



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

Intitulé :

**Densité, Diversité de bactéries cultivables minéralisant le phytate
dans la rhizosphère de la fève (*Vicia faba*) de la région d'El Hamma**

Présenté et soutenu par : M^{lle} BOUCHARÈB Rayane

Le: 25/06/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. BENBELKACEM A.

Rapporteur : Dr. MAOUGAL R.T.

Examineurs : Dr. BENABDOUN F.M.

**Année universitaire
2017 – 2018**

Remerciements

Merci mon Dieu le seigneur du trône de l'univers de m'éclairer le chemin tout au long de ma vie et de m'avoir aidé dans mes recherches et grâce à qui je présente ce travail.

De nombreuses personnes ont contribué à la réalisation de ce travail, à qui j'aimerais présenter ma profonde gratitude.

Mes remerciements les plus vifs et les plus sincères à Madame MAOUGAL Rhim Tinhinan enseignante à INATSA Constantine, pour son judicieux encadrement, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et ses encouragements qu'elle m'a prodigués tout au long de ce mémoire. Je la remercie d'avantage de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce travail. Qu'elle trouve ici le témoignage d'une profonde gratitude.

Je veux vraiment vous remercier car j'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme encadrante.

Merci à madame kechid pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils.

Ma gratitude va au président et aux membres du jury qui me feront l'honneur d'évaluer mon travail.

Merci à mes collègues de master pour leur enthousiasme et leur solidarité.

Et sans oublier de remercier les membres du laboratoire de BGGV madame Chafika et Bouldjej Rima

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents qui n'ont cessé de m'orienter vers le courage et la foi en Dieu.

Pour leur amour, patience et soutien. Je leur présente mon travail.

Puisse Dieu le tout puissant, leur prêter la bonne santé et une longue vie.

À mes sœurs, mes frères, qui m'ont tant aidés surtout moralement. À

l'ensemble de ma famille, À tous mes proches et loins amis, mes collègues,

qui m'ont offert ce qu'on a de plus beau en soi : l'amitié, le partage

d'inoubliables moments. Puisse ce travail vous témoigner en affection et

gratitude.

Pour mes respectueux enseignants, pour leurs efforts, leurs disponibilités.

À tous ceux qui ont acquis la raison de vivre par la sincérité et le bon foie.

À tous ceux qui croient en l'amitié et le respect.

Résumé

Le phosphore (P) est souvent l'un des éléments les plus limitant pour la croissance des plantes du fait qu'il est peu mobile et le plus inaccessible dans les sols, Cette déficience en P affecte plus particulièrement les légumineuses à cause de la fixation symbiotique de l'azote qui consomme plus d'énergie que l'assimilation minérale. Dans ce contexte, nos objectifs ont été d'isoler et de caractériser la communauté bactérienne fonctionnelle du sol qui permet la minéralisation du phytate, et d'étudier la capacité de ces bactéries à produire des phytohormones dans la rhizosphère de la fève.

La caractérisation des souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de la fève dans trois sites de Constantine a été effectuée pour déterminer leurs propriétés morphologiques et biochimiques. La plupart des isolats sont de gram⁻, catalase⁺ et oxydase⁻, De forme ronde et de couleur jaune, rose et blanchâtre.

Dans cette étude, nous nous concentrons sur les rhizobactéries (PGPRs) en tant qu'agents de Phytostimulation et biofertilisation. Nous avons conclu que 100% des échantillons testés sont capables de produire l'auxine à différentes concentrations qui a atteint 40.62µg/ml(S1P3b4), alors que 90% des isolats étaient capables de croître sur un milieu ne contenant que le phytate comme seule source de phosphore donc ils sont capables de dégrader le phytate, Cela à un effet direct sur la croissance des plantes dans les différents sites.

Mots clés : rhizobactéries, phytate, minéralisation, fève, PGPR, Phytostimulation et biofertilisation

Abstract

Phosphorus (P) is often one of the most limiting elements for plant growth because it is not very mobile and the most inaccessible in soils. This P deficiency affects legumes more particularly because of fixation. symbiotic nitrogen that consumes more energy than mineral assimilation. In this context, our objectives have been to isolate and characterize the functional bacterial community of the soil that allows the mineralization of phytate, and to study the ability of these bacteria to produce phytohormones in the rhizosphere of the bean

Characterization of bacterial strains isolated from the bean rhizosphere in three Constantine sites was performed to determine their morphological and biochemical properties. Most isolates are of gram-, catalase + and oxidase-, round in shape and yellow, pink and whitish in color.

Phytostimulation and biofertilization. We concluded that 100% of the assays tested are capable of producing auxin at a different concentration of 40.62 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (S1P3b4), whereas 90% of the isolates were able to grow on a medium containing only phytate as the only source of phosphorus so they are able to degrade phytate, This has a direct effect on the growth of plants in different sites.

Key words: rhizobacteria, phytate, mineralization, bean, PGPR, phytostimulation and biofertilization

ملخص

غالبًا ما يكون الفوسفور (P) واحدًا من أكثر العناصر تقييدًا لنمو النباتات نظرًا لأنه ليس شديد التنقل والأكثر صعوبة في التربة. هذا النقص P يؤثر على البقوليات خاصة بسبب التثبيت. النيتروجين التكافلي الذي يستهلك طاقة أكثر من الاستيعاب المعدني. في هذا السياق ، كانت أهدافنا هي عزل وتوصيف المجتمع البكتيري الوظيفي للتربة التي تسمح بتمعدن phytate ، ودراسة قدرة هذه البكتيريا على إنتاج الهرمونات النباتية في منطقة الجذور في الحبة. تم إجراء توصيف السلالات البكتيرية المعزولة من الجذور الفاصوليا في ثلاثة مواقع في قسنطينة لتحديد خصائصها المورفولوجية والبيوكيميائية. معظم العزلات من الجرام ، الكاتلاز + والأكسيداز ، مستديرة الشكل والأصفر والوردي والبياض في اللون.

التنشيط والتبريد الحيوي. استنتجنا أن 100% من المقاييس المختبرة قادرة على إنتاج الأوكسين بتركيز مختلف 40.62 ميكروغرام / مل (S1P3b4) ، في حين أن 90% من العزلات كانت قادرة على النمو على وسط يحتوي فقط على phytate كمصدر وحيد للفوسفور لذلك انهم قادرون على تحلل phytate ، وهذا له تأثير مباشر على نمو النباتات في مواقع مختلفة

الكلمات المفتاحية: رايزوباكتريا ، فايينات ، تمعدن ، فول ، PGPR ، تنشيط نباتي وترطيب بيولوجي.

Table des matières

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Synthèse bibliographique

I. La vie dans le sol.....	2
1. Le sol.....	2
2. La rhizosphère.....	3
2.1. Effet de la rhizosphère.....	5
2.2. Diversité bactérienne de la rhizosphère.....	6
II. Les légumineuses.....	9
1. Caractéristiques des légumineuses et importance de la symbiose	
Rhizobienne.....	9
2. Caractéristiques botaniques des légumineuses.....	10
3. description morphologique de la fève	10
4. Position systématique de fève.....	10
5. Importance et répartition du <i>vicia faba L.</i>.....	12
III. Le phosphore.....	14
1. Le phosphore dans le sol.....	15
2. Le phosphore : un élément essentiel dans la nutrition des plantes.....	15
3. le cycle du phosphore.....	16
4. Niveau de la disponibilité du P dans les sols.....	18
5. Formes du phosphore.....	19
6. Conséquences de la déficience en phosphore sur la plante.....	21

7. Solubilisation du phosphore par les microorganismes.....	22
8. Le prélèvement de Pi par la racine et son transport dans la plante.....	23
IV. Le phytase.....	24

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	25
2. Isolement et comptage bactérien.....	25
2.1. Densité des bactéries totales cultivable.....	26
2.2. Densité des bactéries minéralisant le phytate.....	27
2.3. Conservation des isolats.....	27
3. Identification du gène phytase par PCR.....	28
4. Etude des bactéries rhizosphériques.....	30
4.1 Etude macroscopique.....	30
4.2 Etude microscopique.....	30
4.3 Etude des enzymes respiratoires.....	31
4.4 Etude de l'effet PGPR.....	31
4.4.1 production de l'acide indole acétique (AIA).....	31
5. Effet des bactéries sur l'acquisition du P.....	32
5.1. Biomasse aérienne des plantes.....	32
5.2 dosage du P.....	33

Résultats et discussion

1. Isolement et comptage bactérien.....	34
1.1. Densité des bactéries totales cultivables.....	34
1.2. densité des bactéries minéralisant le phytate.....	35
2. Identification du gène phytase par PCR.....	36
3. Etude des bactéries rhizosphériques.....	37
3.1. Etude macroscopique.....	37
3.2 Etude microscopique.....	39
3.3 Etude des enzymes respiratoires.....	40
3.4 Etude de l'effet PGPR.....	42
3.4.1. production de l'acide indole acétique (AIA).....	43
4. Effet des bactéries sur l'acquisition du P.....	44
4.1. Biomasse aérienne des plantes.....	44
4.2. dosage du P.....	45
Conclusion Générale	46

Références bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1 les cinq compartiments du sol chacun des traits symbolise une possibilité d'interaction	2
Figure 2 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère	4
Figure 3 : Ensemble des microorganismes présents dans le zoo de la rhizosphère	5
Figure 4 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries	8
Figure 5 : Quelques graines de légumineuses	9
Figure 6 : Les différents organes de la fève	11
Figure7 : (a) Graines de Vicia faba major, (b) Graines de Vicia faba minor (c) Graines de Vicia faba equina	14
Figure 8 : Présentation schématique du cycle du phosphore du sol (P)	17
Figure 9 : Le cycle du phosphore dans le système sol/engrais/plante	18
Figure 10 : sites de prélèvement des fèves	25
Figure 11 : Schéma représentant la méthode d'ensemencement par la technique dite de la goutte	26

Figure 12: Conservation des bactéries dans une solution glycérol 50%	27
Figure 13: Schéma récapitulatif du protocole du prélèvement du sol rhizosphérique et l'isolement des bactéries et leur caractérisation	28
Figure 14: Schéma représentatif du protocole « PCR sur colonie »	29
Figure15 : Mesure de l'absorbance du mélange surnageant par spectrophotométrie à 530	32
Figure16 : Densité des colonies bactériennes au niveau du sol rhizosphérique de la fève	34
Figure17 : Densité des colonies bactériennes spécifique au niveau du sol rhizosphérique de la fève	36
Figure 18: Détection des gènes codant pour le phytase par PCR sur colonie	37
Figure19 : Aspect macroscopique des rhizobactéries sur milieu NBRIP	39
Figure 20: Coloration différentielle de Gram (G : 10X40).	40
Figure 21: Réaction de la catalase positive.	41
Figure 22 : Quantification de la production d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) par les rhizobactéries par dosage colorimétrique	43
Figure 23 : Biomasse aérienne des plantes de la fève dans les différents sites.	44
Figure 24 : variation de phosphore accumulé dans la partie aérienne des plantes de la fève	45

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : composition chimique moyenne pour 100g de fève	13
Tableau 2 : Récapitulatif des principaux composés naturels de P organiques pouvant être présents dans l'environnement	21
Tableau 3 : résultats de l'étude macroscopique des colonies	38

Liste des abréviations et des acronymes

ADN	Acide Désoxyribo-Nucléique.
AL	Aluminium.
ANOVA	Analyse de Variance.
APG	Angiosperm Phylogeny Group.
ARN	Acide Ribo-Nucléique.
ATP	Adenosine Triphosphate.
BET	Bromure d’Ethidium.
C	Carbone.
Cl	Chlore.
dNTP	DésoxyriboNucléique TriPhosphate.
EUP	Efficienc e d’Utilisation du Phosphore.
F	Fer.
g	gramme.
HAP	Histidine Acid Phosphatases.
IAA	Indole Acide Acétique.
Kcal	Kilocalorie.
LB	Milieu Luria Bertani.
MOS	Matière Organique du Sol.
Na	Sodium.
NBRIP	'Institut National de Recherche Botanique.
P	Phosphore.
PBS	Phosphore Sodium Buffer.
PCR	Polymerisation Chain Reaction.
PGPB	Plant Growth-Promoting Bacteria.
PGPR	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria.
PH	Potentiel d’Hydrogène.
Pi	Phosphore Inorganique.
PO	Phosphore Organique.
PSM	Phosphate-Solubilizing Microorganisms.
QS	Quorum Sensing.
RIL	Lignée Recombinant.
S	Site.
U V	Ultra-violet.
UFC	Unité Formant Colonie.
Bpp	β - propller phytase.
ΔG°	Énergie libre de Gibbs.

Introduction générale

Le phosphore (P) est un nutriment essentiel pour les plantes et joue un rôle clé dans la croissance et le développement des plantes. C'est le deuxième plus grand supplément nutritionnel au monde pour les cultures après l'azote (Adnan *et al.*, 2017). C'est le macronutriment le moins accessible dans de nombreux sols, car il forme facilement des sels de calcium insolubles dans les sols alcalins ou des complexes avec les oxydes de fer et d'aluminium dans les sols acides, ce qui les rend inaccessibles aux racines. Le P disponible dans de nombreux sols varie habituellement de 1 à 10 μM , Ceci est de loin inférieur aux concentrations de P_i intracellulaires de 5-20 mM qui sont nécessaires pour une croissance optimale des plantes et le développement de nodules de légumineuses (Bargaz *et al.*, 2012).

Les bactéries du sol produisent un certain nombre d'hydrolases extra et intracellulaires, y compris de nombreux types de phytases. Des gènes codant pour la phytase ont été décrits chez diverses espèces bactériennes: *Aerobacteraerogenes*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*. *Enterobacter sp* souche et *Escherichia coli*. Les phytases produites par les bactéries du sol ont des fonctions importantes dans le recyclage du phosphore du sol par libération de phosphates inorganiques à partir de phosphore organique des molécules (Suleimanova *et al.*, 2015). Ces bactéries établissent une relation facultative à bénéfices réciproques appelée « coopération » ou « symbiose associative ». Les bactéries PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) font partie de ce type de microorganismes, car elles n'établissent pas une relation de symbiose mutualiste, mais favorisent la croissance des plantes auxquelles elles sont associées (Kloepper et Beauchamp1992, AOUAN et Hamani., 2017).De plus, ces PGPR peuvent aussi synthétiser les hormones de croissances (phytohormones) pour stimuler la croissance de la racine et aussi la plante (Baca et Elmerich., 2007, Benmati., 2014).

Le présent document comportera quatre parties. Après cette introduction générale, la première partie est une synthèse bibliographique sur la vie dans le sol, les légumineuses et le phosphore. La deuxième décrit les matériels et les méthodes utilisés. La troisième partie regroupe les résultats obtenus ainsi que les discussions. La dernière partie est consacrée à la conclusion générale.

Synthèse bibliographique

I. La vie dans le sol

1. Le sol

Le sol est la partie superficielle de l'écorce terrestre, plus ou moins tendre et friable, qui est le résultat de l'action conjuguée des altérations des roches mères du sous-sol et de la décomposition de la matière organique sous l'effet de divers facteurs (climats, nature de la roche mère, activité biologique...) (Bouras., 2014), il est constitué d'une phase solide (matière inorganique et organique des organismes vivants) phase liquide (solution du sol) et phase gazeuse (dioxyde de carbone, de l'oxygène ,de l'azote) (Gobat *et al.*, 2004, Amin khoudja., 2013).

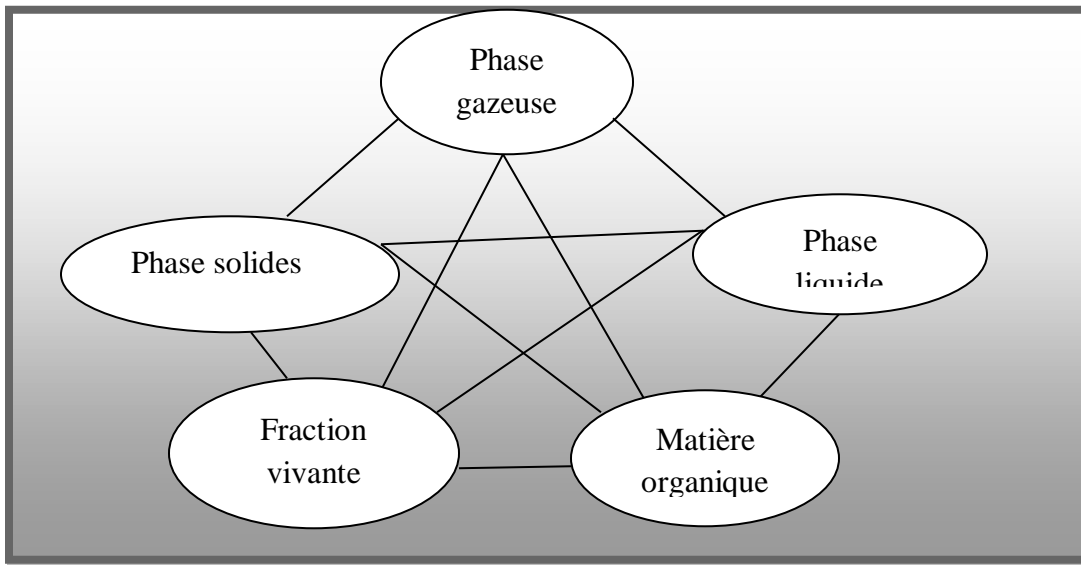


Figure 1 : les cinq compartiments du sol chacun

des traits symbolise une possibilité d'interaction (Bouras M., 2014).

Le sol est un milieu vivant composé de nombreux microorganismes, essentiellement hétérotrophes, c'est-à-dire qui ont besoin d'une source de carbone organique pour réaliser leur croissance (Lepinay., 2013). Ces microorganismes se retrouvent dans tous les types de sols vierges ou cultivés, sables, déserts, sols thermaux ou d'origine volcanique, dans les tourbières et

les landes, dans les sols enneigés, dans les sédiments, dans les écosystèmes semi-aquatiques. , sur des rochers et dans des crevasses rocheuses ((Manoharachary et Mukerji., 2006).

2. La rhizosphère

La rhizosphère, terme employé pour la première fois en 1904 par Hiltner, correspond à la zone du sol soumise à l'influence des racines vivantes (Cregut., 2009), cette partie du sol est le siège des interactions mutuelles entre le sol les microorganismes et la plante (Kirdi., 2011).la rhizosphère peut être définie comme la partie du sol qui est adjacente au système racinaire d'une plante et qui est influencée par les exsudats racinaires (Manoharachary et Mukerji., 2006) où les racines libèrent une grande quantité de métabolites à partir de poils absorbants ou de systèmes racinaires fibreux. Ces métabolites agissent comme des signaux chimiques pour que les bactéries motiles se déplacent vers la surface des racines, mais représentent aussi les principales sources de nutriments disponibles pour soutenir la croissance et la persistance dans la rhizosphère (Nihorimbere *et al.*, 2010).

La rhizosphère est un carrefour pour l'échange de nutriments entre les plantes et les microbes du sol, et cet échange est probablement induite par la signalisation bactérienne dépendant de la densité, ou *quorum sensing* (QS), entre et parmi les plantes et bactéries vivant à des densités cellulaires élevées dans le sol de la rhizosphère. (Kristen., 2013). Il y a trois zones distinctes dans la rhizosphère: l'endorhizosphère, le rhizoplane et l'ectorhizosphère (figure 2) (Huang *et al.* ,2014).

Le rhizoplane : Le rhizoplane est la zone de la surface des racines où les micro-organismes se fixent en utilisant des structures de surface telles que les flagelles, les fimbriae ou les polysaccharides de la surface cellulaire (Mwajita *et al.*, 2013).

l'endorhizosphère : le terme endorhizosphère désigne l'intérieure de la racine y compris cortex racinaire, épiderme et poils racinaires, Il évoque le passage graduel du sol à l'intérieur de la racine : c'est l'introduction des champignons et bactéries dans les cellules du parenchyme cortical de la plante, utilisant ses exsudats sans provoquer de lyse cellulaire.

l'exorhizosphère : c'est le sol adhérent à la partie racinaire de la plante. (Maougal., 2014).

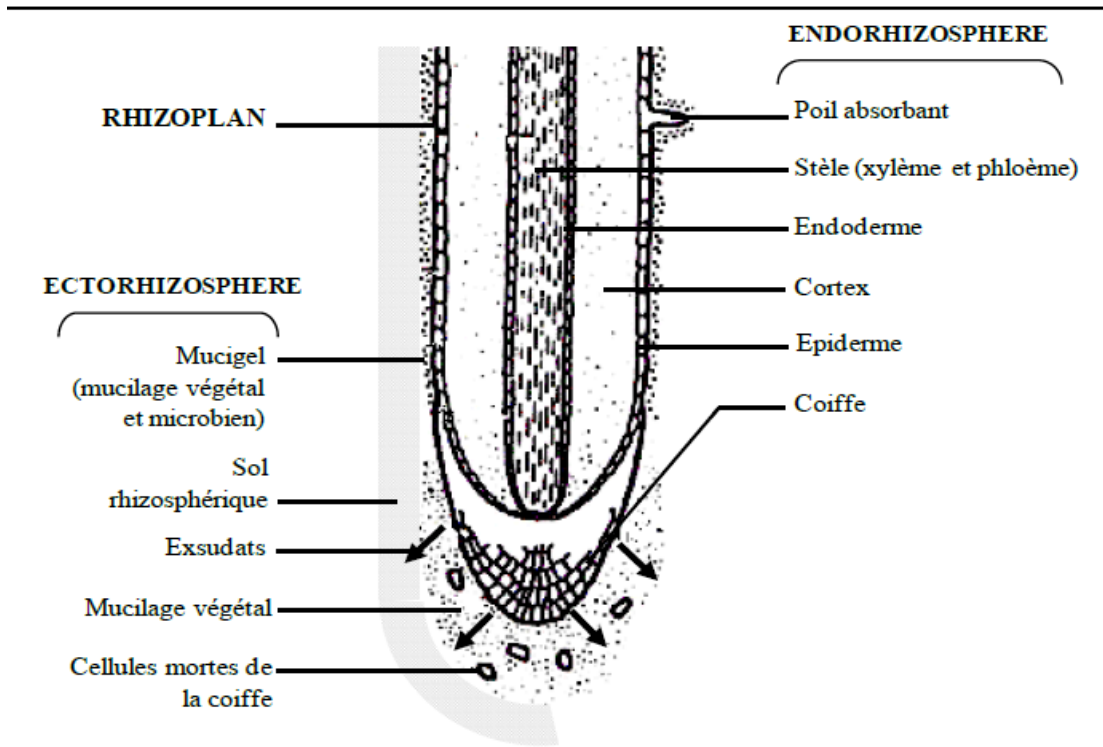


Figure 2 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère (Lynch 1983, Lepinay., 2015).

La rhizosphère est une fine couche de sol qui entoure immédiatement les racines des plantes. Ceci est une zone extrêmement importante et active pour l'activité racinaire et le métabolisme un grand nombre de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons, les protozoaires et les algues coexistent dans la rhizosphère. (figure3)
 Les bactéries sont les plus abondantes d'entre eux (10^8 - 10^9 g⁻¹). (Mwajita *et al.*, 2013).

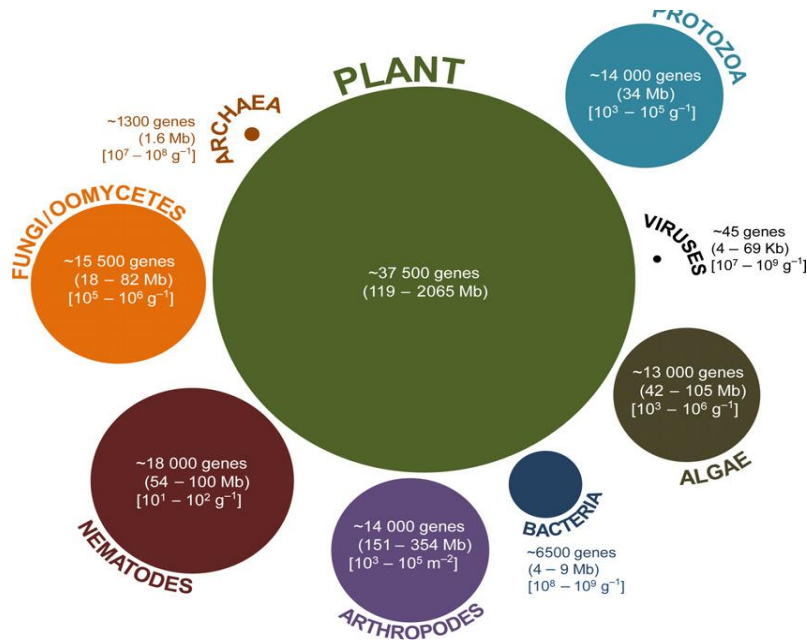


Figure 3 : Ensemble des microorganismes présents dans le zoo de la rhizosphère. (Mendes1 *et al.*, 2013).

2.1. Effet de la rhizosphère

Le fonctionnement des écosystèmes terrestres est conduit par une forte interaction entre la plante et les composants microbiens du sol et de la rhizosphère. Ces interactions sont basées sur les relations trophiques. Les plantes, en réalisant la photosynthèse, produisent des composés carbonés organiques. Une partie est investie dans la croissance de la plante, mais le reste est libéré dans le sol par les racines sous forme d'exsudats racinaires. La zone entourant les racines est par conséquent modifiée et influencée par le métabolisme de la plante. Cet effet a été appelé l'effet de la rhizosphère (Zancarini1 *et al.*, 2013). Les études portant sur ces communautés microbiennes montrent une augmentation de leur taille à proximité des racines (Cregut., 2009).

Les racines des plantes constituent un composant biologique majeur des systèmes souterrains et un agent principal de formation du sol. Les processus qui sont largement contrôlés ou directement influencés par les racines sont souvent appelés processus de la rhizosphère. Ces processus peuvent inclure l'exsudation, l'absorption d'eau, la mobilisation des nutriments, la décomposition de la matière organique du sol (MOS) associée à la rhizosphère et la respiration de la rhizosphère (Cheng., 2008).

2.2. Diversité bactérienne de la rhizosphère

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants dans les sols un gramme de sol sec pourrait contenir 10^7 à 10^{10} bactéries correspondant à plusieurs milliers d'espèces différentes (Gobat *et al.*, 2004, Amin khoudja., 2013).

D'une manière générale, une communauté bactérienne correspond à l'ensemble des populations bactériennes dans un habitat donné, chaque membre de la communauté prend part à un système d'interactions complexes existant dans la rhizosphère entre le sol, les plantes et le biote du sol (Gobat *et al.*, 2004, Amin khoudja., 2013)

La population microbienne du sol dépend de la composition des environnements micro-écologiques. Alors que la plupart des micro-organismes vivent comme des saprophytes, d'autres peuvent être parasites et symbiotiques par rapport à des substrats organiques vivants. En fonction de leur activité enzymatique, ils peuvent être cellulolytiques, kératinophiles, chitinophiles, pectinolytiques, lignicoles ou humicoles (Manoharachary et Mukerji., 2006).

Les rhizobactéries représentent le groupe le plus important de microorganismes de la rhizosphère, ce sont les bactéries qui se trouvent sur les surfaces des racines ou dans le sol rhizosphérique (Kirdi., 2011).

2.2.1. Les rhizobactéries PGPR

Les PGPR ou «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria» sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effets on les considère comme des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (Dey *et al.*, 2004, Benmati., 2014). Le terme PGPR a été inventé pour la première fois par Kleoepfer et Schorth pour décrire cette population microbienne dans la rhizosphère (Touidjin et Mahazem., 2014). Ces microorganismes bénéfiques ou PGPB «Plant Growth-Promoting Bacteria» peuvent provenir de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère. Elles sont de ce fait des rhizobactéries et sont ainsi appelées PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria». Les bactéries répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces, dont les plus étudiés sont *Azospirillum sp.*, *Bacillus sp.* et *Pseudomonas sp.* Les PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes hôtes par divers mécanismes tels que la fixation d'azote, l'inhibition de la synthèse d'éthylène par la plante

et la synthèse des phytohormones (Nadji., 2017). Ce sont des rhizobacteries libres dans la rhizosphère dotée de potentialités bénéfiques très importante pour l'agriculture (Kirdi., 2011).

Récemment, des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) ont été isolées à partir d'un certain nombre de plantes économiquement importantes telles que l'orge, le haricot, le coton, le maïs, l'arachide, le riz, divers légumes, le blé et l'essence. En plus d'augmenter le rendement des cultures, les souches de PGPR peuvent également affecter les champignons pathogènes en réduisant les densités de population. (Manoharachary et Mukerji., 2006).

2.2.2. Interaction PGPR/Plante

Les interactions plante-microbe peuvent être considérées comme bénéfiques, neutres ou nuisibles à la plante, en fonction des micro-organismes et plantes spécifiques impliqués et des conditions environnementales dominantes (Nihorimbere., 2010). Il y a donc une relation étroite entre le fonctionnement de la plante et les communautés microbiennes de la rhizosphère (Zancarini., 2012).

leurs effets positifs sur la plante se réalisent par des mécanismes d'interactions directs ou indirects, classant les PGPR selon leurs activités en biofertilisants (améliorent la disponibilité des nutriments aux plante) phytostimulateurs(promotion de la croissance par la production des phytohormones)) rhizoremediateurs dégradent les polluants organique et en biopesticides (biocontrôles des agents phytopathogène) (Kirdi., 2011).

La promotion directe de la croissance des plantes par PGPR implique soit de fournir à la plante un composé qui est synthétisé par la bactérie, par exemple les phytohormones, ou faciliter l'absorption de certains nutriments de l'environnement. La promotion indirecte de la croissance des plantes se produit lorsque les PGPR diminuent ou empêchent les effets délétères d'un ou de plusieurs organismes phytopathogènes. Cela peut arriver en produisant des substances antagonistes ou en induisant une résistance aux agents pathogènes (figure 4) (Beneduzi *et al.*, 2012).

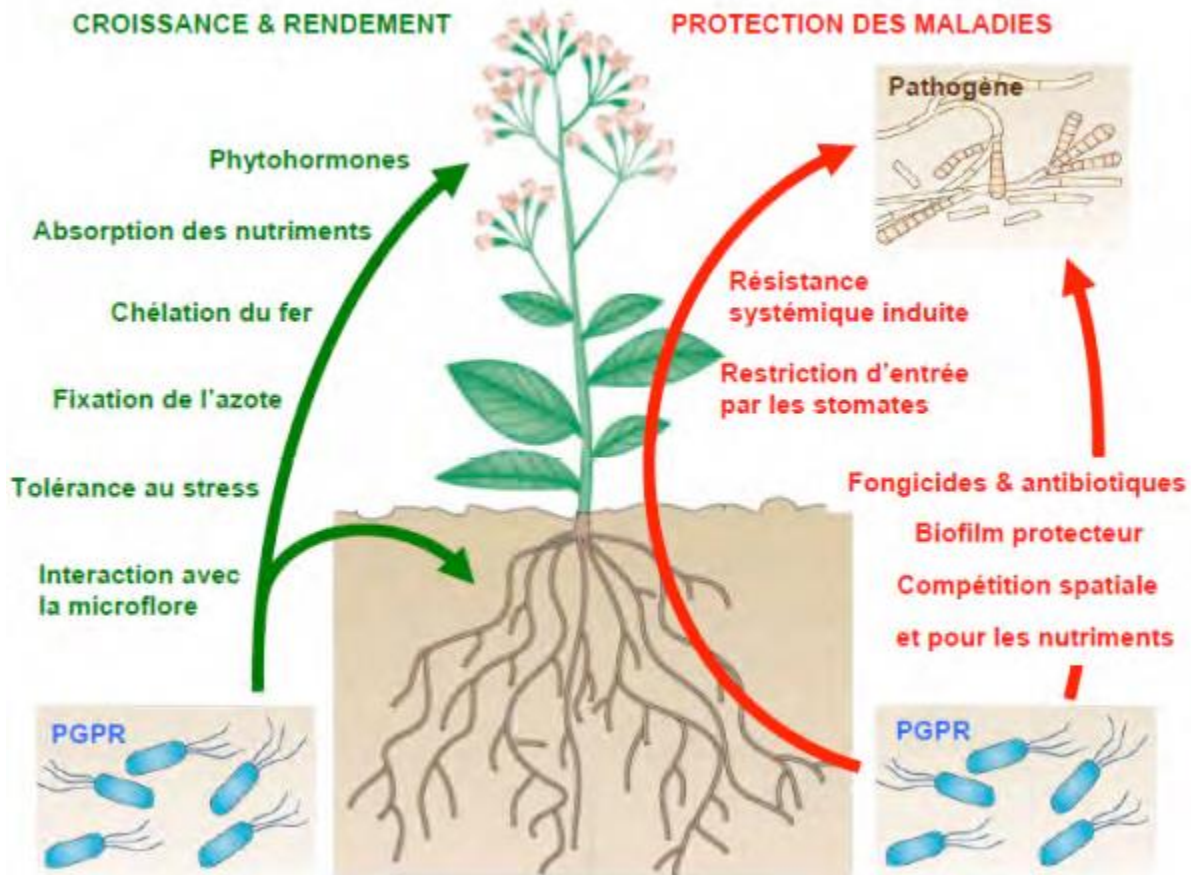


Figure 4 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Ramos *et al.*, 2009, Benmati.,2014).

La PGPR peut moduler le développement et la croissance des racines grâce à la production de phytohormones, de métabolites secondaires et d'enzymes. Les effets les plus couramment observés sont une réduction du taux de croissance de la racine primaire et une augmentation du nombre et de la longueur des racines latérales et des poils absorbants. Les PGPR influencent également la nutrition des plantes par la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore ou la production de sidérophores, et modifient la physiologie des racines en modifiant la transcription des gènes et la biosynthèse des métabolites dans les cellules végétales (Vacheron *et al.*, 2013).

II. Les légumineuses

1. Caractéristiques des légumineuses et importance de la symbiose rhizobienne

Les légumineuses sont parmi les aliments les plus consommés dans le monde. Elles forment une grande famille végétale avec plus de 7000 espèces. Il s'agit de plante à gousse qui se présente sous diverses formes : arbre, arbuste, herbe ou liane. Certaines ont un grand intérêt économique et médicinal et la plupart des espèces sont comestibles (Razafindrazaka., 2015). Ces plantes suivent en importance celles de la famille des Poacées (Hejjaoui., 2013) Elles occupent le second rang après les céréales comme culture alimentaire dans le monde. Les légumineuses sont très riches en protéines de qualité, et en association avec les céréales, elles forment la base de l'alimentation de milliards de personnes et une source importante de fourrage et de produits naturels (Bargaz., 2012).

Il existe deux types de légumineuses : les légumineuses fourragères et les légumineuses à graines, En ce qui concerne les légumineuses à graines(Figure5), elles sont parmi les premières espèces qui ont été domestiquées dans le croissant fertile où on retrouve encore certains restes archéologiques vieux d'environ 12 000 ans pour les plus anciens. Les écrits issus de la Rome antique rapportent de nombreux témoignages de l'utilisation des légumineuses à graines dans les rations alimentaires, comme des fèves, des lentilles et aussi des pois (Tombozara., 2014).



Figure 5: Quelques graines de légumineuses. (Hejjaoui K., 2013)

❖ *Symbiose rhizobium-légumineuse*

Dans la nature, la symbiose végétale représente le mode de vie de l'ensemble des organismes. Au cours des dernières années, une multitude de travaux ont clairement démontré l'intérêt

scientifique et pratique de ces symbioses pour l'ensemble des végétaux Plus que 90 % des végétaux vivent de façons symbiotiques. Il s'agit d'une association durable entre deux ou plusieurs êtres vivants hétérospecifics et dont chacun tire bénéfice. Les symbiotes s'aident mutuellement à se nourrir, se protéger ou se reproduire. (Taktek., 2015).

Les légumineuses présentent l'énorme avantage par rapport aux autres plantes de pouvoir s'associer à des bactéries du sol communément appelées rhizobiums. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange bénéfique pour les deux partenaires (Giraud., 2007).

2. Caractéristiques botaniques des légumineuses

Les légumineuses (littéralement : légume dont le fruit est une gousse) représentent 1/12e des plantes à fleurs, soit plus de 18 000 espèces connues. La très grande majorité d'entre elles est capable d'entrer en symbiose avec des bactéries du sol, principalement du genre rhizobium. (Anonyme., 2008) Elles colonisent aussi bien les régions tropicales que les régions tempérées ou arctiques du globe terrestre. (Saoudi., 2008). C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales, comprenant des plantes herbacées, des arbres des arbustes ou des lianes, à feuilles habituellement composées, souvent trifoliolées, rarement simples, généralement avec des stipules. Beaucoup sont grimpantes et possèdent des feuilles ou des parties de feuilles modifiées en vrilles. Les fleurs, pentamères avec 10 étamines, ou parfois plus, caractéristiques, ressemblent souvent à des papillons. Fruit en gousse uniloculaire s'ouvrant en deux valves séparées et contenant de nombreuses graines. (Sebihi., 2008).

3. description morphologique de la fève

Fabacée est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, avec environ 440 genres et 12.000 espèces (Al-hawshabi1 *et al.*, 2013) la plaçant en seconde position derrière les poécees, en terme de diversité (Hejjaouik., 2013).

Vicia Faba L est une plante herbacée annuelle (Ouslim ., 2016), rigide et droite, forme des gousses dressées ou inclinées contenant de grosses graines. Sa tige est de section carrée, les angles sont mis en relief par une proéminence qui naît à la base des feuilles et se prolonge vers le bas. Au niveau des premiers nœuds à proximité du sol, la plante peut former des pousses latérales. Elle présente la singularité de vouloir toujours continuer à croître, la croissance à la pointe de la pousse terminale ne cesse pas de manière ciblée. Si la plante reçoit suffisamment de précipitations, elle peut atteindre plus que 120 cm de haut (figure6) (Schilperoord., 2016).

La fève possède des fleurs qui sont généralement blanche avec des ailes noires, par deux à cinq petites grappes pédonculées (Ouslim., 2016). La visite des fleurs par les insectes peut dans une faible proportion induire des croisements (Bouché., 2012).



Feuilles et fleurs de *V. faba* L.



Tige de *V. faba* L.



Gousses récoltées de *V. faba* L.



Graines de *V. faba* L.

Figure 6: Les différents organes de la fève. (Bentama et Boursas., 2016)

4. Position systématique de fève

D'après (Bay ahmed ., 2013). La fève est classée comme suit :

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Série	Caliciflores
Ordre	Rosales
Famille	Fabacées (Légumineuses)
Sous- famille	Faboideae
Genre	<i>Vicia</i>
Espèce	<i>Vicia faba</i> L

La classification APG III (2009), par les auteurs : Birgitta Bremer et al. (Bentama et Boursas S., 2016).

Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyaues Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Vicia</i>

5. Importance et répartition du *vicia faba* L

La fève à l'image des autres légumineuses alimentaires est très riche en protéines Elle constitue un aliment nutritif très important surtout pour les populations à faibles revenus qui ne peuvent pas toujours s'approvisionner en protéine d'origine animale. (Daoui., 2007).

Du fait que *V. faba* a été cultivée depuis longtemps dans des régions agro-climatiques diverses, les variétés locales offrent de nos jours un choix d'alternatives et une grande diversité génétique. L'importance de cette richesse génétique, pour le développement de variétés améliorées est incontestable et nécessite des actions de sauvegarde en vue de diminuer les effets de l'érosion génétique (Al Mohandes *et al.*, 2011). Deux particularités les caractérisent : elles peuvent s'associer avec des bactéries et renferment leurs graines à l'intérieur de gousses. Les grains produits sont utilisés pour l'alimentation humaine et animale. (Bay Ahmed ., 2013).

Selon GORDON (2004) et MEZANI (2011), cette légumineuse a une teneur en protéine élevée de l'ordre de 300 g/kg et est une excellente source de fibres solubles et insolubles, de glucides complexes, de vitamines (B9 et C) et de minéraux (en particulière le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc) (tableau1). (Ouslim ., 2016).

Tableau 1: composition chimique moyenne pour 100g de fève (Fachmann et kraut., 2006 , ouslim., 2016).

Compositions(g)	vitamine (mg)
Glucides.....10	acide ascorbique.....82
Protides.....5.40	provitamine A (carotène).....0.1
Lipides.....0.30	B1 (thiamine)0.3
Eau.....82.0	B2 (riboflavine)0.2
Fibres alimentaires 6.50	B3 (nicotamide).....1.8
Minéraux	Apports énergétiques
Potassium.....210	K calories.....64
Phosphate.....105	K joules.....268
Calcium.....24	
Magnésium.....18	
Soufre.....27	
Sodium.....4	
Cuivre.....14	

Dans le langage courant, *V. faba major* correspond à la fève potagère, essentiellement cultivée dans le Bassin méditerranéen, en Amérique du Sud et en Asie du Sud-Est (Chine en particulier)

pour la consommation humaine. *V. faba equina* et *V. faba minor* représentent la féverole au sens large, plus répandue en Europe Occidentale et du Nord et plus particulièrement destinée à l'alimentation du bétail (Bay ahmed., 2013).

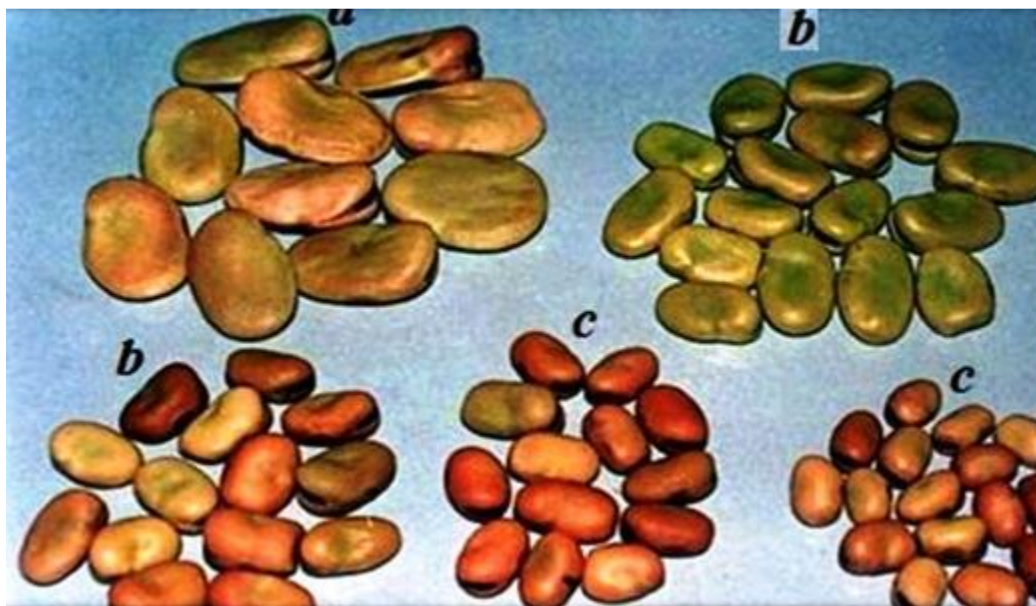


Figure7: (a) Graines de *Vicia faba major*, (b) Graines de *Vicia faba minor* (c) Graines de *Vicia faba equina* (Bentama et Boursas ., 2016)

III. Le phosphore

Le phosphore (P) est le cinquième élément composant la matière vivante. Quelle que soit sa forme, l'atome de P est toujours associé à des atomes d'oxygène pour former le groupement phosphate PO_4^{3-} . La formation d'une liaison anhydride d'acide entre deux groupements phosphate (ex. ATP) riche en énergie (ΔG° de $-7,3 \text{ kcal mol}^{-1}$) lui confère un rôle central dans le stockage de l'énergie cellulaire. (Plassard et al., 2015). Le phosphore (P) est l'un des éléments importants sur terre. En effet, il s'agit de l'élément essentiel du métabolisme énergétique de toutes les formes de vie. Le P est indispensable pour les cellules vivantes vu qu'il est un composant principal de l'ADN, de l'ARN, de l'ATP et des phospholipides (composant majeur des membranes cellulaires). Il est conséquemment impliqué dans la division cellulaire, la transmission de l'information génétique, le transfert et le stockage d'énergie et aussi dans le système photosynthétique. Toutes ces propriétés font de cet élément l'un des trois macronutriments nécessaires pour la croissance et le développement des plantes (avec l'azote (N)

et le potassium (K)), généralement présents dans les engrais chimiques (Taktek., 2015) c'est un élément chimique non métallique abondant dans la nature il est le onzième constituant de la croûte terrestre (Beaudin., 2006). Il joue un rôle essentiel dans de nombreuses molécules de la matière vivante. On le trouve à l'état de sels minéraux (les phosphates) dans les tissus végétaux et animaux ou associé à des combinaisons organiques multiples, tels les acides nucléiques, les protéines du noyau, les chloroplastes.(Anonyme., 2005).

1. Le phosphore dans le sol

Le phosphore présent dans les sols n'est pas un ensemble homogène (Fardeau., 1993) cet élément est généralement peu mobile dans les sols et peu disponible aux plantes (Rihardson., 1994, Djeghar et Djeghar., 2014). Les phosphates se trouvent généralement associés à des cations, à des oxydes ou hydroxydes métallique dans le sol, le niveau de disponibilité des différentes formes d'orthophosphates varie grandement. Certains se retrouveront rapidement en solution, d'autres migreront plus lentement de la phase solide vers la solution et d'autres encore ne se solubiliseront qu'avec l'activité d'organismes vivants (Beaudin., 2006).

Un problème environnemental important est le phosphate insoluble du sol, étant environ 80% de la teneur totale en phosphore du sol (Dobre *et al.*, 2015). Le phytate (myo-inositol-hexakisphosphate) est l'un des principaux composés organiques du phosphore. Sa minéralisation est susceptible de fournir une source de phosphore disponible pour les plantes et les microorganismes (Rihardson., 1994, Djeghar et Djeghar., 2014).

2. Le phosphore : un élément essentiel dans la nutrition des plantes

L'amélioration de la fertilité du sol est l'une des stratégies les plus communes pour augmenter la production agricole. En plus de la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates est également importante. Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. (Ezawa et al., 2002, Bouali., 2017).

La disponibilité du P influe fortement sur le processus par lequel les organismes photosynthétiques fixent le carbone inorganique au niveau de la biomasse cellulaire. Par conséquent, la connaissance du cycle du P est très importante pour la compréhension du bilan global du carbone ainsi que les différents cycles biogéochimiques (Taktek., 2015).

Ainsi, le phosphore permet la formation correcte des grains, des quantités importantes de phosphore sont stockées dans les semences sous forme de phytine et accélère leur maturation, en effet, le niveau de l'approvisionnement en phosphore pendant les étapes reproductrices règle la partition des photosynthétats (produits de la photosynthèse) entre feuilles-sources et les organes reproducteurs, du même il stimule la croissance des racines et améliore la fixation N_2 des légumineuses (Latati., 2012).

3. le cycle du phosphore

Contrairement aux autres importants cycles, le cycle du phosphore ne comporte pas de composante gazeuse en quantité significative et n'affecte presque pas l'atmosphère, de plus, les transferts d'un réservoir à l'autre ne sont pas ou moins contrôlés par des réactions microbiennes, comme pour le cycle de l'azote (Beaudin I., 2006).

Un schéma simplifié conventionnel pour afficher les pools de base et les processus dans le cycle P du sol implique (1) les entrées (I1 à I3), (2) les pools (P1 à P5) et les réactions (R1 à R4) dans le sol, et (3) les pertes de P du sol (L1 à L3) (figure7). Initialement, P pénètre dans le sol par altération de minéraux contenant du phosphore (principalement des apatites: $Ca_{10}X(PO_4)_6$, où $X = F^-, Cl^-, OH^-$ ou CO_3^{2-}) de la roche mère (concentrations $<10^{-2}$ g P kg^{-1}) (I1). Le principal apport de P aux sols agricoles provient du fumier, des sous-produits agricoles et municipaux et des engrais minéraux (10^{-1} à 10^1 g m^{-2} an^{-1}). Les sols des écosystèmes naturels et aménagés reçoivent également du P des déchets et des résidus de la végétation et des restes d'animaux (I2). D'autres apports de P proviennent de sources atmosphériques (dépôts humides et secs: 10^{-2} à 10^0 g m^{-2} an^{-1}) (I3). Globalement, les entrées P sont distribuées très inégalement; les sols des pays moins développés dotés de systèmes de production à faibles intrants sont insuffisamment approvisionnés et ceux des pays industrialisés sont souvent sur approvisionnés. De plus, les sols des zones d'Europe de l'Ouest et d'Amérique du Nord intensivement cultivées peuvent recevoir plus de phosphore provenant des dépôts atmosphériques (jusqu'à 10 kg ha^{-1} an^{-1}), que les sols

agricoles des petits systèmes agricoles africains. - et fumier P ($< 5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$). (Kruse *et al.*, 2015).



Figure 8: Présentation schématique du cycle du phosphore du sol (P) (Kruse J *et al.*, 2015).

(I = Entrées, P = Pools, R = Réactions, et L = Pertes)

❖ *Le cycle du phosphore dans le système sol/engrais/plante*

Le cycle du P dans le système sol/engrais/plante est présenté dans la figure 9. Dans l'état actuel de nos connaissances, on considère que la vaste majorité du P prélevé par les végétaux supérieurs l'est sous forme d'ion orthophosphate (P_i) à partir de la solution du sol et par voie racinaire. Donc, pour qu'un P_i soit prélevé par une plante, il doit quitter la particule de sol à laquelle il est associé, être transféré dans la solution du sol, migrer ensuite par diffusion entre les particules de sol sur une distance de quelques millimètres pour être finalement absorbé par une racine non lignifiée ou un hyphes mycorhizien et ensuite être transporté vers la racine. Une fois dans la plante, cet ion va participer à l'élaboration du rendement (Berne., 2004).

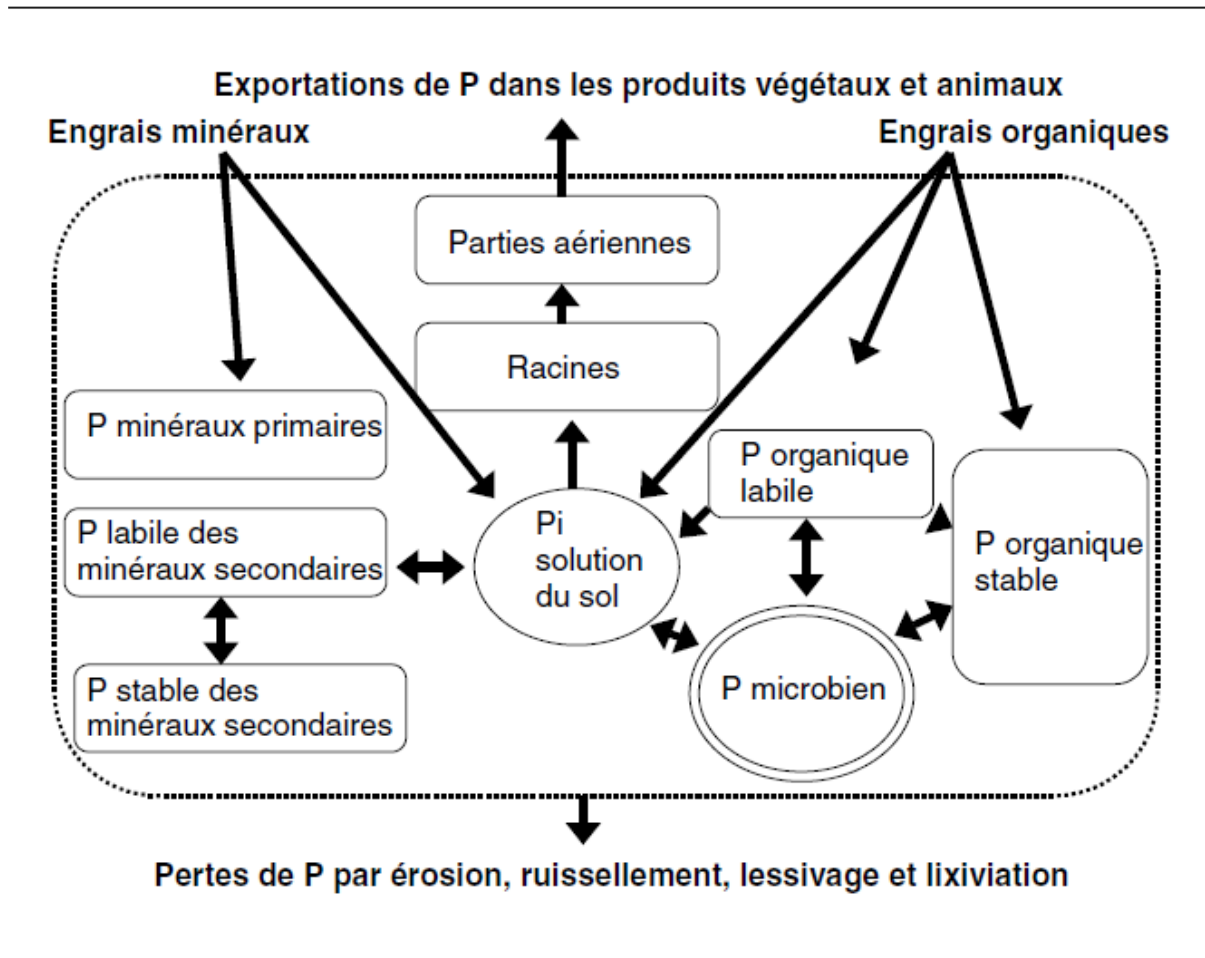


Figure 9: Le cycle du phosphore dans le système sol/engrais/plante (Berne., 2004).

Le p n'a pas d'effets toxiques directs sur les humains ou les animaux, mais il peut causer l'eutrophisation des eaux de surface, l'eutrophisation se définit par une croissance accélérée des algues ou des plantes aquatiques, les effets négatifs associés à ce phénomène sont importants d'un point de vue écologique, économique et sanitaire : dégradation de l'habitat (réduction de la teneur en oxygène dissous, réduction de la biodiversité, diminution de la valeur économique et des usages récréatifs (Pierzinsky *et al.*, 2000, Djeghar et Djeghar., 2014).

4. Niveau de la disponibilité du P dans les sols

Un sol agricole contient une à trois tonnes de phosphore par hectare dans les 20 premiers centimètres de son profil. Cette quantité dépasse largement les besoins annuels d'une culture qui sont de l'ordre de quelques dizaines de kilogrammes par hectare. En fait, seuls quelques

kilogrammes de phosphore par hectare sont présents dans la solution du sol sous forme d'orthophosphates et donc instantanément disponibles pour la culture (Berne., 2004)

La majorité des sols, y compris les sols ferrallitiques, possèdent une quantité importante de P total. Par contre, une faible fraction généralement inférieure à 1% serait disponible ou « assimilable », pour être absorbé par les végétaux (Tombozara., 2014).

Comme les plantes assimilent le phosphore majoritairement par la voie de racines sous forme d'ions orthophosphate en solution, la disponibilité du phosphore pour les cultures est définie comme la quantité totale du phosphore dans le sol susceptible de se retrouver dans la solution du sol sous forme d'ions orthophosphate pendant une période équivalente à la durée de la croissance de la culture ; toutefois, étant donné la grande complexité du système sol-plante la quantité de phosphore réellement disponible pour la végétation est encore difficile à évaluer (beaudin et *al.*, 2008).

5. Formes du phosphore

Bien que le contenu en P total (inorganique et organique) des sols ne dépasse généralement pas les 0.12%, seulement 0.1% de ce P total existe sous la forme inorganique soluble facilement assimilable par les plantes. Quant au P organique, sa contribution au P total, peut dépasser les 50% dans certains sols. (Taktek., 2015).

Les quantités relatives de phosphore dans des formes organique et inorganique varient légèrement d'un sol à un autre (Yadav et Verma., 2012, Amin Khoudja., 2013).

❖ *Le P minéral*

Le phosphore inorganique (Pi) est présent surtout à l'état oxydé, principalement sous forme complexe avec Ca, Fe, Al et avec les minéraux silicates. En sol organique, il est essentiellement fixé sur Al et Fe, les formes de l'ion phosphate varient avec le pH. Pour des pH de 5 à 8, les formes H_3PO_3 , et PO_4 sont négligeables et laissent place à l'équilibre chimique entre H_2PO_4 et HPO_4 . A pH 6, 90% des phosphates sont sous forme H_2PO_4 contre 60% à pH 7, seule une petite partie du P du sol

est directement ou rapidement disponible pour les plantes (Stevenson.,1986, Djeghar et Djeghar.,2014)

La majorité des composés inorganique du phosphore dans le sol appartiennent à deux groupes : ceux dans lesquels le calcium est le cation le plus dominant (phosphate de calcium) et se formes dans les sols neutres ou légèrement alcalins et ceux dans lesquels le fer et l'aluminium sont des cations de contrôle (phosphate fer et d'aluminium) (Yadav et Verma., 2012, Amin Khoudja., 2013)

❖ *Le P organique*

Le P organique représente une part plus ou moins importante du P total. Il représente en moyenne 20% du P total dans les grandes cultures (Achat., 2009)

Le P organique est défini comme l'ensemble des composés organiques produits par des organismes vivants, comprenant un ou plusieurs groupes de Pi (au moins un Pi lié à un carbone par une liaison covalente, généralement une liaison ester). Il peut représenter 30 à 90% du P total du sol .Le P organique du sol se trouve sous diverses formes chimiques, mais principalement sous forme d'inositol-6-phosphate (phytate) et secondairement sous forme de sucres phosphatés, d'acides nucléiques et de phospholipides (Plassard *et al.*, 2015). Les phytates sont des agents chélatants qui provoquent la formation de composés peu dégradables. Dans la nature, leur hydrolyse est effectuée par des phytases microbiennes, qui peuvent potentiellement être utilisées pour technologies microbiennes innovantes (Dobre *et al.*, 2015).

Les sols contiennent des formes très variées de PO ,On distingue, en fonction des liaisons existant entre atomes de P et de O ou C, des monoesters-P, des diesters-P, et en plus faible proportion des phosphonates et des polyphosphates et des pyrophosphates.(Maougal., 2014).les monoesters p sont essentiellement constitué d'inositol-p,qui peuvent provenir de la végétation de surface ou être inclus dans la biomasse microbienne et leurs produits métaboliques (tableau2) (Duguet., 2005) Après les phosphates monoesters, les diesters dont font partie les acides nucléiques et les phospholipides, représentent une autre classe fonctionnelle bien représentée dans les sols ,En général, leurs proportions dans les sols restent néanmoins assez faibles (1% en moyenne de phospholipides et moins de 3% d'acides nucléiques) Mais leurs proportions peuvent être plus élevées en forêts (Achat., 2009).

Tableau 2 : Récapitulatif des principaux composés naturels de P organiques pouvant être présents dans l'environnement (d'après Turner *et al.*, 2005, Bargaz.,2012).

composé	Formule chimique	classe	commentaire	
Acide désoxyribonucléique	C2H8NO4P	Diester	Principal source de Po chez les plantes Origine microbienne	
Acide ribonucléique		diester		
<i>myo</i> -inositol hexakisphosphate (acide phytique)	C6H18O24P6			
D-chiro-inositol hexakisphosphate	C6H18O24P6	monoester		
-Glucose 1-phosphate	C6H13O9P	monoester		
Adénosine Monophosphate	C10H14N5O7P	monoester		
Adénosine 5'-diphosphate	C10H15N5O10P2	polyphosphate		
Adénosine 5'-triphosphate	C10H16N5O13P3	Phospho-anhydride		
B-Glycérophosphate	C3H9O6P	monoester		Synthétisé par le clivage enzymatique de la choline
Phosphoénolpyruvate	C3H5O6P	monoester		Commun chez les plantes
L-phosphatidyl Ethanolamine	C7H12NO8P (2R)	diester	Phospholipide chez les microorganismes	
L- phosphatidyl-L-sérine	C8H12NO10P (2R)	diester	Phospholipides chez les mammifères	

6. Conséquences de la déficience en phosphore sur la plante

Des études ont montré l'effet de la déficience en P sur les différentes parties des légumineuses et de façon générale sur les racines. La structure racinaire en est modifiée de manière à augmenter la surface d'absorption et d'exploration alors que la croissance nodulaire est ralentie (Ribet et Drevon., 1995, Maougal., 2014).

Des plantes déficientes en phosphore montrent un retard de croissance cela se manifeste souvent par une couleur vert foncé (concentration plus élevée en chlorophylle) et une coloration rougeâtre (augmentation de la production d'anthocyanes) (Latati., 2012).

Une déficience en phosphore chez les légumineuses n'affecte pas seulement l'établissement de la culture et sa croissance mais aussi la nodulation et la fixation biologique d'azote

La déficience en phosphore chez la fève est caractérisée par : des tiges courtes et minces, des feuilles droites et sans éclat dont la perte est précoce et une floraison très réduite Pour palier à la déficience phosphatée, il a été montré que le phosphore migre des différents organes (racines, tiges et feuilles) pour alimenter les graines. (Daoui., 2007).

7. Solubilisation du phosphore par les microorganismes

Les plantes et les micro-organismes associés, au travers de relations rhizosphériques, symbiotiques et par la prédation des populations microbiennes, modifient considérablement la quantité de P que la plante est capable d'acquérir tout au long de sa croissance (biodisponibilité) (Plassard et *al.*, 2015).

La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Ces microorganismes bénéficient directement du P biodisponible nécessaire pour leur croissance. De même, d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures.

Notons que ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (mono et dibasiques) (Taktek., 2015).

Parmi les bactéries qui solubilisent le phosphore dans le sol, les rhizobia qui sont connues exclusivement pour leurs capacité de former une symbiose avec les légumineuses, elles peuvent également faciliter la croissance des plantes synthétisant des régulateurs de croissance et en solubilisant le phosphore insoluble, on outre, l'inoculation du sol avec des bactéries rhizobium

devrait être considérée non seulement pour le potentiel de fixation du N₂, mais aussi pour sa capacité à solubiliser le phosphore (Latati.,2012).

8. Le prélèvement de Pi par la racine et son transport dans la plante

La production primaire des milieux terrestres est limitée par la faible disponibilité du P pour les plantes. Elles ne peuvent en effet prélever leur P que sous forme d'ions orthophosphate, soit directement par voie racinaire, soit par l'intermédiaire des champignons mycorhiziens. Cependant, étant donnée la forte affinité de cet ion pour les composants du sol et la faible vitesse de libération de P par altération des roches, il n'est présent qu'à de très faibles concentrations dans la solution des sols non fertilisés. (Berne., 2004)

pour qu'un Pi soit prélevé par une plante, il doit quitter la particule de sol à laquelle il est associé, être transféré dans la solution du sol, migrer ensuite par diffusion entre les particules de sol sur une distance de quelques millimètres pour être finalement absorbé par une racine non lignifiée ou un hyphé mycorhizien et ensuite être transporté par voie apoplastique vers la racine. Une fois dans la plante, cet ion va participer à l'élaboration du rendement. Lors de son prélèvement, le Pi doit affronter deux obstacles. D'une part, il doit être transféré contre un gradient de concentration puisqu'il est présent à des concentrations comprises entre 0,01 et 0,1mM dans les solutions de sols agricoles, alors que dans les cellules de la racine sa concentration atteint des valeurs comprises entre 5 et 20 mM Dans une cellule correctement alimentée, 85 à 95% du Pi est stocké dans la vacuole. Par contre, lorsque la cellule est carencée, le Pi stocké dans la vacuole est transféré dans le cytoplasme, les chloroplastes et les mitochondries (Bargaz., 2012).

La majorité du P prélevé par les végétaux supérieurs est prélevé sous forme d'ion orthophosphate ou Pi (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) à partir de la solution du sol et par voie racinaire. Sa faible disponibilité dans les sols et sa faible diffusion font que la biodisponibilité de cet ion est un facteur limitant pour la production des écosystèmes. Par contre, les plantes ont développé de nombreuses stratégies leur permettant d'assimiler le Pi avec une plus grande efficacité dans des sols appauvris en cet élément. Ces stratégies consistent en premier lieu à une augmentation de la croissance racinaire, puis, la mise en place d'organes spécialisés ensuite, l'expression de transporteurs de Pi à haute affinité. La sécrétion d'exsudats racinaires et d'enzymes spécialisées et l'association symbiotique avec des champignons du sol ainsi (Tombozara., 2014).

IV. Le phytase

Les phytases sont chimiquement connues sous le nom de myo-inositol (1,2,3,4,5,6) hexakisphosphate phosphohydrolase (Kumara et *al.*, 2009) appartient à une sous-classe de la famille des histidine acid phosphatases (HAP) (Zhang *et al.*, 2013). Cet enzyme catalyse la libération séquentielle de phosphate par l'hydrolyse de l'acide phytique de manière progressive, en libérant de l'inositol phosphates et du phosphate inorganique. Ils peuvent être synthétisés à la fois par des micro-organismes (bactéries, champignons et levures), y compris les microbes du rumen chez les ruminants et les microbes du sol, et des plantes comme le blé, l'orge, le riz, le maïs ou le seigle (Dobre et *al.*, 2015). Les phytases sont classées en plusieurs familles distinctes selon la position du premier groupe phosphate de phytate hydrolysé par l'enzyme ou le mécanisme catalytique de l'hydrolyse. Trois grands types de phytases sont reconnus sur la base du premier groupe phosphate hydrolysé par les enzymes: 3-phytase (EC 3.1.3.8), 4/6-phytase (EC 3.1.3.26), et 5-phytase (EC 3.1. 3,72). 3-Les phytases sont très courantes dans les microorganismes, les phytosides 4/6 sont souvent présents dans les plantes, et les 5-phytases ont été isolées à partir de plantes légumineuses et de la bactérie du rumen (Suleimanova *et al.*, 2015).

La plupart des phytases végétales initient l'hydrolyse du phytate à la position C6 du anneau myo-inositol hexaphosphate, et sont donc signalés être phytases de type 6 (Kumara et *al.*, 2009)

L'ajout d'enzymes de dégradation du phytate a également été considéré comme un moyen de réduire le niveau de pollution de phosphate. Des études ont déjà montré que l'ajout d'enzymes de dégradation du phytate améliore l'utilisation du phosphate à partir du phytate (Cromwell *et al.*, 1995; Simons *et al.*, 1990, Maougal., 2014).

Matériel et méthodes

1-Echantillonnage

Des échantillons de sol rhizosphérique de la fève (*Vicia faba*) ont été prélevés en mars 2018 avec leurs parties aériennes de trois champs situés dans la wilaya de Constantine (El Hamma)

Site 1 : (l'attitude 36° 25' 20 N, 06° 31' 30 E , l'altitude 345 m).

Site 2 : (l'attitude 36° 25'12 N, 06° 31' 47 E, l'altitude 330 m).

Site 3 : (l'attitude 36° 25' 297 N, 30° 06' 32 E, l'altitude 372 m).



Figure 10 : sites de prélèvement des fèves (Maougal 2018 données personnelles).

Le sol rhizosphérique prélevé a été conservé dans des sacs en plastique propres puis placés au congélateur à -12°C après la collecte

2-isolement et comptage bactérien

- Préparation de la solution mère

A partir de chaque échantillon de sol destiné à l'analyse microbiologique nous avons mis en suspension le sol rhizosphérique (1g.ml⁻¹) dans un tube Falcon de 50ml contenant 15 ml de tampon PBS stérile (Annexe 1). Le tube est ensuite agité manuellement. Le contenu représente la solution mère (Gouzou., 1992).

➤ Préparation des dilutions

Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, 1 ml de la solution mère et ajouté, ce qui représente la dilution 10^{-1} . Un ml de cette dilution mélangé à 9ml d'eau physiologique stérile, ce qui correspond à la dilution 10^{-2} , On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} et 10^{-5} (Daur *et al.*, 2018),

Chaque boîte de pétri est ensemencées en touche avec 3 répétitions par souche et par milieux avant d'être mise à incuber à 28°C (Kirdi., 2011).

2-1- densité des bactéries totales cultivables

Le principe général du comptage consiste à dénombrer le nombre de bactéries présentes sur un milieu solide issu d'une dilution, 20µl ont été prélevés aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} et ont été étalées sur milieu LB (Annexe 1) (3 gouttes boîtes par dilution) en utilisant la technique dite « de la goutte » ou les boîtes sont divisé en 3 parties (figure11) chaque partie est ensemencé une fois avec une dilution.

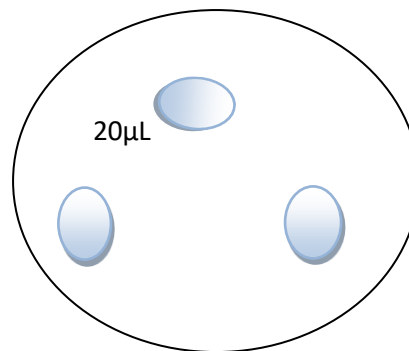


Figure 11: Schéma représentant la méthode d'ensemencement par la technique dite de la goutte

La taille de la communauté bactérienne cultivable a été estimée par comptage du nombre de UFC par gramme de sol le dénombrement bactérien a été déterminé après 24 h et 48 h ,72h d'incubation à 28 °C. Cette période d'incubation permet la stabilisation du nombre d'UFC

2-2 - densité des bactéries minéralisant le phytate

La caractérisation de la densité et de la structure de la diversité de la communauté bactérienne fonctionnelle minéralisant le phosphore a été appréhendée à partir d'une approche basée sur la culture des microorganismes. Cette étape s'est faite sur le milieu NBRIP (Annexe 1) (Singh *et al.*, 2014).

Les colonies ont été incubées pendant 3-5 jours sur milieu (NBRIP). La formation de Halo autour des colonies a été considérée comme indiquant une activité de solubilisation du phosphate. (Xiaohui *et al.*, 2018).

Les souches sélectionnées ont été codées puis cultivées sous des conditions d'asepsie dans de nouvelles boites de pétri sur le milieu de culture le plus convenable à leurs développement (Kirdi., 2011) à 28°C pendant 24 heures, en utilisant la technique des stries par épuisement. Cette technique permet d'obtenir des colonies pures et séparées.

2-3- Conservation des isolats

Tous les isolats ont été incubé pendant une nuit dans un milieu LB et conservés dans une solution de glycérol 50% à -80°C.

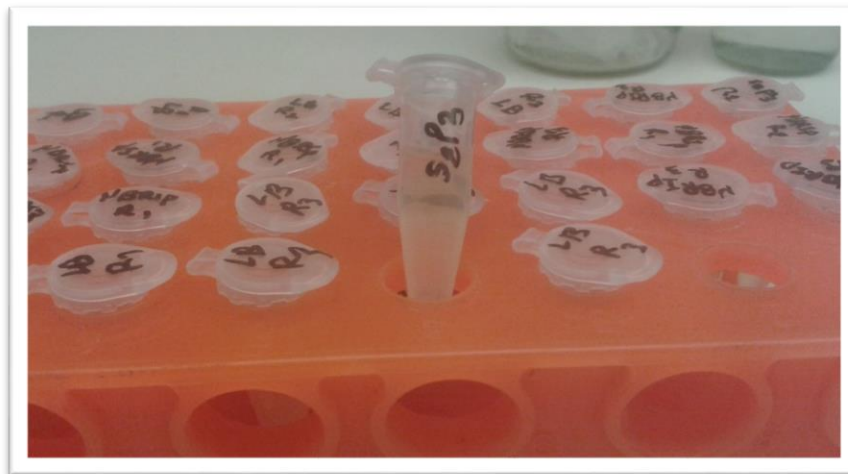


Figure 12: Conservation des bactéries dans une solution glycérol 50%

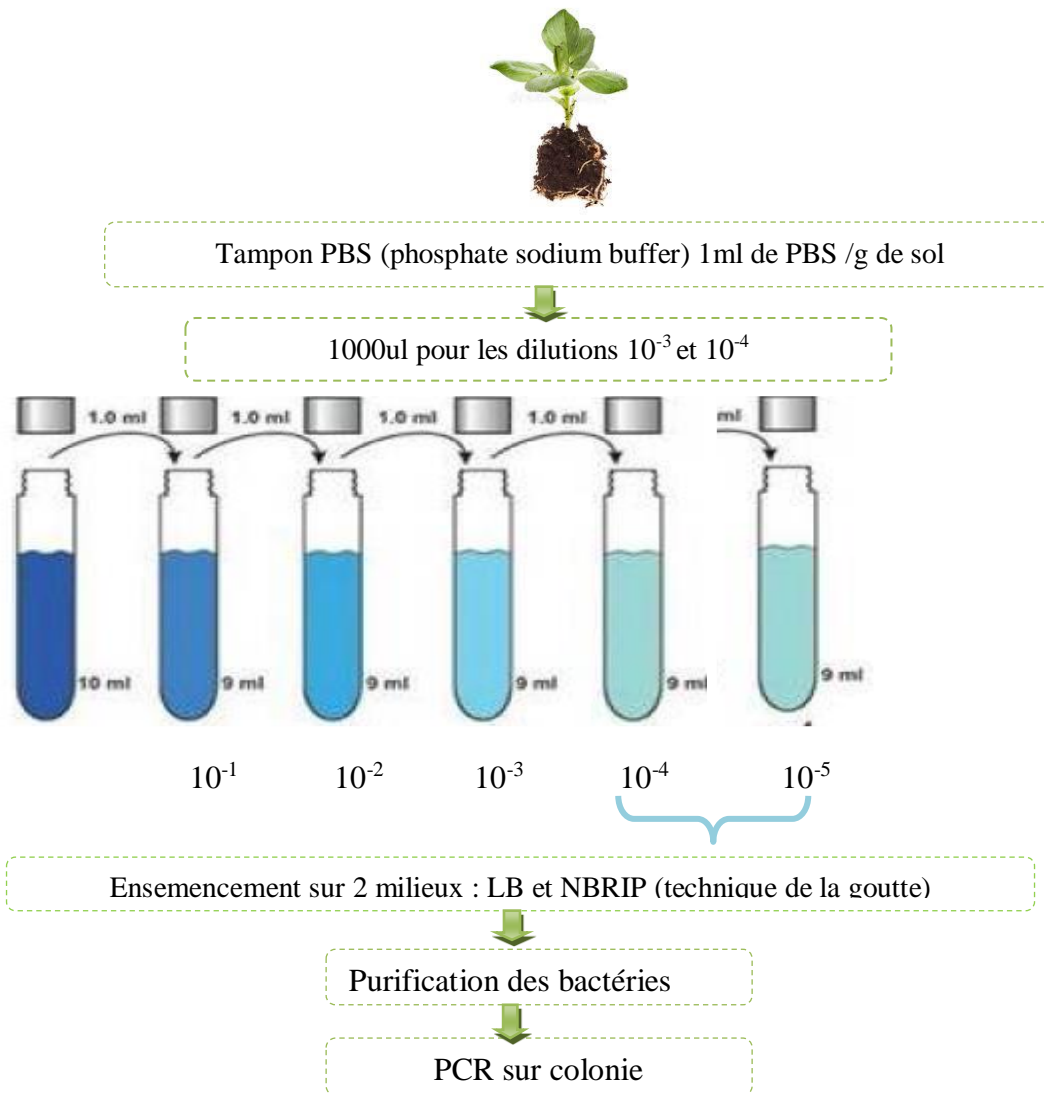


Figure 13: Schéma récapitulatif du protocole du prélèvement du sol rhizosphérique et l'isolement des bactéries et leur caractérisation

3- Identification du gène phytase par PCR

Pour caractériser la prestance du gène BPP nous avons effectué une PCR sur colonie, qui est une PCR qui s'effectue directement sur une colonie bactérienne permettant ainsi un criblage rapide et fiable du gène recherché. Chaque colonie isolée présente un halo est prélevé à l'aide d'une cône stérile et mise en suspension dans les tubes éppendorf contenant le mix de PCR et est amplifiée pour détecter les colonies bactérienne porteuse du gène spécifique BPP.

L'amplification de ce gène a été faite avec un volume réactionnel final de 25 µl contenant (5µl Buffer 10x, 1,5µl MgCl₂, 0,25 µl taq polymérase, 0,5µl dNTPs, 2,5µl d'amorces, 1µl d'ADN et 14.25µl d'H₂O).

Les amorces varient selon le gène d'intérêt à amplifier. Dans ce cas l'amorce spécifique est :

pBsf	5'CTCGCATGCTGTCCGATCCTTATCAATTTTCCG3'
pBsr	5'GGCAGATCAAAAACCGCTTCTGTCTGGTCAGTTC3'

Le volume a été ajusté avec de l'eau distillée stérile pour donner 25 µl. L'amplification de l'ADN a été réalisée dans un thermocycleur Perkin-Elmer en utilisant une étape de dénaturation initiale à 95 ° C pendant 6 min suivie de 30 cycles d'amplification (dénaturation à 95 ° C pendant 0,5 min, recuit à 59 ° C pendant 0,5 min, et extension à 72 ° C pendant 0,5 min), en terminant par une extension finale à 72 ° C pendant 7 min (Wang G *et al.*, 2002)

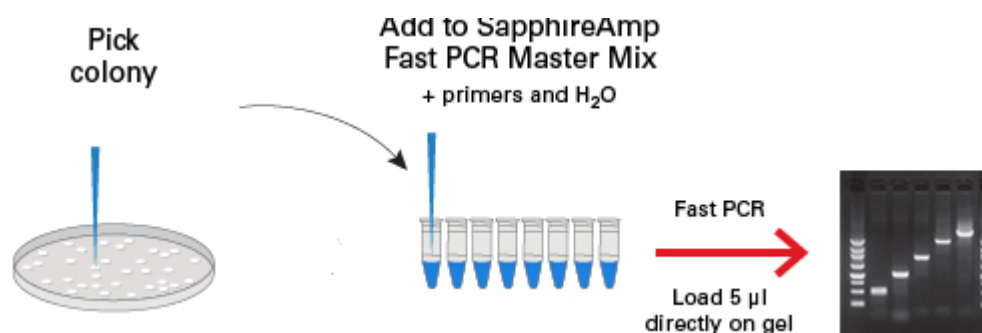


Figure 14: schéma représentatif du protocole « PCR sur colonie » (Anonyme., 2018).

Les produits d'amplification obtenu par PCR sont déposés pour migration sur gel d'agarose à 1% (W /V) afin de séparer les fragments d'ADN de différentes tailles. Le Bromure d'éthidium (agent intercalant des bases azotées) est ajouté au gel d'électrophorèse afin de permettre la visualisation sous lampe UV des ADN amplifiés.

La migration sur gel se fait dans une cuve d'électrophorèse contenant du Tampon TAE 0.5 %, sous une tension de 100 volts pendant 45 min. Le marqueur de taille utilisé est le Smart Ladder 1Kb (Eurogentec), permettant de vérifier la taille du fragment amplifié. Les gels d'électrophorèse sont révélés sous une lampe UV et photographiés.

4- Etude des bactéries rhizosphériques

4-1 Etude macroscopique

L'étude des caractères morphologiques (macroscopiques) consiste en l'observation des colonies bactériennes, à l'œil nu ou grâce à la loupe binoculaire, prenant en compte les éléments d'identifications macroscopiques suivant: (Zahid *et al.*, 2015).

- La taille des colonies: moyenne, ou grosse...
- La chromogénèse : couleur de la colonie.
- La forme des colonies : rondes, irrégulières, etc.
- L'élévation : convexe, concave, ou plate.
- L'opacité : opaque, translucide, ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée.

4-2-Etude microscopique

➤ Coloration différentielle de Gram

Les étapes du protocole sont les suivantes : les cellules sont fixées a la flamme ensuite le violet de gentiane est ajouté (1-2 min) les bactéries sont se colorent alors ont violet. Le colorant par la ensuite est fixé par le lugol iodure de potassium (30s). La préparation est abondamment rincée à l'eau distillée afin d'évacuer l'excès de colorant. La préparation est décolorée par l'alcool 70% et rincée à nouveau abondamment à l'eau distillée .puis une deuxième coloration avec la fuschine est réalisée de nouveau, la préparation est rincée à l'eau et sécher à température ambiante (Gram., 1884)

L'observation microscopique au grossissement avec huile à immersion permet de voir si les cellules sont colorées en violet (Gram positif) ou bien en rose (Gram négatif).

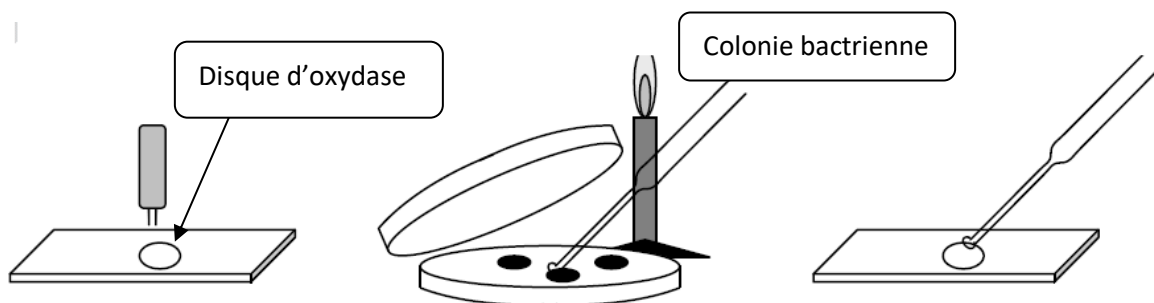
4-3- Etude des enzymes respiratoires

➤ Recherche de la catalase

La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre une colonie bactérienne sur une goutte d'eau oxygénée, Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (Madjeedet *al.*, 2015).

➤ Recherche de l'oxydase

Déposer un disque d'oxydase sur une lame, l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile. Prélever une colonie parfaitement isolée avec une pipette Pasteur boullée et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes. Observer immédiatement.



La réaction positive est révélée par l'apparition d'une tache violette.

4-4- Etude de l'effet PGPR

4-4-1 production de l'acide indole acétique (AIA)

➤ Estimation de la production d'AIA

Les bactéries sont mises en culture toute une nuit dans le milieu LB liquide à l'obscurité à 28°C. Les cellules bactériennes sont récupérées par centrifugation à 5000 g pendant 10 minutes. 900 µl du surnageant est mélangé avec 900 µl du réactif Salkowski's, puis incubé à température ambiante à l'obscurité pendant 20 minutes. L'obtention de la couleur rose est un indicateur de production d'AIA. (Singh *et al.*, 2014).

➤ **Quantification d’AIA**

L'absorbance du mélange surnageant (surnageant «réactif de Salkowski» (Annexe1)de la production de l'indole a été mesurée à 530 nm et la quantité d'indoles a été déterminée par comparaison avec une courbe standard en utilisant un graphique standard IAA préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en AIA (Annexe2). (Kumar *et al.*, 2013)



Figure 15 : Mesure de l'absorbance du mélange surnageant par spectrophotometrie à 530

5- Effet des bactéries sur l’acquisition du P

5-1- Biomasse aérienne des plantes

Les plantes ont été soigneusement nettoyées et lavé à l'eau distillée pour enlever le sol adhérent aux racines. Les plantes ont ensuite été séchées à 65 °C pour 48 h pour déterminer la biomasse végétale totale en poids sec.

5-2- dosage du P

Après détermination de la biomasse sèche des plantes, les teneurs en P (mg kg⁻¹) dans les tissus végétaux ont été analysées par la méthode au molybdovanadate décrite par Sadzawka *et al.* (2007). Brièvement, les échantillons ont été lavés dans un four à mufle à 500 °C pendant 8 h et digérés avec du HCl 2M. Les digestions acides ont été altérées et le P dans les extraits a été quantifiée par spectrophotométrie à 466 nm en utilisant une courbe d'étalonnage prémesurée pour déterminer la teneur en P. Enfin, l'absorption de P a été estimé en tant que teneur en phosphore (mg kg⁻¹) × biomasse sèche)

Résultats et discussion

1-Isolement et comptage bactérien

1-1- Densité des bactéries totales cultivables

Le nombre de colonies bactériennes totales par gramme du sol (UFCg⁻¹) des 3sites a été déterminé après72h d'incubation à 28°C sur milieu LB.

Les résultats sont présentés dans la figure 16, qui illustre le nombre de bactéries totales sur milieu LB.

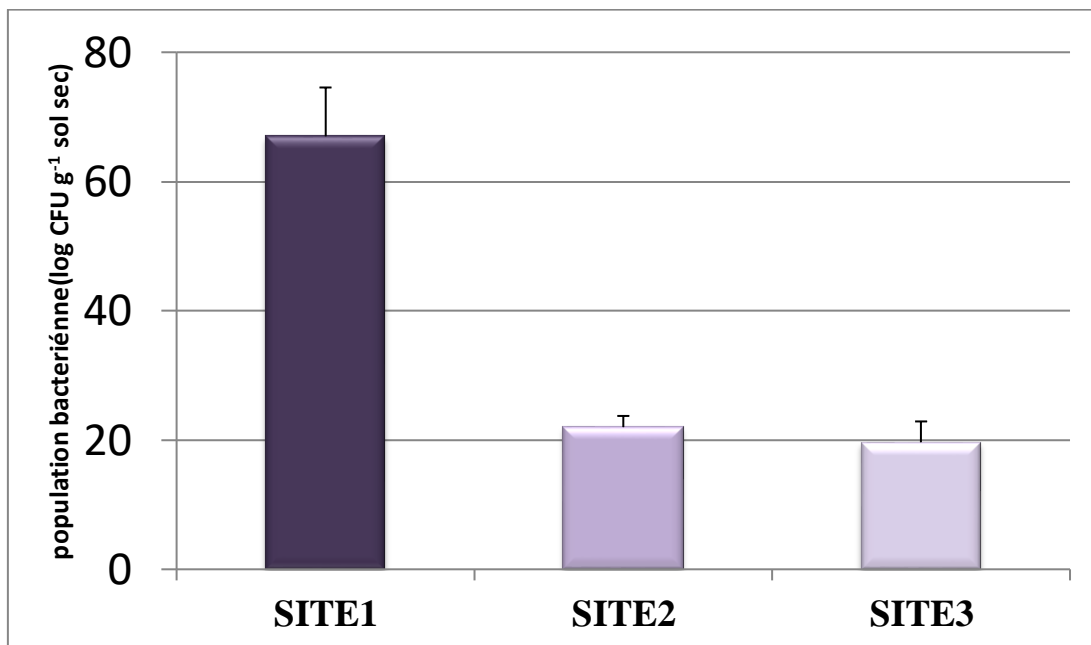


Figure16 : Densité des colonies bactériennes au niveau du sol rhizosphérique de la fève

L'histogramme de la figure indique que le sol rhizosphérique du premier site présente une communauté bactérienne cultivable sur milieu LB plus importants que celle des sites 2 et 3. Une analyse de variance (Annexe 3) montre que la différence de nombre de bactéries entre les 3 sites est significative.

Pour le site 1 le nombre des bactéries isolées de la rhizosphère des plantes varie entre 6,0*10⁷UFC g⁻¹ et 7,5*10⁷UFCg⁻¹. Par contre le sol rhizosphérique de sites 2 et 3 Contient un

nombre inférieur de colonies. OÙ le nombre de bactéries varie entre $2,0 \cdot 10^7$ UFC/g et $2,3 \cdot 10^7$ UFC/g pour le site 2 et entre $1,6 \cdot 10^7$ UFCg⁻¹ et $2,2 \cdot 10^7$ UFCg⁻¹ dans le site 3.

Ces résultats montrent que les sols des différentes localités de la région d'El Hamma renferment une microflore rhizobienne très variable sur le plan quantitatif et/ ou qualitatif.

Des facteurs tels que le type de sol, l'humidité du sol, le pH, la température, l'âge de la plante, et plusieurs autres facteurs sont connus pour influencer la densité bactérienne (Manoharachary et Mukerji., 2006).

Mouafek (2010) montre que les sols d'une meilleure texture, d'une plus grande richesse en éléments nutritifs et de conditions édaphiques moins contraignantes hébergeraient une microflore rhizobienne nettement plus abondante permet une meilleure croissance des plantes de la fève.

1-2 - densité des bactéries minéralisant le phytate

L'efficacité de solubilisation des phosphates par les isolats de nos échantillons a été mesurée sur le milieu NBRIP (Kumar V *et al.*, 2013), ce milieu est plus efficace que le milieu Pikovskaya (PVK), Il a été développé pour le criblage des microorganismes solubilisant au phosphate (ShekharNautiyal., 1999).

La présence du halo indique ces bactéries qui ont poussé sur le milieu spécifique ont une activité phytase (Singh *et al.*, 2014). Les résultats obtenus de cette étude montrent que 90% des colonies bactériennes sont capables de produire l'enzyme phytase, OÙ nous avons observé une formation de halo autour des bactéries.

Les résultats sont présentés sur la figure 17, qui représente le nombre de bactéries spécifique en log UFC g⁻¹ de sol sec.

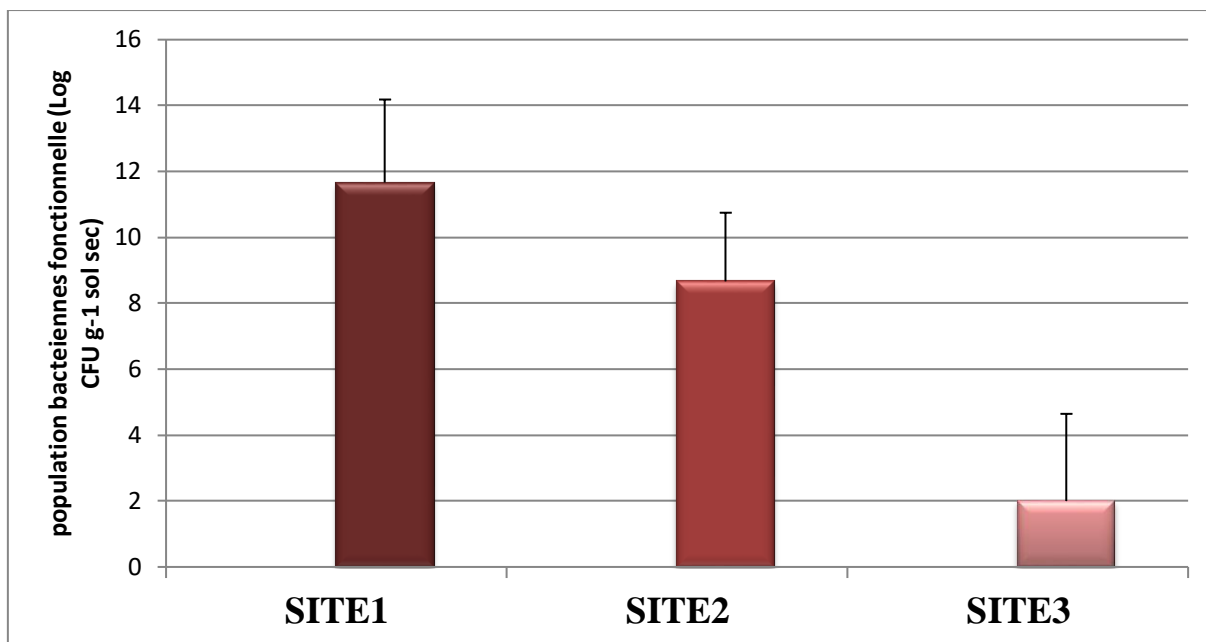


Figure17 : Densité des colonies bactériennes spécifique au niveau du sol rhizosphérique de la fève

Le nombre de bactéries fonctionnelle dans le site 1 est supérieure aux sites 2 et 3, Ceci peut être expliqué par le fait que le site 1 contient plus de bactéries totales que les deux autres. Le nombre de bactéries dans le site 1 arrive à $1,4 \cdot 10^7$ UFCg⁻¹, Alors que le nombre de bactéries est limité aux sites S1 et S3 entre 0 et $1,1 \cdot 10^7$ UFCg⁻¹

Une analyse de variance (Annexe 3) montre que la différence de nombre de bactéries spécifique entre les 3 sites est significative.

2- Identification du gène phytase par PCR

L'ADN bactérien a été extrait directement des colonies de la rhizosphère de la fève en mettant en suspension des cellules de colonies individuelles dans 25 µl de mélanges de solutions PCR (Jorquera *et al.*, 2010).



Figure 18: Détection des gènes codant pour le phytase par PCR sur colonie

Comme le montre la photo du gel, mis à part chez une colonie du site 1, nous n'avons pas pu identifier le gène phytase chez le reste des colonies, et cela va à l'encontre du précédent résultat qui est l'identification sur milieu spécifique.

Ceci peut être dû soit à une erreur de manipulation ou bien aux amorces qui sont nouvelles et que nous n'avons pas eu le temps de tester au préalable avec celles habituellement utilisées.

3- Etude des bactéries rhizosphériques

3-1 Etude macroscopique

La morphologie des colonies, la taille, la couleur, contour, l'opacité, consistance ont été enregistrés après 24h d'incubation à 28°C sur milieu LB et NBRIP. (Zahid *et al.*, 2015).

L'observation des colonies bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de la fève a révélé différents types de colonies, aux caractéristiques similaires pour quelques-unes et relativement variables pour d'autres.

Les colonies sont toutes rondes au contour régulier et avec une surface lisse et une consistance grasse, Cependant, nous avons observé une variation dans la taille des colonies, la couleur, et le relief (Tableau 3)

Tableau 3 : résultats de l'étude macroscopique des colonies

colonie	isolée de	forme	couleur	consistance	relief	taille	surface
1	S1	rond	blanchâtre	grasse	plate	petite-très petite	lisse
2		rond	rose	grasse	bombée	moyenne	lisse
3		rond	jaune	grasse	demi-bombée	moyenne-très petite	lisse
4		rond	jaune	grasse	plate	très petite	lisse
5		rond	rose	grasse	demi-bombée	petite-très petite	lisse
6		rond	jaune	grasse	demi-bombée	moyenne-petite	lisse
7	S2	rond	blanchâtre	grasse	demi-bombée	moyenne- très petite	lisse
8		rond	jaune	grasse	demi-bombée	moyenne- petite	lisse
9		rond	jaune	grasse	demi-bombée	petite - très petite	lisse
10		rond	rose	grasse	demi-bombée	très petite	lisse
11		rond	rose	grasse	plate	moyenne-très petite	lisse
12		rond	rose	grasse	demi-bombée	petite	lisse
13		rond	rose	grasse	demi-bombée	moyenne	lisse
14	S3	rond	rose	grasse	demi-bombée	moyenne-petite	lisse
15		rond	blanchâtre	grasse	demi-bombée	moyenne	lisse
16		rond	jaune	grasse	demi-bombée	moyenne	lisse
17		rond	blanchâtre	grasse	bombée	moyenne-petite	lisse
18		rond	blanchâtre	grasse	demi-bombée	moyenne	lisse
19		rond	jaune	grasse	demi-bombée	moyenne-petite	lisse

26,31% des bactéries sont de couleur blanchâtre 36,84% de couleur jaune et 36,84% de couleur rose.

Le relief des bactéries varis entre bombées (10,52%) demi bombée (73,68) et plate (15,78%).

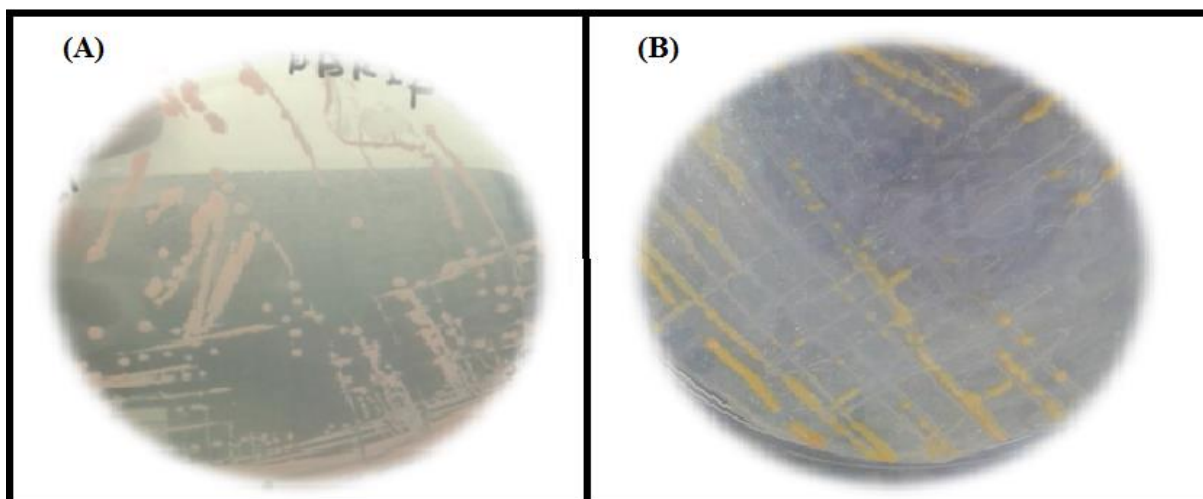


Figure19 : Aspect macroscopique des rhizobactéries sur milieu NBRIP

A :Isolat S1P3; B : Isolat S2P3

Nos résultats sont en accord avec ceux de Chang *et al* (2008). Qui ont observés des caractéristiques similaires de rhizobium isolés de la fève.

Selon Upchurh et Elkan (1977), Bekki (1992), sahraniet *al.* (1994), la viscosité des colonies est due à une production massive d'exopolysaccharide (Aouane M et Hamani H., 2017).

3-2-Etude microscopique

➤ Coloration différentielle de Gram

La coloration de Gram nous a permis de différencier les bactéries d'après leur forme (Bacille, coccobacille, coque), et leur affinité pour les colorants: les bactéries à Gram positif se caractérisent par une couleur violette. Quant aux bactéries à Gram négatif, elles sont identifiées par une couleur rose. Un pourcentage important des bactéries se sont révélés Gram négatif (84.21%) (Annexe2)

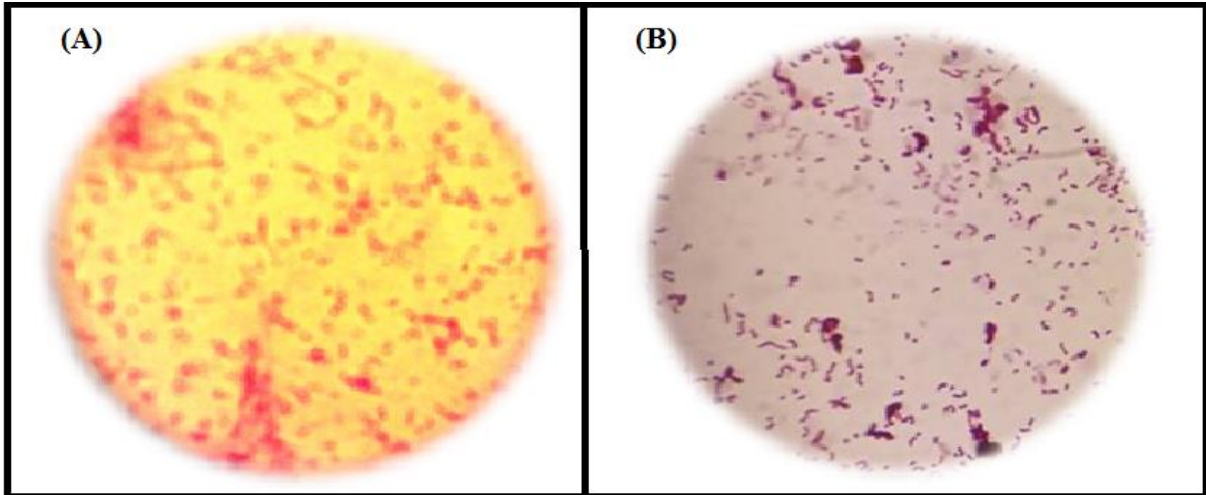


Figure 20: Coloration différentielle de Gram (G : 10X40).
(A) : Bactéries à Gram négatif. **(B) :** Bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram négatif du genre *Rhizobium* jouent un rôle très important dans l'agriculture. Ils forment une relation symbiotique avec les cultures de légumineuses entraînant une fixation biologique de l'azote et réduisant ainsi les besoins en engrais azoté ajoutés pendant la saison de croissance (Siczek et Lipiec., 2016).

3-3- Etude des enzymes respiratoires

Pour effectuer l'identification d'une bactérie il est préférable de connaître son type respiratoire. Les bactéries anaérobies isolées ont été testées pour l'activité catalase en déposant une colonie dans une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 %. La formation immédiate de bulles indique une activité catalase positive des bactéries (Agusti., 2007), La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) en eau(H_2O) et oxygène(O_2). $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$

89% de nos souches sont catalase⁺ (figure21), Alors que toutes les souches sont oxydase⁻ (Annexe2).

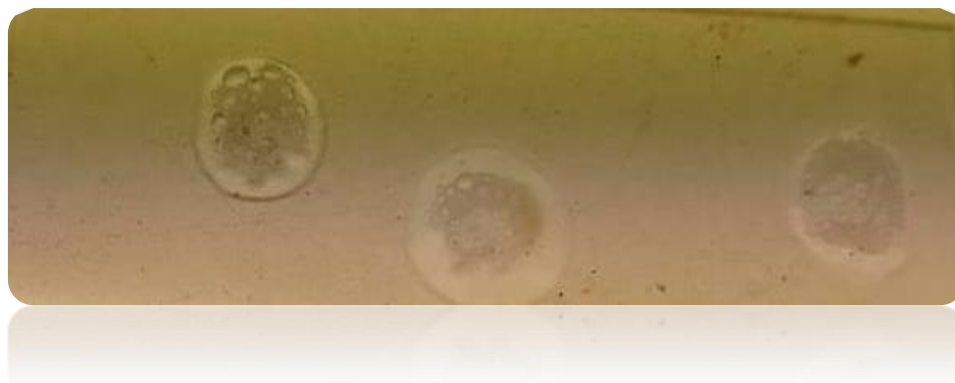


Figure 21: Réaction de la catalase positive.

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé. (Anonyme., 2018)

Chang *et al* (2008) montre que les tests d'oxydase et de catalase sont positive pour les rhizobiums associées à la fève alors que nous nous avons trouvé des oxydase - donc on peut dire que nos bactéries ne sont pas forcément toutes des rhizobiums.

La catalase est un cytochrome appartenant à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes. (Hamani et Aouane., 2017). Cette enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La bactérie qui présente cette caractéristique peut ainsi protéger du peroxyde d'hydrogène qui est habituellement toxique pour les bactéries aérobie, c'est-à-dire celle qui ont besoin d'oxygène pour proliférer (Lakhal., 2011).

La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase. Parmi les bactéries Gram positives, seule les *Streptococcaceae*, les *Lactobacillus*, les *Erysipelothrix* (et bien sûr les *Clostridium*) sont dépourvues de catalase.

3-4- Etude de l'effet PGPR

Les PGPR favorisant la croissance des plantes auxquelles elles sont associées, représentent environ 5% des rhizobactéries et appartiennent à différents groupes taxonomiques (Lemanceau, 1992 ; Podile et Kishore, 2006).. Au niveau appliqué, l'effet PGPR offre des possibilités intéressantes en bio-agronomie. Mais avant de passer à l'application, il est nécessaire de s'intéresser à l'étude des mécanismes bénéfiques de ces bactéries coopératives. Nous nous sommes concentrés sur l'étude de la capacité de ces bactéries à produire l'AIA

3-4-1 production de l'acide indole acétique (AIA)

➤ Estimation de la production d'AIA

Le mécanisme le plus souvent utilisé pour expliquer les effets positifs du PGPR sur la croissance des plantes est leur capacité à produire de l'auxine. Olanrewaju *et al* (2017) ont rapporté qu'environ 80% des microbes de la rhizosphère pouvaient synthétiser et libérer l'auxine en tant que métabolite secondaire. Un certain nombre d'auxines connues se produisent naturellement avec l'acide indole-3-acétique (IAA) se distinguant comme le plus pertinent

32 isolats bactériens ont été testés pour leur capacité à produire l'auxine, La réaction positive se manifeste par une coloration rose après l'ajout du réactif Salkowski qui varie aussi selon le taux d'AIA produite (singhet *al.*, 2014).Les résultats ont montré que 28, 5% des isolats ont produit l'AIA.

➤ Quantification d'AIA

Les données de concentrations obtenues sur la capacité de production d'auxines (AIA) par les isolats bactériens, testée sur milieu LB liquide en présence, sont affichées sur la figure 22 Conforme à l'expérience précédente, la réaction positive se manifeste par une coloration rose après l'ajout du réactif Salkowski qui varie aussi selon le taux d'AIA produite.

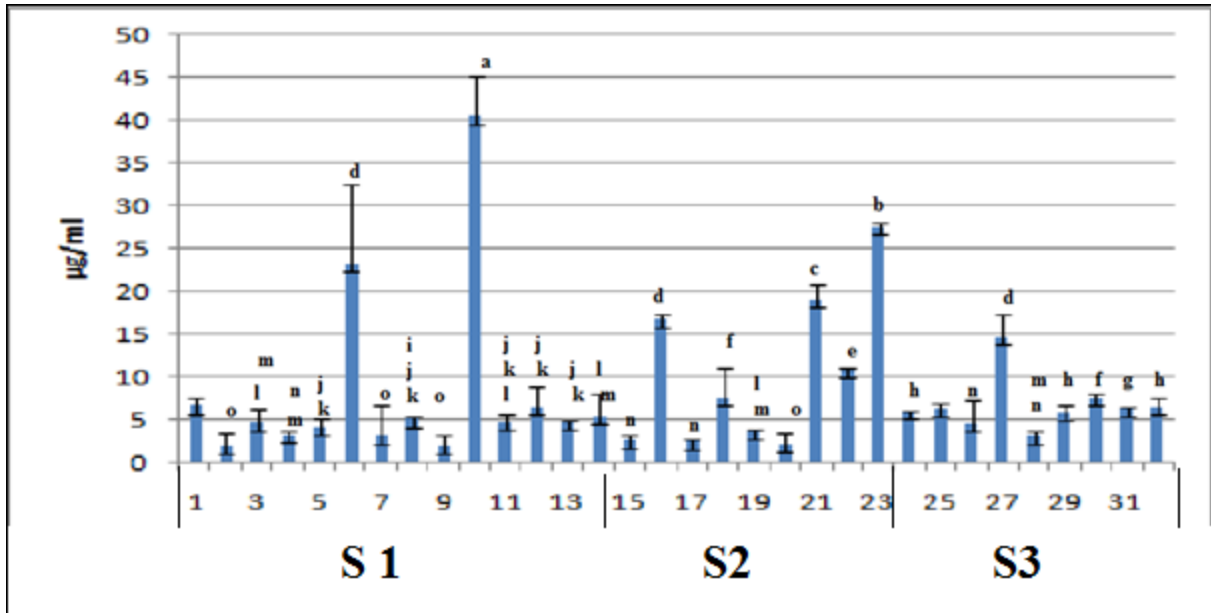


Figure 22 : Quantification de la production d’AIA (µg/ml) par les rhizobactéries par dosage colorimétrique.

Pour les isolats de site 1 les concentrations s’étendent de 1,92µg/ml à 40,62µg/ml, de 2.54µg/ml à 19,18µg/ml pour les isolats de Site 2, et de 3,20µg/ml à 27,64µg/ml pour les isolats de site 3.

L’analyse de variance indique qu’il existe une différence significative de production d’auxine entre les différentes bactéries (Annexe3).

Les souches avec une production d’AIA importante, en prenant compte l’écart-type sont (S1P3b4), (S2P3b4) et (S3P1b1) (annexe2). Selon (Mirza *et al.*, 2001), la production d’ IAA par des micro-organismes peut varier au sein d’une même espèce

La capacité à synthétiser l’IAA est un trait commun dans les bactéries rhizosphériques, (Shao *et al.*, 2015). Elle se trouve à différentes concentrations dans les exsudats racinaires selon le génotype de la plante (Vacheron *et al.*, 2013). La production d’auxine par les rhizobiums est souvent considérée comme un facteur de croissance et de fixation de N₂ chez de nombreuses légumineuses, (Othman et Tamimi S., 2016).

Les facteurs de stress environnementaux (pH acide, stress osmotique et matriciel et limitation du carbone) et les facteurs génétiques (gènes de biosynthèse de l'auxine) et le mode d'expression ont été montrés pour influencer la biosynthèse de l'IAA (Gopalakrishnan., 2015). Et il est également influencé par les conditions de culture, le stade de croissance et la disponibilité du substrat (singh *et al.*, 2014).

La plupart des études antérieures ont montré que les organismes producteurs d'IAA sont Gram négatifs (Datta et Basu., 2000). Selon (Mirza *et al.*, 2001), la production d' IAA par des micro-organismes peut varier au sein d'une même espèce.

4- Effet des bactéries sur l'acquisition du P

4-1- Biomasse aérienne des plantes

La matière sèche de la partie aérienne est déterminée après séchage à l'étuve, Une fois les échantillons complètement secs, leur poids sec est déterminé à l'aide d'une balance

Les résultats sont présentés sur la figure 23, qui représente la moyenne de la biomasse sèche aérienne des plantes des 3 sites

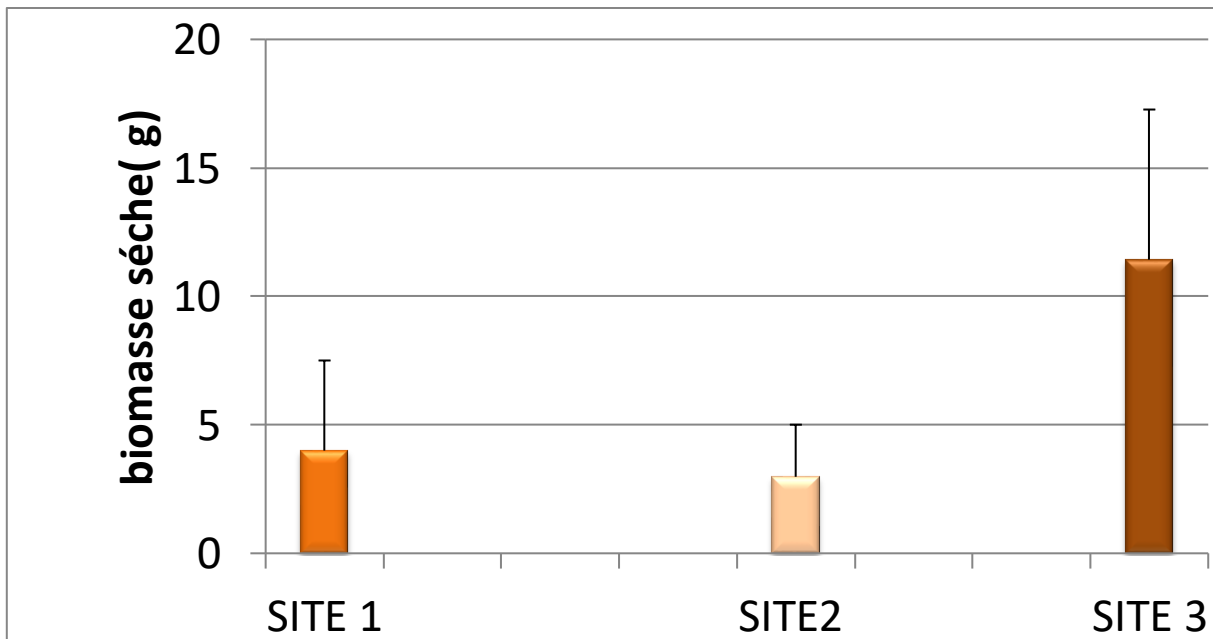


Figure 23 : Biomasse aérienne des plantes de la fève dans les différents sites

La biomasse sèche aérienne moyenne des plantes de la fève varie de 2,9g à 11 g, Ces valeurs sont inférieures à celles mesurées par Mouafek (2010) sur les plantes au champ dans la région de Biskra. On observe qu'il y a une différence entre les différentes localités, par exemple la biomasse sèche aérienne peut atteindre 11.43g/plante dans le site 1 par contre elle ne dépasse pas 2.98g/ plante dans le site 2. Mais dans notre cas sur le site 3 le stade de croissance de la plante était plus avancé d'où cette différence.

4-2- dosage du P

Les résultats de variation de phosphore accumulé dans la partie aérienne sont représentés dans la figure 13.

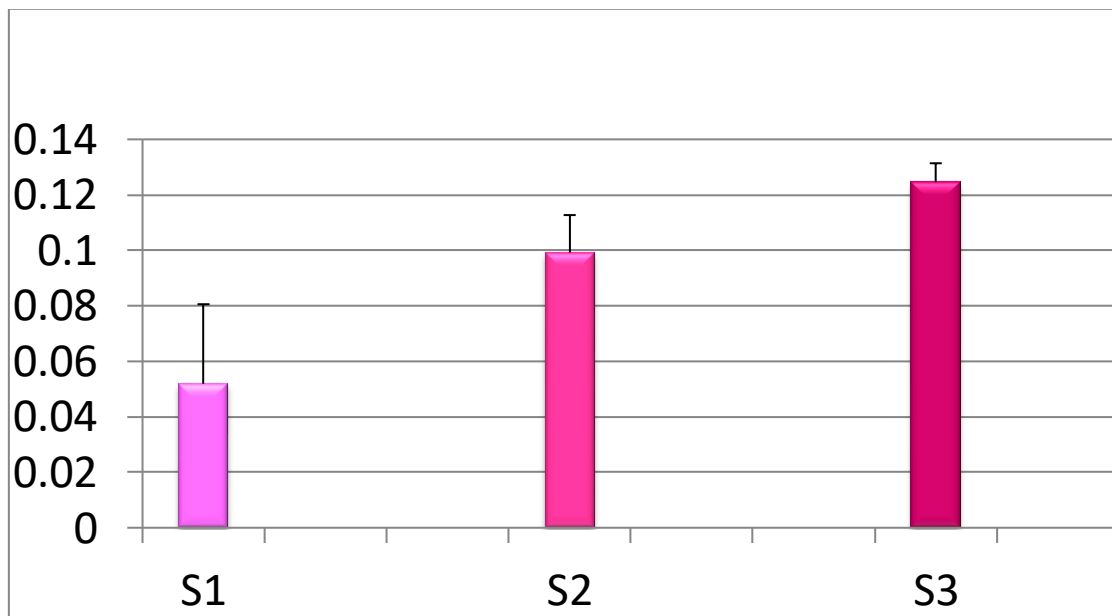


Figure 24 : variation de phosphore accumulé dans la partie aérienne des plantes de la fève

L'examen de cette figure révèle que la valeur maximale est enregistrée dans le site 3. Par contre, une moindre allocation de phosphore aux parties aériennes est notée dans le site 1. Il y a aussi une similitude entre la biomasse sèche et l'accumulation de phosphore dans les parties aérienne.

Si nous comparons le nombre de bactéries avec la biomasse des plantes et l'accumulation de phosphore, nous ne trouvons aucune relation entre eux. Ces résultats sont largement en accord

avec les résultats obtenus par Krey et al (2011) et Martinez et al (2015), où ils ont trouvé que l'inoculation avec ces bactéries n'améliorait pas considérablement la biomasse sèche des plantes et l'accumulation du p.

Conclusion Générale

Dans ce mémoire, nous avons abordé quelques paramètres permettant d'étudier la relation entre les bactéries rhizosphérique et la fève, dans la région de constantine (EL hamma). Cette légumineuse a été choisie pour leur importance économique, socio-économique et écologique.

Nous avons utilisé, dans le cadre de cette étude des échantillons de sols recueillis à partir des 3 sites afin d'étudier le rôle des bactéries rhizosphérique dans la croissance des plantes.

Les expériences que nous avons menées visent à évaluer la densité des communautés bactériennes capables de minéraliser le phytate par la sécrétion de la phytase. Dans la rhizosphère de la légumineuse *Vicia faba l*, où nous les avons isolées pour déterminer leurs densité dans le sol rhizosphérique, Les résultats obtenus sur milieux NBRIP solides ont montré la haute aptitude de certaines souches isolées de la fève à solubiliser le phosphore inorganique lorsqu'on utilise comme source le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Comme nous avons aussi étudié l'effet PGPR des souches, Où nous avons confirmé la capacité de ces bactéries à produire l'AIA avec différentes concentrations, qui peut atteindre plus de $40\mu\text{g/ml}$.

En effet tout les souches se cultivent en 24 sur milieu solide (LB et NBRIP) présentent des colonies légèrement élevées lisse avec une texture translucide blanchâtre (elles sont mucilagenieuses)

La présente étude a clairement révélé que la plus part des isolats testé dans cette étude avait la capacité de solubiliser inorganique phosphate, produisant de la phytase, Ces bactéries peuvent être utilisées dans d'autres études pour l'assainissement des sols pollués avec insoluble composés du phosphore. L'utilisation des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) comme une approche biologique semble être la solution prometteuse afin d'améliorer la production de la fève.

les rhizobactéries pourraient être utiles dans la formulation de nouveaux inoculants, offrant une alternative attrayante de l'environnement contrôle biologique amical des maladies des plantes et amélioration les systèmes de culture dans lesquels il peut être le plus rentable appliqué. Ces nouvelles PGPR nécessiteront une stratégie systématique conçu pour utiliser pleinement tous ces facteurs bénéfiques, en appliquant combinaisons de différents mécanismes d'action permettant le rendement des cultures doit être maintenu ou même augmenté tandis que les traitements chimiques sont réduits.

Références bibliographiques

-Adnan M, Zahir S, Shah F, Muhamamd A, Mukhtar A.1, Imtiaz A.K, Ishaq A. M, Abdul B.1, Hidayat 1, Muhammad A, Inayat R, Shah S, Muhammad Z .I, Yousaf J, Amanullah , Hafiz M H, Wajid N., Phosphate-Solubilizing Bacteria Nullify the Antagonistic Effect of Soil Calcification on Bioavailability of Phosphorus in Alkaline Soils, Science reports, 13 (2017), 1-13.

Anonyme. https://www.google.dz/search?q=xxclt_ibcGetAttachment+pcr+sur+colonie&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=l6JdDv68IOAV8M%253A%252CnwXkot6z2XhNbM%252C&usg=NSLXi3dv (consulté le 18/06/2018)

Anonyme. http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio1/fiches%20pdf/OXYDASE.pdf (consulté le 20/06/2018)

-Al-Hawshabi1 O. S, A. H Ghani, Hussein M. A, Dahmash A. M., Indigofera tritavar. Subulata (Fabaceae= Papilionaceae): A New Record to the Flora of Yemen,3 (2013) 894-897.

-Amin khoudja I., Bactéries minéralisant le phytate dans la rhizosphère d'haricot phaseolus vulgaris L. dans un agro écosystème Algérien, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2013, 90p.

-Bargaz A., caractérisation agrophysiologique et biochimique de symbioses haricot (*phaseolus vulgaris*)-rhizobia performantes pour la fixation symbiotique de l'azote sous déficit en phosphore, Université Cadi Iyad, 2012, 163P.

-Beaudin I, Giroux M, Michaud A, Beaudet B., les sources, les formes et la gestion de phosphore en milieu agricole. 2006, 1-16.

-Beneduzi A, Ambrosini A, Passaglia L. M., Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents, Genetics and molecular biology, 35 (2012) 1044–1051.

-Benmati M., PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2014, 185p.

- Bouali W.**, Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien, Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen, 2017,149p.
- Bouché., Les légumineuses, Nature & Progrès/Semailles, 2012, 1-6.
- Bouhali W**, Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien, , Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen, 2017, p 149.
- Bouras M.**, Isolement et identification des pseudomonas spp fluorescents à partir de la rhizosphère des plantes actinorhiziennes, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2014, 94p.
- Chang F. T, Tao W, Li J. W, Tian X. H, Wen F.C, Chun T. G, Jin G. G , Wen X. C.,** Rhizobium fabae sp. nov., a bacterium that nodulates Vicia faba, Systematic and Evolutionary Microbiology, 58 (2008) 2871–2875.
- Cheng W.**, Rhizosphere priming effect: Its functional relationships with microbial turnover, evapotranspiration, and C–N budgets, Soil Biology and Biochemistry, 7 (2009), 1796-2801
- Cregut M.**, Caractérisation de la communauté bactérienne impliquée dans la minéralisation du soufre organique dans les rhizosphères de colza et d'orge, Ecole Doctorale RP2E UMR INPL(ENSAIA)-INRA 1121 Agronomie et Environnement, 2009, 293p.
- Daoui K.**, Recherche de stratégies d'amélioration de l'efficacité d'utilisation du phosphore chez la fève (*Vicia faba* L.) dans les conditions d'agriculture pluviale au Maroc, Université Catholique de Louvain, 2007, 277.
- Daur I , Saad M M, Eida A A, Shakeel A Zahid H , Muhammad Z. I, Yasir M , Sayed S, Heribert H.**, Boosting Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Production With Rhizobacteria From Various Plants in Saudi Arabia, 2018.
- David A.**, Biodisponibilité du phosphore dans les sols landais pour les peuplements forestiers de pin maritime, Université de bordeaux, 2009, p291.
- Djeghar H, Djeghar I.**, Comparaison de quatre milieux pour la culture de bactéries minéralisant le phytate, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2014, p 49.

-Dobre A, Grosu I , Andrei N , Buțu A, Cornea C., Screening of Soil Bacteria for Phytase Activity, 2 (2015) 280-282.

from soils of Jordan for plant growth promoting activities and N₂ fixation potential, Advanced Research in Biological Sciences, 7 (2016) 20-27.

-Giraud E., Symbiose rhizobium/ légumineuse : un nouveau sésame, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes,3 (2007) 263-266.

-Gouzou L.,Devenir d'une population bactérienne inoculée dans la rhizosphère du blé et ses effets sur la plante: Cas de *B.acillus polymyxa*, Université de l'Auraine, 1992, 176p.

-Gram C., The differential staining of Schizomycetes in tissue sections and in dried preparations, 2 (1884) 216-218.

-Haoudji k., Caractérisation génétique des populations locales de *Vicia faba* L. par la technique des SSR, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 2013, 91p.

-Huang X. F, Chaparro J.M, Reardon K. F, Zhang R, Shen Q, , Vivanco J. M., Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities, The Microbiota of Plants, 92 (2014) 267–275.

-Jorquera M. A, Crowley D. E, Marschner P, Greiner R, ´andez M .T, Romero D, Blackburn D. M, Mora M., Identification of b-propeller phytase-encoding genes in culturable *Paenibacillus* and *Bacillus* spp. from the rhizosphere of pasture plants on volcanic soils, FEMS Microbiol Ecol, 10 (2010) 64-74.

-Kirdi B., Role des PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites, Ecole national supérieur agronomique, 2011, 83p.

-Kristin D. B, Peiyu Z, Patricia C , Zhanyuan J. Z, Hari B. K, April B, Paul R. B, Joe C. P., Quantitative Conversion of Phytate to Inorganic Phosphorus in Soybean Seeds Expressing a Bacterial Phytase, United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, Plant Genetics Research Unit, 146 (2007) 468–477.

- Kruse J, Abraham M, Amelung W, Baum C, Bol R, Oliver K, , Yvonne O, Christopher R , Santner J Sieber M, Siebers N, Spohn M, Vestergren J, Vogts A, Leinweber P.**, Innovative methods in soil phosphorus research: A review.,46 (2015) 43-88.
- Kumar V , Amit K. Sinha b, Harinder P.S. Makkar A, Klaus B.**, Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition, Food Chemistry, 15 (2009)945-959.
- Kumar V , Singh P , Jorquera M A , SangwanP , Kumar P , A. K. Verma , Agrawal .,** Isolation of phytase-producing bacteria from Himalayan soils and their effect on growth and phosphorus uptake of Indian mustard (*Brassica juncea*), World J Microbiol Biotechnol, 29 (2013) 1361–1369
- Latati M .,** Adaptation de la symbiose légumineuse haricot-rhizobium a la déficience en phosphore incidence sur la biodisponibilité du phosphore dans la rhizosphère,Ecole National Supérieure agronomique Harach Alger, 2012, p149.
- Lepinay C.**, Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, 2013, 263p.
- Manoharachary C, Mukerj K. J.**, Rhizosphere Biology-an Overview. (Eds), Microbial Activity in the Rhizosphere, 2006, 7p.
- Maougal R T.**, Contribution des phytases bactériennes à l'adaptation de *Phaseolus vulgaris* à la faible disponibilité de phosphore en sols méditerranéens actinorhiziennes, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2014, 264p.
- Martinez O.A, Crowley D.E, Mora M.L, Jorquera M.A.**, Short term study that phytate menera lizing rhizobacteria inoculation affects the biomass, phosphorus(P) uptake and rhizosphere properties of cereal plants,15 (2015) 153-166.
- Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers J. M .,** The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms, Rhizosphere microbiome – impact on health and disease, 30 (2013), 635-363

- Mouafek A.**, La symbiose à rhizobia chez la fève (*Vicia faba* L.) et La luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Biskra, Université Mohamed Khider – BISKRA, 2010, 114p.
- Mwajita M. R, Murage H, Tani A, Kahangi E. M.**, Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters, Kenya Agricultural Research Institute, 8 (2013) 1-9.
- NADJI W.**, Effet de l'inoculation des céréales par les PGPR et les mycorhizes en condition de déficit hydrique., Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2017, 203p.
- Nihorimbere V, Ongena .M , Smargiassi M, Thonart P .**, Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. 2010, p 15.
- Othman H, Tamimi S. M.**, Characterization of rhizobia nodulating faba bean plants isolated
- Ouslim S.**, BNL associées aux légumineuses alimentaires (*vicia faba l*) dans l'ouest Algérienne « caractérisation et importance », Université d'Oran, 2016, 159p.
- Plassard C.1, Robin A, Cadre E, Marsden C, Trap J, Herrmann, Waithaisong K, Lesueur D, Blanchart E, Chapuis L, Hinsinger P.**, Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol, 24 (2015) 115-138.
- Pomerleau S.**, La gestion du phosphore dans les terres saturées, Université de Sherbrooke, 2013, 85p.
- Saoudi M.**, Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.LP) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2009, 99p.
- Schilperoord P .**, La fève commune des champs, Plantes cultivées en Suisse, (2016) 1-32.
- Sebihi F. Z.**, Les Bactéries Nodulant les Légumineuses (B.N.L) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la Légumineuse Fourragère, *Hedysarum perrauderianum*, 2008, 121p.
- Shekhar Nautiyal C ., 1999 :** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, *FEMS Microbiology Letters*, , P265–270

- Singh A.K, Bharati1 R. C, Manibhushan N. C, Pedpati A.,** An assessment of faba bean (*Vicia faba* L.) current status and future prospect, African journal of agricultural research ,8 (2013) 35-41.
- Singh P, Kumar V, Agrawal1 S.,** Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their Plant Growth Promoting Activities, International Journal of Microbiology, 2014,1-7.
- Taktek S.,** Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes, Université LAVAL, 2015,150p.
- Tombozara N.,** Relation entre la disponibilité de l'azote (n) et du phosphore (p) des sols, la mineralomasse (n et p) de la plante et la nodulation du haricot : cas d'essai multilocal dans les parcelles paysannes du moyen ouest de madagascar, Athenee Saint Joseph Antsirabe, 2014,104p.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud M. L, Touraine B, Loccoz Y. M, Muller D, Legendre L, Wisniewski F, Combaret C. P.,** Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning, Plant science, 19 (2013), 256-275.
- Zancarini A.,** Etude de l'interaction plante-communautés microbiennes de la rhizosphère chez l'espèce modèle *Medicago truncatula* par une approche multidisciplinaire : contribution à la réflexion sur le pilotage des interactions par la plante, Université de Bourgogne INRA, 2012, 202p.
- Zhang G .Q, Wu Y, Tzi B N, Qing J. C, Wang H. X.,** A Phytase Characterized by Relatively High pH Tolerance and Thermostability from the Shiitake Mushroom *Lentinus edodes*, 2013, 1-7.

Annexes

Annexe 01

❖ milieux de culture :

Milieu « LB »	
Tryptone	10g/l
Extrait de levure	5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Agar bactériologique	15 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,2 ± 0,2

Milieux NBRIP	
Glucose	10g/l
(Nh ₄) ₂ SO ₄	0,1g/l
MgSO ₄ ,7H ₂ O	0,25g/l
insP ₆	41g/l
NaCl	0,2g/l
KCl	0,2g/l
Eau distillée	1000g/l
Agar	15g/l
PH	7g/l

❖ Tampon PBS

Tampon PBS	
KCl	0,4g/l
NaCl	16g/l
Na ₂ HPO ₄	2,8g/l
KH ₂ PO ₄	0,48g/l
Eau distillée	1000ml
PH	7

❖ Réactif salkowiki

H ₂ SO ₄	22.2ml
FeCl ₃	0.6g
Eau distillée	27.8 ml

Annexe 02

Tableau1 : Résultats de l'étude microscopique, et biochimique

bacteries	isolée de	forme	Gram	disposition	catalase	oxydase
1	s1p1	cocci	-	en chaîne	+	-
2		cocobacily	-	en chaîne	+	-
3	s1p2	bacilly	+	en chaîne- isolée	+	-
4	s1p3	cocobacily	-	isolée	+	-
5		cocci	-	isolée	+	-
6	s2p1	cocci	-	en chaîne-en amas	+	-
7		cocci	-	en chaîne	+	-
8	s2p2	cocobacily	-	en chaîne	+	--
9		boutonnet	-	en amas	-	-
10	s2p3	cocci	-	en chaîne	+	-
11		boutonnet	-	en chaîne-en amas	-	-
12	s3p1	cocci	+	isolée-en chaîne	+	-
13	s3p2	cocci	-	isolée	+	-
14	s3p3	cocci	+	en chaîne	+	-

Tableaux 2 : Quantification, par dosage colorimétrique, d'AIA produite par les rhizobactéries

❖ Site 1

plante	bacteries	µg/ml
P1	b1	6,6901936
	b2	1,9344486
	b3	4,6932832
	b4	3,2996057
	b5	4,1430201
P2	b1	23,315902
	b1	3,1975616
	b2	5,170396
	b3	1,9274351
	b4	40,621483
	b5	4,8179358
	b6	6,5337864
b7	4,8008568	
P3	b1	6,6901936

❖ Site 2

plante	bactéries	µg/ml
p1	b1	5,4329854
	b2	2,7244656
p2	b1	16,875244
	b2	2,5429114
	b3	7,5865155
p3	b1	3,741951
	b2	2,247949
	b3	19,18342
	b4	10,904721

❖ Site 3

plante	bactéries	µg/ml
p1	b1	27,648382
p2	b1	6,0632931
	b2	6,3252954
	b3	4,5964522
p3	b1	14,750319
	b2	3,2089626
	b3	5,8533196
	b4	7,6184691
	b5	6,3686956

Annexe 3

Analyse de variance

Tableaux 3 : comparaison des moyennes du nombre de colonies bactériennes totales

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	2,988	2,988		
Erreur	0	0,000			0.001
Total corrigé	1	2,988			

Tableaux 4 : comparaison des moyennes du nombre de colonies bactériennes fonctionnelle

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	3	1560,023	520,008	42,194	0,002
Erreur	4	49,296	12,324		
Total corrigé	7	1609,319			

Tableaux 5 : comparaison des moyennes de productions d'AIA dans les différents sites

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	29	2028,724	69,956	32944,644	0,004
Erreur	1	0,002	0,002		
Total corrigé	30	2028,726			

INTITULÉ

Densité, Diversité de bactéries cultivables minéralisant le phytate dans la rhizosphère de la fève (*Vicia faba*) de la région d'El Hamma

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Le phosphore (P) est souvent l'un des éléments les plus limitant pour la croissance des plantes du fait qu'il est peu mobile et le plus inaccessible dans les sols, Cette déficience en P affecte plus particulièrement les légumineuses à cause de la fixation symbiotique de l'azote qui consomme plus d'énergie que l'assimilation minérale. Dans ce contexte, nos objectifs ont été d'isoler et de caractériser la communauté bactérienne fonctionnelle du sol qui permet la minéralisation du phytate, et d'étudier la capacité de ces bactéries à produire des phytohormones dans la rhizosphère de la fève.

La caractérisation des souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de la fève dans trois sites de Constantine a été effectuée pour déterminer leurs propriétés morphologiques et biochimiques. La plupart des isolats sont de gram⁻, catalase⁺ et oxydase⁻, De forme ronde et de couleur jaune, rose et blanchâtre.

Dans cette étude, nous nous concentrons sur les rhizobactéries (PGPRs) en tant qu'agents de Phytostimulation et biofertilisation. Nous avons conclu que 100% des échantillons testés sont capables de produire l'auxine à différentes concentrations qui a atteint 40.62µg/ml(S1P3b4), alors que 90% des isolats étaient capables de croître sur un milieu ne contenant que le phytate comme seule source de phosphore donc ils sont capables de dégrader le phytate, Cela a un effet direct sur la croissance des plantes dans les différents sites.

Mots clés : rhizobactéries, phytate, minéralisation, fève, PGPR, Phytostimulation et biofertilisation

Laboratoire de recherche : Biochimie, Génétique et Biotechnologies Végétales

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. BENBELKACEM A. (Grade - UFM Constantine).
Rapporteur : Dr MAOUGAL R T. (Grade - UFM Constantine).
Examineur : BENABDOUN F. M. (Grade - UFM Constantine).

Date de soutenance : 25/06/2018.