

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de de Sciences Biologiques



## *Mémoire de fin d'études*

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en

**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière** : Biotechnologie

**Spécialité** : Biotechnologie Microbienne

# ***Rôle de l'AIA dans l'interaction Symbiotique plante-microorganismes.***

**Présenté par:**

- *HOUHECHE Abdelhadi*
- *KHADRAOUI Amara*
- *TEMMAM Adel*

**Devant le jury :**

Mme GHOMARI FN	MAA	Président	(U.D.B Khemis Miliana)
Mme BRAHIMI S	MAA	Promoteur	(U.D.B Khemis Miliana)
Mme BOUCHIBA Z	MCB	Examineur	(U.D.B Khemis Miliana)

**Année universitaire : 2021/2022**

# Remerciements

Nous tenons à remercier dans un premier lieu Dieu « ALLAH » pour nous avoir donné la chance de vivre et de pouvoir étudier, et le courage et la patience pour bien mener ce travail durant cette année.

Nous remercions tout particulièrement Mme BRAHIMI S pour avoir accepté de diriger ce travail, et lui tenons notre immense respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées et ses encouragements.

Nos vifs remerciements vont à tous nos enseignants, spécialement, aux membres du jury :

À Mme Ghomari FN, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

À Mme Bouchiba Z, qui nous a honoré d'accepter de juger ce travail.

À notre responsable de promotion Mr. LAZALI M, et à tous les enseignants(es) du département de sciences biologiques, chacun par son nom pour leurs précieuses contributions dans notre formation tout au long de notre cursus universitaire.

Aussi nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents à qui je dois  
Ma gratitude.

À mes chers frères et sœur, Mohamed, Ali, Abderrahmane et  
Imane pour leurs support tout au long de mon éducation.

À mes deux nièces Maram et  
Loudjein.

À mes chers amis Hichem,  
Ziyad et Zaki.

À Adel et Amara et à toute la promo de biotechnologie  
microbienne.

À Mme. Alexandra Elbakyan pour avoir créé Scihub et  
rendu l'ascience plus accessible, et à Mr. Stijn Spaepen pour sa  
recherche remarquable sur l'AIA.

Au The deprogram pod, et à Mr. George Ganitis connu sous le  
nom de BadEmpanada pour toutes les informations intéressantes qui  
nous fournissent.

À tous mes professeurs. En particulier le professeur qui m'a  
encadrant, à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de  
loin.

Et enfin pour ma famille.

Elhadi

# Dédicace

C'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail

À l'être le plus cher de ma vie, ma mère.

À celui qui m'a fait de moi un homme, mon père.

À Mes chers Frères et Sœurs et ses enfants Mohamed et Athir

À tous mes amis de promotion de 2 année Master  
biotechnologie microbienne, toute personne qui occupe une place  
dans mon cœur Sofiane Abdelhak Abdellah Hocine Walid, Khawla,  
Hayat, Yasmine, Wafaa et tout particulièrement mes trinomes  
Abdelhadi et Amara.

Sans oublier le meilleur groupe du monde da bel3id

Adel

# Dédicace

Je dédie ce travail à mes très chers parents, qui ont fait preuve d'abnégation, Tous les mots que je puisse dire ne peuvent exprimer ma gratitude et mon amour à votre égard. Puisse Dieu vous procure longue vie et prospérité.

Ce travail est dédié

À mes frères Salah et Mohamed Cherif. A mes chères sœurs Amel, Torkia et Fatima. À mes tantes Elhadi Houheche et Adel Temmam.

À tous mes cousins et mes cousines. À mes très chères amies Kheira, Fatiha et Marwa. À mes très chers amis Mouloud, Hichem et Hakim.

À Toutes les personnes qui ont aidé à la réalisation de ce travail, et à toute la promotion de 2<sup>ème</sup> Année Master biotechnologie microbienne (2021\_2022).

Que ce travail soit un témoignage de nos vifs sentiments et gratitude avec souhaits d'une longue vie pleine de bonheur et de succès

Amara

**Résumé :**

La rhizosphère est composée de racines de plantes et des microorganismes qui les entourent. Les plantes utilisent des substances appelées phytohormones pour contrôler toute activité physiologique. L'acide indole acétique est l'une de ces hormones utilisées par la plante pour réguler des activités telles que la division cellulaire, l'élongation cellulaire, la rhizogenèse ...ect

De nombreux micro-organismes du sol peuvent synthétiser l'AIA par différentes voies. Cette hormone, aide le micro-organisme à initier des interactions avec la plante. La quantité d'AIA produite par les bactéries rhizosphériques dépend largement de la souche de la bactérie et d'autres facteurs comme la température, le pH, la source du carbone...

La détection de l'AIA peut se faire avec le réactif de Salkowski et la spectrophotométrie ou par chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse.

**Mots-clés :** Rhizosphère, AIA, micro-organismes, bactéries, plantes, interactions.

**Abstract:**

The rhizosphere is composed of plants roots and the microorganisms surrounding them. Plants use substances called phytohormones to control any physiological activity. Indole acetic acid is one of these hormones used by the plant to regulate activity such as cellular division, cellular elongation, rhizogenesis...

Many soil microorganisms can synthesize IAA through different pathways, the produced IAA helps the microorganism initiate interactions with the plant. The amount of IAA produced by rhizospheric bacteria depends largely on the strain of bacteria and other factors like temperature, pH, carbon source...

We can detect IAA's presence with Salkowski reagent and spectrophotometry or Liquid Chromatography and Mass Spectrometry

**Keywords :** Rhizosphere, IAA, microorganismes, bacteria, plantes, interactions.

## الملخص :

يتكون الغلاف الجذوري أو ريزوسفير من جذور النباتات والكائنات الحية الدقيقة المحيطة بها. تستخدم النباتات مواد تسمى الهرمونات النباتية للتحكم في جميع الأنشطة الفسيولوجية. حمض إندول الاسيتيك (الخليك) هو أحد هذه الهرمونات التي يستخدمها النبات لتنظيم النشاطات مثل الانقسام الخلوي ، واستطالة الخلايا الجذرية ...

يمكن للعديد من الكائنات الحية الدقيقة في التربة تصنيع حمض إندول الاسيتيك بعدة طرق ، يساعد حمض إندول الاسيتيك الناتج الكائنات الحية الدقيقة على احداث تفاعلات مع النبات .تعتمد كمية حمض إندول الاسيتيك التي تنتجها بكتيريا ريزوسفير إلى حد كبير على سلالة البكتيريا وعوامل أخرى مثل درجة الحرارة ودرجة الحموضة ومصدر الكربون ...

يمكننا الكشف عن وجود حمض انطول الاسيتيك مع كاشف Salkowski والقياس الطيفي أو عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة و قياس الطيف الكتلي

**الكلمات المفتاحية :** الغلاف الجذوري (ريزوسفير) ، حمض إندول الاسيتيك، الكائنات الحية الدقيقة البكتيريا ، النباتات ، التفاعلات.



**Liste des abréviations :**

ABA : Acide abscissique

AIA : Acide indole 3-acétique

ANA : Acide naphtalène acétique

GA : Acide gibbérellique

RPCP : Les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

GAS : Gibbérellines

CTKS : Cytokinines

ETH : Ethylène

pKa : La constante d'acidité, la constante de dissociation acide

pH : La potentiel d'Hydrogène

IAM : Indole-3-acétamide

IPA : Indole-3-Pyruvat

IAAld : Indole-3-acétaldéhyde

IAN : Indole-3-acétonitrile

ECM : Ectomycorhizes

AM : Mycorhize arbusculaire

ADN-T : ADN de transfert

RPM : Rotation par minute

PPM : Partie Par Million

LC : Chromatographie en phase liquide

MS : Spectrométrie de masse

LC MS/MS : Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse

**Liste des figures :**

<b>Figure 01 :</b> Les racines et la rhizosphère.....	3
<b>Figure 02 :</b> la structure de la rhizosphère.....	4
<b>Figure 03 :</b> Une illustration de la rhizosphère.....	6
<b>Figure 04 :</b> Microbiote du sol.....	7
<b>Figure 05 :</b> La biosynthèse de l'acide indol-3 acétique .....	21
<b>Figure 06 :</b> Une coupe d'une racine mycorrhizée .....	26
<b>Figure 07 :</b> Le rôle d'AIA microbienne dans la plante .....	30
<b>Figure 08 :</b> Rôles des auxines et des cytokinines dans des différentes interactions biotiques qui affectent le système racinaire .....	31
<b>Figure 09 :</b> Courbe d'étalonnage de l'AIA .....	33

**Liste des tableaux :**

**Tableau 01 :** Les classes de phytohormones et la structure chimiques de certaines hormones d'une classe .....9

**Tableau 02 :** Les classes de phytohormones et leurs effets sur les plantes .....14

**Tableau 03 :** Les phytohormones et les bactéries qui les synthétisent.....15

**Tableau 04 :** Quelques propriétés de l'AIA.....18

## **Sommaire**

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## **Partie I : Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I : La rhizosphère, les phytohormones et les rhizobactéries**

1- La rhizosphère

1-1-Définition ..... 3

1-2-Structure et composition de la rhizosphère ..... 4

1-3-Importance de la rhizosphère ..... 6

2- Phytohormones

2-1-Définition ..... 8

2-2-Caractéristiques ..... 8

2-3-Classes ..... 9

3- Les phytohormones et les rhizobactéries

3-1-Les rhizobactéries ..... 13

3-1-1-Les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante (RPCP) ..... 13

3-1-2-Mécanisme d'action des PGPR.....	13
3-2-Les phytohormones synthétisées par les bactéries.....	15

## **Chapitre II : Acide Indole Acétique**

### 1- Acide Indole Acétique

1-1-Définition .....	17
2- Structure chimique d'AIA .....	17
3- La biosynthèse de l'acide indol-3-acétique .....	18
3-1-Voie de l'indole-3-acétamide.....	18
3-2-Voie de l'indole-3-pyruvate .....	19

### **3-3-Autres voies partant du tryptophane**

3-3-1-la voie de la tryptamine.....	19
3-3-2-La voie Indole-3-acétonitrile.....	20
3-3-3-La voie de la tryptophane oxydase à chaîne latérale.....	20
3-4-La voie indépendante du tryptophane .....	20
4- Conjugaison et dégradation de l'AIA.....	22

5- Transport de l'AIA dans les plantes.....	23
6- Le rôle de l'AIA.....	24
7- L'AIA et le microbiote du sol.....	26
7-1-L'AIA dans les symbioses plante-champignon .....	26
<b>7-2- L'AIA dans les symbioses plantes-bactéries</b>	
7-2-1-Phytopathogènes .....	28
7-2-2- Symbiose.....	29
7-2-3-Les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante.....	29
 <b>Partie II : Matériel et méthodes</b>	
1-Quantification par spectrophotométrie .....	32
a-Reactif Salkowski .....	32
b-Courbe d'étalonnage.....	32
 <b>2-Quantification par LC-MS/MS</b>	
a-Préparation de l'échantillon .....	33
b-Analyse par LC-MS/MS .....	34

### **Partie III : Analyse des travaux antérieurs**

Analyse des travaux antérieurs .....	35
<b>Conclusion</b> .....	<b>38</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>39</b>



# **Introduction**

# Introduction

## Introduction :

Les plantes régulent leur croissance avec des substances qui influencent leurs processus physiologiques. Ces substances sont appelées phytohormones. Elles peuvent être produites par les plantes ou les microorganismes de la rhizosphère (Davies, 1995)

La première auxine (du grec "auxein" qui signifie "croître") qui a été identifiée est l'acide indole-acétique par Went et Thimmann (1937), plusieurs décennies après que Charles Darwin (1880) ait proposé que certaines réactions de croissance de plantes soient régulées par une matière qui transmet ses effets d'une partie de la plante à une autre.

L'acide indole acétique est l'un des auxines les plus physiologiquement actives (Malhotra et Srivastava, 2008). Il est synthétisé à partir du tryptophane et il influence un certain nombre de fonctions végétales telles que la promotion de l'élongation et la division cellulaire (Zhao, 2010).

L'AIA est l'hormone végétale naturelle la plus courante de la classe des auxines (Sibu et Petrášek, 2011). La production d'AIA a été observée dans de nombreuses bactéries. Il est estimé que plus de 80% des bactéries isolées de la rhizosphère sont capables de synthétiser l'AIA (Patten et Glick, 1996 ; Khalid *et al.* 2004). L'AIA peut aider à initier des interactions entre les plantes et les rhizobactéries. Ces interactions peuvent être bénéfiques, comme l'augmentation de la ramification des racines, la fixation de l'azote ou nuisibles comme la formation des galles (Boivin *et al.* 2016 ; Spaepen *et al.* 2007).

Dans ce travail, nous exposons le rôle de l'AIA dans les interactions plantes -microorganismes, ainsi que les protocoles analytiques utilisées pour sa détection et sa quantification.

Ce manuscrit est structuré trois parties. La première partie, est consacrée à la synthèse des connaissances bibliographiques sur l'acide indole acétique, plus précisément à ce qu'il est, à sa biosynthèse et à son rôle dans la plante ainsi que dans l'interaction entre la plante et les microorganismes.

## **Introduction**

La seconde partie expose les protocoles analytiques adoptés dans la littérature pour la détection et de quantification de l'AIA. La dernière partie est une petite sélection des études qui ont été réalisées sur la capacité des rhizobactéries à produire l'AIA.

# **Synthèse**

# **bibliographique**

# **Chapitre I**

## **La rhizosphère, les phytohormones et les rhizobactéries**

## Partie I : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : La rhizosphère, les phytohormones et les rhizobactéries

#### 1-La rhizosphère :

##### 1-1-Définition :

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner, bactériologiste spécialiste en microbiologie du sol et professeur d'agronomie au collège Technique de Munich.

Le terme rhizosphère semble se définir lui-même, mais sa signification précise ne fait pas l'unanimité parmi les microbiologistes du sol et les botanistes. Rhizo, ou rhiza du grec "racine", est assez simple, mais sphère à de nombreuses significations, depuis un corps rond jusqu'à l'environnement social d'une personne. En effet, nous avons affaire à un environnement unique habité par une "société" de microorganismes. (Curl et Truelove, 1986). Dans la figure 01 on a une illustration de la rhizosphère.



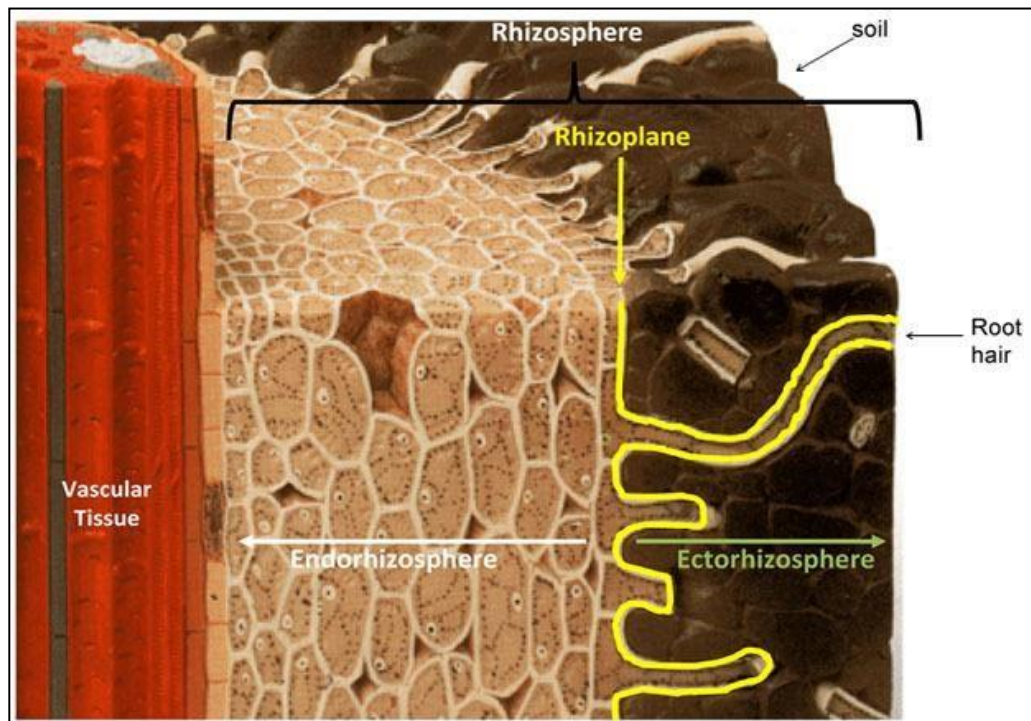
**Figure 01** : Les racines et la rhizosphère (Márquez, 2021)

**1-2-Structure et composition de la rhizosphère :**

La définition de la rhizosphère a été affinée afin d'inclure les trois zones qui sont définies sur la base de leur proximité relative à la racine comme illustré dans la figure 02, et donc de leur impact sur celle-ci :

1. L'**endorhizosphère** comprend des portions du cortex et de l'endoderme dans lesquelles les microbes et les cations peuvent occuper l'espace libre entre les cellules.
2. Le **rhizoplane** est la zone interne directement adjacente à la racine, qui comprend l'épiderme de la racine et le mucilage.
3. La zone la plus externe est l'**ectorhizosphère** qui s'étend du rhizoplane au sol.

Comme on peut s'y attendre, en raison de la complexité et de la diversité des systèmes racinaires des plantes, la rhizosphère n'est pas une région de taille ou de forme définissable, mais consiste plutôt en un gradient de propriétés chimiques, biologiques et physiques. (McNear et David, 2013).

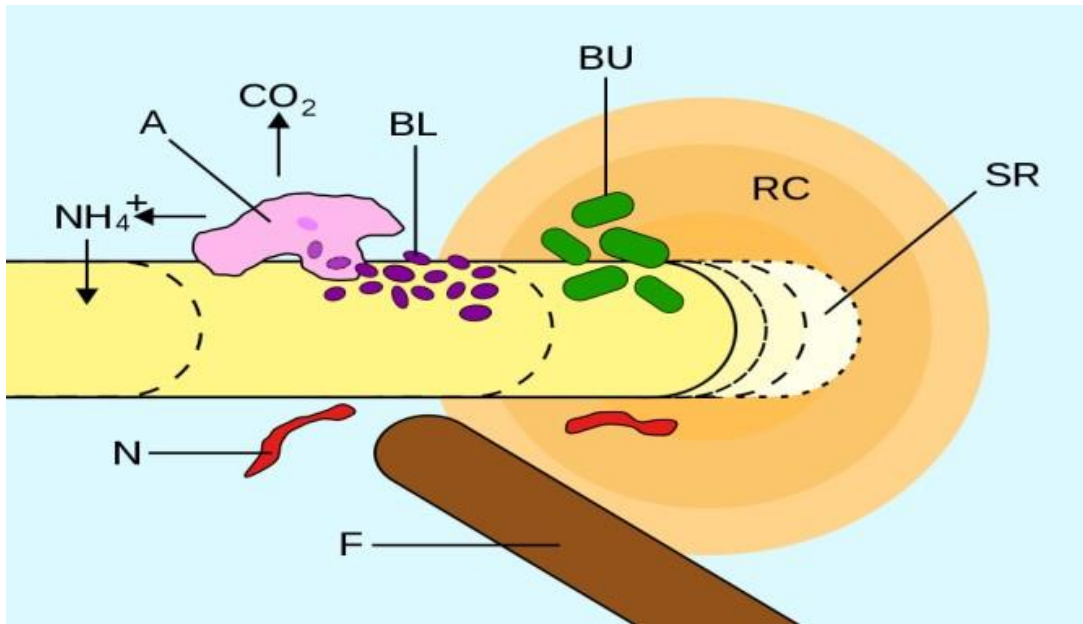


**Figure 02 :** Structure de la rhizosphère (McNear et David, 2013)

La rhizosphère est caractérisée par sa biodiversité microbienne comme le montre la figure 03, et notamment sa richesse en bactéries et champignons microscopiques. C'est le lieu d'échanges entre ces microorganismes et les végétaux. Echanges qui se traduisent par des modifications de propriétés physiques et chimiques du sol rhizosphérique. (Giri *et al.* 2005).

On peut dire que la rhizosphère est composée du sol, d'eau, de dépôts et de microbiote (bactéries, champignons, algues). D'une part, le sol agit comme support physique et il fournit de la nourriture aux plantes. Ses propriétés physico-chimiques déterminent la présence et la répartition des micro-organismes, et sa conservation dépend de ces derniers. Il est possible de mettre en évidence le pH comme un facteur abiotique qui conditionne et caractérise le fonctionnement de la rhizosphère, puisque des variations de sa valeur peuvent entraîner l'inactivation des enzymes présentes dans les microorganismes et perturber la fixation des minéraux nutritifs. D'une autre part, l'eau, qui est une ressource essentielle pour la vie, joue un rôle très important dans les interactions rhizosphériques. Sa disponibilité est directement liée à la porosité du sol et son potentiel est contrôlé par le microbiote. En relation aux dépôts, les plantes libèrent des produits photosynthétiques (sucres, acides aminés, vitamines, acides organiques, hormones), ces composés organiques attirent les microorganismes à la surface des racines, leur fournissant une source très importante de nourriture et d'énergie. Enfin, les microorganismes qui habitent dans la rhizosphère (bactéries, champignons, protozoaires et nématodes) sont pour la plupart du temps bénéfiques. Les bactéries de la rhizosphère ou rhizobactéries sont responsables de la décomposition des produits libérés par les plantes et leurs résidus. Les champignons se distinguent également en établissant une relation symbiotique avec les racines, appelée mycorhize, car, comme les bactéries, ils sont capables de dégrader ou de minéraliser les substances toxiques et nocives dans un processus appelé détoxification. (Márquez, 2021).





**Figure 03** : Une illustration de la rhizosphère (Giri *et al.* 2005)

A=Amibe digérant une bactérie, BL= Bactérie à énergie limitée, BU= Bactérie à énergie non limitée, RC=Racine, SR=Poils absorbants racinaires, F=Mycélium d'un champignon, N=Ver nématode.

### 1-3-Importance de la rhizosphère :

L'importance de la rhizosphère se trouve dans les interactions qui se produisent entre les plantes et le microbiote du sol.

- Au travers de la rhizosphère les plantes récupèrent les nutriments. Il en va de même pour l'eau et le carbone dont les bactéries, les champignons, les insectes, les vers et les protozoaires ont besoin pour survivre.
- La microflore de la rhizosphère protège la racine contre les pathogènes et les maladies des racines, et produit des substances qui stimulent la croissance des plantes.
- La fixation biologique du Nitrogène est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel les plantes bénéficient de l'association microbienne (Márquez, 2021).



## 2-Phytohormones :

### 2-1-Définition :

Les hormones végétales ou phytohormones sont des molécules de signalisation, produites à l'intérieur des plantes, qui se présentent en concentrations extrêmement faibles (American Society of Plant Biologists, 2010). Les hormones végétales contrôlent tous les aspects de la croissance et du développement des plantes, l'embryogenèse (Méndez-Hernández *et al.* 2019), la régulation de la taille des organes, la défense contre les agents pathogènes (Shigenaga et Argueso, 2016) et la tolérance au stress (Ku *et al.* 2018). Went et Thimann ont inventé le terme "phytohormone" et l'ont utilisé dans le titre de leur livre de 1937 (Went et Thimann, 1937).

### 2-2-Caractéristiques :

Les hormones végétales ou autrement appelé phytohormones, se caractérisent par les attributs suivants :

- Les hormones végétales affectent les niveaux d'expression et de transcription des gènes, la division cellulaire et la croissance. Elles sont naturellement produites par les plantes, mais des substances chimiques très similaires sont produites par des champignons et des bactéries qui peuvent également affecter la croissance des plantes (Srivastava, 2003).
- Les hormones végétales ne sont pas des nutriments, mais des substances chimiques qui, en petites quantités, favorisent et influencent la croissance, le développement et la différenciation des cellules, et des tissus (Opik et Rolfe, 2005).
- Les hormones végétales se déplacent largement dans tout le corps via le tissu vasculaire (xylème et phloème) et de cellule à cellule via les plasmodesmes (Clark *et al.* 2016).
- Il est probable que chaque cellule d'une plante peut produire des hormones végétales. En revanche, de nombreuses hormones animales ne sont produites que dans des glandes spécifiques (Clark *et al.* 2016).

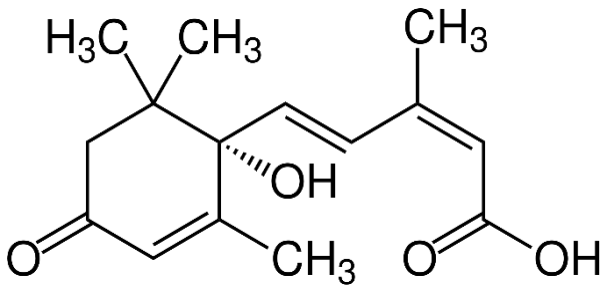
- Les concentrations d'hormones nécessaires aux réponses de plantes sont très faibles (10<sup>-6</sup> à 10<sup>-5</sup> mol/L). En raison de ces faibles concentrations, il a été très difficile d'étudier les hormones végétales, et ce n'est que depuis la fin des années 1970 que les scientifiques ont pu commencer à reconstituer leurs effets et leurs relations avec la physiologie végétale (Srivastava, 2003).

**2-3-Classes :**

Les différentes hormones peuvent être classées en différentes classes, en fonction de leur structure chimique. Au sein de chaque classe d'hormones, les structures chimiques peuvent varier, mais tous les membres d'une même classe ont des effets physiologiques similaires. Les premières recherches sur les hormones végétales ont permis d'identifier cinq classes principales : l'acide abscissique, les auxines, les cytokinines, l'éthylène et les gibbérellines (Weier et Rost, 1979). Cette liste a ensuite été élargie, les brassinostéroïdes, les jasmonates, l'acide salicylique et les strigolactones sont désormais considérés comme des hormones végétales majeures (Dilworth *et al.* 2017).

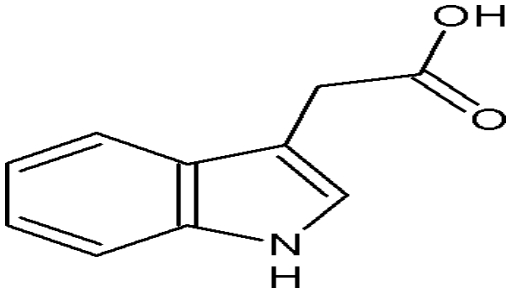
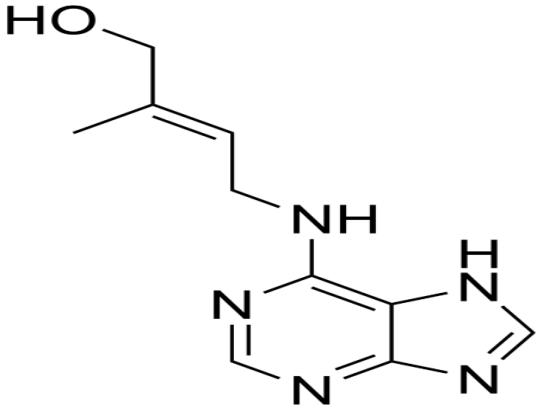
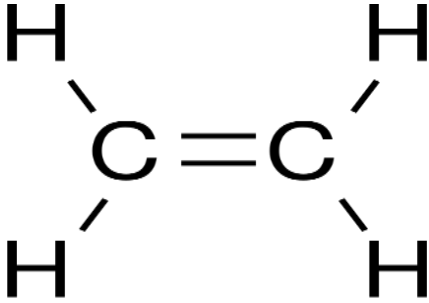
Le tableau 01 résume les classes de phytohormones et la structure chimiques de certaines hormones.

Tableau 01 : Classes et structure chimiques de certaines hormones.

Classe	Exemples	Représentation
Acide abscissique	Acide abscissique (ABA)	 <p>Acide abscissique</p>

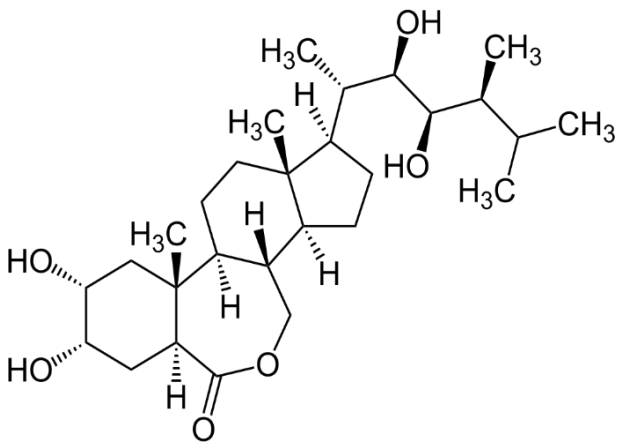
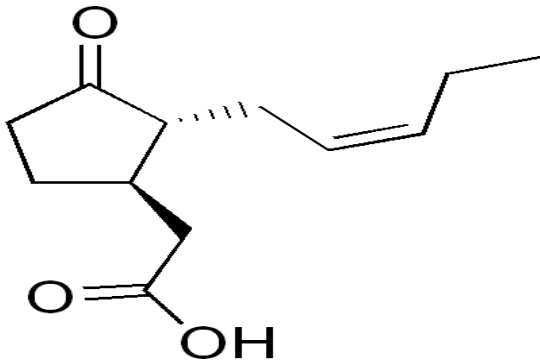
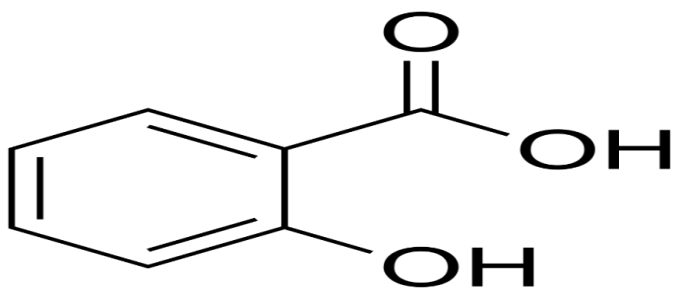
# Partie I

# Synthèse bibliographique

Auxine	Acide indole 3-acétique (AIA ou IAA) Acide naphthalène acétique (ANA)	 <p>Acide indole 3-acétique</p>
Cytokinine	Zéatine	 <p>Zéatine</p>
Ethylène	Ethylène	 <p>Ethylène</p>

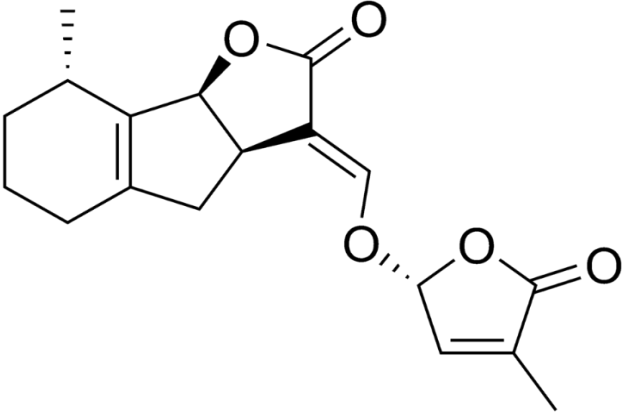
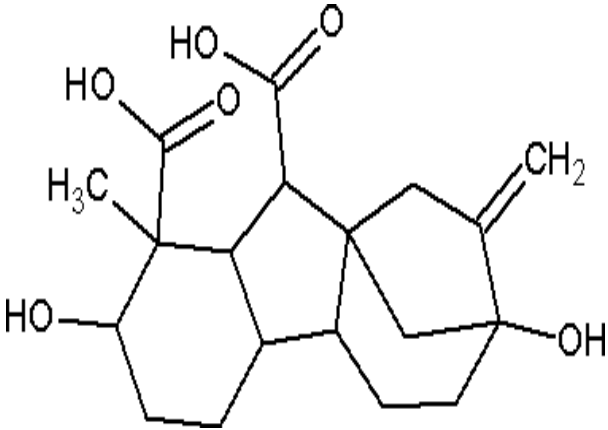
**Partie I**

**Synthèse bibliographique**

<p>Brassinostéroïde</p>	<p>Brassinolide</p>	 <p>Brassinolide</p>
<p>Jasmonate</p>	<p>Acide jasmonique jasmonate de méthyle</p>	 <p>Acide Jasmonique</p>
<p>Acide salicylique</p>	<p>Acide salicylique</p>	 <p>Acide salicylique</p>

# Partie I

# Synthèse bibliographique

Strigolactone	Sorgolactone	 <p>Sorgolactone</p>
Gibbérelline	Acide gibbérellique <sup>45</sup> 2D (GA452D)	 <p>GA452D</p>

## **3-Les phytohormones et les rhizobactéries :**

### **3-1-Les rhizobactéries :**

Les bactéries de la rhizosphère, dites rhizobactéries, sont capables de coloniser à l'intérieur ou à l'extérieur de la racine de nombreuses espèces de plantes et peuvent être divisé entre ceux qui forment une relation symbiotique avec la plante et ceux qui ne le font pas. (Kloepper *et al.* 1989).

Elles sont généralement très compétitives, capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (Peter *et al.* 2015). Ce sont des hétérotrophes typiques nécessitant des composés organiques comme source d'énergie, leurs besoins sont entièrement comblés à l'intérieur même de la rhizosphère (Campbell et Greaves, 1990).

#### **3-1-1-Les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante (RPCP) :**

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sont des bactéries du sol qui vivent autour ou sur la surface des racines. Elles sont directement ou indirectement impliquées dans la promotion de la croissance et du développement des plantes, par la production et la sécrétion de divers produits chimiques régulateurs à proximité de la rhizosphère. En général, les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes aident directement la croissance des plantes en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou en modulant les niveaux d'hormones végétales, ou indirectement en diminuant les effets inhibiteurs de divers agents pathogènes sur la croissance et le développement des plantes (Munees et Mulugeta, 2014).

#### **3-1-2-Mécanisme d'action des PGPR :**

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes, exercés par les PGPR dont les modes d'action sont directs ou indirects et peuvent varier pour un micro-organisme donné.

Les mécanismes indirects impliquent un antagonisme contre les phytopathogènes ; la production des antibiotiques, l'influence globale et l'interaction de plusieurs traits de PGPR ont tous des effets positifs possibles sur la promotion de la croissance des plantes.



## Partie I

## Synthèse bibliographique

Les mécanismes directs comprennent la capacité de produire des phytohormones comme l'acide indole acétique (AIA), gibbérellines (GAS), cytokinines (CTKS) et de l'éthylène (ETH) ... etc, et la solubilisation des nutriments minéraux tels que les phosphates (Munees et Mulugeta, 2014).

Dans le tableau 02, nous trouvons les cinq principales classes de phytohormones pouvant être identifiées dans le milieu de culture de nombreux microbes, et leurs Effet sur les plantes.

Tableau 02 : classes de phytohormones et leurs effets sur les plantes (Spaepen, 2015)

Classe	Effet sur les plantes
Auxine	Élongation et division cellulaire. Initiation de la racine. Dominance apicale.
Cytokinine	Inhibition de l'élongation des racines. Stimulation de la division cellulaire. Expansion des feuilles par élargissement des cellules. Retardement de la sénescence.
Gibbérelline	Germination des graines. Allongement des tiges. Induction florale et croissance des fruits.
Acide abscissique	Fermeture des stomates. Inhibition de la croissance des pousses. Dormance des bourgeons. Stress abiotiques et biotiques.
Ethylène	Senescence et abscission. Stress abiotiques et biotiques.

**3-2-Les phytohormones synthétisées par les bactéries :**

Les phytohormones ont également été détectées et identifiées dans de nombreux sols et bactéries et champignons associés aux plantes. Dans ces organismes, les phytohormones n'induisent pas de changements hormonaux ou physiologiques majeurs typiques. La production microbienne de phytohormones a été liée à des modifications de l'architecture des racines et à la promotion de la croissance des plantes. La présence d'une certaine phytohormone dans une culture microbienne ne suffit pas à prouver le rôle fonctionnel de cette molécule. Une preuve supplémentaire peut être la corrélation des réponses de croissance de plantes avec les niveaux d'hormones mesurés dans le milieu de culture. La preuve ultime est la culture avec une souche bactérienne mutante, déficiente dans la biosynthèse des phytohormones, pour démontrer directement l'implication de la phytohormone. (Spaepen, 2015).

Le tableau ci-dessous résume les phytohormones et les bactéries qui les synthétisent

**Tableau 03** : les phytohormones et les bactéries qui les synthétisent.

<b>Classe</b>	<b>Quelques phytohormones</b>	<b>Quelques bactéries biosynthétisantes</b>	<b>Références</b>
Auxine	AIA	<i>Bacillus Subtilis</i> <i>Bacillus Altitudinis</i> <i>Bacillus Telluris</i>	Poveda et González-Andrés, 2021
		<i>Pantoea Agglomerans</i> <i>Rhizobium Meliloti</i>	Duca <i>et al.</i> 2014

## Partie I

## Synthèse bibliographique

Cytokinine	Zéatine	<i>Bacillus Cereus</i> <i>Bacillus</i> <i>Megaterium</i>	Poveda et González- Andrés, 2021
Gibbérelline	GA1 GA3 GA4 GA20	<i>Bacillus Pumilus</i> <i>Bacillus</i> <i>Licheniformis</i>	Poveda et González- Andrés, 2021
Acide abscissique	Acide abscissique	<i>Bacillus</i> <i>Amyloliuefaciens</i> <i>Bacillus Subtilis</i> <i>Bacillus</i> <i>Marisflavi</i>	Poveda et González- Andrés, 2021
Ethylène	Ethylène	<i>Pseudomonas</i> <i>Xanthomonas</i> <i>Erwinia</i>	Spaepen, 2015

# **Chapitre II**

**Acide Indole**

**Acétique**

## Chapitre II : Acide Indole Acétique

L'auxine est le nom générique qui représente un groupe de composants chimiques, caractérisés par leur capacité à induire l'élongation des cellules dans la région subapicale de la tige et capables de stimuler la croissance de coléoptiles ou de segments de tiges chez les plantes supérieures. Ils sont les premières hormones végétales à avoir été découvertes (Hopkins, 2003).

L'auxine joue un rôle crucial dans de nombreux mécanismes physiologiques et développementaux de l'embryon et du fruit, organogenèse, différenciation du système vasculaire, mise en place de l'architecture racinaire, élongation cellulaire, tropisme et dominance apicale (Kepinski et Leyser, 2005). De nombreuses molécules possèdent un pouvoir auxinique mais la plus abondante chez les plantes est l'acide 3-indole acétique (AIA).

### 1. L'acide 3-indole acétique


L'acide indole-acétique est l'hormone végétale naturelle la plus courante de la classe des auxines. C'est la plus connue des auxines, et elle a fait l'objet d'études approfondies par les physiologistes des plantes (Sibu et Petrášek, 2011). L'AIA est un dérivé de l'indole et certains indices montrent que les plantes peuvent le produire directement à partir du tryptophane (Raven *et al.* 2007) et les exsudats des racines sont les ressources principales de tryptophane dans le sol (Zhao, 2014).

### 2-Structure chimique d'AIA :

L'acide indole-3-acétique est un acide faible avec une constante d'acidité ou constante de dissociation acide (pKa) d'environ 4,85 en solution à pH neutre. L'AIA se présente sous sa forme dissociée, anionique. Il est formé d'un noyau indole et d'une courte chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle (Hopkins, 2003).

Certaines des propriétés chimiques de l'AIA sont mentionnées dans le tableau 04.

Tableau 04 : Quelques propriétés de l'AIA (Pubchem)

Propriétés	
La formule chimique	$C_{10}H_9NO_2$
La sécurité chimique	Irritant 
La masse molaire	$175.187 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Apparence	Solide blanc
Température de fusion	168 à 170 °C
Solubilité	Insoluble dans l'eau Soluble dans l'éthanol jusqu'à 50 mg/ml

### 3-La biosynthèse de l'acide indol-3-acétique :

La production d'AIA a été observée dans de nombreuses bactéries. On assume que plus de 80% des bactéries isolées de la rhizosphère sont capables de synthétiser l'AIA (Patten et Glick, 1996 ; Khalid *et al.* 2004). La biosynthèse de l'AIA nécessite le tryptophane comme précurseur, l'ajout du tryptophane aux milieux de culture résulte dans tous les cas en une production plus élevée d'AIA. A partir du tryptophane, au moins cinq voies différentes ont été décrites pour la synthèse de l'AIA, et la plupart des voies sont similaires à celles décrites dans les plantes, mais certains intermédiaires peuvent différer (Patten et Glick, 1996, Spaepen *et al.* 2007).

Toutes les voies de biosynthèse sont présentées dans la figure 05

#### 3-1-Voie de l'indole-3-acétamide :

La voie de l'indole-3-acétamide (IAM) est présente chez plusieurs agents pathogènes et peut contribuer à la virulence de ces souches en produisant de grandes quantités d'AIA (Jameson, 2000 ; Persello-Cartieaux *et al.* 2003), les gènes et les protéines qui interviennent dans cette voie, et leurs régulations, sont bien caractérisés.

La voie se compose de deux étapes distinctes :

- Dans la première étape, le tryptophane monooxygénase (codée par le gène *iaaM*) convertit le tryptophane en (IAM)
- Dans la seconde étape, l'IAM est hydrolysée en (AIA) et en ammoniac par une (IAM) hydrolase (codée par le gène *iaaH*).

Ces deux gènes ont été caractérisés chez de nombreux phytopathogènes tels que *Agrobacterium Tumefaciens*, *Pseudomonas Savastanoi*, *Pseudomonas Syringae*, *Pantoea Agglomerans*, mais aussi chez des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote appartenant aux espèces *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* (Sekine *et al.* 1989 ; Clark *et al.* 1993 ; Morris, 1995).

### **3-2-Voie de l'indole-3-pyruvate :**

La voie de l'indole-3-pyruvate est une des voies principales de biosynthèse d'AIA chez les plantes. Cette voie a été observée aussi dans de nombreuses bactéries telles que les phytopathogènes *Pantoea Agglomerans*, les bactéries bénéfiques aux plantes (*Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter Cloacae*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas et Rhizobium*) et même les cyanobactéries. La voie est constituée de trois étapes.

Dans une première étape, le précurseur tryptophane est transaminé en (IPA) par une aminotransférase, puis l'Indole-3-Pyruvat est décarboxylé en indole-3-acétaldéhyde (IAAld), qui est ensuite oxydé en AIA par une déshydrogénase (Ruckdäschel *et al.* 1988 ; Baca *et al.* 1994).

### **3-3-Autres voies partant du tryptophane :**

#### **3-3-1-la voie de la tryptamine :**

Dans la voie de la tryptamine, le tryptophane est d'abord décarboxylé en tryptamine par un tryptophane décarboxylase et la tryptamine est directement convertie en Indole-3-acétaldéhyde par une amine oxydase. Chez *Bacillus Cereus*, une activité de tryptophane

décarboxylase a été identifiée (Perley et Stowe, 1966), et chez *Azospirillum*, la tryptamine fournie est convertie en AIA (Hartmann *et al.* 1983).

**3-3-2-La voie Indole-3-acétonitrile :**

La voie Indole-3-acétonitrile (IAN) a été largement étudiée dans les bactéries des plantes à l'aide des enzymes nommé AIA-nitrilases qui catalysent la conversion d'IAN à AIA, ce qui indique la conversion d'indole-3-acétonitrile à AIA via IAM (Kobayashi *et al.* 1995).

**3-3-3-La voie du tryptophane oxydase à chaîne latérale :**

La voie du tryptophane oxydase à chaîne latérale (tryptophan side-chain oxidase ou TSO) n'a été montrée que chez *Pseudomonas Fluorescens* souche CHA0, et dans cette voie le tryptophane est directement converti en IAAlD en contournant l'IPA. Dans la dernière étape, l'IAAlD est oxydé en AIA comme dans la voie IPA (Oberhänsli *et al.* 1991).

**3-4-La voie indépendante du tryptophane :**

L'analyse de l'Arabette des dames mutées dans la voie de biosynthèse du tryptophane a montré que les plantes sont capables de synthétiser l'AIA sans le précurseur du tryptophane, et que le point de branchement de cette voie indépendante du tryptophane se situe au niveau de l'indole-3-glycérol phosphate ou de l'indole (Last *et al.* 1991 ; Normanly *et al.* 1993).

Chez les bactéries, une voie indépendante du tryptophane a été suggérée chez *Azospirillum Brasilense* par des expériences d'alimentation avec du tryptophane marqué (Prinsen *et al.* 1993).



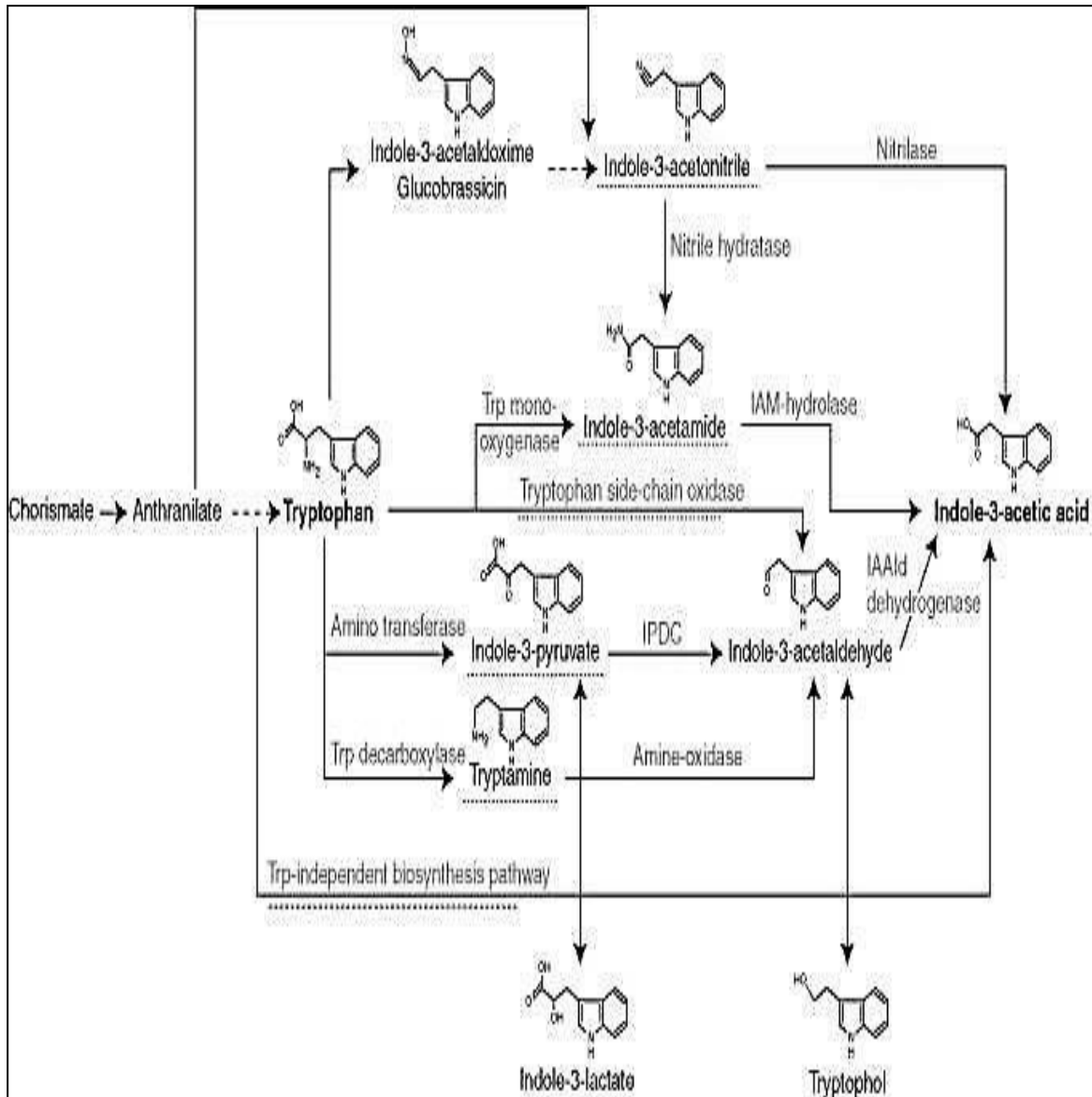


Figure 05 : La biosynthèse de l'acide indol-3-acétique (Spaepen *et al.* 2007)

#### 4-Conjugaison et dégradation de l'AIA :

Certains intermédiaires des voies de biosynthèse de l'AIA peuvent être convertis de manière réversible en composés de stockage (par exemple, la réduction de l'AIAld en acide indole-3-lactique), mais leur fonction exacte n'est pas connue.

Dans les plantes, la plupart des molécules d'AIA forment des liens covalents avec des sucres ou des acides aminés, connus sous le nom de conjugués d'AIA (Woodward et Bartel, 2005). Ces composés ont des rôles divers, comme la protection contre la dégradation (bien que dans certains cas la conjugaison soit la première étape de la dégradation), le stockage et le transport. Ces conjugués de l'AIA sont importants pour maintenir l'homéostasie de l'AIA dans les cellules (Cohen et Bandurski, 1982 ; Seidel *et al.* 2006).

Chez les bactéries, la présence de conjugués de l'AIA n'a été démontrée que pour *Pseudomonas Savastanoi* PV. *Savastanoi*. En outre, un gène (pIAA1) impliqué dans le processus de conjugaison et situé sur le plasmide a été caractérisé comme étant un indole acide 3-acétique-lysine synthétase (gène *iaaL*). Cette enzyme catalyse la formation d'une liaison entre le groupe carboxyle de l'AIA et la lysine de façon ATP-dépendante (Glass et Kosuge, 1986 ; Glass et Kosuge, 1988). L'importance de ce processus a été démontrée par des expériences sur des plantes avec un mutant dont le gène *iaaL* a été supprimé. Ce mutant est incapable d'accumuler des conjugués d'AIA dans le milieu de culture bactérien et n'a pas pu former de galle typique, ce qui indique une virulence diminuée. On a émis l'hypothèse que les conjugués d'AIA sont produits par *Pseudomonas Savastanoi* pour protéger l'AIA contre la dégradation par les enzymes végétales et qu'ils sont hydrolysés à l'intérieur des cellules végétales par les hydrolases végétales en AIA biologiquement actif, favorisant la formation de galles (Glass et Kosuge, 1988).

Chez les plantes, la dégradation de l'AIA peut se faire par catabolisme décarboxylatif de l'AIA (modification de la chaîne latérale et du cycle indole), par oxydation non décarboxylative du cycle indole ou par des conjugués de l'auxine qui peuvent être dégradés. La dégradation de l'AIA a également été mise en évidence chez de nombreuses bactéries, et plusieurs intermédiaires ont été identifiés (Leveau et Gerards, 2008).

En 2008, un groupe de gènes appelé (locus iac) impliqué dans la dégradation de l'AIA a été caractérisé chez *Pseudomonas Putida*, mais des analyses supplémentaires sont nécessaires pour proposer la voie de dégradation exacte (Leveau et Lindow, 2005 ; Leveau et Gerards, 2008).

### 5-Transport de l'AIA dans les plantes :

Au cours des premières expériences qui ont mené à l'auxine pure, on a constaté que l'auxine s'accumulait dans des blocs de gélose qui étaient placés sur la surface basale des segments de tige coupée. En revanche, si le bloc était placé sur l'extrémité apicale d'un segment de tige coupée, aucune accumulation d'auxine n'était observée. Une modification de cette expérience est devenue un pilier de la recherche sur le transport de l'auxine. Ce test a permis d'identifier des composés qui inhibent spécifiquement le transport polaire de l'auxine, fournissant ainsi des outils pour l'analyse des rôles du transport de l'auxine dans la plante (Leyser, 1999). Le traitement des plantes avec des inhibiteurs du transport de l'auxine a un large éventail d'effets. Ils perturbent la formation des axes, la différenciation vasculaire, la dominance apicale, l'organogenèse et la croissance tropique (Lomax *et al.* 1995). La plus grande partie de l'AIA est transportée dans toute la plante via le phloème, en formant des gradients de concentration et en s'accumulant dans différents tissus (Eklund *et al.* 2010 ; Tromas et Perrot-Rechenmann, 2010). Ce transport longue distance est efficace mais ne peut pas être finement régulé. Le transport polaire de l'auxine entre les cellules implique la diffusion de cette molécule à travers les parois cellulaires et les membranes. La forme hydrophobe protonée (IAAH) peut diffuser à travers les membranes cellulaires, mais la forme hydrophile anionique (AIA<sup>-</sup>) ne le peut pas (Tromas et Perrot-Rechenmann, 2010). Par conséquent, la forme anionique est transportée par des protéines appelées les transporteurs d'auxine-influx et les transporteurs d'efflux (auxin-influx carriers, efflux transporters) (Tromas et Perrot-Rechenmann, 2010). Pour plus de détails pertinents en ce qui concerne le transport de l'auxine, il est possible de se référer à (Polar Auxin Transport par Rujin Chen et František Baluška, 2013).

**6-Le rôle de l'AIA :**

L'auxine, représentée principalement par l'acide indole-acétique, est une hormone végétale qui joue un rôle central dans le contrôle de la croissance et du développement de plantes dans différentes conditions environnementales (Gomes et Scortecci, 2021).

L'AIA est synthétisé principalement dans l'apex de la tige mais aussi dans les embryons, les méristèmes, les bourgeons et les jeunes feuilles. Cette phytohormone est transportée dans les cellules du phloème, via des protéines de transports, du haut vers le bas avec très peu de diffusion latérale (Leyser, 1999).

Les actions de l'AIA sont multiples, en effet, elle stimule l'élongation des cellules et la dominance apicale, favorise l'initiation des racines adventives, la fructification et la germination des graines et prévient l'abscission des feuilles.

***a. L'élongation cellulaire :***

Le rôle principal de l'AIA est la stimulation de l'élongation cellulaire. Ce processus complexe fait intervenir l'absorption d'eau, l'extension de la paroi sous l'effet de la turgescence, et l'incorporation de nouveaux composés. Dans ce cadre, l'AIA joue un rôle capital dans la stimulation de l'entrée de l'eau dans les vacuoles en favorisant la synthèse des aquaporines (canaux protéiques à eau qui se trouve dans la membrane). L'entrée d'eau provoque ainsi l'augmentation de la taille de la cellule. L'AIA active, également, la synthèse des enzymes comme la cellulose synthase ce qui permet la reconstitution de la paroi (Mateusz et Robert, 2018).

***b. La division cellulaire :***

L'AIA est impliqué dans le contrôle de la division cellulaire chez les végétaux. En effet, un fragment d'une plante placé dans un milieu riche en AIA provoque l'apparition de cellules indifférenciées à partir de cellules différenciées après perte de leurs spécialisations, ces cellules sont appelées cals. Cet effet physiologique est surtout valorisé lors de la sélection de nouvelles variétés (Perrot-Rechenmann, 2010).

***c. Dominance apicale :***

Grâce à l'action de l'AIA, le bourgeon apical exerce sa dominance en inhibant le développement des bourgeons axillaires. Lorsque la concentration de l'AIA diminue progressivement, l'inhibition s'exerce seulement sur une partie plus ou moins grande de la tige, variable selon les plantes (Tesfamichael, 2017).

***d. La rhizogenèse :***

Appelée aussi hormone de bouturage, l'AIA intervient dans le processus de la rhizogenèse. A forte dose, l'AIA induit la formation de nouvelles racines en surmontant la dominance apicale racinaire résultant de l'effet des cytokinines. Cet effet physiologique est surtout appliqué pour provoquer l'enracinement rapide des boutures (Collet et Le, 1987).

***e. Abscission des feuilles :***

L'AIA retarde la sénescence et empêche la chute des feuilles en inhibant la formation de tissu d'abscission ou de rupture, responsable de la chute des feuilles. Ces tissus se trouvent dans la partie basse du pétiole. En présence d'un excès d'AIA, la synthèse de l'éthylène est, par ailleurs, stimulée ainsi la formation des tissus d'abscission est favorisée (Xu Jin *et al.* 2015).

***f. La croissance des fruits :***

L'AIA est essentielle lors de la croissance des fruits. Elle intervient particulièrement dans le processus de la production des fruits sans fécondation de l'ovule appelé aussi le processus de parthénocarpié. En outre, elle favorise le développement rapide du péricarpe autour des graines lors de la fructification. Cette faculté est, en effet, utilisée pour produire des fruits sans graine tel que la tomate, le kaki (Pandolfini *et al.* 2007)

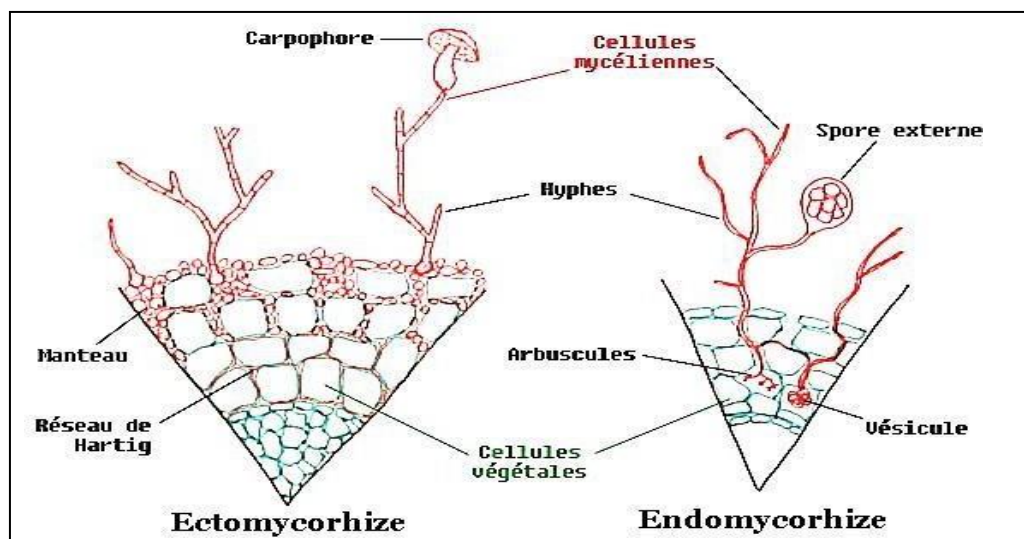
### 7-L'AIA et le microbiote du sol :

Un large éventail de micro-organismes peut s'associer aux plantes, donnant lieu à des interactions neutres, amicales ou hostiles. La capacité des plantes à reconnaître les microorganismes compatibles et incompatibles et à limiter ou favoriser leur colonisation est donc cruciale pour leur survie. Au cœur de ces régulations des interactions plantes-microbes, les phytohormones modulent les associations plantes-microorganismes et coordonnent les réponses cellulaires et métaboliques associées à la progression des microorganismes dans les différents tissus végétaux (Boivin *et al.* 2016).

On va se concentrer principalement sur l'AIA et son rôle dans les interactions entre les racines des plantes et les microorganismes du sol, y compris les associations de bactéries et de champignons, qu'ils soient bénéfiques ou pathogènes.

#### 7-1- L'AIA dans les symbioses plante-champignon :

La mycorhize (du grec myco, « champignon » et rhiza, « racine ») est le résultat de l'association symbiotique, appelée mycorhization, entre les champignons et les racines de plantes. On distingue deux types principaux de mycorhizes, comme illustré dans la figure 06, définis par les relations physio-anatomiques entre les deux partenaires : Les ectomycorhizes (mycorhizes externes) et les endomycorhizes (mycorhizes internes, mycorhize arbusculaire est le cas le plus répandu).



**Figure 06 :** Une coupe d'une racine mycorrhizée (Source : [fr.wikipedia.org/wiki/Ectomycorhize](http://fr.wikipedia.org/wiki/Ectomycorhize))

Les deux types de symbioses plante-fongique, (ECM) et (AM), présentent des exigences de régulation hormonale différentes, notamment en ce qui concerne les auxines.

Les champignons d'ECM, tels que *Laccaria Bicolor*, *Tuber Borchii* et *Tuber Melanosporum*, produisent des quantités mesurables d'AIA, provoquant des modifications morphologiques des racines de l'hôte (*Cistus Incanus*) en fonction d'une interaction directe ou indirecte avec le champignon (Karabaghli *et al.* 1998, Felten *et al.* 2009, Splivallo *et al.* 2009). En conséquence, la présence de mycéliums fongiques réduit la croissance des racines et augmente la ramification des racines de la plante hôte, comme cela a été observé chez *Cistus Incanus* et *Populus Trichocarpa*, et de la même manière qu'un traitement à l'AIA exogène (Felten *et al.* 2009, Splivallo *et al.* 2009). Chez *Arabidopsis Thaliana*, le mycélium ectomycorhizien Truffle favorise également la croissance de poils racinaires et la formation de racines latérales (Splivallo *et al.* 2009).

L'AM obtient des glucides, en échange, il fournit des nutriments minéraux à la plante, notamment du phosphate ce qui permet d'améliorer considérablement la nutrition des plantes dans les sols peu fertiles (Bago *et al.* 2003 ; Smith et Smith, 2011). Après la germination des spores, le champignon forme un hyphopode à la surface de la racine, pénètre dans le rhizoderme, colonise le tissu racinaire de manière intercellulaire, et finalement, forme des structures hautement ramifiées appelées arbuscules dans les cellules corticales, où les nutriments minéraux sont libérés vers l'hôte (Parniske, 2008 ; Harrison, 2012). Il a été suggéré que l'auxine joue un rôle dans la symbiose AM, mais son rôle exact dans ce type d'interaction reste difficile à déterminer (Hause *et al.* 2007 ; Hanlon et Coenen, 2011). Meixner *et al.* (2005) ont constaté que les niveaux d'acide indole acétique étaient plus élevés dans les racines de soja mycorhizée. Cette augmentation de la teneur en AIA dans les racines mycorhizées était plus faible chez un mutant déficient dans l'autorégulation de la nodulation, ce qui suggère que l'AIA joue un rôle dans l'autorégulation de la mycorhization. De même, une forte diminution de la colonisation de la AM, mais avec des structures fongiques normales, a été observée dans la tomate résistante à l'auxine et dans la tomate hyper transporteuse d'auxine, ce qui indique que l'auxine joue un rôle dans la colonisation de la AM (Hanlon et Coenen, 2011).

## 7-2- L'AIA dans les symbioses plantes-bactéries :

### 7-2-1-Phytopathogènes :

*Agrobacterium Tumefaciens* transfère l'ADN-T, codant pour les gènes de biosynthèse de l'auxine et de la cytokinine (entre autres), après l'infection de la plante dans le génome de celle-ci. L'expression de ces gènes entraîne une forte accumulation de phytohormones. En fonction de la souche d'*Agrobacterium*, et donc de la nature exacte des gènes. Le transfert d'ADN-T donne lieu soit à des tissus végétaux indifférenciés (tumeurs), soit à des racines poilues (Zambryski, 1992 ; Zupan *et al.* 2000).

La production de phytohormones est une caractéristique de nombreuses bactéries phytopathogènes formant des galles telles que *Pantoea Agglomerans*, *Pseudomonas Savastanoi* PV. *Savastanoi*, *Pseudomonas Syringae* PV. *Syringae*, *Ralstoni Solanacearum* et *Rhodococcus Fascians* (Morris, 1995 ; Vandeputte *et al.* 2005 ; Valls *et al.* 2006). Les gènes de biosynthèse de l'auxine sont situés soit sur le chromosome, soit sur un plasmide. La localisation module le niveau d'AIA, cette différence est illustrée par la différence de production d'AIA entre *Pseudomonas Savastanoi* PV. *Savastanoi* et *Pseudomonas Syringae* PV. *Syringae*. Dans la première souche, les gènes sont situés sur un plasmide, alors que dans la seconde souche, les gènes de biosynthèse de l'AIA sont situés sur l'ADN chromosomique, ce qui entraîne une production d'AIA plus faible (Mazzola et White 1994 ; Patten et Glick, 1996 ; Brandl et Lindow, 1996). La voie (IAM) est principalement liée à la phytopathologie, tandis que la voie (IPA) est impliquée dans l'aptitude épiphytique et rhizosphérique. Chez la bactérie formant des galles, *Pantoea Agglomerans* PV. *Gypsophylae*, les voies (IAM) et (IPA) sont toutes deux présentes. Une réduction de la taille des galles a été observée par l'inactivation de la voie (IAM), alors que seule une réduction mineure de la pathogénicité est observée lors de l'inactivation de la voie (IPA). L'effet inverse a été observé lorsqu'on s'est intéressé à l'aptitude épiphyte. Il est donc conclu que la voie (IAM) est principalement liée à la phytopathologie, alors que la voie (IPA) est impliquée dans l'aptitude épiphytique (Manulis *et al.* 1998).



**7-2-2- Symbiose :**

L'auxine est présente dans de nombreux processus de formation de nodules par les rhizobia dans les plantes légumineuses, tels que la spécification des cellules fondatrices avec l'inhibition du transport de l'auxine, l'initiation et la différenciation des nodules par l'accumulation de l'auxine, la formation des faisceaux vasculaires et le nombre de nodules grâce au transport de l'auxine sur de longues distances. Comme de nombreux rhizobia et *Frankia* sont capables de produire de l'AIA par différentes voies, on suppose que l'auxine produite par les bactéries peut modifier l'équilibre de l'auxine à l'intérieur de la plante. En outre, les rhizobia peuvent également influencer indirectement l'homéostasie de l'auxine en interférant avec le transport de l'auxine dans la plante (Mathesius, 2008).

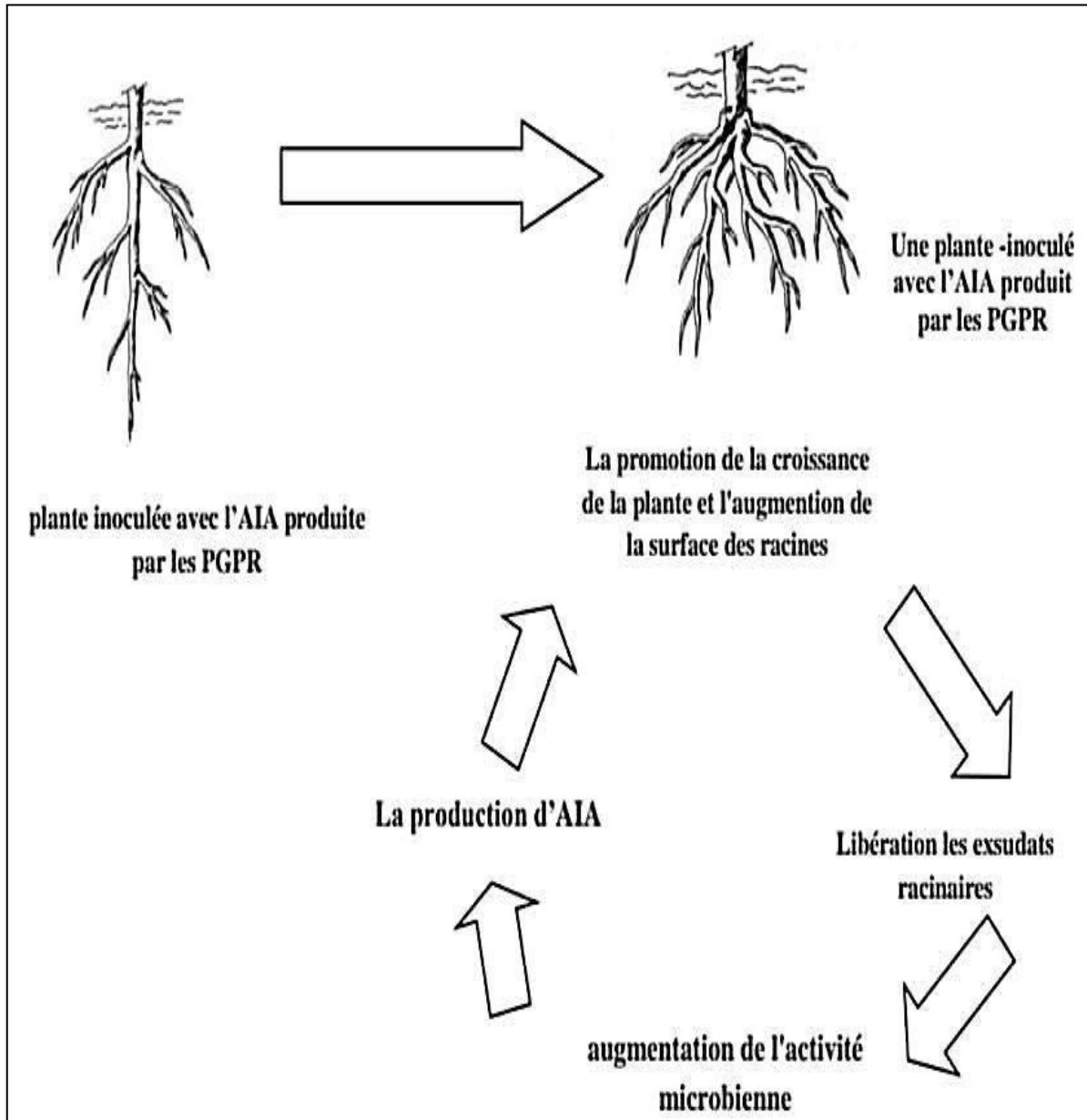
Les expériences de Bianco et Defez (2010) ont montré que l'inoculation de *Medicago Truncatula* avec la souche surproductrice d'AIA a permis une meilleure croissance des plantes en cas de carence en phosphore en raison de la libération d'acides organiques par la bactérie. La co-inoculation du haricot commun avec *Azospirillum* et *Rhizobium* a montré une nodulation plus précoce et plus rapide et des rendements de récolte plus élevés. En outre, le nombre de nodules et la fixation biologique de l'azote sont augmentés. Avec un mutant d'*Azospirillum*, produisant 10% de l'AIA produit par la souche non mutante, l'augmentation de la nodulation et de la fixation de l'azote n'a pas été observée, ce qui indique que la production bactérienne d'AIA est importante dans la symbiose (Remans *et al.* 2008).

**7-2-3- Les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante :**

Lors de l'inoculation des plantes avec des RPCP, la surface totale des racines augmente, ce qui entraîne une augmentation de l'absorption des minéraux du sol et de l'exsudation des racines (ce qui stimule d'avantage la colonisation des racines par les RPCP). Ces changements morphologiques de la racine ont été attribués à la production bactérienne d'auxine, et des études avec des mutants altérés dans la production d'AIA confirment son rôle important. L'effet des bactéries sur la croissance des plantes, pour lequel il a été démontré que l'auxine est impliquée, est connu sous le nom de phytostimulation. Cependant, comme la plupart des mutants dans la production d'AIA sont encore capables de promouvoir une certaine croissance de plantes, la biosynthèse de l'AIA

n'est pas à elle seule responsable de l'effet global observé (Xie *et al.* 1996 ; Dobbelaere *et al.* 1999 ; Dobbelaere *et al.* 2003).

La relation entre les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante et la plante est illustrée par la figure 07.

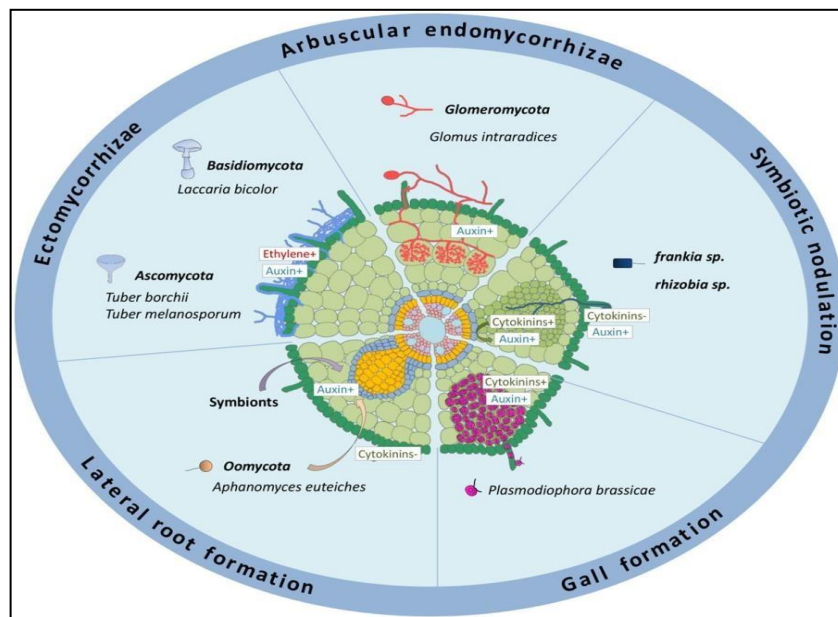


**Figure 07** : le rôle d'AIA microbienne dans la plante (Dinesh, 2011).

La racine schématisée dans la figure 08 représente différentes interactions se produisant sur les systèmes racinaires de différentes espèces végétales :

- ✓ Les ectomycorhizes, formées principalement sur les racines des arbres.
- ✓ Les endomycorhizes à arbuscules, présentes chez la plupart des plantes terrestres.
- ✓ La nodulation symbiotique chez les légumes (*Rhizobia*) ou les plantes actinorhiziennes (*Frankia*).
- ✓ Les galles formées dans les racines de certaines plantes *Brassicaceae*.
- ✓ L'effet des symbiotes et des oomycètes pathogènes sur le développement des racines latérales

Le métabolisme et/ou la réponse de l'AIA sont positivement associés à (ECM), à (l'AM), et aux interactions symbiotiques entre *Rhizobia* et *Frankia* (soit en relation avec les infections et/ou l'organogenèse des nodules), à l'interaction avec plusieurs pathogènes des racines (agissant soit positivement soit négativement sur la susceptibilité pathogène). Les auxines produites par différents micro-organismes rhizosphériques stimulent la formation de racines latérales (Boivin *et al.* 2016).



**Figure 08** : Rôles des auxines et des cytokinines dans des différentes interactions biotiques qui affectent le système racinaire (Boivin *et al.* 2016)

# **Matériel et méthodes**

De nombreuses rhizobactéries isolées de la rhizosphère des plantes produisent des phytohormones, dont la plus courante est l'acide indole-3-acétique. On décrit dans ce chapitre les protocoles analytiques de détection de l'AIA.

### **1-Quantification par spectrophotométrie :**

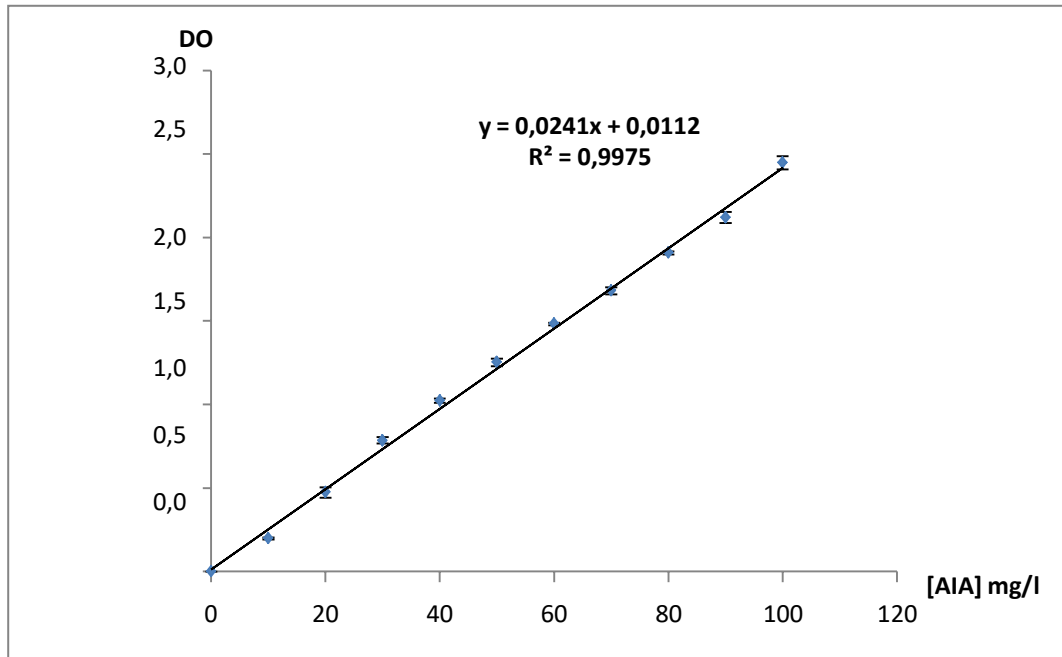
La production d'AIA par les bactéries est testée sur le milieu LB (10 g de peptone, 5g d'extrait de levures, 10g de NaCl) additionné de 1% de tryptophane. Le milieu est ensemencé par 100 µL d'une culture jeune de l'isolat à tester puis incubé à 30°C pendant 96h. Après incubation, les cultures sont centrifugées à 5000 rpm pendant 20min. Un ml du surnageant est mélangé avec 2ml du réactif de Salkowski. Une demi-heure plus tard, l'absorbance est mesurée à 530 nm. Les valeurs d'AIA produite par chaque souche sont calculées par extrapolation sur une courbe standard préparée de la même façon avec de l'AIA pure. Le développement d'une couleur rose après l'addition du réactif de Salkowski indique la production d'AIA par l'isolat (Bric et *al* 1991)

#### **a-Réactif Salkowski :**

1. On dissout 8,125 g de FeCl<sub>3</sub> dans 100 ml d'eau distillée
2. Pour diluer facilement l'acide perchlorique, on mesure 24,5 ml d'eau distillée dans un cylindre de mesure et on ajoute 24,5 ml d'acide perchlorique concentré.
3. On ajoute 1 ml de solution de chlorure ferrique à 49 ml d'acide perchlorique 35%.
4. On mélange bien et on conserve dans une bouteille brun foncé à température ambiante.

#### **b-Courbe d'étalonnage**

L'estimation quantitative de l'AIA est effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage préparée par des concentrations croissantes du AIA (Sigma-Aldrich), dans un intervalle de 0 à 100 mg/l (Figure09).



**Figure 09 :** Courbe d'étalonnage de l'AIA.

## 2-Quantification par LC-MS/MS :

### a-Préparation de l'échantillon :

1. On prépare 100 ml de milieu de bouillon nutritif complété par 0,5 g de tryptophane dans un erlenmeyer de 250 ml.
2. On ajoute 100 µl de la jeune culture dans le milieu d'essai et on le mélange pour obtenir une suspension uniforme.
3. On l'incube dans l'obscurité à 30 °C sous agitation à 120 rpm pendant 72 h.
4. Pour séparer les cellules, on centrifuge à 4 °C pendant 20 minutes à 2800g et on recueille le surnageant.
5. On transfère le surnageant dans une bouteille en verre à bouchon à vis de 250 ml puis, on ajoute 2-3 gouttes de HCl concentré pour atteindre un pH de 2,5-3.
6. Pour retirer l'AIA, ajouter le double du volume d'acétate d'éthyle au surnageant acidifié et agiter vigoureusement pendant 5 min.
7. On laisse le mélange reposer à température ambiante pendant 10 min pour obtenir la couche supérieure d'acétate d'éthyle. On utilise cette couche pour la suite du traitement.
8. Dans un évaporateur rotatif, on règle la température du bain-marie à la température d'ébullition de l'acétate d'éthyle, c'est-à-dire 77,1 °C. Le temps de séchage du système de solvant varie en fonction du volume de l'échantillon.

9. On transfère la couche d'acétate d'éthyle dans le ballon à fond rond et on ajuste sa rotation pour éviter tout cognement de l'échantillon liquide. (Le cognement est le phénomène en chimie où des liquides homogènes bouillis dans un tube à essai ou un autre récipient se surchauffent et, lors de la nucléation, l'ébullition rapide expulse le liquide du récipient).
10. Après évaporation complète de l'acétate d'éthyle liquide, l'AIA pur reste sous forme cristalline attachée au fond du ballon rotatif.
11. On arrête tous les appareils de l'évaporateur rotatif et on retire le ballon à fond rond.
12. On dissout l'AIA cristallin dans 5 ml de méthanol à 20 % et on le conserve à -20 °C

### **b- Analyse par LC-MS/MS :**

1. On filtre l'extrait de méthanol stocké (100 µl) à l'aide de filtres à seringue stériles de 0,2 µm de manière à séparer les particules insolubles et les composés les plus gros. Ceci est l'échantillon final d'analyse.
2. Une colonne Phenomenex Luna C18(2) (100 mm x 2 mm x 3 µm) à une température de 50
3. °C est utilisée comme système de chromatographie.
4. Un système de solvant à gradient de 10% de solvant A (2% acétonitrile, 10 mmol formate d'ammonium, pH 4.2) à 90% de solvant B (94.9% CH<sub>3</sub>CN, 5% H<sub>2</sub>O, 0.1% acide formique) est utilisé pour la colonne sur 10 min à un débit de 250 ml/min.
5. On lave la colonne avec le solvant B à 90 % pendant 3 min, puis on rééquilibre avec le solvant A à 90 % pendant 6 min.
6. On utilise des injections de 10 µl pour charger l'échantillon pour l'analyse.
7. Le MS est configuré avec une source Turbo Spray Ion Drive où la température de la source est réglée à 500 °C et la tension du spray ionique à 5500 V.
8. On analyse l'AIA par surveillance des réactions multiples (MRM) en mode positif en utilisant une transition de 176 > 130 avec une énergie de collision de 20 eV. On règle le potentiel de séparation, le potentiel de sortie et le potentiel de sortie de la cellule de collision à 30 V, 10 V et 10 V respectivement.

**Analyse  
des travaux  
antérieurs**



De nombreuses études ont été réalisées sur la capacité des rhizobactéries à produire l'AIA. On présente dans ce chapitre une petite sélection.

L'acide indole-acétique est l'hormone végétale naturelle la plus courante de la classe des auxines. Elle a fait l'objet d'études approfondies par les physiologistes des plantes (Sibu et Petrášek, 2011). La production d'AIA a été observée dans de nombreuses bactéries. Il est estimé que plus de 80% des bactéries isolées de la rhizosphère sont capables de synthétiser l'AIA (Patten et Glick, 1996 ; Khalid *et al.* 2004). La biosynthèse de cette auxine par les microorganismes, peut se faire en présence ou en absence de tryptophane par différentes voies. Cinq voies, au minimum, ont été décrites dans la littérature. La plupart de ces voies sont similaires à celles décrites dans les plantes, mais certains intermédiaires peuvent différer (Patten et Glick, 1996, Spaepen *et al.* 2007). La voie indépendante du tryptophane a été suggérée chez *Azospirillum Brasilense* après des expériences d'alimentation avec du tryptophane marqué (Prinsen *et al.* 1993).

Les bactéries localisées dans la rhizosphère doivent tolérer divers environnements extrêmes. Tels que ; des changements du pH de la rhizosphère, différents apports en glucides et en acides aminés, des températures extrêmes et autre facteurs environnementaux qui peuvent affecter la synthèse de l'AIA par ces bactéries.

**Leinhos (1994)** a étudié l'effet du pH et de la concentration du glucose dans milieu de culture sur la production d'AIA, chez deux souches de *Pseudomonas Aeruginosa* isolées de la rhizosphère du blé ou du seigle. Au cours d'une culture de sept jours de ces souches, dans un milieu ajusté à pH 4,5, la quantité d'AIA était plus faible par rapport à la culture à pH 7,0. Ces souches ont été également cultivées dans un milieu additionné à différentes quantités de glucose (0 à 5%). Les deux souches ont produit les quantités les plus élevées d'AIA (0,29 mg/l et 1,89 mg/l) en présence de 1% de glucose. Tandis qu'aux niveaux inférieurs ou supérieurs, la production d'AIA a diminué de manière significative. Les résultats, de cette étude, indiquent que les facteurs environnementaux comme le pH et la concentration en glucose influencent la production d'AIA par rhizobactéries.

De nombreuses études suggèrent que le génome est un facteur limitant la production d'AIA. L'exemple des gènes qui codent pour des enzymes comme la tryptophane monooxygénase et l'indole-3-acétamide hydrolase, qui sont toutes deux nécessaires à la voie indole-3-acétamide de la biosynthèse des AIA (Spaepen *et al.* 2007). Il a également été démontré que l'emplacement des gènes de biosynthèse de l'auxine dans le génome, qu'il soit plasmidique ou chromosomique,

modulait le niveau de production de l'AIA. Les plasmides sont généralement présents en plusieurs copies dans la cellule bactérienne, fournissant un plus grand nombre de gènes de biosynthèse de l'AIA qui peuvent être transcrits par rapport aux gènes de biosynthèse de l'AIA qui sont situés sur le chromosome (Patten et Glick, 1996 ; Brandl et Lindow, 1996).

**Daoud et Kreiri (2016)** ont étudiées les conditions optimales de production d'AIA chez deux isolats (S1 et S2) de *Stenotrophomonas Maltophilia* isolés en Algérie. Ils ont montré que la concentration optimale de tryptophane pour la biosynthèse d'AIA était de 1 g/l. Sous cette concentration, la quantité d'AIA est de 68,95 µg/ml et 62,64 µg/ml pour les isolats S1 et S2 respectivement. La production maximale d'AIA est obtenue en présence d'acide malique comme source de carbone et du NH<sub>4</sub>Cl comme source d'azote, à pH=6 avec une température d'incubation de 30 °C.

Une autre étude qui mérite d'être mentionnée est celle de **Chandra et al. (2018)** qui ont non seulement quantifié la quantité d'AIA produite par trois souches codées ; CA1001, CA2003, CA2004, isolées de la rhizosphère de *Stevia Rebaudiana* mais aussi vérifié le rôle de cette phytohormone. Ils ont prouvé que le glucose est la meilleure source de carbone pour les trois souches testées ; 50 µg/ml d'AIA en présence de 1,5% de glucose. La souche CA1001 a été capable de produire une quantité élevée d'AIA dans tous les intervalles de pH testée. La quantité d'AIA a varié de 74.3 µg/ml à pH 5 à 91.7 µg/ml à pH 9. Contrairement à la souche CA2003 qui a montré une production maximale (73.71 µg/ml) à pH 5, et une diminution de production dans l'intervalle de pH 6-9. Tandis que la souche CA2004 a produit 21.16 µg /ml d'AIA à pH 5 et un maximum de 53.06 µg /ml d'AIA à pH 6. L'effet de la température a été étudié dans l'intervalle de 25-45 °C, le rendement maximal de 84,3 µg/ml ayant été observé à 37 °C par l'isolat CA 1001.

Pour étudier l'effet PGP, des graines de blé, de sorgho et de haricot mungo ont été inoculé par les trois souches étudiées. La CA1001 et CA2004 ont montré un effet significatif de l'inoculation avec une production de 39,33 mg de biomasse racinaire séché par rapport au contrôle (16,66) mg chez le haricot mungo. Dans cette étude le haricot mungo a montré la meilleure réponse à l'inoculation par rapport au blé et au sorgho.

**Gusmiaty et al (2019)** ont testé la capacité de 35 isolats rhizobactériens à produire de la gibbérélline et de l'AIA. Ils ont prouvé que la production d'AIA dans le sol s'initie et se multiplie jusqu'à 2,7 fois par la présence de tryptophane. Les taux d'AIA étaient compris entre 0,389 mg/l et 2,370 mg/l, ce qui prouve que la quantité d'AIA produite dépend des bactéries étudiées et même des souches de bactéries.

**Suliasih et Widawati (2020)** ont optimisé la production d'AIA chez une souche *Bacillus Siamensis* isolé à partir de la tourbe. Le résultat obtenu a montré que la production maximale d'AIA de *Bacillus Siamensis* a été atteinte à 96 heures d'incubation. Le milieu de culture supplémenté de 250 ppm de tryptophane a donné le meilleur taux d'AIA (9,89 µg/ml). Cette bactérie a produit des niveaux optimaux d'AIA en présence de saccharose (10,23 µg/ml) et de tryptone (16,61 µg/ml) comme sources de carbone et d'azote respectivement. En ce qui concerne les paramètres physiques, la production maximale d'AIA a été enregistrée à une température de 35°C (8,42 µg/ml) et à un pH de 8,0 (13,29 µg/ml).

**Lebrazi et al. (2020)** ont isolé des rhizobia à partir de nodules racinaires d'*Acacia Cyanophylla* puis ont analysé leur capacité à produire de l'AIA. Ensuite, l'effet de l'inoculation sur la germination des graines d'*Acacia Cyanophylla* a été étudié en utilisant les isolats les plus performants en termes de production d'AIA. Les résultats obtenus ont montré que la majorité des isolats testés étaient capables de produire de l'AIA avec une concentration relativement plus élevée, de 135 µg/ml pour l'isolat I69, suivi des isolats I22 et I75 avec des concentrations respectives de 116 µg/ml et 105 µg/ml d'AIA. La production d'AIA et les paramètres de croissance végétale ont été significativement améliorés par l'effet synergique de l'isolat I69 et de l'isolat I22.

**Poveda et González-Andrés (2021)** ont rassemblé un grand nombre d'études sur les phytohormones produites par le genre *Bacillus*. Ils ont démontré que les espèces de *Bacillus* peuvent produire des quantités importantes d'AIA même en absence de tryptophane. Par exemple *Bacillus Cereus*, *Bacillus Megaterium*, *Bacillus Pumilus* produisent de 2,7 à 22,2 µg/ml d'IAA sans ajout de tryptophane. Tandis que *Bacillus Subtilis* peut produire de 170 µg/ml à 310 µg/ml d'AIA dans les mêmes conditions. Les auteurs de cette étude rapportent que le genre *Bacillus* est une source de phytohormones.

# Conclusion

## Conclusion

Les principaux objectifs de notre travail étaient de déterminer le rôle de l'AIA dans les interactions plantes-sol-microbes, ainsi que les méthodes de détection et de quantification de cette phytohormone produite par les microorganismes rhizosphérique.

Comme il a été déjà mentionné, cette hormone joue un rôle dans l'interaction symbiotique plante-fongique en réduisant la croissance des racines tout en augmentant la ramification des racines de la plante hôte. L'AIA favorise la croissance du poil racinaire ainsi que la formation de racines latérales. L'AM obtient des glucides, en échange, il fournit des nutriments minéraux à la plante. On a constaté que les niveaux d'acide indole acétique étaient plus élevés dans les racines de soja mycorhizé. Cette augmentation de la teneur en AIA dans les racines mycorhizées était plus faible chez un mutant déficient dans l'autorégulation de la nodulation. De même, une forte diminution de la colonisation de la AM a été observée dans la tomate résistante à l'auxine et dans la tomate hypertransporteuse d'auxine (Boivin *et al.* 2016). Ceci indique que l'auxine joue un rôle dans la colonisation de la AM.

Il s'est avéré aussi que l'AIA est crucial dans les interactions entre les plantes et les bactéries. Il est présent dans de nombreux processus de formation des nodules par les rhizobia, tels que la spécification des cellules fondatrices, l'initiation et la différenciation des nodules, la formation des faisceaux vasculaires. Mais l'AIA est également utilisée par de nombreuses bactéries pathogènes pour infecter la plante hôte et induire des tumeurs (Spaepen *et al.* 2007).

Il est possible de détecter la présence de l'AIA à l'aide du réactif de Salkowski. Pour mesurer la quantité, on peut utiliser la chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse (Gang *et al.* 2019) ou bien la spectrophotométrie (Daoued et Kreiri, 2016).

La quantité d'AIA varie fortement en fonction de nombreux facteurs. En commençant par la bactérie elle-même jusqu'aux conditions physiques et chimiques tels que le pH, la température, la durée d'incubation ... (Patten et Glick, 1996 ; Brandl et Lindow, 1996 ; Suliasih et Widawati, 2020 ; Daoud et Kreiri, 2016).

Finalement, les rhizobactéries ont une grande capacité à produire de l'acide indole acétique et peuvent être utilisées comme une alternative aux engrais azotés comme inoculant microbien. Ainsi, il est nécessaire de faire des études expérimentales pour la détermination des souches bactériennes qui peuvent conduire à une meilleure optimisation *in vitro* de la production de l'hormone de croissance végétale pour être utilisé comme bio-stimulant pour l'amélioration de la production agricole.

# **Références**

# **Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

### A

1. **American Society of Plant Biologists 2010:** Introduction to Phytohormones in The Plant Cell Volume 22 Issue 3.

### B

2. **Baca et al. 1994:** Characterization of two aromatic amino acid aminotransferases and production of indoleacetic acid in Azospirillum strains in Soil Biology and Biochemistry Volume 26 Issue 1 pages 57-63.
3. **Bago et al. 2003:** Carbon Export from Arbuscular Mycorrhizal Roots Involves the Translocation of Carbohydrate as well as Lipid in Plant Physiology Volume 131 Issue 3 pages 1496–1507.
4. **Bianco et Defez 2010:** Improvement of Phosphate Solubilization and Medicago Plant Yield by an Indole-3-Acetic Acid-Overproducing Strain of *Sinorhizobium Meliloti* in Applied and Environmental Microbiology Volume 76 Number 14.
5. **Boivin et al. 2016:** How Auxin and Cytokinin Phytohormones Modulate Root Microbe Interactions in Front.Plant Sci. Volume 7.
6. **Brandl et Lindow 1996:** Cloning and characterization of a locus encoding an indolepyruvate decarboxylase involved in indole-3-acetic acid synthesis in *Erwinia Herbicola* in Applied and Environmental Microbiology Volume 62 Number 11.
7. **Bric et al. 1991:** Rapid in Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane in Appl Environ Microbiol Volume 57 Issue 2 pages 535-538

### C

8. **Campbell et Greaves 1990:** Bacterial Diversity in the Bulk Soil and Rhizosphere Fractions of *Lolium Perenne* and *Trifolium Repens* as Revealed by PCR Restriction Analysis of 16S rDNA in Plant and Soil volume 198 pages 219-224.
9. **Chandra et al. 2018:** Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia Rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth in Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Volume 16 Issue 2 pages 581-586

## Références Bibliographiques

10. **Charles Darwin 1880:** The power of movement in plants.
11. **Clark *et al.* 1993:** Cloning and characterization of *iaaM* and *iaaH* from *Erwinia Herbicola Pathovar Gypsophilae* Volume 83 Issue 2 pages 234-240.
12. **Clark *et al.* 2016:** Plant Sensory Systems and Responses in Biology.
13. **Cohen et Bandurski 1982:** Chemistry and Physiology of the Bound Auxins in Annual Review of Plant Physiology Volume 33 pages 403-430.
14. **Collet et Le 1987:** Role of Auxin during In Vitro Rhizogenesis of Rose and Apple Trees.
15. **Curl et Truelove 1986:** The rhizosphere (1986), Ed 2012.

### D

16. **Daoued et Kreiri 2016 :** Optimisation de la production de l'AIA par des rhizobactéries. Mémoire de master Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
17. **Davies 1995:** Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.
18. **Dilworth *et al.* 2017:** Plant Constituents: Carbohydrates, Oils, Resins, Balsams, and Plant Hormones in Pharmacognosy pages 61-80.
19. **Dinesh 2011:** Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management.
20. **Dobbelaere *et al.* 1999:** Phytostimulatory effect of *Azospirillum Brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat in Plant and Soil Volume 212 pages 153–162.
21. **Dobbelaere *et al.* 2003:** Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere in Critical Reviews in Plant Sciences Volume 22 Issue 2 pages 107-149.
22. **Duca *et al.* 2014:** Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions in Antonie van Leeuwenhoek Volume 106 pages 85–125.

### E

23. **Eklund *et al.* 2010:** Homologues of the *Arabidopsis Thaliana* SHI/STY/LRP1 genes control auxin biosynthesis and affect growth and development in the moss *Physcomitrella Patens* in Development Volume 137 Issue 8 pages 1275–1284.



## Références Bibliographiques

### F

- 24. Felten et al. 2009:** The Ectomycorrhizal Fungus *Laccaria Bicolor* Stimulates Lateral Root Formation in Poplar and *Arabidopsis* through Auxin Transport and Signaling in *Plant physiology* Volume 151 Issue 4 pages 1991-2005.

### G

- 25. Gang et al. 2019:** Analysis of Indole-3-acetic Acid (IAA) Production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the Salkowski Method in *Bio Protoc* Volume 9 Issue 9.
- 26. Giri et al. 2005:** Microbial diversity in soils in *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* pages 19-55.
- 27. Glass et Kosuge 1986:** Cloning of the gene for indoleacetic acid-lysine synthetase from *Pseudomonas Syringae subs Pseudomonas Savastanoi* in *Journal of Bacteriology* Volume 166 Number 2.
- 28. Glass et Kosuge 1988:** Role of indoleacetic acid-lysine synthetase in regulation of indoleacetic acid pool size and virulence of *Pseudomonas Syringae subs Pseudomonas Savastanoi* in *Journal of Bacteriology* Volume 170 Number 5.
- 29. Gomes et Scortecci 2021:** Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms in *Plant Biology* Volume 23 Issue 6 pages 894-904.
- 30. Gusmiaty et al. 2019:** Gibberellin and IAA Production by Rhizobacteria from Various Private Forest in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* Volume 270.

### H

- 31. Hanlon et Coenen 2011:** Genetic evidence for auxin involvement in arbuscular mycorrhiza initiation in *New Phytologist* Volume 189 Issue 3 pages 701-709.
- 32. Harrison 2012:** Cellular programs for arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Current Opinion in Plant Biology* Volume 15 Issue 6 pages 691-698.
- 33. Hartmann et al. 1983:** Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indoleacetic acid in *Canadian Journal of Microbiology* Volume 29 Number 8.

## Références Bibliographiques

**34. Hause et al. 2007:** Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions in Phytochemistry Volume 68 Issue 1 pages 101-110.

**35. Hopkins 2003 :** Physiologie végétale.

### J

**36. Jameson 2000:** Cytokinins and auxins in plant-pathogen interactions: An overview in Plant Growth Regulation Volume 32 pages 369–380.

### K

**37. Karabaghli et al. 1998:** In vitro effects of *Laccaria Bicolor* S238 N and *Pseudomonas Fluorescens* strain BBc6 on rooting of de-rooted shoot hypocotyls of Norway spruce in Tree Physiology Volume 18 Issue 2 pages 103–111.

**38. Kepinski et Leyser 2005:** Plant development: auxin in loops in Curr Biol Volume 15 Issue 6 pages 208-210.

**39. Khalid et al. 2004:** Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils in Australian Journal of Soil Research Volume 42 Issue 8 pages 921-926.

**40. Kloepper 1989:** Free living bacterial inoculation for enhancing crop productivity in Trends Biotechnol Volume 7 Issue 2 pages 39-44.

**41. Kobayashi et al. 1995:** Occurrence of enzymes involved in biosynthesis of indole-3-acetic acid from indole-3-acetonitrile in plant-associated bacteria, *Agrobacterium* and *Rhizobium* Volume 92 Issue 3 pages 714-718.

**42. Ku et al. 2018:** Plant Hormone Signaling Crosstalks between Biotic and Abiotic Stress Responses in International journal of molecular sciences Volume 19 Issue 10.

**43. Kumari et al. 2018:** Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *Bacillus Subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis Cynosuroides* in International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences Volume 7 Number 2 pages 20-27

## Références Bibliographiques

### L

44. **Last et al. 1991:** Tryptophan mutants in *Arabidopsis*: the consequences of duplicated tryptophan synthase beta genes *The Plant Cell* Volume 3 Issue 4 pages 345–358.
45. **Lebrazi et al. 2020:** Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium sp.* strain using response surface methodology in *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* Volume 18 Article number 21
46. **Leinhos 1994:** Effects of pH and glucose on auxin production of phosphate-solubilizing rhizobacteria in vitro: Short Communication in *Microbiological Research* Volume 149 Issue 2 pages 135-138.
47. **Leveau et Gerards 2008:** Discovery of a bacterial gene cluster for catabolism of the plant hormone indole 3-acetic acid in *FEMS Microbiology Ecology* Volume 65, Issue 2 pages 238–250.
48. **Leveau et Lindow 2005:** Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas Putida* Strain 1290 in *Applied and Environmental Microbiology* Volume 71 Number 5.
49. **Leyser 1999:** Plant hormones: Ins and outs of auxin transport Volume 9 Issue 1 pages 8-10.
50. **Lomax et al. 1995 :** Auxin Transport. In Davies, P.J. *Plant Hormones* pages 509–530.

### M

51. **Malhotra et Srivastava 2008:** Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum Brasilense SM* and its ability to modulate plant growth in *European Journal of Soil Biology* Volume 45 Issue 1 pages 73-80.
52. **Manulis et al. 1998:** Differential Involvement of Indole-3-Acetic Acid Biosynthetic Pathways in Pathogenicity and Epiphytic Fitness of *Erwinia Herbicola PV. Gypsophilae* in *MPMI* Volume 11 Number 7.
53. **Márquez 2021 :** Rhizosphère : Définition, composition et importance in *Projet Ecolo*

## Références Bibliographiques

- 54. Mateusz et Robert 2018:** The Role of Auxin in Cell Wall Expansion in International Journal of Molecular Sciences Volume 19 Issue 4 pages 951.
- 55. Mathesius 2008:** Goldacre paper: Auxin: at the root of nodule development in Functional Plant Biology Volume 35 Issue 8 pages 651-668.
- 56. Mazzola et White 1994:** A mutation in the indole-3-acetic acid biosynthesis pathway of *Pseudomonas Syringae PV. Syringae* affects growth in *Phaseolus Vulgaris* and *Syringomycin* production in Journal of Bacteriology Volume 176 Number 5.
- 57. McNear et David 2013:** The Rhizosphere: Roots, Soil and Everything In Between in Nature Education Knowledge.
- 58. Meixner et al. 2005:** Lack of mycorrhizal autoregulation and phytohormonal changes in the supernodulating soybean mutant nts1007 in Planta Volume 222 pages 709-715.
- 59. Méndez-Hernández HA et al. 2019:** Signaling Overview of Plant Somatic Embryogenesis in Front Plant Sci.
- 60. Morris 1995:** Genes specifying auxin and cytokinin biosynthesis in prokaryotes. In Plant hormones pages 318-339.
- 61. Munees et Mulugeta 2014:** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective in Journal of King Saud University – Science, Volume 26 Issue 1 pages 1-20.

### N

- 62. Normanly et al. 1993:** *Arabidopsis Thaliana* auxotrophs reveal a tryptophan-independent biosynthetic pathway for indole-3-acetic acid Volume 90 Issue 21 pages 10355-10359.

### O

- 63. Oberhänsli et al. 1991:** Indole-3-acetic acid (IAA) synthesis in the biocontrol strain CHA0 of *Pseudomonas Fluorescens*: role of tryptophan side chain oxidase in Microbiology Volume 137 Issue 10.
- 64. Opik et Rolfe 2005:** The Physiology of Flowering Plants 4<sup>th</sup> Ed.

## Références Bibliographiques

### P

- 65. Pandolfini et al. 2007:** Molecular dissection of the role of auxin in fruit initiation in Trends in Plant science Volume 12 Issue 8 pages 327-329.
- 66. Parniske 2008:** Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses in Nat Rev Microbiol Volume 6 pages 763–775.
- 67. Patten et Glick 1996:** Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid in Canadian Journal of Microbiology Volume 42 Number 3.
- 68. Perley et Stowe 1966:** On the Ability of *Taphrina Deformans* to Produce Indoleacetic Acid from Tryptophan by Way of Tryptamine in Plant Physiology Volume 41 Issue 2 pages 234–237.
- 69. Perrot Rechenmann 2010:** Cellular responses to auxin: division versus expansion in Biology Volume 2 Issue 5.
- 70. Persello-Cartieaux et al. 2003:** Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions in Plant, Cell and Environment Volume 26 Issue 2 pages 189-199.
- 71. Peter et al 2015:** Biology 9<sup>th</sup> edition.
- 72. Poveda et González-Andrés 2021:** *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture in Appl Microbiol Biotechnol Volume 105 pages 8629–8645.
- 73. Prinsen et al. 1993:** *Azospirillum Brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway.
- 74. PubChem:** National Library of Medicine: Indole-3-acetic acid section.

### R

- 75. Raven 2007 :** Biologie végétale 2ème Ed.
- 76. Remans et al. 2008:** Effect of *Rhizobium*–*Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus Vulgaris L.* genotypes cultivated across different environments in Cuba in Plant Soil Volume 312 pages 25-37.

## Références Bibliographiques

- 77. Ruckdäschel et al. 1988:** Aromatic amino acid aminotransferases of *Azospirillum Lipoferum* and their possible involvement in IAA biosynthesis. In *Azospirillum IV: Genetics, physiology, ecology*.

### S

- 78. Seidel et al. 2006:** Indole-3-Acetic Acid Protein Conjugates: Novel Players in Auxin Homeostasis in Plant Biology Volume 8 Issue 3 pages 340-345.
- 79. Sekine et al. 1989:** Molecular cloning of a gene for indole-3-acetamide hydrolase from *Bradyrhizobium Japonicum* in Journal of Bacteriology Volume 171 Issue 3.
- 80. Shigenaga et Argueso 2016:** No hormone to rule them all: Interactions of plant hormones during the responses of plants to pathogens in Seminars in Cell & Developmental Biology Volume 56 pages 174-189.
- 81. Sibü et Petrášek 2011:** Why plants need more than one type of auxin in Plant science Volume 180 Issue 3 pages 454-460.
- 82. Smith et Smith 2011:** Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales in Annual Review of Plant Biology Volume 62 pages 227-250.
- 83. Spaepen 2015:** Plant Hormones Produced by Microbes in Principles of Plant-Microbe Interactions pages 247–256.
- 84. Spaepen et al. 2007:** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling in FEMS Microbiology Review Volume 31 Issue 4 pages 425–448.
- 85. Splivallo et al. 2009:** *Truffles* Regulate Plant Root Morphogenesis via the Production of Auxin and Ethylene in Plant Physiology Volume 150 Issue 4 pages 2018–2029.
- 86. Srivastava 2003:** Plant growth and development. Hormones and the environment in Annals of Botany Volume 92 Issue 6.
- 87. Suliasih et Widawati 2020:** Isolation of Indole Acetic Acid (IAA) producing *Bacillus Siamensis* from peat and optimization of the culture conditions for maximum IAA production in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science Volume 572.

## Références Bibliographiques

### T

- 88. Tesfamichael 2017:** A Growing Stem Inhibits Bud Outgrowth – The Overlooked Theory of Apical Dominance in *Front. Plant Sci* Volume 8.
- 89. Tromas et Perrot-Rechenmann 2010:** Recent progress in auxin biology in *Comptes Rendus Biologies* Volume 333 Issue 4 pages 297-306.

### V

- 90. Valls et al. 2006:** Integrated Regulation of the Type III Secretion System and Other Virulence Determinants in *Ralstonia Solanacearum* in *PLoS Pathog* Volume 2 Issue 8.
- 91. Vandeputte et al. 2005:** Biosynthesis of Auxin by the Gram-Positive Phytopathogen *Rhodococcus Fascians* Is Controlled by Compounds Specific to Infected Plant Tissues in *Applied and Environmental Microbiology* Volume 71 Number 3.

### W

- 92. Weier et Rost TL:** Botany, An Introduction to Plant Biology.
- 93. Went et Thimann 1937 :** Phytohormones.
- 94. Woodward et Bartel 2005:** Auxin: Regulation, Action, and Interaction in *Annals of Botany* Volume 95 Issue 5 pages 707–735.

### X

- 95. Xie et al. 1996:** Isolation and Characterization of Mutants of the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas Putida GR12-2* That Overproduce Indoleacetic Acid in *Curr Microbiol* Volume 32 pages 67-71.
- 96. Xu Jin et al. 2015:** Auxin is a long-range signal that acts independently of ethylene signaling on leaf abscission in *Populus* in *Front. Plant Sci* Volume 6.

### Z

- 97. Zambryski 1992:** Chronicles from the *Agrobacterium*-Plant Cell DNA Transfer Story in *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* Volume 4 pages 465-490.

## Références Bibliographiques

98. **Zhao 2010:** Auxin Biosynthesis and Its Role in Plant Development in Annual Review of Plant Biology Volume 61 pages 49-64.
99. **Zhao 2014:** Auxin Biosynthesis in The *Arabidopsis* Book Number 12.
100. **Zupan *et al.* 2000:** The transfer of DNA from *Agrobacterium Tumefaciens* into plants: a feast of fundamental insights in the Plant Journal Volume 23 Issue 1 pages 11-28.