

Nom et Prénom : FAHSI NIDAL

Date de soutenance : 05/10/2021

Directeur de Thèse : MESFIOUI ABDELHALEM

Sujet de Thèse :

**ISOLEMENT, IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES RHIZOBACTERIES
ASSOCIEES AU JUJUBIER SAUVAGE (ZIZIPHUS LOTUS) ET LEURS EFFETS SUR LA
PROMOTION DE LA CROISSANCE DES PLANTES**

Résumé :

Les interactions entre les plantes et les microorganismes au niveau de la rhizosphère attirent de plus en plus l'attention des chercheurs. Un groupe de bactéries, appelé PGPR (Plant Growth- Promoting Rhizobacteria), est connu pour avoir des effets bénéfiques sur la croissance et la santé des plantes grâce à l'expression d'un large éventail de propriétés phyto-bénéfiques. L'hypothèse actuelle de ce travail est que les plantes, en particulier le jujubier sauvage (*Ziziphus lotus* (L.) Desf.), sélectionneraient préférentiellement dans leur rhizosphère des bactéries ayant un maximum de fonctions phyto-bénéfiques qui pourraient être des candidats potentiels comme biofertilisants. Dans ce contexte, notre étude vise à isoler, caractériser pour la première fois au Maroc, des bactéries solubilisant le phosphate (PSB) à partir du sol rhizosphérique de jujubier, et à évaluer leurs effets potentiels sur la croissance des plantes. À cet égard, nous avons isolé treize souches PSB désignées J10 à J13, J15-J16, J143, J146, J153-J156 et J158. L'identification génotypique par séquençage de l'ADNr 16S a révélé huit souches appartenant à *Pseudomonas* (J10, J12, J13, J15, J16, J153, J154, & J158), trois à *Bacillus* (J11, J143 et J156), une à *Paenibacillus* (J155) et une à *Enterobacter* (J146). Dans la première partie de cette étude (chapitre 3), nous avons étudié plusieurs propriétés PGP conventionnelles de neuf souches. Les sidérophores ont été produits par toutes les souches. La production des protéases était absente chez *Pseudomonas* sp. J153 & J154, alors que les cellulases n'ont été enregistrées que chez *Pseudomonas* sp. J10, *Paenibacillus xylanexedens* J155 et *B. cereus* J156. L'indole-3-acide acétique et l'ammoniac ont également été produits par toutes les souches, avec un maximum de 204,28 µg/mL chez *B. megaterium* J11 et 0,33 µmol/mL chez *Pseudomonas* sp. J153, respectivement. *Pseudomonas* sp. J10 et *B. cereus* J156 ont poussé sur des boîtes contenant des concentrations allant jusqu'à 1,5 mg/L de nitrate de nickel ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$), tandis que *Pseudomonas* sp. J153 a résisté à 1,5 mg/L de sulfate de cuivre (CuSO_4) et de sulfate de cadmium (CdSO_4). Enfin, l'analyse phénotypique de la croissance précoce des plantes a montré que les graines de blé inoculées avec *P. moraviensis* J12 ou *B. cereus* J156 augmentaient remarquablement le taux de germination et la croissance des plantules. Dans la deuxième partie (chapitre 4), nous avons étudié les bénéfices potentiels des quatre souches PSB restantes J16 (*P. moraviensis*), J143 (*B. halotolerans*), J146 (*E. hormaechei*) et J158 (*P. frederiksbergensis*) sur la germination et la croissance des plantes de blé. L'analyse des propriétés PGP a montré que la souche *E. hormaechei* J146 a produit jusqu'à 550 mg/L d'AIA, les sidérophores et l'ammoniac étaient produits par les quatre souches, la cellulase était limitée à *B. halotolerans* J143, alors que les protéases étaient absentes chez *E. hormaechei* J146 et *P. frederiksbergensis* J158. La souche *E. hormaechei* J146 tolère jusqu'à 1,5 mg/L de (CuSO_4) et de (CdSO_4), tandis que *B. halotolerans* J143 a résisté à 1,5 mg/L de ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$). Les souches J143, J146 et J158 ont remarquablement amélioré la germination des graines de blé, la croissance des plantes en pots et ont augmenté l'absorption du Zn. La mesure des éléments nutritifs a révélé que les plantes de blé inoculées avec *E. hormaechei* J146 ou *P. frederiksbergensis* J158 ont augmenté l'absorption d'azote et de potassium jusqu'au 17 %. Collectivement, nos résultats ont révélé, pour la première fois, six souches d'élites isolées de la rhizosphère du jujubier : J10, J12, J153, J156, J146 et J158 qui conviennent probablement pour une application comme biofertilisants ou comme additif pour améliorer l'absorption du P et Zn par les plantes et/ou pour la bioremédiation des sols contaminés par les métaux lourds.

Mots clés : Jujubier sauvage (*Ziziphus lotus*), Promotion de la croissance des plante, PGPR, Bactéries solubilisant le phosphate, Bioremediation des métaux lourds, Tolérance au sel, Résistances aux antibiotiques.

Abstract :

Interactions between plants and microorganisms at the rhizosphere have attracted the attention of researchers increasingly. A group of bacteria, called PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), are known to have beneficial effects on plant growth and health, through the expression of a wide range of phyto-beneficial properties. The current hypothesis of this work is that plants, in particular wild jujube (*Ziziphus lotus* (L.) Desf.), would preferentially select in their rhizosphere bacteria with a maximum of phyto-beneficial functions as biofertilizer candidates. In this context, our study aims to isolate, characterize for the first time in Morocco, phosphate solubilizing bacteria (PSB) from the rhizospheric soil of jujube plant, and to evaluate their potential effects on plant growth. For this purpose, we isolated thirteen PSB strains designated J10 to J13, J15-J16, J143, J146, J153-J156, & J158. Genotypic identification using 16S rDNA sequencing, revealed eight strains that belong to *Pseudomonas* (J10, J12, J13, J15, J16, J153, J154, & J158), three to *Bacillus* (J11, J143 and J156), one to *Paenibacillus* (J155) and one to *Enterobacter* (J146). In the first part of this study (Chapter 3), we investigated several conventional PGP properties of nine strains. Siderophores were produced by all strains. Proteases were missing in *Pseudomonas* sp. J153 & J154, whereas cellulase was restricted only to *Pseudomonas* sp. J10, *Paenibacillus xylanexedens* J155 and *B. cereus* J156. The indole-3- acetic acid and ammonia were also produced by all strains, with a maximum of 204,28 µg/mL in *B. megaterium* J11 and 0.33 µmol/mL in *Pseudomonas* sp. J153, respectively. *Pseudomonas* sp. J10 and *B. cereus* J156 grew on plates containing concentrations up to 1.5 mg/L of nickel nitrate ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$), while *Pseudomonas* sp. J153 withstood 1,5 mg/L of either copper sulfate (CuSO_4) or cadmium sulfate (CdSO_4). Lastly, early plant growth phenotypic analysis showed that wheat seeds inoculated with either *P. moraviensis* J12 or *B. cereus* J156 remarkably increased germination rate and seedlings growth. In the second part (chapter 4), we investigated the potential benefits of the four remaining PSB strains J16 (*P. moraviensis*), J143 (*B. halotolerans*), J146 (*E. hormaechei*), and J158 (*P. frederiksbergensis*) on wheat seedling and plant growth. Analysis of PGP properties showed that *E. hormaechei* J146 produced up to 550 mg/L of IAA, siderophores and ammonia were produced by the four strains, cellulases production was restricted to *B. halotolerans* J143, whereas proteases were missing in *E. hormaechei* J146 and *P. frederiksbergensis* J158. Strain *E. hormaechei* J146 tolerate up to 1.5 mg/L of (CuSO_4) and (CdSO_4), while *B. halotolerans* J143 withstood 1.5 mg/L of ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$). Strains J143, J146, and J158 remarkably improved wheat seed germination, plant growth on pots, and very interestingly increased Zn absorption. Nutrient measurement revealed that wheat plant inoculated with *E. hormaechei* J146 or *P. frederiksbergensis* J158 increased nitrogen and potassium uptake by up to 17%. Collectively, our results, revealed, for the first time, six elites' strains isolated from the rhizosphere of jujube plant: J10, J12, J153, J156, J146, and J158 that are likely suitable for application as biofertilizers or as additives to improve P and Zn uptake by plants and/or lastly to bioremediate heavy metals contaminated soils.

Keywords: Wild Jujube (*Ziziphus lotus*), Plant growth promotion, PGPR, Phosphate solubilizing bacteria, Bioremediation of heavy metals, Salt tolerance, Antibiotic resistances.