Nom et Prénom : DAHAIEH NAOUFAL
Date de soutenance : 16/10/2021
Directeur de Thèse : OUNINE KHADIJA

Sujet de Thèse :

Effet protecteur des bactéries endophytes bacillus sp et paenibacillus sp contre le stress biotique et abiotique

Résumé :

Les bactéries endophytes sont des microorganismes reconnues pour leurs efficacités dans la protection directe ou indirecte des plantes et pour leur capacité à produire des molécules bioactives d'utilité diverse. Elle présente une alternative prometteuse des produits chimiques néfastes pour l'homme et l'environnement. Dans cette étude un totale de 65 bactéries endophyte ont été isolées dont 45 à partir des racines de l'ortie (Urtica dioica) et 20 des racines du cactus (Opuntia ficus-indica). 64,61% de ces bactéries endophytes sont capables de produire l'ammonium NH4+ ; 15,38 % des bactéries sont capables de produire l'AIA avec un taux supérieur ou égal à 10µg/ml. La fixation de l'azote est notée chez 10,76 % des souches isolées. L'activité antagoniste de ces bactéries a été testé in vitro contre quatre souches fongiques : Fusarium oxysporum f. sp., Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia solani, Phytophthora parasitica par la technique de la double culture . 75,38% des bactéries inhibent au moins un champignon parmi les phythopathogène testé. Cinq bactéries inhibent tous les champignons avec un pourcentage supérieur ou égal 70 %. Ces 5 souches possèdent une activité ACC désaminase. L'identification biochimique et moléculaire nous a permis d'identifier les bactéries les plus performantes. il s'agit de Bacillus licheniformis (K20), Bacillus subtilis (R45A), Bacillus tequilensis (R45B) , Bacillus halotolerans (R21A), paenibacillus polymyxa (K19). Ces souches endophytes expriment des activités PGP (production d'AIA, production de NH4+,une capacité à fixer l'azote atmosphèrique et une activité ACC désaminsase) et une forte capacité inhibitrice vis-à-vis les phytopathogènes testés sur différents milieux de culture. L'inoculation des racines de la tomate par la souche endophyte Paenibacillus polymyxa (K19) réduit l'incidence de la fusariose de tomate. De plus, elle améliore nettement les paramètres agronomiques de la plante (le poids frais et secs des racines et des feuilles, de l'allongement racinaire et de l'élongation de la plante). L'inoculation des plantules de tomate par Bacillus licheniformis (K20) et/ou Bacillus subtilis (R45A) sous contrainte saline (0,3 et 6 g/L de NaCl) améliorent nettement ses paramètre morphologique (le poids frais et secs des racines et des feuilles, de l'allongement racinaire et de l'élongation de la plante). La mesure des poids frais et secs des racines des plantes de tomate fait ressortir un effet positif visible de l'inoculation par Bacillus licheniformis K20 et/ou de Bacillus subtilis (R45A) en présence et en absence de sel. la longueur de la partie aérienne affichent un accroissement de 120% pour Bacillus licheniformis (K20) ,81% pour Bacillus subtilis (R45A) et seulement 50% pour l'inoculation par Bacillus licheniformis (K20) et Bacillus subtilis (R45A). La synthèse de la chlorophylle est induite après inoculation quelle que soit la teneur en sel. L'accumulation de proline augmente à 6g/L de NaCl. elle chute en présence de souche de Bacillus licheniformis (K20). L'inoculation de plantules de tomate par les souche Bacillus licheniformis (K20) et/ou Bacillus subtilis (R45A) a diminué significativement l'accumulation de Na+ foliaire et racinaire à différents degré de salinité. L'effet inhibiteur du sel sur l'absorption de K+ est diminué en présence d'inoculum bactérien. Cependant l'inoculation par les deux souches à la fois n'est pas synergique.

Mots clés : Endophyte, stress salin, antagonisme, Fusarium oxysporum , Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia solani, Phytophthora parasitica , , Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus tequilensis, Bacillus halotolerans, paenibacillus polymyxa.

Abstract :

Endophytic bacteria are microorganisms that live inside plants without causing symptoms. They are recognized for their effectiveness in the direct or indirect protection and for their capacity to produce bioactive molecules of diversified utility. It presents a promising alternative to chemicals that are harmful to humans and the environment. In this study, a total of 65 endophytic bacteria were isolated, 45 from the roots of nettle (Urtica dioica) and 20 from cactus roots (Opuntia ficus-indica). 64.61% of these endophytic bacteria are capable of producing ammonium NH4+; 15.38% of bacteria are capable of producing IAA with a rate greater than or equal to 10µg / ml. Nitrogen fixation is noted in 10.76% of the strains isolated. The antagonist activity of these bacteria was tested in vitro against four fungal strains: Fusarium oxysporum f. sp., Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia solani, Phytophthora parasitica by the double culture technique. 75.38% of bacteria inhibit at least one fungus among the phythopathogens tested. Five bacteria inhibit all fungi with a percentage greater than or equal to 70%. These 5 strains have ACC deaminase activity. Biochemical and molecular identification has enabled us to identify the best performing bacteria. These are Bacillus licheniformis (K20), Bacillus subtilis (R45A), Bacillus tequilensis (R45B), Bacillus halotolerans (R21A), paenibacillus polymyxa (K19). These endophytic strains express PGP activities (production of IAA, production of NH4+, an ability to fix atmospheric nitrogen and ACC deaminsase activity), and a strong inhibitory capacity against the phytopathogens tested on different culture media. Inoculation of tomato roots with the endophytic strain paenibacillus polymyxa (K19) reduces the incidence of Fusarium wilt of tomato. In addition, it significantly improves the agronomic parameters of the plant (the fresh and dry weight of roots and leaves, root elongation and plant elongation). Inocuation of tomato seedlings with Bacillus licheniformis (K20) and / or Bacillus subtilis (R45A) under saline stress (0.3 and 6 g / L of NaCl) clearly improves its morphological parameters (the fresh and dry weight of the roots and leaves, root elongation and plant elongation). The fresh weight mass increases after inoculation with Bacillus subtilis (R45A) by 125% at 3g / L and by 174.93% at 6g / L of NaCl. The length of aerial part shows an increase of 120% for Bacillus licheniformis (K20), 81% for Bacillus subtilis (R45A) and only 50% for inoculation with Bacillus licheniformis (K20) and Bacillus subtilis (R45A).The synthesis of chlorophyll is induced after inoculation regardless of the salt content. Proline accumulation increases to 6g / L of NaCl. it drops in the presence of a strain of Bacillus licheniformis (K20). Inoculation of tomato seedlings with Bacillus licheniformis (K20) and / or Bacillus subtilis (R45A) strains significantly reduced the accumulation of leaf and root Na + at different salinity levels. The inhibitory effect of salt on K + absorption is reduced in the presence of bacterial inoculum. However, inoculation with the two strains at the same time is not synergistic.

Keywords: Endophyte, salt stress, antagonism, Fusarium oxysporum, Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia solani, Phytophthora parasitica,, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus tequilensis, Bacillus halotolerans, paenibacillus polymyxa.

ملخص:

بكتيريا النابوت الداخلية هي متعضيات مجهرية معروفة بقدرتها على حماية النباتات بكيفية مباشرة أو غير مباشرة وكذا بقدرتها على إنتاج جزيئات نشطة بيولوجيًا ذات فوائد مختلفة.. في هذه الدراسة تم عزل 65 بكتيريا نابوت داخلية ، 45 من جذور نبات القراص و 20 من جذور الصبار.64.61٪من هذه البكتيريا الداخلية قادرة على إنتاج الأمونيوم ٪ 15,38 قادرة على إنتاج هرمون النمو AIA كما أن ٪10,76 من البكتيريا المعزولة قادرة على تثبيت النتروجين.

قياس قدرة الصراع البيولوجي لهاته البكتيريات تجاه اربع فطريات مضرة للنباتات: *Fusarium oxysporum*. ، *Colletotrichum gloeosporioides*، *Rhizoctonia solani*، *Phytophthora parasitica* أثبتت أن ٪75,38 من هاته البكتيريا تملك قدرة الكبح على الأقل تجاه فطر واحد من الفطريات التي ثم اختبارها. خمس بكتريا تثبط قدرة كل الفطريات بنسبة تزيد أو تساوي 70٪. هذه السلالات الخمس تمتلك كذلك نشاط نزع الأمين ACC .

مكننا التعرف البيوكيميائي والجزيئي من تحديد البكتيريا الأفضل أداءً. هذه هي *Bacillus licheniformis* (K20) ، *Bacillus subtilis (R45A)*، *Bacillus tequilensis* (R45B)، *Bacillus halotolerans* (R21A)، *paenibacillus polymyxa* (K19). تعبر ,

هذه السلالات الداخلية عن أنشطة PGP متنوعة كالقدرة على انتاجIAA ، وإنتاج NH^{4+} ، والقدرة على تثبيت النيتروجين في الغلاف الجوي ونشاطACC deaminsase وكذلك القدرة التثبيطية القوية ضد مسببات الأمراض النباتية التي تم اختبارها على وسائط زراعة مختلفة.

يؤدي تلقيح جذور الطماطم بالسلالة الداخلية *paenibacillus polymyxa* (K19) إلى تقليل حدوث ذبول الفيوزاريوم في الطماطم. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يحسن بشكل كبير المعايير الزراعية للنبات (الوزن الطازج والجاف للجذور والأوراق ، واستطالة الجذر واستطالة النبات).

تلقيح شتلات الطماطم بواسطة *Bacillus licheniformis* (K20) و / أو *Bacillus subtilis* (R45A) في وجود تراكيز الملح (0,3 و 6 جم / لتر من كلوريد الصوديوم) يحسن بشكل واضح المعايير المورفولوجية (الوزن الطازج والجاف للجذور والأوراق ، واستطالة الجذر واستطالة النبات).كما أن قياس الأوزان الطازجة والجافة لجذور نباتات الطماطم يظهرتأثيرًا إيجابيًا واضحًا للتلقيح بالبكتريا *Bacillus lic*heniformis K20و / أو *Bacillus subtilis R45A* بوجود الملح وغيابه .نلاحظ كذلك أن التلقيح ببكتيريا النابوت الداخلي تؤدي الى تحفيز تخليق الكلوروفيل بعد التلقيح مهما كان تركيز الملح (0,3 و 6 جم / لتر من كلوريد الصوديوم) .

أدى تلقيح شتلات الطماطم بواسطة سلالات Bacillus licheniformis (K20) و / أو Bacillus subtilis (R45A) إلى تقليل تراكم و +Naفي الأوراق والجذور بشكل ملحوظ عند مستويات ملوحة مختلفة وكذا الى التقليل من التأثير التثبيطي للملح على امتصاص البوتاسيوم.

كلمات مفتاحية : Bacillus subtilis (R45A), Bacillus licheniformis (K20) , *Bacillus paenibacillus polymyxa* (K19) , . *halotolerans*، *Colletotrichum gloeosporioides*، *Rhizoctonia solani*، *Phytophthora parasitica* هرمون النمو, الصراع البيولوجي