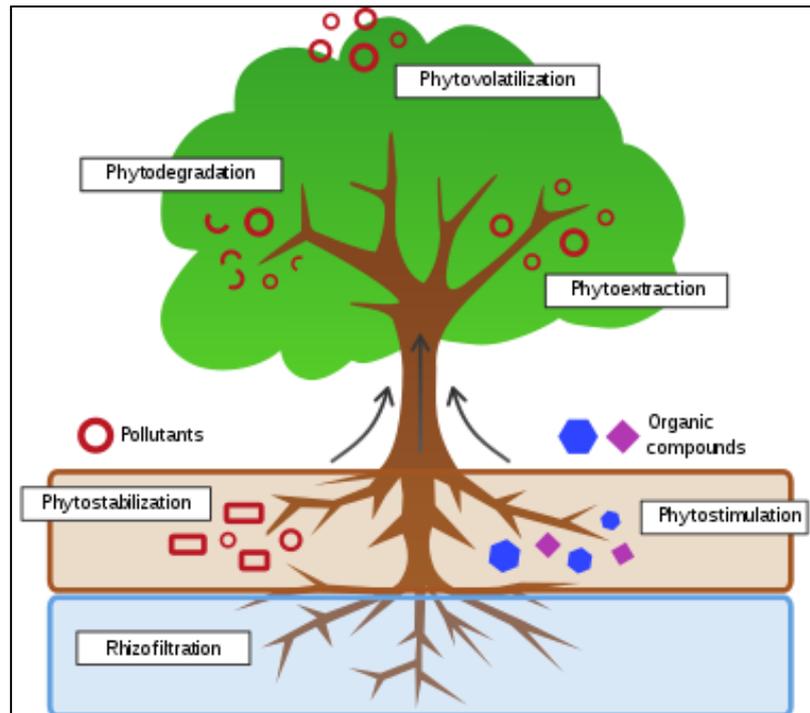


Figure 1 : Les différentes stratégies de la phytoremédiation (Dengra Grau, 2016)

2.3. La phyto-remédiation et les PGPR

L'interface entre le sol, les microbes et les racines des plantes (rhizosphère) est connue pour avoir une grande influence sur l'absorption des nutriments ainsi que sur la diminution de la toxicité des métaux (Mc Near, 2013). Un processus réussi de phyto-remédiation ne dépend pas uniquement de la plante, mais aussi des interactions entre les métaux, les microbes de la rhizosphère et les plantes (Hemambika *et al.* 2013).

Les PGPR sont des bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes grâce à un certain nombre de mécanismes tels que : la fixation d'azote ; la production de phytohormones et de sidérophores et la transformation des éléments nutritifs. Les PGPR sont considérés comme des composantes importantes de la technologie de phytoremédiation (Wenzel *Et al.*, 1999; Glick, 2003).

En plus de leur aptitude à promouvoir la croissance végétale, ces bactéries peuvent faire face à la pollution et la réduire par le processus de bioremédiation en association avec des plantes (Okon et Labandera-Gonzalez, 1994). La sélection de bactéries à la fois stimulatrices de la croissance des plantes et résistantes aux métaux lourds peut améliorer la recolonisation de la rhizosphère des plantes dans les sols pollués (Deepthi *et al.*, 2014), ce qui offre des possibilités intéressantes pour une agronomie respectueuse de l'environnement. En effet, une meilleure connaissance de l'utilisation de ces populations bactériennes pourrait permettre une

diminution des intrants phosphatés et des pesticides polluants dans les sols agricoles (Wojcieh et Lise, 2002).

2.4. La phyto-remédiation et les algues

Cette dernière décennie, l'utilisation de plantes aquatiques, en particulier des micro et macro algues, reçoit une grande attention en raison de leur capacité à absorber les métaux ou à les rendre moins nocifs (Iran et *al.*, 2012).

Les algues ont de nombreuses caractéristiques qui en font des candidats idéaux pour l'élimination et la concentration de métaux lourds, qui incluent une tolérance élevée aux métaux lourds, la capacité à se développer à la fois de façon auto-trophique et hétéro-trophique, de grands rapports superficie / volume et l'expression des phytochélatines (Surech et *al.*, 2004).

Par ailleurs, les organismes répondent au stress de métaux lourds en utilisant différents systèmes de défense, tels que l'exclusion, la compartimentation, la fabrication de complexes et la synthèse de protéines contraignantes telles que les métallothionéines (MT) ou les phytochélatines (PC) (Ben Chekroun and Baghour, 2013). L'adsorption, la phytosorption et l'affinité des algues pour les cations de métaux lourds dans le traitement des eaux usées en raison de sa haute surface chargée négativement ont été reconnues depuis longtemps (Sekabira et *al.*, 2011).

Matériel
&
Méthodes

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables (Equipe Biomasse et Environnement). Les expériences ont été menées durant une période de 4 mois (Février-Mai 2017). Elles ont été scindées en deux parties :

- La première partie comporte l'ensemble des tests *in vitro* visant la sélection de bactéries adaptées à notre étude.
- La seconde partie porte sur la stimulation et la restauration de la croissance du blé dur cultivé sous stress du Cadmium, par les bactéries, les algues et leur association dans le milieu naturel.

1. Souches bactériennes

Les 4 souches bactériennes utilisées dans cette étude proviennent de la collection du laboratoire de maîtrise des énergies renouvelables, Equipe Biomasse et Environnement, université de Bejaïa. La revivification a été réalisée par repiquage sur bouillon nutritif (Annexe I) suivi d'une incubation à 30°C/24h. Les souches N5, L4 appartiennent au genre *Pseudomonas* et la souche N2 appartient au genre *serratia*. Les trois souches ont été isolées à partir d'une eau de puit contaminée par les métaux lourds situé à Djebira (36°41'59.2"N 5°04'28.8"E) dans la wilaya de Bejaia. L'isolat E5 est une bactérie non identifiée, obtenue à partir d'un sol pollué par les métaux lourds situé à Amizour (36°40'28.6"N 4°56'06.4"E) à Bejaia, quant à la souche *Pseudomonas protegens* CHAO, elle provient de l'unité de recherche Interaction Plante Microbe de centre Helmholtz de Munich, Allemagne.

2. Algues marines

2.1. Site de récolte

La récolte des algues marines a eu lieu dans la côte ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat 36°48'42.1"N 4°58'53.9"E) (Fig. 2) en mars 2017. Deux espèces d'algues ont été récoltées.



Figure 2 : Site de prélèvement des échantillons d'algues marines

2.2. Récolte et lavage des algues

Des échantillons d'algues ont été récoltés à l'aide d'un couteau et d'un ciseau, puis conservés dans des boîtes en plastique contenant de l'eau de mer. Les boîtes ont été par la suite transportées au laboratoire. Les algues cueillies ont été lavées avec l'eau de robinet 3 à 4 fois afin d'enlever tous les épiphytes et les particules de sable adhérentes.

2.3. Préparation de la poudre d'algue

Les échantillons d'algues sont déposés en fines couches sur des claies et séchés à l'air libre (à l'abri de la lumière solaire), le séchage est poursuivi dans des étuves réglées à 45°C. Les algues séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, puis tamisée et conservée dans des pots en verre fumé (Fig. 3).



Figure 3 : Les étapes suivies pour la préparation de la poudre d'algue

1 : *Enteromorpha intestinalis* récolté. **2 :** *Enteromorpha intestinalis* dans une boîte en plastique. **3 :** lavage des algues avec l'eau de robinet. **4 :** des algues marines sur des égouttoirs. **5 :** séchage des algues à l'air libre. **6 :** Broyage des algues marines par un broyeur électrique. **7 :** tamisage.

2.4. Taxonomie des algues récoltées

Deux espèces d'algues marines récoltées sont sélectionnées pour cette étude, elles sont identifiées par Mr. Moussu (Laboratoire d'écologie, UAMB). Il s'agit d'une algue brune (*Cystoseira* sp.) et une algue verte *Enteromorpha intestinalis* (Tableau I).

Tableau I : Taxonomie des algues récoltées (Dawson et Foster, 1982 ; Mattio, 2008)

Taxonomie		Aspect	
Algue 1	Phylum	<i>Clorophyta</i>	 <i>Enteromorpha intestinalis</i>
	Classe	<i>Chlorophyceae</i>	
	Ordre	<i>Ulotrichales</i>	
	Famille	<i>Ulvaceae</i>	
	Genre	<i>Enteromorpha</i>	
Algue 2	Phylum	<i>Ochrophyta</i>	 <i>Cystoseira sp.</i>
	Classe	<i>Phaeophyceae</i>	
	Ordre	<i>Fucales</i>	
	Famille	<i>Sargassaceae</i>	
	Genre	<i>Cystoseira</i>	

3. Tolérances des souches bactériennes au Cadmium

Dans le but de sélectionner les souches bactériennes résistantes à des concentrations toxiques, du Cadmium (CdSO_4), des cultures jeunes des souches CHAO, L4, N2, N5 et de l'isolat E5 sont ensemencées en duplicata dans des boîtes de pétri contenant le milieu PCA (Annexe I) préparé à des concentrations croissantes de Cadmium (1mM, 2mM et 3mM), puis incubées à 30°C/72h. Des boîtes de milieu PCA, ne contenant aucune concentration de Cadmium, sont préparées en parallèle comme témoin.

4. Mise en évidence de quelques caractères PGP chez les souches N5 et E5

4.1. Solubilisation du phosphate

La solubilisation du phosphate a été étudiée sur le milieu Pikovskaya agar (Annexe I) selon la méthode de Sonam (2011). Des disques de 5 mm de diamètre de chaque isolat sont déposés sur la surface du milieu Pikovskaya puis incubés à 27°C/4 à 7J.

L'activité phosphatase est révélée par apparition d'un halo transparent autour des colonies.

4.2. Production d'AIA

Ce test permet de déterminer la capacité des souches bactériennes à produire la phytohormone Acide Indole Acétique (auxine).

Les bactéries sont inoculées dans le milieu LB (Annexe I) supplémenté de 0.5% de glucose et de 0.5mg/ml de tryptophane, puis incubées à 30°C/4 Jours. Après incubation, les cultures sont centrifugées à 13000 tr/min pendant 3min. 1.2 ml de surnageant sont récupérés puis additionnés de 4.8 ml de réactif Salkowsky (150 ml H₂SO₄ 98% + 250 ml H₂O+ 7.5 ml FeCl₃ 0,5M). La solution est agitée au vortex puis gardée à température ambiante pendant 30 minutes.

L'absorbance de la coloration rose apparue est mesurée par spectrophotomètre (Shimadzu UV-1800) à 535 nm. La concentration de l'AIA est déterminée par établissement d'une courbe d'étalonnage (Annexe II) de la DO à 535 nm en fonction de la concentration de l'AIA (Sigma) pur en µg/ml.

5. Effet du Cadmium sur la production de l'AIA par les souches N5 et E5

Ce test permet de vérifier l'effet de Cadmium sur la capacité des souches N5 et E5 à produire la phytohormone AIA. Le protocole est similaire à celui cité dans la section 4.2. Cependant le milieu LB est préparé à des concentrations croissantes en Cadmium (0mM, 1Mm, 2mM et 3mM). Les concentrations d'AIA sont déterminées par établissement d'une courbe d'étalonnage (Annexe II) de la DO à 535 nm en fonction de la concentration d'AIA (Sigma) pur en µg/ml.

6. Effet des algues sur la tolérance des bactéries au Cadmium

L'effet des algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* sur la tolérance des bactéries N5 et E5 a été réalisé sur des microplaques.

Les extraits utilisés dans ce test sont préparés comme suit :

- ❖ 2 g de la poudre d'algue *Cystoseira* sp. sont homogénéisés avec 10 ml d'eau distillée contenant différentes concentrations de Cadmium (0 mM, 0.5 mM et 1Mm) ;
 - ❖ 2 g de la poudre d'algue *Enteromorpha intestinalis* sont homogénéisés avec 20 ml d'eau distillée contenant différentes concentration de Cadmium (0 mM, 0.5 mM et 1mM).
- Ces préparations sont laissées sous agitation pendant 2h à température ambiante. Les surnageants sont récupérés puis conservés à 4°C.

Plan d'expérience

L'expérience a été réalisée sur des microplaques à fond rond de 96 puits [12colonnes (8puits/colonne)]. Chaque puits est inoculé avec 200µl des différents milieux préalablement préparés avec 20 µl de la suspension bactérienne. Chaque test est réalisé dans une colonne (8 puits), donnant à la fin 8 répétitions de même nature (tableau 1). Des

témoins sans apport de Cadmium ni d'algues sont réalisés en parallèle. Les microplaques inoculées sont incubées à 30 °C pendant 4 jours (Fig.4).

Le tableau ci-dessous montre la répartition des différents milieux préparés

Tableau 2 : La répartition sur microplaques des différents milieux préparés

	Microplaque 1	Microplaque 2	Microplaque 3
Colonne 1	200 µl LB+ 20 µl de la suspension N5	200 µl LB à 0.5mM de Cd + 20 µl de la suspension E5	200 µl LB à 0.5mM de Cd + 20 µl de la suspension N5
Colonne 3	200 µl LB+ 20 µl de la suspension E5	200 µl LB à 1 mM de Cd + 20 µl de la suspension E5	200 µl LB à 1 mM de Cd + 20 µl de la suspension N5
Colonne 5	100 µl de milieu LB+100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> +20 µl de la suspension N5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> sp. avec 0.5 mM Cd+20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> sp. avec 0.5 mM Cd+20 µl de la suspension N5
Colonne 7	100 µl de milieu LB+100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> + 20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> sp. avec 1 mM Cd+20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Cystoseira</i> sp. avec 1 mM Cd+20 µl de la suspension N5
Colonne 9	100µl de milieu LB+100µl Extrait d' <i>Enteromorpha inestinalis</i> +20 µl de la suspension N5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Enteromorpha inestinalis</i> avec 0.5 mM Cd+20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Enteromorpha inestinalis</i> avec 0.5 mM Cd+20 µl de la suspension N5
Colonne 1	100µl de milieu LB+100µl Extrait d' <i>Enteromorpha inestinalis</i> +20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Enteromorpha inestinalis</i> avec 1 mM Cd+20 µl de la suspension E5	100 µl de milieu LB +100µl Extrait de <i>Enteromorpha inestinalis</i> avec 1 mM Cd+20 µl de la suspension N5

La croissance bactérienne dans les différents puits a été déterminée par mesure de la DO à 600nm à l'aide d'un spectrophotomètre (ShimadzuUV-1800).

Les deux lectures sont obtenues en mélangeant le contenu des 4 puits (8 en total) dans une cuve à spectrophotomètre.

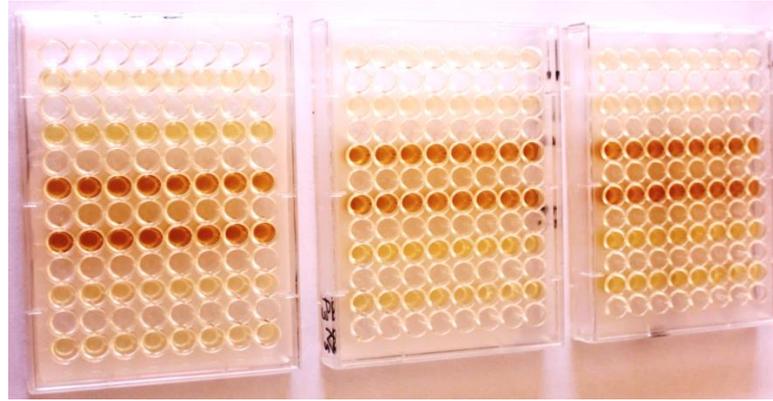


Figure 4 : Les microplaques remplies par les différents milieux testés

7. Effet des algues et des souches bactériennes sur la croissance de blé dans un sol pollué ou non par le Cadmium

L'effet des deux souches bactériennes N5 et E5 et des algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* sur la restauration de la croissance du blé a été étudié sur un sol contaminé par le Cadmium. Ce test va permettre de vérifier la capacité des algues et des souches bactériennes à restaurer la croissance du blé sur un sol pollué.

7.1. Choix de la plante

Dans cette étude le choix s'est porté sur le blé dur, car en tant que céréale, il constitue l'aliment de base dans de nombreux pays, spécialement ceux en voie de développement où la sécurité alimentaire reste un objectif non atteint. Selon Chebbi et El Mourid (2005), ils estiment que la consommation annuelle moyenne des céréales par habitant en Algérie est l'une des plus élevée dans le monde. Ce qui explique que la sécurité alimentaire de notre pays dépend de la production céréalière.

Le potentiel de production de céréales, en pluvial, sous climat méditerranéen, est très limité (Tavakkoli et Oweis, 2004). Le recours aux importations massives pèse sur l'économie de l'État. En effet, l'Algérie importe chaque année près de 6,5 millions de tonnes de céréales (Conseil International des Céréales, 2009). Des travaux de soutiens agricoles destinés à la céréaliculture sont déployés, en l'occurrence du blé dur (*Triticum durum*), dans l'objectif d'améliorer la production et aboutir à un redressement du rendement (Haddad et *al.*, 2016).

7.2. Caractéristiques du sol utilisé

Le sol utilisé dans cette étude est un mélange constitué de 50% de tourbe et 50% du sol agricole, provenant d'un site situé à Derguina (36°35'31.2"N5°20'06.6"E) dans la wilaya de Bejaia.

Dans ce test les pots destinés à étudier l'effet des algues ou l'effet combiné de l'algue et des bactéries ont été remplis avec un mélange de sol et de poudre d'algues à raison de 2% (Fig. 5)



Figure 5 : Préparation de mélange du Sol/Tourbe avec ou sans algue

1 : le sol. 2 : la tourbe. 3 : mélange sol et tourbe (v/v). 4 : mélange du sol avec la poudre d'*Enteromorpha intestinalis*. 5 : mélange du sol avec la poudre de *Cystoseira* sp.

7.3. Stérilisation des graines de blé

Les graines de blé sont traitées avec de l'éthanol (70%) pendant 1 min sous agitation puis avec de l'hypochlorite du sodium (12%)/15 min. 6 lavages successifs à l'eau distillée stérile sont appliqués pendant 15 minutes pour se débarrasser du chlore (Götz *et al.*, 2006).

7.4. Préparation des cultures bactériennes

Des cultures bactériennes préparées sur milieu LB (annexe I) sont incubées à 30°C/24h. Les cultures sont ensuite centrifugées à 6000 rpm/min/5 minutes, le culot est récupéré et lavé deux fois avec une solution d'eau physiologique. Les suspensions bactériennes utilisées pour l'inoculation des graines de blé sont préparées dans l'eau physiologique. Enfin, l'absorbance de chaque suspension obtenue a été standardisée à une DO = 0.5 ($\lambda=600$ nm) (Egamberdieva *et al.* 2010).

7.5. Plan d'expérience

Deux expériences ont été réalisées :

L'expérience 1 : Elle est constituée de 7 pots/lot (Témoin ; blé+ souche N5 ; blé+ souche E5 ; blé +*Cystoseira* sp.; blé +*E. intestinalis* ;blé+ souche N5+*Cystoseira* sp. ;blé+ souche N5+ *E. intestinalis* ; blé+ souche E5+*Cystoseira* sp. ;blé+ souche E5+ *E. intestinalis*).

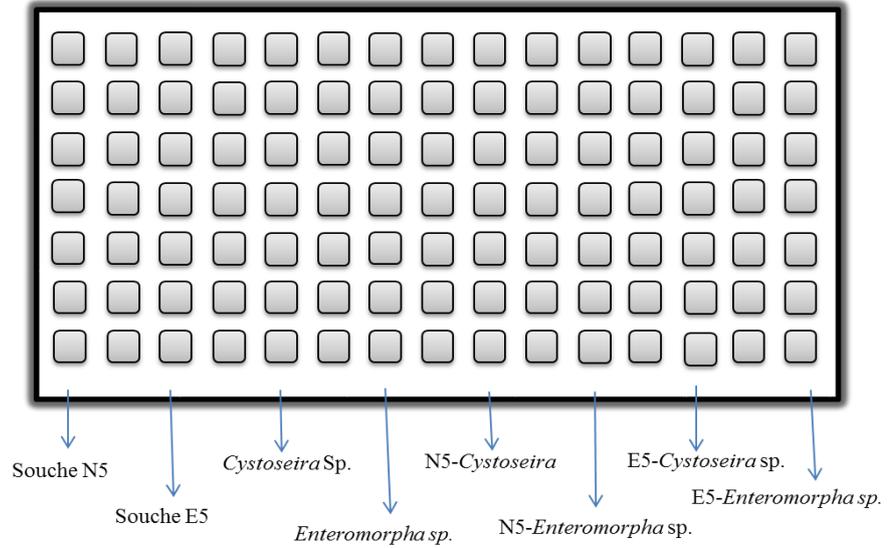
L'expérience 2 : basée sur les mêmes conditions que l'expérience 1, mais additionnée de 0.5 mM du Cadmium.

Les graines destinées à l'étude de l'effet des souches bactérienne (avec ou sans algue, en présence ou en absence du Cadmium) sur la croissance du blé sont trempées dans les cultures bactériennes pendant 1h à température ambiante. Les autres graines destinées aux autres tests sont trempées dans l'eau de robinet stérile (Nabti *et al.*, 2014).

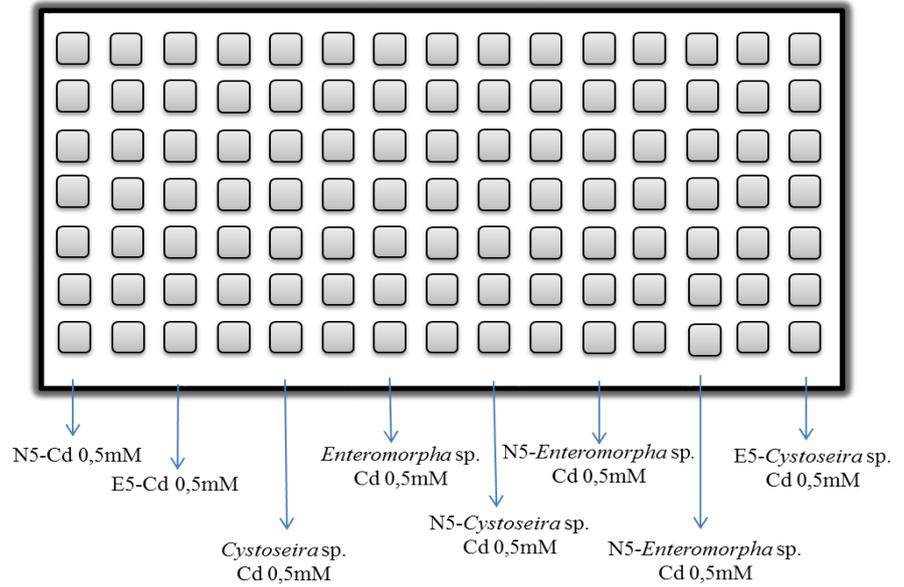
Les graines trempées préalablement dans les cultures bactériennes ou l'eau, sont semées à raison de trois graines par pot (10g du mélange tourbe/sol) à une profondeur de 1 cm. Les pots de l'expérience 2 sont arrosés le premier jour par 1 ml d'une solution de Cadmium (0.5mM), les autres pots sont arrosés par 1 ml d'eau de robinet. Les deux expériences sont réalisées dans des conditions naturelles à température de 23-28°C/20 jours. Tous les pots sont irrigués tous les 3 jours avec 5ml d'eau de robinet. Les paramètres de croissance de la plante (Pourcentage de germination (%); Longueur de la tige et de la racine (cm); Poids frais des tiges et des racines (g); Poids sec des tiges et des racines (g); contenance en chlorophylle a, b et totale (mg)) sont évalués à la fin de l'expérience.

La figure 6 illustre les différents lots préparés.

**Alvéole 1
Sans Cadmium**



**Alvéole 2
Avec Cadmium**



**Alvéole 3
Témoins**

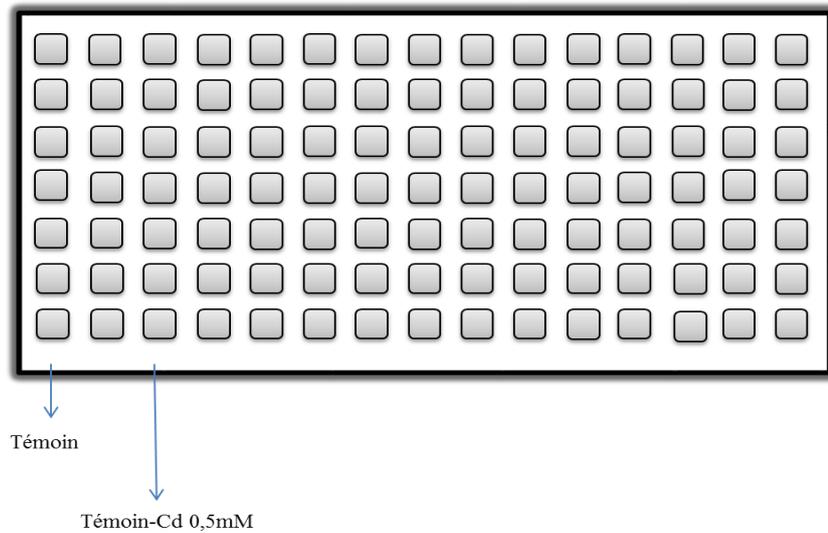


Figure 6 : Schéma illustrant la position des différents lots préparés

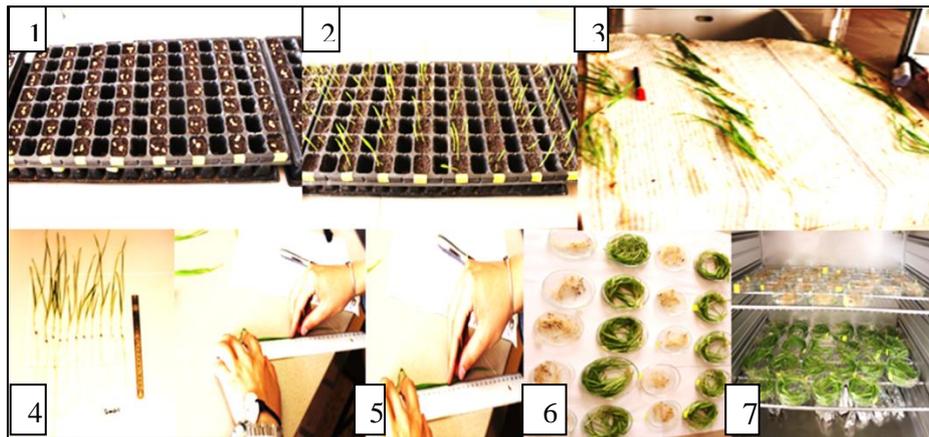


Figure 7 : Quelques étapes d'évaluation des paramètres de croissance du blé

1 : 3graines par pot à semer. 2 : plantes du blé. 3 : séchage des plantes du blé. 4 : plantes du blé après la récolte. 5 : évaluation de la longueur de tiges. 6 : des tiges et des racines des plantes dans des boites Pétri. 7 : des racines et tiges dans l'étuve.

7.6. Dosage de la chlorophylle

Pour les deux expériences citées dans la sections (7.5), la teneur des pigments photosynthétiques a été déterminée. La chlorophylle a été dosée selon la méthode de Hiscox et Tsraelstam, (1979). Pour cela, 100 mg de matière fraîche sont découpés puis placés dans des tubes contenant 7 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde). Le mélange est incubé à 65° C/30 minutes. Après incubation, le volume est ajusté à 10 ml avec le DMSO. L'absorbance est lue immédiatement à 645 et 663 nm (Fig. 8). Les teneurs en chlorophylle a, b et totale sont déterminées suivant les équations établies par Arnon (1949).

$$Chla(g\ l^{-1}) = 0.0127 \times A663 - 0.00269 \times A645;$$

$$Chlb(g\ l^{-1}) = 0.0229 \times A645 - 0.00468 \times A663;$$

$$Chl\ totale\ (g\ l^{-1}) = 0.0202 \times A645 + 0.00802 \times A663.$$

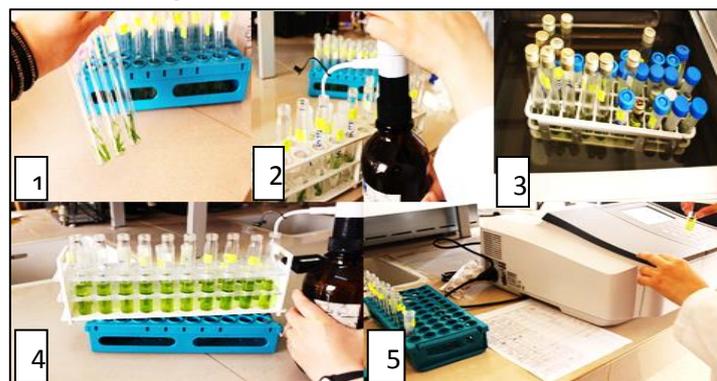


Figure 8 : Les étapes suivies pour le dosage de la chlorophylle

1 : 100 mg de masse fraîche dans des tubes. 2 : l'addition de 7 ml de DMSO.3 : des tubes contenant le mélange (masse fraîche +DMSO) dans le bin marée.4 : l'addition de 3ml de DMSO.5 : lecture par un spectrophotomètre.

8. Analyse statistique

Les données relatives aux paramètres de croissance ont fait l'objet d'une analyse statistique en utilisant le logiciel GraphPad PRISM version 6.01. Le test de l'analyse de la variance MANOVA (Test Fischer LSD) a été appliqué ($p < 0.05$).

Résultats
&
Discussion

1. Tolérances des souches bactériennes au cadmium

Comme l'ont souligné Trevors et al. (1985), Lakshmipathy *et al.* (2010), Osama et al. (2011), il y a une nuance dans la définition exacte de ce que l'on entend par la résistance aux métaux lourds. Gadd (1992) a suggéré d'utiliser le terme "résistance" lorsqu'il est possible de caractériser un mécanisme spécifique de désintoxication bactérienne pour un métal. Par conséquent, la tolérance semble plus appropriée de se référer à la capacité d'une souche bactérienne à croître en présence de concentrations élevées en métal. Dans notre cas, le mécanisme de ce processus n'a pas été étudié, nous avons donc préféré le terme «tolérance» que «résistance».

Les résultats de la tolérance aux métaux lourds des souches bactériennes sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau III : Résultats de la tolérance des souches bactériennes aux métaux lourds

		Souches				
		CHAO	L4	N2	N5	E5
CdSO ₄ (mM)						
1		-	-	++	++	++
2		-	-	+	++	++
3		-	-	-	+	+

Les résultats obtenus montrent une variabilité dans la tolérance des souches testées. Les deux souches N5 et E5 sont les plus tolérantes. En effet elles tolèrent jusqu'à 3mM de cadmium. Comparée à ces deux souches, N2 montre une tolérance modérée allant jusqu'à 2mM. Les autres souches CHAO et L4 se sont avérées sensibles à la concentration de 1mM du Cadmium.

La présente étude s'inscrit dans l'enchaînement logique de notre investigation, l'objectif était d'évaluer la capacité des isolats bactériens (L4, N5, N2, E5 et CHAO) à tolérer des concentrations toxiques en cadmium et l'éventuelle utilisation de ces bactéries dans la bioremédiation de métaux toxiques.

Dans une étude taxonomique des bactéries tolérant les métaux lourds, Austin et al. (1977) ont rapporté que la majorité des bactéries tolérantes aux métaux étaient principalement des *Pseudomonas* spp. Les milieux aquatiques et terrestres contiennent des populations extrêmement diverses de bactéries Gram positives et Gram négatives et une

sélection peut avoir lieu, en présence de métaux lourds, pour des organismes résistants. La prédominance des bactéries Gram négatives dans les sédiments pollués et l'eau a déjà été décrites (Duxrury, 1983). La cinétique de la croissance en présence de métaux montre que *S. marcescens* peut tolérer des concentrations sub-inhibitrices de Cadmium, de Plomb et de Chrome (Mariateresa et al, 2012). D'après Nageswaran. (2012), la souche *Serratia marcescens* isolée à partir du sol, a exhibé une forte résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds. Sa nature tolérante aux métaux peut jouer un rôle important dans la bioremédiation.

Les bactéries du sol peuvent résister à la toxicité en transformant les métaux en formes moins toxiques, en immobilisant des métaux sur la surface de la cellule ou dans les polymères intracellulaires et par la précipitation ou la biométhylation (Elena Dell' Amico et al, 2015). D'après Trevors et al. (1986), la résistance des bactéries aux métaux lourds implique une altération de l'absorption et non une transformation enzymatique de ce métal.

Notre étude a révélé que les souches les plus prometteuses sont N5 et E5, elles ont pu croître dans une gamme plus étendue de concentrations allant jusqu'à 3 mm Ces deux souches ont donc été sélectionnées pour la suite du travail.

2. Mise en évidence de quelques caractères PGP chez les souches N5 et E5

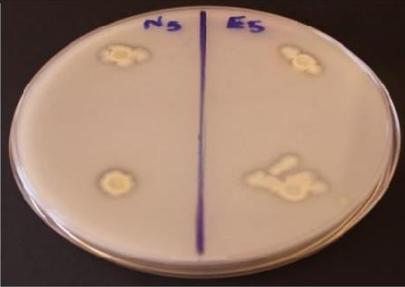
Dans l'environnement stressant, les bactéries de la rhizosphère avec des caractéristiques de PGP peuvent jouer un rôle important dans la croissance des plantes (Dell'Amico et al, 2015). La caractérisation de certaines de ces propriétés chez les deux souches sélectionnées est une étape primordiale dans la présente étude, car des études récentes ont montré que les souches isolées des sites contaminés par les métaux lourds peuvent améliorer la croissance des plantes (Dell'Amico et al, 2008, Idris et al, 2004, Rajkumar et Freitas 2012).

2.1. Solubilisation du phosphate

La solubilisation du phosphate est un attribut prometteur pour la sélection de bactéries capables d'augmenter la quantité de phosphore disponible dans la rhizosphère (Liu et al, 2014).

Après incubation des boîtes, une zone claire autour des colonies est apparue, traduisant ainsi une solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Le tableau suivant montre les résultats de la solubilisation du phosphate par les deux souches bactériennes N5 et E5.

Tableau IV:Résultats de la solubilisation du phosphate

Souches	Résultats	Aspect
N5	+	
E5	+	

Les résultats obtenus révèlent que les deux souches N5 et E5 solubilisent le phosphate et cette solubilisation est exprimée par un halo clair autour des colonies.

Il est bien établi que les bactéries et les champignons solubilisant le phosphate représentent respectivement environ 1 à 50% et 0.1 à 0.5% de la population totale des microorganismes du sol (Khan et al, 2009). Chen et al. (2006) ont identifié plusieurs souches solubilisatrices de phosphate appartenant aux genres *Bacillus* et *Serratia*. Gull et al. (2004) ont aussi noté que les espèces du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* ont un grand potentiel de la solubilisation du phosphate présent dans le sol. Irving et Cosgrove (1971) et Singh et al. (2013) ont constaté que *Pseudomonas* solubilise le phosphate et améliore la biodisponibilité des nutriments essentiels pour les plantes.

La capacité de ces isolats à solubiliser le phosphate *in vitro* est un critère important qui laisse suggérer leur utilisation comme biofertilisants.

2.2. Production d'AIA

L'influence des bactéries dans la rhizosphère des plantes s'explique en grande partie par la production des auxines (Spaepen et al, 2007). En l'occurrence, la mise en évidence de la production d'AIA chez les isolats testés est réalisée sur milieu LB additionné de tryptophane, la production de cette phytohormone se traduit par l'apparition de la couleur rose. Les valeurs d'AIA produit par chaque bactérie sont présentées dans le graphe suivant.

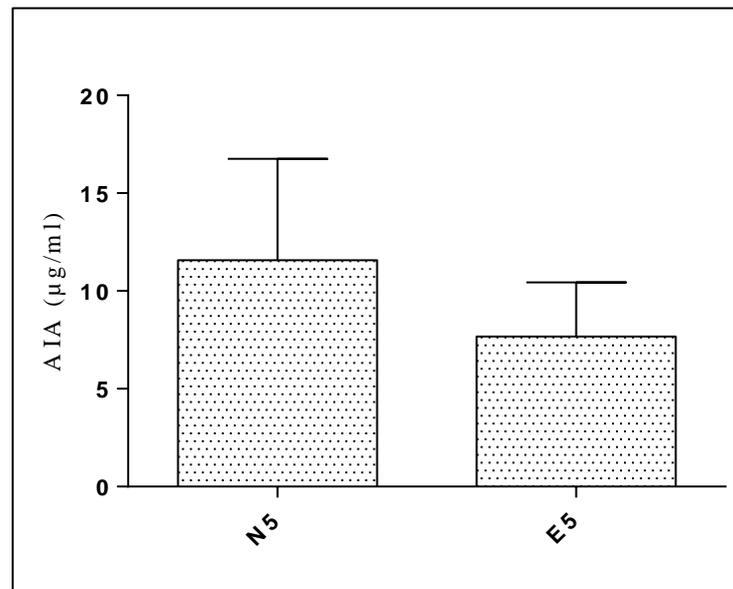


Figure 9 : Production de l'AIA par les souches bactériennes

Les résultats obtenus montrent que les deux souches N5 et E5 produisent l'AIA mais à des taux différents (11.57 et 7.66 µg/ml , respectivement). Rappelons que la souche N5 appartient au genre *Serratia* et l'isolat E5 est un petit bacille à Gram-négatif.

Khamna et al. (2010) ont clairement démontré que les PGPB produisent de l'AIA à des taux très variables. Cette variation est influencée par la phase de croissance, la disponibilité du substrat et les conditions de culture (Miraza et al, 2001) car les microorganismes ont aussi un temps de culture optimal pour la production de l'AIA. (Xiumei et al, 2016)

Le résultat obtenu avec la souche N5 est en accord avec celui obtenu par Selvakumar et al. (2008) qui ont trouvé que la quantité de production d'AIA par la souche endophyte *Serratia marcescens* était de 11,1 µg / mL.

La propriété de synthétiser l'AIA est considérée comme essentielle pour sélectionner des microorganismes favorables, car il existe des rapports suggérant que les bactéries productrices d'AIA ont des effets remarquables sur la croissance des plantes (Khalid et al.,2004)

D'après Mandeep, (2013), plusieurs traits favorisant la croissance des plantes peuvent être présents dans un seul microorganisme qui peut être utilisé seul comme un inoculant potentiel au lieu d'un consortium ou d'une combinaison de microorganismes ayant chacun un trait unique.

3. Effet des algues sur la tolérance des bactéries au cadmium

Le cadmium est un polluant toxique pour tous les organismes vivants. Les mécanismes de toxicité et de résistance au Cd sont variables selon l'organisme. Il est très clair que la forme du métal et de l'environnement dans lequel il se trouve joue un rôle important dans la manière dont le cadmium exerce son effet et comment les organismes y répondent (Trevors et al, 1986).

Dans la présente expérience, le potentiel de deux algues *Cystoseira sp* et *Enteromorpha intestinalis* à améliorer la viabilité et la tolérance des souches E5 et N5 dans un milieu contenant des concentrations croissantes en Cd (0 mM, 0.5mM et 1mM), a été étudié.

Les résultats obtenus sont présentés dans les graphes suivants.

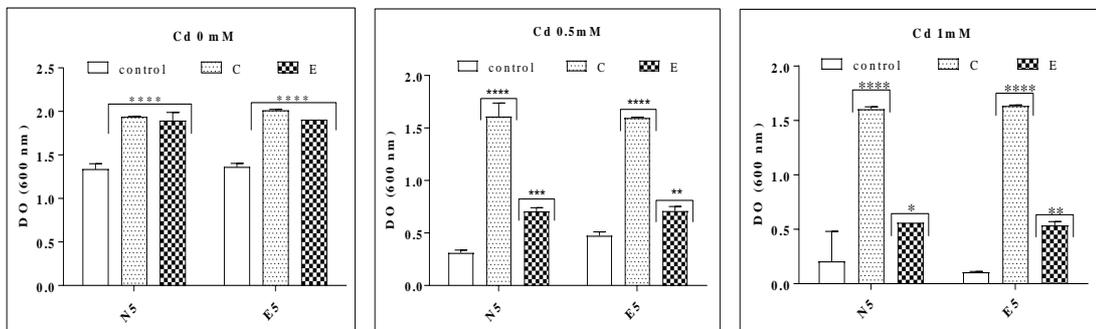


Figure 10 : Effet des algues sur la tolérance des bactéries au cadmium

Control : Témoin ; E : *Enteromorpha intestinalis* ; C : *Cystoseira sp*.

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$, ** : $p \leq 0,005$, *** : $p \leq 0,0005$, **** : $p \leq 0,0001$

Le milieu enrichi par les extraits d'algues en absence de stress métallique a clairement montré un effet très significatif ($p < 0,0001$) sur la croissance microbienne par rapport au témoin.

D'après Goecke et al. (2012), les extraits d'algues marines peuvent stimuler la croissance bactérienne. Il est bien connu que les macroalgues libèrent une quantité importantes de carbone organique dans le milieu environnant et fournissent des nutriments pour les microorganismes, les bactéries hétérotrophes peuvent directement utiliser les produits excrétés par les algues comme substrats pour leur croissance (Goecke et al, 2012).

Sous stress métallique (0.5 et 1 mM de Cadmium), la croissance bactérienne a connu une baisse importante, traduisant l'effet inhibiteur du Cd. L'ajout d'extraits d'algues au milieu contenant le Cd, a amélioré significativement la croissance bactérienne.

Cependant, l'extrait de l'algue *Cystoseira* sp. Semble être plus actif que l'extrait d'*Enteromorpha intestinalis* (Fig. B et C).

Ces résultats nous laissent suggérer qu'une quantité du métal a été réduite en présence de la biomasse algale, ce qui a favorisé la croissance bactérienne par rapport au control. De nombreuses études ont prouvé que la biomasse inactive (non vivante) peut être encore plus efficace que la biomasse active dans l'élimination des métaux lourds étant basée sur la sorption des métaux due aux fortes affinités entre les ions métalliques et la biomasse. (Abd-Elhady., 2015)

La capacité de biosorption de ces algues pour les métaux lourds réside principalement dans les polysaccharides connus sous le nom d'alginate, (Davis et al., 2003) de protéines et de lipides présents dans la structure de la paroi cellulaire qui contiennent des groupes fonctionnels agissant comme des sites contraignants pour les métaux lourds (JinSong et al., 2014)

L'algue brune *Cystoseira* sp a présenté un effet beaucoup plus favorable vis à vis de la tolérance bactérienne au cadmium. Selon Ofer et al. (2003), les capacités d'absorption de cations métalliques de quelques algues brunes étaient beaucoup plus élevées que celles d'autres types de biomasse. Des études expérimentales ont montré que les algues marines, *Sargassum vulgare* et *Padina pavonia* peuvent être utilisées pour développer un biosorbant efficace pour l'élimination des métaux lourds à partir de solutions aqueuses.

4. Effet du Cadmium sur la production d'AIA par les souches N5 et E5

L'objectif de ce test était d'élucider l'effet du Cd sur la production d'IAA. D'après Fässler et al. (2010), l'AIA a un potentiel considérable dans l'atténuation de l'effet du stress métallique sur les plantes. Cependant, il y a un manque de connaissances sur les effets des métaux lourds sur la production d'AIA des PGPB. En outre, il est mal établi si les métaux lourds perturbent le potentiel des PGPB à améliorer la croissance des plantes et à réduire la toxicité des métaux lourds ou non (Xiumei et al, 2016).

Les résultats de l'effet du Cd sur la production de l'AIA par les souches N5 et E5 sont présentés dans le graphe suivant.

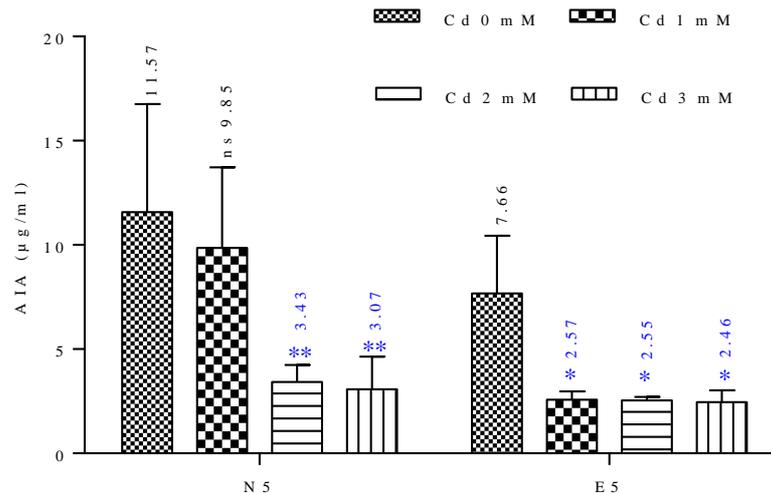


Figure 11 : Production de l’AIA par les souches bactériennes en présence du Cadmium
 ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$, ** : $p \leq 0,005$, *** : $p \leq 0,0005$, **** : $p \leq 0,0001$

Les bactéries produisent l’auxine à partir du tryptophane présent dans le milieu de culture, cette production diminue régulièrement en présence du Cd. D’après les résultats obtenus, la souche N5 semble être très affectée par le Cd où la quantité d’AIA produite en présence de Cd a été réduite à $3,07 \mu\text{g/ml}$ en présence de 3mM du ce métal. Quant à la souche E5, les concentrations en Cd supérieures à 1mM semblent avoir le même effet à partir de la concentration 1mM.

D’après les travaux de Xiumei et al. (2016), la production d’AIA par certaines souches bactériennes a été réduite sous stress du cadmium et cette réduction va de pair avec l’augmentation de la concentration de ce métal. Les mêmes auteurs ont rapporté que cette chute dans la concentration d’AIA a été accompagnée d’une dévaluation du taux de croissance des bactéries, ce qui laisse suggérer que la variation du nombre de cellules peut indirectement entraîner une variation de la production d’AIA.

Après une étude transcriptomique de la souche *Enterobacter sp*, Chen et al. (2016), ont constaté qu’après une exposition de ces bactéries au Cadmium, plusieurs gènes impliqués dans la voie de biosynthèse de l’AIA (précurseur en amont du Tryptophane, impliqué dans la biosynthèse de l’AIA) ont été réprimés et par conséquent le taux de production d’AIA a été réduit de manière significative.

5. Effet des souches bactériennes et des algues marines sur la Stimulation de la croissance de blé

5.1. Effet des souches N5 et E5

Cette étude traite le potentiel des deux souches N5 et E5 à stimuler la croissance du blé dur sur un sol agricole.

L'impact négatif des engrais chimiques et l'augmentation de leur coût nuisent aux pratiques agricoles (Mandeep et al, 2013). L'utilisation des PGPB comme engrais naturel est avantageuse pour le développement d'une agriculture durable (Mandeep et al, 2013). Ce sont des bactéries qui peuvent améliorer la croissance des plantes par différents mécanismes (Glick et al, 1995), tels que la fixation d'azote, la solubilisation du phosphate, l'activité de l'ACCdésaminase, la production de sidérophores et de phytohormones, ces caractéristiques bactériennes peuvent être évaluées comme des traits de promotion de la croissance des plantes (PGP) (Rocheli et al, 2015).

Les résultats de l'effet des deux souches bactériennes sur la croissance du blé sont présentés dans les graphes suivant (Fig. 12 et 13)

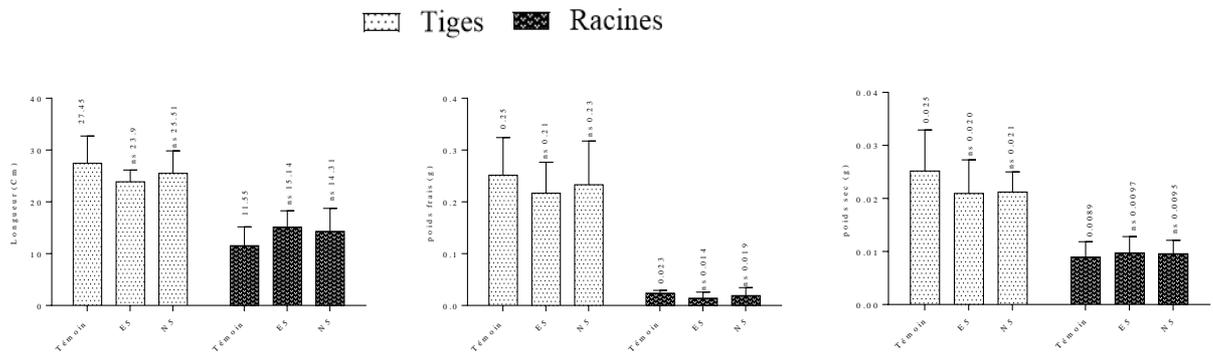


Figure 12 : Valeurs des paramètres de croissance de blé inoculé par les souches bactériennes N5 et E5
 ns : Non significatif ($p \geq 0,05$)

L'analyse statistique des résultats obtenus montre qu'aucun des paramètres de croissance mesurés n'est significativement stimulé par les deux souches testées. Cependant, un effet non négligeable est obtenu sur la longueur des racines.

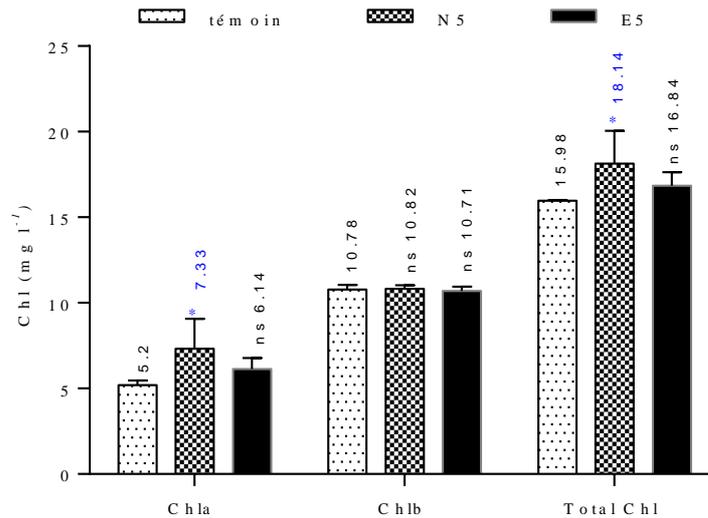


Figure 13 : Quantités de chlorophylle a, b et totale de blé inoculé par les souches bactériennes
 ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$

Sur la teneur en pigments photosynthétiques, les résultats montrent que la souche N5 stimule significativement ($p \leq 0,05$) la production de la chlorophylle a et totale. Une stimulation non négligeable est obtenue avec l'isolat E5.

La production de l'acide-indole-acétique et la solubilisation du phosphate sont deux traits de promotion de la croissance présents chez nos deux souches bactériennes. Rappelons que la souche N5 a produit une quantité d'AIA plus importante que celle produite par la souche E5.

D'après Sharma, et al. (2003), l'inoculation des semences par des PGPR améliore la croissance végétale et augmente le taux de chlorophylle. Au cours des dernières décennies, une large gamme de bactéries, y compris des espèces du genre *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* et *Serratia* ont été classées comme des PGPB. *Serratia* a été signalé comme un isolat favorisant la croissance des plantes qui présente de multiples attributs de PGPR pouvant influencé de manière significative la croissance des plantes (Mandeep et al, 2013)

La production microbienne de l'acide indole-acétique (AIA : auxine) a été largement étudiée (Ali et al, 2009). Cette phytohormone joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes en influençant de nombreuses fonctions végétales. (Pamela et al, 2014). Le succès et l'efficacité des PGPB comme inoculant des cultures agricoles sont

Influencés par divers facteurs, dont la capacité de ces bactéries à coloniser les racines des plantes, l'exsudation par les racines des plantes et la santé du sol (Rocheli et al, 2015).

L'absence d'un effet stimulateur visible induit par les deux souches N5 et E5 est peut être due à la courte durée du test ou à d'autres paramètres liés aux conditions de l'expérience (Composition, pH du sol, etc.). De nombreuses études ont mentionné les effets PGP observés *in vitro* chez certaines bactéries, mais ces dernières échouent fréquemment dans des conditions naturelles, probablement en raison de leur incapacité à coloniser correctement les racines dans un environnement concurrentiel. Il a été également rapporté que les propriétés physiques et chimiques particulières du sol nuisent aux espèces végétales «ciblées» ou à la communauté microbienne indigène (Dorothea et al, 2012), ce qui peut probablement expliquer l'incapacité de la souche E5 à exprimer l'effet favorisant la croissance du blé malgré la présence de quelques traits PGP. Lorsque le PGPB choisi est adapté à l'habitat naturel de la plante cible, les effets PGP pourraient être plus cohérents (Dorothea et al, 2012).

5.2. Effet des algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*

Les algues ont été utilisées dans l'agriculture depuis le XIIe siècle avec beaucoup de succès (Temple et Bomke, 1988). Elles ont été ajoutées directement au sol sous forme de compost d'algues ou en état séché en tant que farine d'algues. Lorsque le compost d'algues est ajouté au sol, la teneur en carbone et en azote et la capacité de rétention d'eau du sol augmentent et la résistance des cultures au stress hydrique s'améliore (Eyras et al, 1998). L'une des applications les plus prometteuses d'algues repose sur leur utilisation comme biostimulants. Leur activité s'explique par leur composition riche en substances favorisant la croissance des plantes telles que les phytohormones, les acides aminés, etc., composants qui peuvent fonctionner de manière synergique à différentes concentrations, bien que le mode d'action demeure inconnu (Soad et al, 2015).

Dans le présent travail, nous avons étudié l'effet biostimulant des poudres d'algues sur les paramètres de croissance du blé.

Les résultats de la croissance du blé et les taux en chlorophylle en présence de *Cystoseira* sp et *Enteromorpha intestinalis* sont illustrés dans les graphes suivants (Fig. 14 et 15).

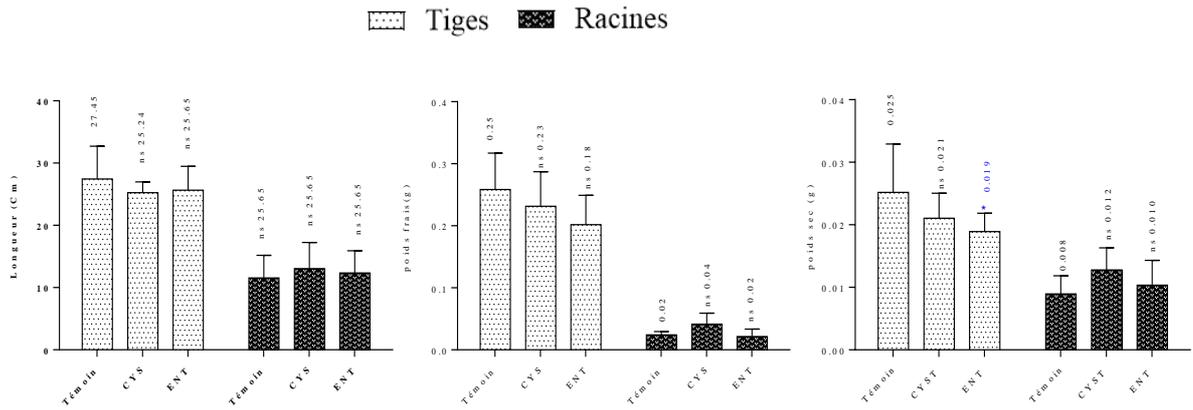


Figure 14: Effet des deux algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* sur la croissance du blé

Ns : Non significative ($p \geq 0,05$) ; * : significatif $p \leq 0,05$

Les résultats obtenus montrent que l'algue *E. intestinalis* n'a pas influencé significativement la croissance des paramètres mesurés, quant à l'algue *Cystoseira* sp, un effet remarquable mais non significatif est obtenu sur les paramètres liés aux racines (longueur, poids frais et sec).

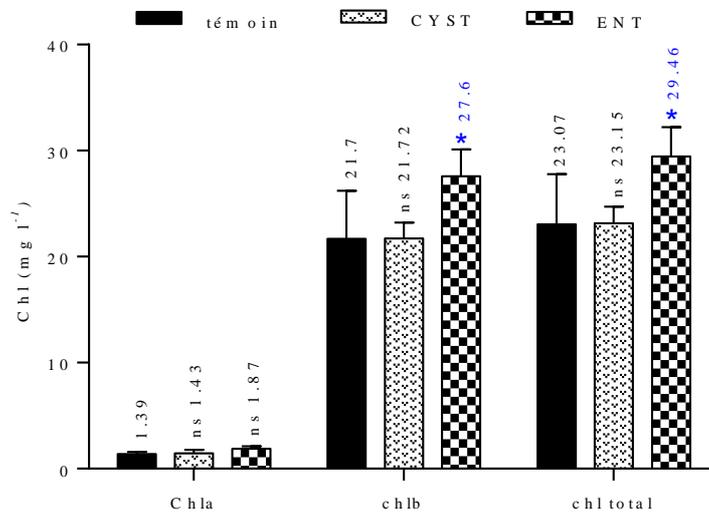


Figure 15 : Effet des algues sur la teneur en chlorophylle a,b et totale du blé

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$

Sur la teneur en pigments photosynthétiques, l'effet de l'algue *E. intestinalis* est plutôt remarquable, les quantités en chlorophylles b et totale ont été significativement ($p \leq 0,05$) améliorées. L'algue *Cystoseira* sp. Ne semble pas avoir un effet sur ces paramètres.

L'effet stimulateur de la croissance des plantes par des espèces appartenant à ces deux genres d'algues a été largement étudié. Bensidhoum (2016), a rapporté que l'extrait de la même algue *Cystoseira* sp., utilisée dans cette étude, manifeste un potentiel bioactif important sur la croissance de l'orge et d'après Mill et al., (2009), l'algue *Enteromorpha intestinalis* a stimulé la germination, la longueur des racines et des tiges et aussi la teneur en chlorophylle. Chetna et al. (2015), ont également rapporté l'effet potentiel des extraits d'*E. intestinalis* sur la germination, la longueur des tiges et racines, et la teneur en pigments photosynthétiques (chl à, chl b et les caroténoïdes). Ainsi, l'engrais à base d'algues marines pourrait être une alternative fiable aux engrais chimiques.

Il est largement spéculé que les effets positifs des extraits d'algues sur la germination et la croissance de diverses plantes peuvent être dus à la présence d'hormones favorisant la croissance des plantes dans ces extraits (Blunden et al., 2010). Craigie *et al.* (2011) ont observé que les extraits de *Cystoseira* sp contiennent des cytokinines et des gibbérellines, ce qui peut expliquer l'effet positif obtenu avec nos deux algues *Cystoseira* sp. Et *E. intestinalis* sur les racines et la chlorophylle b respectivement.

L'absence d'un effet significatif sur les autres paramètres de croissance du blé est peut être lié à la nature du produit algal (poudre d'algue).

D'après (Kumar and Sahoo, 2011; Nabti et al., 2010) les extraits d'algues contiennent une large gamme de composés bioactifs. Pour l'utilisation des algues comme composants fertilisants et biostimulants, l'extraction de l'eau semble être l'outil le plus rentable et pratique pour une meilleure libération des micro- et macro-éléments de la biomasse. Dans la plupart des cas, ces extraits sont préparés en autoclavant ou en chauffant des algues dans de l'eau distillée.

A Travers ces différents rapports et les résultats obtenus, les effets favorisant la croissance des plantes par les extraits d'algue marines sont très variés, cela suppose qu'ils dépendent probablement de la nature de l'algue, des éléments bioactifs qu'elle contient, de sa concentration mais également du type de culture et des conditions de l'environnement. Il semble aussi que les extraits aqueux d'algues marines sont plus fiables en tant que biostimulant par rapport à la poudre.

6. Effet des algues et des souches bactériennes sur la restauration de la Croissance du blé dans un sol pollué par le Cadmium

6.1. Effet du Cadmium sur la croissance de blé

Étant donné que les métaux lourds ne peuvent pas être biodégradés en produits inoffensifs et par conséquent persistent indéfiniment dans l'environnement, la contamination des sols agricoles par les métaux lourds constitue un sérieux problème environnemental et présente plusieurs désavantages sur la santé humaine et sur l'agriculture (Zhang et al., 2011).

Wagner. (1993) a estimé que les solutions de sols non pollués contiennent des concentrations en Cd allant de 0,04 à 0,32 mM. Les solutions du sol qui ont une concentration en Cd variant de 0,32 à environ 1 mM peuvent être considérées comme polluées à un niveau modéré (Sanità di Toppi et Gabrielli, 1999). Dans cette optique, une expérience *in vivo* a été conduite afin d'évaluer la toxicité du Cadmium sur le blé dur (*Triticum durum*) à 0.5mM.

Les figures ci-dessous présentent les valeurs des différents paramètres de croissance du blé (longueur, poids frais et sec des tiges et des racines) cultivé sur sol pollué par le Cadmium

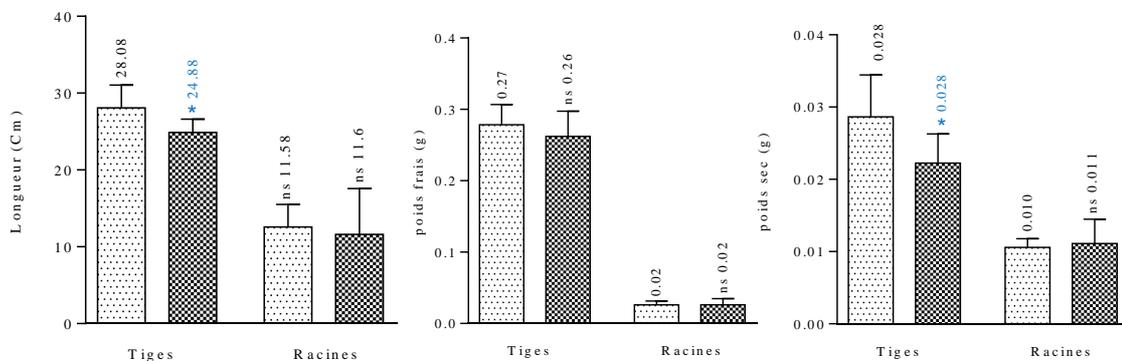


Figure 16 : Influence du Cadmium sur les différents paramètres de la croissance de blé.

sol non-pollué sol pollué

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$

L'analyse statistique des résultats obtenus révèle que le Cadmium a réduit significativement la longueur et le poids sec des tiges ($p \leq 0,05$), comparativement au témoin. Cependant, aucun effet notable n'a été observé sur les autres paramètres.

D'après Oancea et al. (2005), les métaux peuvent affecter le développement et la santé de la plante en inhibant sa croissance et en altérant sa structure. Les métaux lourds perturbent

la fertilité des sols et réduisent la charge microbienne (Deshwal et Kumar, 2013 ; Borymski et Piotrowska-Seget, 2014).

Les résultats d'études antérieures montrent que le Cadmium affecte plus particulièrement la croissance des racines que la croissance des tiges (Vitoria et al., 2001). Cependant, d'autres études montrent que l'effet du Cd sur la croissance des tiges et des racines est similaire (Stolt et al., 2003). Selon Ozturk et al. (2003), il semble que l'effet du Cd sur la croissance des tiges et des racines varie en fonction des conditions expérimentales (solution de culture, traitements Cd, espèces végétales, etc.).

Le dosage de la chlorophylle est effectué afin de vérifier l'effet de Cadmium sur la composition du blé en chlorophylle. Les valeurs de la chlorophylle a, b et totale obtenues sont présentées dans le graphe ci-dessous

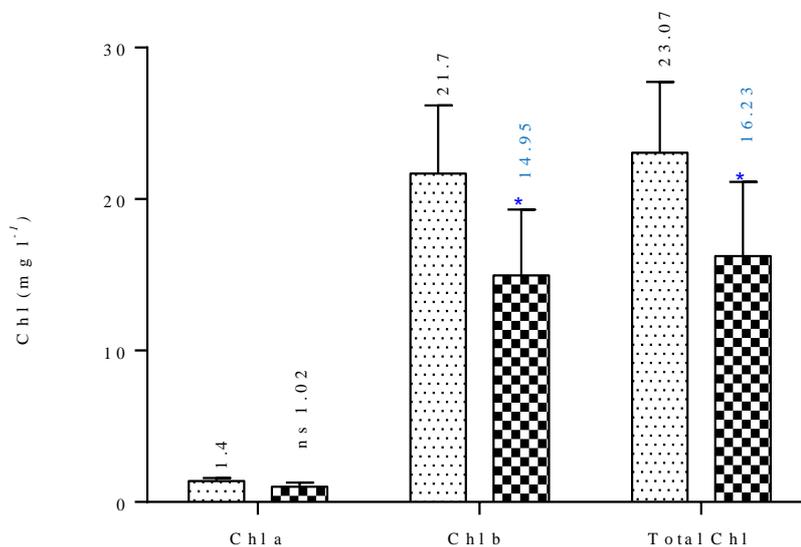


Figure 17: Impact du Cadmium sur la quantité de chlorophylle a, b et totale du blé.

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : significatif ($p \leq 0,05$)

La teneur en chlorophylle b et totale a été significativement ($p \leq 0.05$) réduite par le Cadmium, quant au taux de la chlorophylle a, le Cadmium ne semble pas avoir d'effet. Oancea et al. (2005) ont rapporté que les métaux lourds affectent la croissance et les pigments photosynthétiques de la tomate. Les traitements au Cadmium ont montré des perturbations dans le métabolisme des chloroplastes par inhibition de la biosynthèse de la chlorophylle (Maria et al., 2005) et selon Qian et al. (2009), l'effet du Cadmium sur les teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes pouvant être expliqué en fonction de son effet sur les enzymes impliquées dans la biosynthèse des pigments. La réduction des taux de

chlorophylle et de caroténoïdes semble être l'un des premiers biomarqueurs visibles de la toxicité du Cd (Lagriffoul et al., 1998). D'après Neelima et Reddy, (2003), les concentrations élevées en Cadmium exercent un effet drastique sur la croissance des graines et le métabolisme de certaines plantes (Burd *et al.*, 1998).

6.2. Effet des souches bactériennes et des algues marines sur la restauration de la croissance de blé dans un sol pollué

La toxicité des métaux lourds est apparente dans la réduction de la croissance et le développement des microorganismes et des plantes. Les plantes sont la base de l'absorption, du transport et de l'accumulation du métal dans les systèmes biologiques. Ce qui nuit sérieusement à la santé des animaux et des humains (Pena-Salamanca et al., 2011).

Divers types de biomasse microbienne ont été utilisés pour leur potentiel de bio-absorption, y compris les bactéries (Wallberg et al., 1991; Kelafa et al., 1999) et les algues marines et d'eau douce (Murphy et al., 2007; Akhtar et al., 2008).

Des études ont confirmé l'utilisation de la biomasse sèche d'algue ou l'inoculation avec des PGPB pour réduire la solubilité des métaux lourds, ce qui pourrait réduire leur absorption par les plantes et par conséquent améliorer la croissance de ces dernières (Rajkumar et al., 2012 ; Abd-Elhady, 2015).

Dans ce contexte et en se basant sur le potentiel des bactéries et des algues dans la bioremédiation des sols, la réduction de l'accumulation des métaux lourds dans les plantes, la promotion de la croissance végétale dans un milieu stressant, et afin de vérifier l'existence d'une éventuelle synergie entre les deux composantes, une expérience a été réalisée, en présence du Cadmium, sur les graines du blé dur inoculées.

6.2.1. Effet des souches bactériennes

Les graphes suivants résument les valeurs des différents paramètres de croissance de blé cultivé en présence de 0.5 mM de Cadmium.

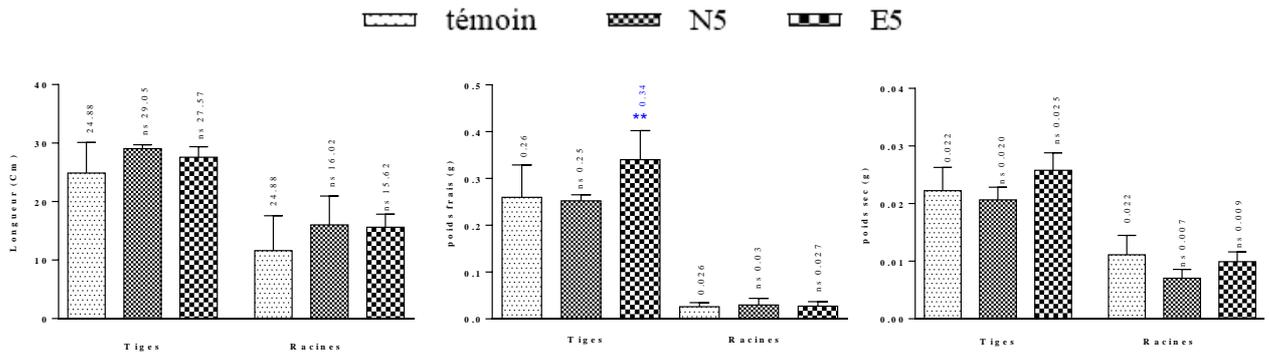


Figure 18 : Effet des souches bactériennes sur la restauration de la croissance des différents paramètres de blé

ns : Non significative ($p \geq 0,05$), ** : $p \leq 0,005$

La souche E5 a significativement amélioré le poids frais des tiges ($p \leq 0,005$), quant aux autres paramètres, une amélioration modérée a été observée. Cependant, aucune différence significative n'a été enregistrée avec la souche N5. Toutefois, une amélioration remarquable de la longueur des tiges et des racines a été observée.

Les résultats de l'effet des souches bactériennes sur la teneur en chlorophylle sont illustrés sur le graphe suivant.

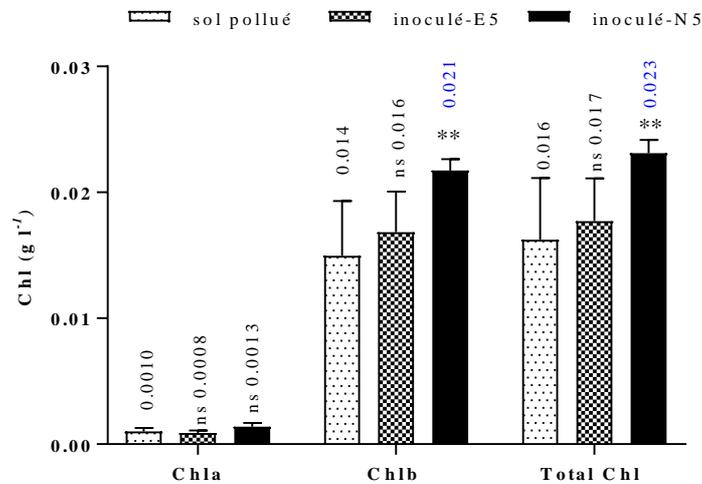


Figure 19 : Effet des souches bactériennes sur la teneur en chlorophylle a, b et totale du blé cultivé sous stress du Cd

ns : Non significative ($p \geq 0,05$) ; ** : $p \leq 0,005$

Sur la teneur en chlorophylle, la souche N5 a significativement amélioré ($p \leq 0,005$) la quantité de la chlorophylle b et totale produite. L'isolat E5 a modérément amélioré la quantité des chlorophylles b et totale.

Une étude a révélé que les inocula bactériens du genre *Klebsiella*, *Bacillus* et *Serratia* réduisent considérablement l'effet du Cadmium sur la croissance, la physiologie et l'absorption du métal par le maïs et le blé (khan et al., 2009). Récemment, Dourado et al. (2013) ont démontré qu'une souche *Burkholderia* sp. produisant l'AIA et fortement tolérante au cadmium a réduit l'absorption de ce métal par les racines de la tomate et par conséquent, elle a atténué la toxicité du Cadmium et favorisé le développement de la plante.

De même dans les études réalisées par Iftikhar et al. (2014), il a été signalé que parmi plusieurs souches bactériennes tolérant le Cadmium *in vitro*, uniquement 3 souches (CIK-502 *Klebsiella* sp, CIK-512 *Bacillus* sp et CIK-517Y) ont pu réduire l'effet du ce métal sur les céréales et donc augmenté leur biomasse.

D'après ces même auteurs, l'absorption réduite du Cadmium dans les plantes est peut être due à son immobilisation dans la rhizosphère (Iftikhar et al., 2014)

Dourado et al. (2013) ont en outre affirmé que l'immobilisation du Cadmium par des inocula bactériens atténue la toxicité des métaux lourds et améliore l'absorption des nutriments et d'eau par les plantes.

6.2.2. Effet des algues

La présente expérience a été menée pour évaluer l'efficacité de deux biomasses sèches d'algues (*Enteromorpha intestinalis* et *Cystoseira*) sur l'assainissement d'un sol contaminé par le Cadmium et estimer leur effet sur la croissance du blé.

De nombreuses études ont montré que la biomasse inactive (non vivante) peut être encore plus efficace que la biomasse active (vivante) dans l'élimination des métaux lourds et cela est basée sur la sorption des métaux due aux fortes affinités entre les ions métalliques et la biomasse (Zakhama et al., 2011 ;WanMaznah et al., 2012).

Les figures 20 et 21 présentent l'effet des deux algues *Cystoseira* sp. et *E. intestinalis*

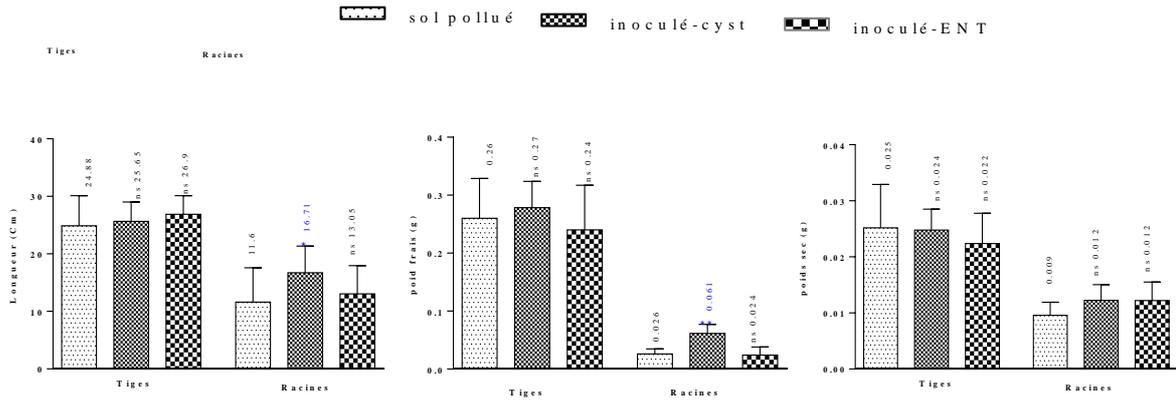


Figure 20 : Effet de la poudre d’algues sur les différents paramètres de la croissance du blé en présence du Cadmium.

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$, ** : $p \leq 0,005$,

L’algue *Cystoseira* sp. A permis de restaurer de manière considérable la longueur des racines ($p \leq 0,05$) ainsi que leur poids frais ($p \leq 0,0005$). Cependant l’algue *E. intestinalis* n’a présenté aucun effet positif sur les paramètres mesurés.

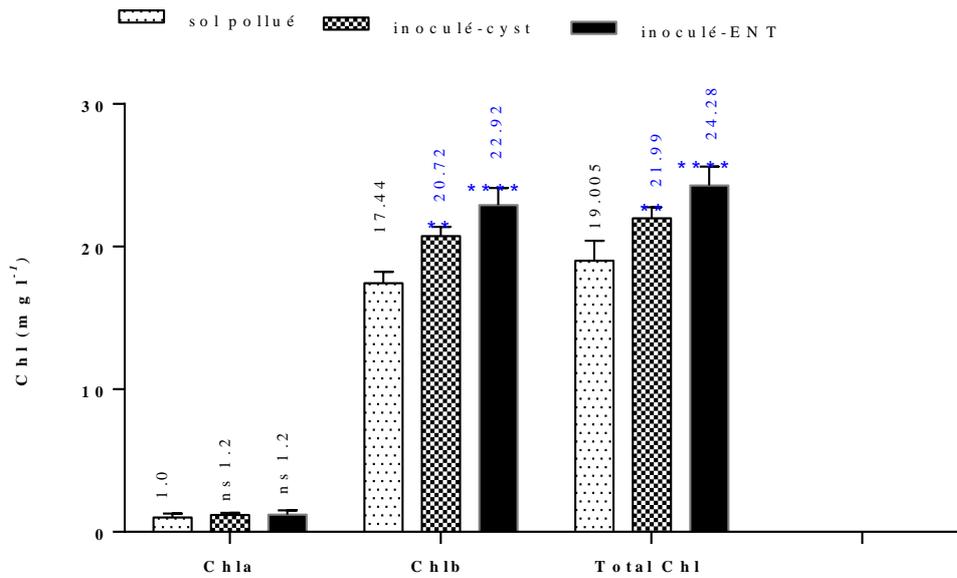


Figure 21 : Teneur en chlorophylle a, b et totale du blé cultivé en présence de *Cystoseira* et *Enteromorpha intestinalis* dans un sol pollué

Ns : Non significative ($p \geq 0,05$) ; ** : $p \leq 0,005$, **** : $p \leq 0,0001$

Ent : *Enteromorpha intestinalis* Cysrt : *Cystoseira* sp

Il est à noter que les deux algues ont exercé un effet remarquable sur la teneur en chlorophylle. En l’occurrence, *E. intestinalis* a considérablement stimulé la synthèse de la

chlorophylle b et la chlorophylle totale ($p \leq 0.0001$), quant à l'algue *Cystoseira* sp., son effet est moins important que celui de *E. intestinalis*.

Par ailleurs, Azmat et al. (2006), ont soulevé l'effet positif de la poudre d'algues *Codium iyengarii* sur la restauration de la croissance des plantes d'haricot cultivées sous stress du Cadmium. Abd el hady. (2015) a également signalé l'amélioration du rendement en poids sec des racines et des tiges de la laitue cultivée dans un sol contaminé par les métaux lourds. Le même auteur a mentionné la réduction du taux des métaux absorbés par les tiges et les racines de cette plante. Ceci pourrait être attribué au rôle important que joue la biomasse d'algue sèche dans le comportement chimique des métaux lourds dans le sol. La décomposition de la matière organique est suivie par la formation de groupes actifs. Ces composés contiennent des groupes fonctionnels tels que l'amine, le carboxyle, le sulfate et l'hydroxyle qui jouent un rôle important dans la biosorption (Lim et. al., 2008 and Chen 2012).

Ces résultats confirment encore le rôle important de l'application de la biomasse sèche des algues dans la bio remédiation des sols contaminés par les métaux lourds.

6.2.3. Effet de l'association algues-souches sur la croissance de blé sur un sol pollué :

L'objectif de cette partie étant d'évaluer l'effet de cette association sur la croissance de la plante dans des conditions de stress métallique. Les résultats de l'association des souches bactériennes et des algues marines sur la croissance du blé cultivé en présence de Cadmium sont présentés dans les graphes suivants.

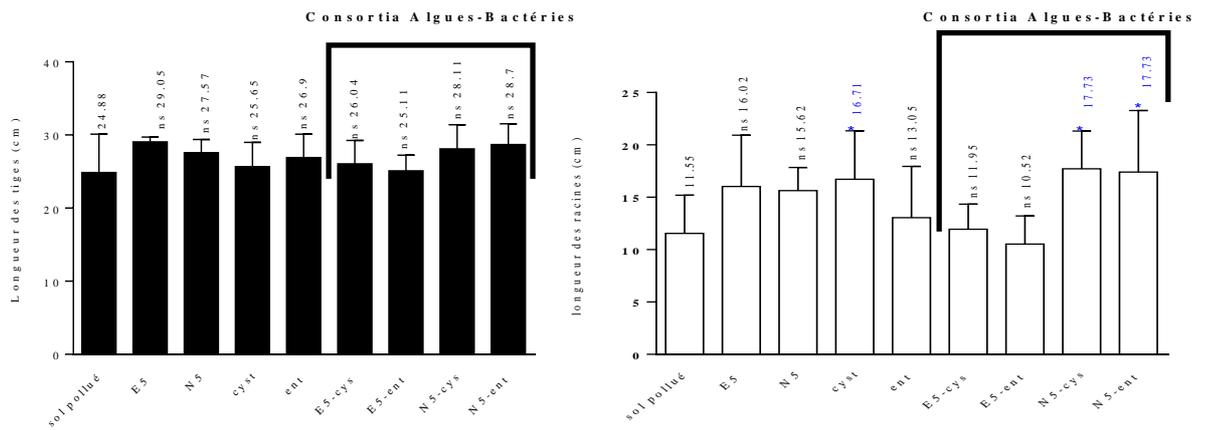


Figure 22 : Effet des consortia algue-bactérie sur la longueur des tiges et des racines

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : significatif ($p \leq 0,05$)

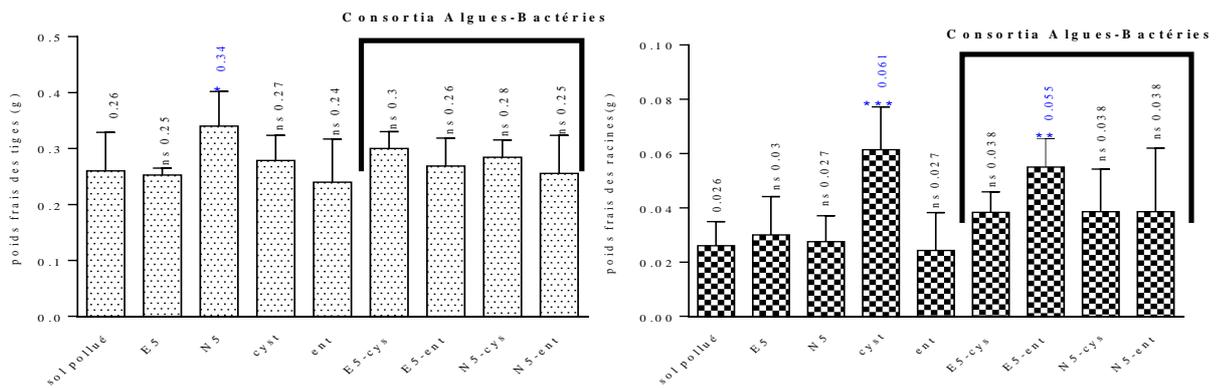


Figure 23 : Effet des consortia algue-bactéries sur le poids frais des tiges et des racines

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$, ** : $p \leq 0,005$, *** : $p \leq 0,0005$

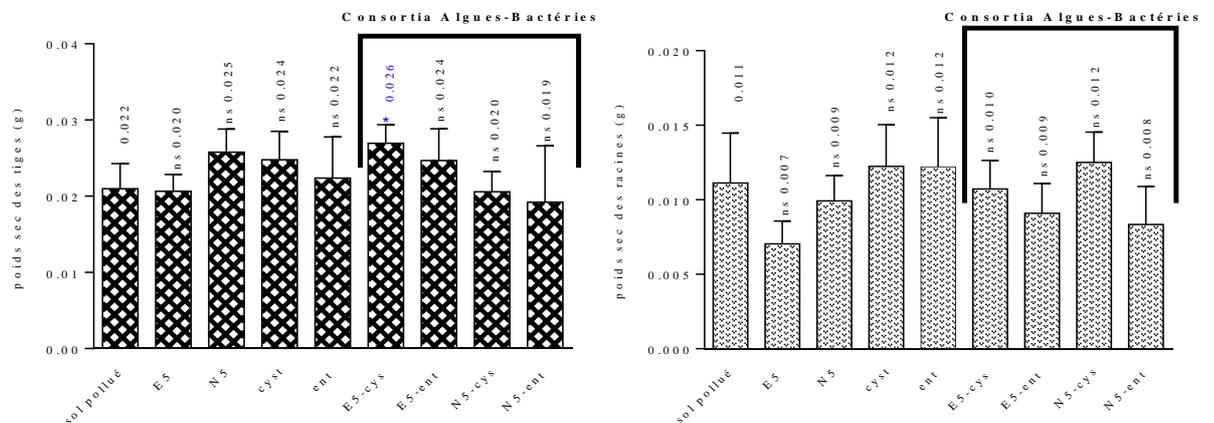


Figure 24 : Effet des consortia algue-bactéries sur le poids sec des tiges et des racines

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$

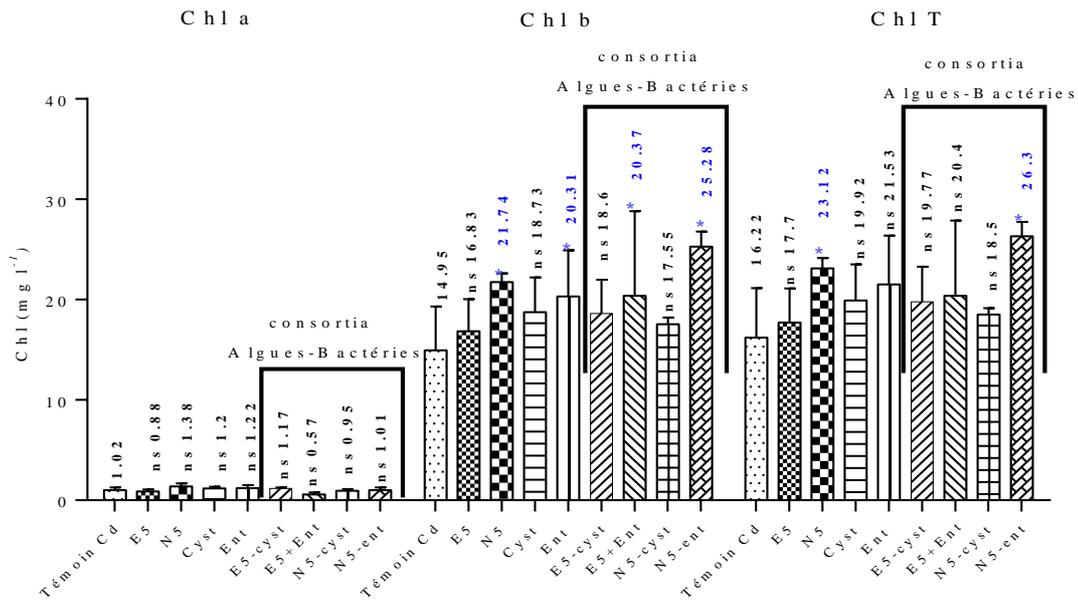


Figure 25 : Effet des souches bactériennes et des algues marines et de leur association sur la quantité des chlorophylles a, b et totale du blé cultivé sur sol pollué

ns : Non significatif ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$

Après l'analyse statistique des résultats obtenus, une amélioration a été observée sur quelques paramètres :

- Sur la longueur des tiges et des racines, seuls les deux consortia de la souche N5 avec les deux algues ont montré un effet significatif ($p \leq 0,05$) sur la longueur des racines (Fig.22).
- Sur le poids frais des tiges et des racines, le consortium E5-Ent. a positivement influencé le poids frais des racines ($p \leq 0,05$) (Fig.23).
- Sur le paramètre poids sec des tiges et des racines, seul le consortium E5-Cyt. a stimulé le poids frais des tiges ($p \leq 0,05$) (Fig. 24).
- Par rapport à la teneur en pigments photosynthétiques, les consortia préparés avec l'algue *E. intestinalis* ont stimulé la production de la chlorophylle a et la chlorophylle totale (Fig. 25)

Les résultats obtenus dans les expériences précédentes montrent que l'inoculation du blé avec les souches N5 et E5 ou le traitement avec la biomasse d'algue séchée en

présence du Cadmium, améliore globalement la croissance végétale et réduit considérablement l'effet toxique du cadmium sur les paramètres mesurés.

Des études récentes ont démontré que les consortia algue-bactérie ont un rôle important dans la décontamination des métaux toxiques et des polluants (Lloyd, 2003).

Il est bien documenté que la communauté d'algues et des bactéries détoxifient et assimilent de manière croisée les métaux provenant d'environnements riches en métaux. (Rishiram et al., 2016).

Pena-Salamanca et al. (2011) Ont montré l'effet des consortia de bactéries-algues rouges sur la réduction de l'impact du Chrome sur les rendements des cultures, et ils ont suggéré l'utilisation de ces consortia dans les processus de transformation des métaux lourds.

Le processus d'accumulation de métaux lourds par un consortium se fait par divers moyens, y compris l'adsorption physique, la liaison covalente, l'échange d'ions, la chimisorption, les précipitations de surface, les réactions redox ou la cristallisation sur la surface de la cellule. De plus, à moindre échelle, les métaux sont désactivés par une absorption active à l'intérieur des cellules pour le métabolisme. Peu d'études détaillées sur la bioremédiation des métaux lourds par un consortium algue-bactérie sont disponibles .

L'effet des algues sur la croissance des plantes, sur la rhizosphère ou sur la population bactérienne en présence du Cadmium a été observé. Il a été conclu que les algues vertes contribuent à augmenter la capacité du maintien de l'eau du sol qui favorise la croissance des plantes et stimule l'activité microbienne bénéfique, la charge microbienne augmentée en présence des algues est peut être due au polysaccharides disponibles à leurs surface (Azmat et al ., 2006).



Conclusion

Conclusion

L'utilisation des PGPB métallo-résistants et des extraits d'algues comme biostimulants constitue une alternative biologique prometteuse pouvant influencer d'une manière positive le rendement et la santé des plantes.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont permis d'en apprendre davantage sur les PGPB, les algues et les mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des cultures.

Notre travail a visé l'étude de l'effet de deux souches bactériennes et de deux algues marines sur la restauration de la croissance de blé cultivé sous stress du Cadmium.

Les deux souches bactériennes N5 et E5, sont sélectionnées pour cette étude, sur la base de leur tolérance au Cadmium.

L'étude de quelques traits PGP a montré l'aptitude de ces deux souches à solubiliser le phosphate et à produire la phytohormone AIA.

Le stress abiotique exercé par les différentes concentrations du Cadmium a significativement affecté l'aptitude des souches à produire l'auxine.

Les deux algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* ont largement amélioré la tolérance des souches N5 et E5 au Cadmium.

Sur un sol pollué par le Cadmium, la croissance du blé a été significativement affectée. L'ajout de la poudre des deux algues *Cystoseira* sp. Et *Enteromorpha intestinalis* ou des souches bactérienne N5 et E5 a restauré quelques paramètres de croissance.

L'application simultanée de la poudre d'algues et des souches bactériennes sur la culture du blé a révélé l'existence d'un éventuel effet synergique de certains consortia.

A la lumière de ces résultats, nous émettons quelques réflexions sous formes de perspectives pour une meilleure valorisation de ce présent travail :

- Identifier génotypique de la souche E5 ;
- Elargir la gamme de métaux lourds à tester ;
- Etudier des mécanismes de résistance des bactéries aux métaux lourds ;
- Etudier le mode d'action des bactéries et des algues sur la restauration de la croissance du blé et la bioremédiation des sols pollués ;
- Evaluer la cytotoxicité des bactéries testées.

Références bibliographiques

A

Abd-Elhady E. S. E. (2015). Evaluation of Algae Dry Biomass as a Biochemical Soil Remediation for Polluted Soil, *Int. j. Environ.*4:309-314.

Adams G.O.(2015). "Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review." *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation.*31 :28-39

Akhtar N, Iqbal M, Zafar S, Iqbal I. (2008).Biosorption characteristics of unicellular green alga *Chlorella sorokiniana* immobilized in loofa sponge for removal of Cr (III). *Journal of Environmental Sciences.* 20: 231--239

Akshata Jain N ., Udayashankara T. H ., Lokesh K. S. (2014). Review on Bioremediation of Heavy Metals with Microbial Isolates and Amendments on Soil Residue. *International Journal of Science and Research,* 3 :118-123

Ali B., Sabri AN., Ljung K., Hasnain S. (2009).Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticumaestivum* L. *Let. ApplMicrobiol.* 48: 542–547

Alloway B.J. (1995). Soil processes and the behavior of heavy metals. In: Alloway B. (Eds), *Heavy metals in soils*, Chapman and Hall, New York, NY.pp. 11–37.

Aoun M.C. (2006) La rente pétrolière et le développement économique des pays exportateurs thèse de doctorat en sciences économiques. Université paris dauphine. Paris, 323p.

Arnou D.T. (1949).Copper enzyme in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

Arris S. (2008). Etude expérimentale de l'élimination des polluants organiques et inorganiques par adsorption sous-produits de céréale. Thèse de doctorat en sciences en génie des procédés. université de Constantine, Algérie.178p.

Augusto Costa A.C. et Pereira Duta F. (2001). Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus* SP., *Bacillus cereus*, *Bacillus speaerecus* and *Bacillus subtilus*. *Brazilian Journal of Microbiology.*32 : 32-50.

Austin D. A.A., MillsA. L., ColwellR. R. (1977).Numericaltaxonomy of heavymetal-tolerantbacteriaisolatedfrom an estuary. *Revue canadienne de microbiologie.* 23(10): 1433-1447.

Azmat R., Hayat A., Khanum T., Talat R., Uddin F. (2006). Effect of micronutrients of *Codiumiyengarii* on metal toxicity in bean plants.*J. Biological Sci.* 6: 173-177.

B

Baker A. J. M. et Walker P. L. (1989). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw A. (eds), Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Rota, FL. pp. 155-177.

Bauda P. (1986). Accumulation et toxicité du cadmium chez les bactéries gram négatives : rôle des enveloppes bactériennes. Thèse de doctorat. Université de Metz, Centre des sciences de l'environnement. Metz. 180p.

Berthelin J. et Bourrelier P.H. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Éditions : TEC & DOC, Académie des Sciences, Rapport no 42, Lavoisier. Paris. 440p.

Bensidhoum L., Nabti E., Tabli N., Kupferschmied P., Weiss A., Rothballer M., Schmid M., Keel C. et Hartmann A. (2016). Heavy metal tolerant *Pseudomonas protegens* isolates from agricultural well water in northeastern Algeria with plant growth promoting, insecticidal and antifungal activities. *Eur J Soil Biol.* 75: 38-46.

Beveridge T.J. et Koval J.F. (1981). Binding of metals to cell envelopes *Escherichia coli* K12. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 325-335.

Beveridge T.J. et Murray R.G.E. (1976). Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 127: 1502-1518.

Blunden G., Morse P.F., Mathe I., Hohmann J., Critchley, A.T. Morrell S. (2010). Betaine yields from marine algal species utilized in the preparation of seaweed extracts used in agriculture. *Nat. Prod. Commun.* 5(4): 581- 585.

Borymski S. et Piotrowska-Seget Z. (2014). Rhizosphere of metallophytes and its role in bioremediation of heavy metals. *Chemik.* 68: 554-559.

Burd G.I., Dixon D.G., Glick B.R. (1998). A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Appl Environ Microbiol.* 64(3):3663–3668.

C

Cenci G., Morozzi G., Caldini C. (1985). In jury by heavy metals in *E. coli*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34:188-195.

Chaoui A. et El Ferjani E. (2005). Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *C R Biol.* 328: 23-31.

Chebbi H.E. et El Mourid M. (2005). L'agriculture au Maghreb: Une lecture du contexte économique. ICARDA Publication, Tunis

Chekroun K.B. et Baghour M. (2013). The role of algae in phytoremediation of heavy metals: A review. *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (6): 873-880.

Chen Y., Yuanqing Ch., Yaying L., Qingqi J.B., Tang L., Shizhong W., Rongrong Y., Rongliang Q. (2016). Survival Strategies of the Plant-Associated Bacterium *Enterobacter* sp. Strain EG16 under Cadmium Stress, *Appl. Environ. Microbiol.* 82 : 1734-1744

Chen Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W.A, Young C.C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol.* 34: 33–41.

Chen, J.P., (2012). Decontamination of Heavy Metals: Processes, Mechanisms and Applications. CRC Press/Taylor and Francis Group. 454 p

Chetna M., Rai Nikhil S., Suthindhiran S., Mangalam K., Jayasri A. (2015). Enteromorphintestinalis Derived Seaweed Liquid Fertilizers as Prospective Biostimulant for Glycine max, *Braz. arch. biol. Technol.* 58: 6

Chlebowski J.F., Armitage I.M. Coleman J.E. (1977). Allosteric interactions between metal ion and phosphate at the active sites of alkaline phosphatase as determined by ³¹P NMR and ¹¹³Cd NMR. *J. Biol. Chem.* 252: 7053-7061.

Clemens S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* .88: 1707-1719.

Conseil international des céréales. (2009) .CIC= Blé: Rapport sur les perspectives du marché. Situation et perspectives, V.1, N.1., 14 p.

Cosio C., Desantis L., Frey B., Diallo S., Keller C. (2005). Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. *J Exp Bot.* 56: 765-775.

Craigie J.S. (2011). Seaweed extracts stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23: 371–393.

D

Das P., Samantaray S., Rout G.R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants. A review. *Environ. Pollut.* 98 : 29-36.

Davis TA., Volesky B. Mucci A., (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* 37. 4311-30.

Dawson E.Y. et M.S. Foster. (1982). Seashore Plants of California. University of California Press, Berkeley, CA. 226 pp.

De La Rosa G., Peralta-Videa JR., Montes M., Parsons JG., Cano-Aguilera I., Gardea-Torresdey JL. (2004). Cadmium uptake and translocation in tumbleweed

(*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. *Chemosphere*. 55: 1159-1168.

Deepthi M.S., Reena T., Deepu M.S. (2014). In vitro study on the effect of heavy metals on PGPR microbes from two different soils and their growth efficiency on *Oryza sativa* (L.), *J. Biopestic.*7: 64-72.

Dell'Amico E., Cavalca L., Andreoni V. (2008).Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium resistant rhizobacteria.*Soil BiolBiochem*. 40:74–84.

Dengragrau F. X. (2016).Bioremediation of radioactive waste.<http://ddd.uab.cat/record/166265> (accessed. 01.06.17).

Deshwal V.K. et Kumar. (2013). Effect of Heavy metals on Growth and PGPR activity of Pseudomonads.*Journal of Academia and Industrial Research*. 2: 286-290.

Dorothea G., Meldau H., Long H., Ian T., Baldwin. (2012).A native plant growth promoting bacterium, *Bacillus* sp. B55, rescues growth performance of an ethylene-insensitive plant genotype in nature, *Front. Plant Sci*.

Dourado MN., Martins PF., Quecine MC., Piotto FA., Souza LA., Franco MR., Tezotto T, Azevedo RA. (2013). Burkholderia sp. SCMS54 reduces cadmium toxicity and promotes growth in tomato. *Ann ApplBiol Edwards U, Rogall T, Blocker*, 163:494–507

Dudley L.M., Mclean J.E., Sims R.C., Jurinak J.J. (1988). Sorption of Copper and Cadmium from the Water Soluble Fraction of an Acid Mine Waste by Two Calcareous Soils.*Soilsci*.145: 207- 214.

Dudley L.M., Mclean J.E., Furst, T.H., Jurinak, J.J. (1991). Sorption of Cd and Cu From an Acid Mine Waste Extract by Two Calcareous Soils: Column Studies.*Soil Sci*.151: 121-135.

dur (*Triticum durum*) inoculé par *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de Doctorat, Université

Duxrury T. et Bicknell B. (1983).Metal-Tolerant Bacterial Populations From Natural And Metal-Polluted Soils.*Soil Biology and Biochemistry* .15 : 243-250

E

Ebbs S. et Uchil S. (2008). Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern] involves preferential loss of chlorophyll b. *Photosynthetica*. 46: 49-55

Egamberdieva D., Berg G., Lindström K. et Räsänen L.A.(2010).Co-inoculation of *Pseudomonas* spp. with *Rhizobium* improves growth and symbiotic performance of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.). *European Journal of Soil Biology*.46: 269-272.

Elena Dell' A., Lucia C., Vincenza A. (2015). Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiol Ecol* , 52 (2): 153-162.

Ernst W. (1998). The origin and ecology of contaminated, stabilized and non-pristine soils. In: Vangronsveld J. et Cunningham SD. (eds.), Metal-contaminated soil. Springer, New York. pp.17–29.

Eyras M.C., Rostagno C.M., Defossé G.E. (1998). Biological Evaluation of Seaweed Composting. *Compost Science & Utilization*. 4: 74-81.

F

Fässler E., Evangelou M.W., Robinson B.H., Schulin R. (2010). Effects of indole-3-acetic acid (IAA) on sunflower growth and heavy metal uptake in combination with ethylene diaminedisuccinic acid (EDDS). *Chemosphere*. 80 :901-907.

Ferhat Abbas, Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sétif. 156p.

G

Gadd G.M. (1992). Metals and microorganisms: A problem of definition. *FEMS Microbiol. Lett.* 100 (1–3):197–204

Geoffrey M.G. (2004) .Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*. 122 : 109– 119

Ghnaya T, Nouairi I, Slama I, Messedi D, Grignon C, Abdelly C, Ghorbel MH (2005) Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *J Plant Physiol* .162: 1133-1140

Glick B.R.(2003) . Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances* .21 :383–393.

Glick BR. Can J. (1995). *Microbiol.* 41:109–114

Goecke F., Antje L., Jutta Wiese., Johannes F., Imhoff1. (2012). Dual effect of macroalgal extracts on growth of bacteria in Western Baltic Sea, *Revista de Biología Marina y Oceanografía*.47:75-86.

Götz M.C.M., Gomes N., Dratwinski A., Costa R., Berg G., Peixoto R.,Mendoza-Hagler L.M. et Smalla K. (2006). Survival of gfp-tagged antagonistic bacteria in the rhizosphere of tomato plants and their effects on the indigenous bacterial community. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56: 207-218.

Gull I., Hafeez F.Y., Saleem M. et Malik K.A. (2004). Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and a mixed rhizobial culture. *Aust. J. Exp. Agric.* 44 : 623-628.

H

HADDAD L., KOUCEM N., BERKAI B., GUESSOUM S., GUEMAR S., NOUAR D., GASMI I. (2016).L'apport des programmes de soutien agricoles (PNDAR) dans l'amélioration de la production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans la commune de AïnAbbassa Wilaya de Sétif. Séminaire national sur la Problématique et les enjeux de l'agriculture Algérienne, INRA Algérie, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

Hasenstein KH, Evans ML, Stinemetz CL, Moore R., Fondren WM., Koon EC., Higby MA., Smucker AJ. (1988). Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 86: 885-889.

Hemambika B. balasubramanian V. Rajesh K .V. Arthur J.R.(2013). Screening of Chromium-Resistant Bacteria for Plant Growth-Promoting Activities, Soil and Sediment Contamination: *An International Journal.*22:7. 717-736

Henry H. Tabak P. L., Eric D. Hullebusch V. Dejonghe W. (2005) Developments in Bioremediation of Soils and Sediments Polluted with Metals and Radionuclides. 3. Influence of Chemical Speciation and Bioavailability on Contaminants Immobilization/Mobilization Bio-processes. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 4: 185-212.

Hiscox J.D. et Tsraelstam G.F. (1979).A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57: 1332-1334.

Huynh T.M.D. (2009). Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/ ver de terre/microflore tellurique. Thèse de Doctorat, Université Paris Est, Ecole Doctorale Science De La Vie Et De La Sante, Paris. 170p.

I

Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M et al. (2004). Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Appl Environ Microbiol.* 70:2667–2677

Iftikhar A., Muhammad J.A., Zahir A., Naveed M., Birgit M., Angela S. (2014). Cadmium-tolerant bacteria induce metal stress tolerance in cereals, *Environ Sci Pollut Res.* 21:11054-11065

Irving G.C.J. et Cosgrove D.J.(1971).Inositol phosphate phosphatases of microbiological origin. Some properties of a partially purified bacterial (*Pseudomonas* sp.) phytase. *Aust. J. biol. Sci.* 24: 547-57.

J

Jacobson K.B. Et Turner J.E. (1980).The interaction of cadmium and certain other metal ions with proteins and nucleic acids. *Toxicol.* 16: 1-37.

Jakubczak E., Delmaere H., Leclerc H. (1981). Sensibilité de bactéries du milieu aquatique à quelques substances toxiques. Colloque Inserm 106: Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique. 93-104.

Jinsong H. J., Paul Ch. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools. *BioresourceTechnology*. 160 :67–78

Joubert A. (2008). Etude de l'effet de facteurs environnementaux sur les processus biogéochimiques de mobilisation du Pb, Zn, Cd, As et Hg dans les sols - Modélisation empirique de la mobilité et phytodisponibilité des ETM. Thèse de Doctorat de géoscience, Université Henri Poincaré - Nancy I. faculté des sciences et techniques, France. 344p.

Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M. et Mocquot B. (1995). Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaire des stations d'épuration urbaines. Convention Ademe / I.N.R.A. (contrat INRA n° 22/92.039-contrat Ademe n° 2750007).

K

Kadouche A. (2013). Utilisation des biomasse dans le traitement des eaux. Université de TiziOuzou, Mouloud Mammeri, faculté des sciences, 12, 176p.

Khalid A., Arshad M., Zahir Z. (2004). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiol.* 96: 473–480

Khamna S., Yokota A., Peberdy J.F, Lumyong S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *Eur Asia J Bio Sci.* 4 : 23–32

Khan MS., Zaidi A., Wani PA. (2009). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. *Agron Sustain Dev.* 27:29–43.

Kumar G. et Sahoo D. (2011). Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *J. Appl. Phycol.* 23: 251 – 255.

Kelafa M, Zouboulis A, Matis K. (1999). Biosorption of cadmium ions by *Actinomycetes* and separation by flotation. *Environmental Pollution.* 104: 283-293.

L

Lagriffoul A, Mocquot B, Mench M and Vangronsveld J. (1998) . Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L. *Plant and Soil* 200: 241–250

Lakshmipathy T.D., Prasad A.S.A., Kannabiran K. (2010). Production of biosurfactant and heavy metal resistance activity of *Streptomyces* sp. VITDDK3-a novel halo tolerant actinomycetes isolated from saltpan soil. *Adv. Biol. Res.* 4: 108-115

Landi L., Renella G., Moreno J.L., Falchini L., Nannipieri P. (2000). Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biol. Fertil. Soils.* 32: 8-16.

Leita L., De Nobili M., Muhlbachova G., Mondini C., Marchiol L. Zerbi G. (1995). Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. *Biol. Fertil. Soils.* 19: 103-108.

Lim S-F., Zheng Y.M., Zou S.W. Chen J P., (2008). Characterization of copper adsorption onto an alginate encapsulated magnetic sorbent by a combined FTIR, XPS, and mathematical modeling study. *Environ. Sci. Technol.* 42(7): 2551-2556

Liu Fu-Ping, Liu Hai-Qing, Zhou Hai-Long, Dong Zhi-Guo, Bai Xu-Hao, Bai Peng, Qiao Jian-Jun. (2014). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. *Biol Fertil Soil.* DOI 10.1007/s00374-014-0913-z

Lloyd, J-R. (2003) Microbial reduction of metals and ra-dionuclides. *FEMSMicrobiol.Rev.* 27, 411–416.

Loué A. (1993). Oligo-Eléments en agriculture. Edition :élargie aux cultures tropicales. Paris : 577p.

M

Mandeep S., Gujral P., Agrawal M., Baburao Kh., Rachna P. (2013). Colonization and plant growth promotion of Sorghum seedlings by endorhizospheric *Serratia* sp. *Acta Biologica Indica.* 2(1):343-352

María P. Benavides; Susana M. Gallego; María L. Tomaro. (2005). Cadmium toxicity in plants *Braz. J. Plant Physiol.* 17(1)

Mariateresa C. Clara N., Antonia N., Alessia P., Domenico T., Francesco P. (2012) .Possible use of *Serratia marcescens* in toxic metal biosorption (removal). *Environ Sci Pollut Res.* 19:161–168

Mattio L. (2008). Taxonomie du genre *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) en Nouvelle-Caledonie et dans le Pacifique sud. Approches morphologique et moleculaire. Thèse de Doctorat des Biosciences de l'environnement. Université de Aix-Marseille II, Marseille, 347p.

Mc Near J.D.H. (2013). The Rhizosphere - Roots, Soil and Everything In Between. *Nat. Educ. Knowl,* 4(3):1.

McGrath, S.P.(1998). Phytoextraction for soil remediation. In: Brooks R.R. (Eds.), Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining. CAB International, Wallingford, UK. pp. 261–287.

Mill sp., Erulan V., Soundarapandian P., Thirumaran G., Ananthan G.(2009) American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. Studies on the Effect of Sargassumpolycystum (C.Agardh, 1824) Extract on the Growth and Biochemical Composition of Cajanuscajan (L.), 6 (4): 392-399

Miraza M. S., Ahmad W., Latif F., Haurat J., Bally R., Normand P., et al.(2001). Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant Soil* .237 47–54.

Mobin M. et Khan N.A. (2007).Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (Brassica juncea) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J Plant Physiol*. 164: 601-610.

Murphy V, Hughes H, McLoughlin P. (2007). Cu(II) binding by dried biomass of red, green and brown macroalgae. *Water Research*, 41: 731-740.

Murphy V. HughesH. McLoughlinP.(2008). Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass.*Chemosphere*. 70 : 1128–1134

N

Nabti , E. Jha,B. Hartmann , A. (2016).Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer, *Int. J. Environ. Sci. Technol*.

Nabti E., Bensidhoum L.,Tabli N., DahelD.,Weiss A., Rothballer M., Schmid M. et Hartmann A. (2014). Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plantpathogenic fungi by a Cellulosimicrobium sp. strain isolated fromsalt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *Eur J Soil Biol*. 61: 20-26.

Nabti E., Sahnoune M., Ghoul M., Fischer D., Hofmann A., Rothballer M., Schmid M., Hartmann A. (2010).Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillumbrasiliense* NH and extracts of the marine alga *Ulvalactuca*. *J Plant Growth Regul*, 29:6–22.

Nageswaran N, Ramteke PW, Verma OP, PandeyA .(2012.) Antibiotic Susceptibility and Heavy Metal Tolerance Pattern of *Serratiamarcescens* Isolated From Soil and Water. *J BioremedBiodeg*. 3:158

Nedjah I. (2015). Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticumdurum*Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb). Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar. Faculté des sciences, Annaba.144p.

Neelima P. et Reddy K.J. (2003).Differential effect of cadmium and mercury on growth and metabolism of Solanummelongena L. seedlings.*J Environl Biol.* 24 : 453-460.

Noori M., Zakeri R., Mazaheri S. A., MahmudyGh M.H. (2012) .Studies of Water Arsenic and Boron Pollutants and Algae Phytoremediation in Three Springs, Iran. *International Journal of Ecosystem.* 2(3): 32-37

O

Oancea S., Foca N. et Airinei A. (2005).Effects of heavymetals on plant growth and photosyntheticactivity Annales scientifiques de l'uiversité "AL. I. Cuza " Tome I, Biophysique, physique médicale et physique de l'environnement. pp. 107–110.

Ofer A. Y., Yannai S. (2003).Marine Macroalgae as Biosorbents for Cadmium and Nickel in Water Raize. *Water Environment Research.* 75: 246-253

Okon Y. et Labandera-Gonzalez C.A. (1994). Agronomic application of *Azospirillum* : an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26:1551-1601.

Osama H. EL Sayed, Hala M. Refaat, Mahmoud A. Swellam, Mahmoud M. Amer, Aziza I. Attwa and Mohamed E. El Awady.(2011). Bioremediation of Zinc by *Streptomyces aureofaciens*. *Journal of Applied Sciences.* 11: 873-877

OZTURK Levent, EKER Selim, OZKUTLU Faruk. (2003).Effect of Cadmium on Growth and Concentrations of Cadmium, Ascorbic Acid and Sulphydryl Groups in Durum Wheat Cultivars, *Turk J Agric For.*27 :161-168

P

Pamela C., Louise N., Joseph W.K. (2014).Agricultural uses of plant biostimulants.*Plant Soil.* 383:3–41

Paz-Ferreiro J., Lu H., Fu S., Méndez A., Gascó G. (2014).Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review, *Solid Earth.*5 :65-75

Pena-Salamanca A., Enrique J..Lucia. R.G. Neyla, B.C. (2011).Detoxification Mechanisms of Heavy Metals by Algal-Bacteria. *ConsortiaEnviron.* Pollut.98 : 29-36.

Pokorny B. Al Sayegh-Petkovsek S. Ribaric- Lasnik C. Vrtacnik J. Doganoc DZ. Adamic M. (2004.). Fungi ingestion as an important factor influencing heavy metal intake in roe deer: evidence from faeces. *Sci Total Environ .* 324: 223-234

Q

Qian H, Li J, Sun L, Chen W, Sheng GD, Liu W, et al.(2009).Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis-related gene transcription. *Aquat Toxicol.*94:56–61.

R

Rajkumar M., Sandhya S., Prasad M. N. V., Freitas H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol.Adv.* 30. 1562–1574.

Raskin I., Ensley B.D., Salt D.E. (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology.* 8: 221-226.

Raskin I., Nanda-Kumar P.B.A., Dushenkov S., Salt D.E. (1994): Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion Biotechnology.* 5: 285–290.

Remacle J., Houba C. Ninane j. (1982). Cadmium fate in bacterial microcosms. *Water Air Soil Pollut.* 18: 455-465.

Renella G., Mench M., van der Lelie D., Pietramellara G., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Nannipieri P. (2003). Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 36: 443-451.

Rishiram R. Byung-Hyuk K. Dae-Hyun Ch. Hee-Mock Oh bc. Hee-Sik, Kim ac. (2016). Algae–bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances.* 34:14–29.

Rocheli d.S., Adriana A., Luciane M.P.(2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils, *Genet. Mol. Biol.* 38:4.

S

Sanita di Toppi L., Gabrielli R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environ Exp Bot.* 41:105–130

Sekabira K., Origa H.O., Basamba T.A. (2011). Application of algae in biomonitoring and phytoextraction of heavy metals contamination in urban stream water. *Int. J. Environ.Sci. Technol.* 8: 115-128

Selmi R. (2000). Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avantages comparatifs. *Revue Afrique Agriculture.* 280 :30-23.

Selvakumar G., Mohan M., Kundu S., Gupta .A.D., Joshi P., Nazim S., Gupta H.S. (2008). Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratiamarcescens* strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (Cucurbitapepo). *LettApplMicrobiol*46 : 171–175.

Sharma A. et Johri B. N. (2003). Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiol. Res.* 158 : 243–248

Singh M.G., Parinita A., Madhukar B.Kh., Rachna P.A. (2013) .Colonization and plant growth promotion of Sorghum seedlings by endorhizospheric *Serratia* sp. *BiologicaIndica.* 2(1):343-352

Singh Y., Ramteke P.W. et Shukla P.K. (2013). Isolation and characterization of heavy metal Resistant *Pseudomonas* spp. And their plant growth promoting activities. *Adv Appl Sc Res.* 4:269-272.

Soad M., Mohy El-Din. (2015). Utilization Of Seaweed Extracts As Bio-Fertilizers To Stimulate The Growth Of Wheat Seedlings, *Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.)*.11(1): 31 – 39

Société Chimique de France. (2017). <http://www.societechimiquedefrance.fr/archives-des-fiches-catalyse.html> (accessed 01.06.17).

Sonam S., Vijay K. et Tripathi R.B. (2011). Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSMs) From Soil. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 1: 90-95.

Sowadski J.M., Foster B.A. Wyckoff H.N. (1981). Structure of alkaline phosphatase with zinc, magnesium, cobalt or cadmium in the functional metal sites. *J. Molec. Biol.* 150: 245-272.

Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signalling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31 (4): 425-448.

Stolt J.P., Sneller F.E.C., Bryngelsson T., Lundborg T., Schat H. (2003). Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 49: 21-28

Suresh B. et Ravishankar G. A. (2004). Phytoremediation—A Novel and Promising Approach for Environmental Clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology.* 24(2–3):97–124

T

Tavakkoli, A. R., and Oweis, T.Y. (2004). The role of supplemental irrigation and nitrogen in producing bread wheat in the highlands of Iran. *Agricultural Water Management* 65: 225-236.

Temple WD. Et Bomke AA. (1988). Effects of kelp (*Macrocystis integrifolia*) on soil chemical properties and crop responses. *Plant and Soil.* 105: 213-222

terre/microflore tellurique. Thèse de Doctorat, Université Paris Est, Ecole Doctorale Science

Trevors JT., Stratton GW., Gadd GM. (1986). Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae, and fungi. *Can J Microbiol.* 32:447-464.

Trevors J.T., Oddie K.M., Belliveau B.H. (1985). Metal resistance in bacteria. *FEMS Microb. Rev.* 32: 39-54

V

Vavasseur A. (2014). Bioremediation of soil and water: application to chemical and nuclear pollutions. *Revue Pollution Atmosphérique. Climat, santé, société. N° spécial énergie-santé.*

Vesely T., Neuberg M., Trakal L., Szakova J., Tlustoa P. (2012). Water lettuce *Pistiastratiotes* L. response to lead toxicity. *Water Air Soil Pollut.* 223 : 1847–1859

Violante A., Pan Ming H., Geoffrey M. G.(2007). Biophysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments *Volume 1 de Wiley Series Sponsored by IUPAC in Biophysico-Chemical Processes in Environmental Systems* John Wiley & Sons, 512 p.

Vitoria, A.P., P.J. Lea and R.A. Azevedo.(2001). Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochem.* 57: 701- 710

W

Wagner GJ. (1993). Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances Agronomy.* 51: 173-212

Wan Maznah W.O., Al-Fawwaz A.T., Surif M. (2012). Biosorption of copper and zinc by immobilised and free algal biomass, and the effects of metal biosorption on the growth and cellular structure of *Chlorella* sp. and *Chlamydomonas* sp. isolated from rivers in Penang, Malaysia. *J. Environ. Sci.* 24(8): 1386-1393.

Wani S.H., Gulzar S.S., Haribhushan A., Jyotsna N., Rita N., Brajendra S.N. Herojit S.A.(2012). Phytoremediation: Curing soil problems with crops. *African Journal of Agricultural Research.* 7(28) :3991-4002.

Wenzel W.W. Lombi E. Adriano D.C.(1999). Biogeochemical processes in the rhizosphere: role in phytoremediation of metal-polluted sites. In: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J. (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants- from Molecules to Ecosystems.* Springer, Heidelberg, Berlin, New York. pp. 273–303

Wojciech J.J. etLise K (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology* .40:411-441.

Wallberg M, Brynhildsen L, Allard B. (1991). Metal binding properties of *Klebsiella oxytoca*. *Water, Air and Soil Pollution.* 57: 579--587.

X

Xiumei Y., Yangxin L., Yongliang C., Ricong L., Yanmei L., QiangCh., Yunfu G., Ke Zhao ,Quanju Xi., Kaiwei X., Xiaoping Zhang.(2016).An indoleacetic acid-producing *Ochrobactrum* sp. MGJ11 counteracts cadmium effect on soybean by promoting plant growth. *J Appl Microbiol.* 122: 987–996.

Z

Zakhama S., Dhaouadi H., M’Henni F. (2011).Nonlinear modelisation of heavy metal removal from aqueous solution using *Ulvalactuca* algae. *Bioresour. Technol.* 102(2): 786-796.

Zhang Y.F., He L.Y., Chen Z.J., Wang Q.Y., Qian M., Sheng X.F. (2011).Characterization of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from coppertolerant plants and their potential in promoting the growth and copper accumulation of *Brassica napus*. *Chemosphere.* 83: 57-62.

Zorrig W. (2011). Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue *Lactuca sativa*. Thèse de Doctorat, Université El Manar, Ecole Doctorale: Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosciences et Environnement, Tunisie. 152p.

Zorrig W., Rouached A., Shahzad Z., Abdely C., Davidian JC., Berthomieu P. (2010). Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *J Plant Physiol.* 167: 1239-1247.



Annexes

Annexe I. Composition des milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

- **Milieu PCA (Plat Count Agar)**

Tryptone.....	6g
Extrait de levure	2,5g
Glucose.....	1g
Agar.....	15g
pH.....	7

- **Milieu Pikovskaya (PKA)**

Extrait de levure	0.5g
Glucose.....	10g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5g
NaCl	0.2g
KCl	0.2g
MnSO ₄ .2 H ₂ O	0.002g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.002g
Agar.....	15g

Après autoclavage du milieu, 20 ml d'une solution stérile de phosphate tricalcique (10%) sont rajoutés, le mélange est ensuite coulé dans des boites de pétri et laissé se solidifier.

- **Milieu Luria Bertani (LB)**

Tryptone	10g
Extrait de levure.....	5g
NaCl.....	4g

Agar8g

pH.....7

Annexe II

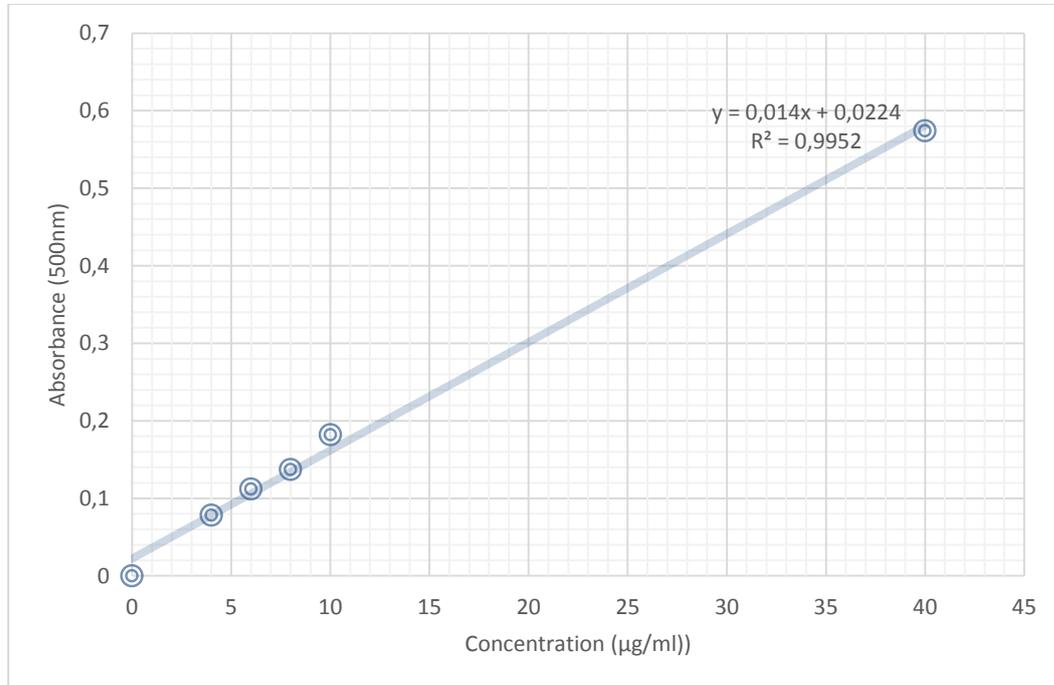


Figure 1. Courbe d'étalonnage d'Acide Indole Acétique (AIA) à 500nm

Résumé :

L'utilisation des matières d'algues sèches et des combinaisons « algue-bactérie » afin de restaurer la croissance des plantes sous stress dû aux métaux lourds a rarement été envisagée. Dans ce travail, Les algues marines *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* ont été testées pour leur capacité à restaurer la croissance bactérienne à des concentrations élevées en Cadmium. Les isolats bactériens N5 et E5 produisent de l'AIA, solubilisent le phosphate tricalcique et tolèrent des concentrations élevées en Cadmium (3mM). La tolérance des deux isolats à ce métal a été significativement restaurée par l'ajout d'extraits aqueux des deux algues marines au milieu de culture. Enfin, les isolats bactériens N5 et E5, seuls ou en association avec les poudres sèches des deux algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*, ont été évalués pour leurs effets sur la restauration de la croissance du blé dur (*Triticum durum*) à 0 et 0,5 mM du Cadmium. En absence du stress métallique, l'inoculation avec la souche N5 ou l'application de la poudre d'algue *E. intestinalis* ont significativement amélioré la teneur en chlorophylle dans les plantules du blé. En présence du stress, L'association de la souche N5 avec les deux algues a significativement restauré la longueur des racines. En outre, la combinaison E5 avec *E. intestinalis* a amélioré le poids frais des racines et sa combinaison avec *Cystoseira* sp. a restauré le poids sec des tiges. Les associations « bactérie-algue » semblent être un moyen écologique prometteur pour la restauration de la croissance des plantes sous stress dû aux métaux.

Mots-clés : Cadmium, AIA, *Triticum durum*, PGPB, Algues, *Cystoseira* sp., *E. intestinalis*

Abstract:

Using dry algal materials and “algae-bacterium” combinations to restore plant growth under heavy metal stress has rarely been considered. Herein, the seaweeds *Cystoseira* sp. and *Enteromorpha intestinalis* were tested for their ability to restore bacterial growth at high cadmium concentrations. The bacterial isolates (N5 and E5) tolerate high Cd concentrations (3mM), produce IAA and solubilize tricalcium phosphate. The two isolates tolerance to Cd was significantly restored by addition of aqueous extracts of the two marine algae to the culture medium. Finally, the bacterial isolates N5 and E5, alone or in combination with dry powders of the two algae *Cystoseira* sp. and *Enteromorpha intestinalis*, were evaluated for their effects on durum wheat (*Triticum durum*) growth restoration at 0 and 0.5 mM Cd. In absence of metallic stress, inoculation with the strain N5 or application of *E. intestinalis* powder significantly improved chlorophyll content in wheat seedlings. In presence of 0.5 mM Cd, combining the strains N5 with both algae significantly restored seedlings roots length. In addition, the association of E5 with *E. Intestinalis* remarkably improved roots fresh weight and its combination with *Cystoseira* sp. highly restored shoots dry weight. The associations “bacterium-algae” seem to be a promising ecofriendly tool to restore plant growth under heavy metals stress.

Keywords: Cadmium, IAA, *Triticum durum*, PGPB, Algae, *Cystoseira* sp., *E. intestinalis*