



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسنطينة 1
كلية الطباعة الحياء

Département : Biologie et Ecologie Végétale

: البيولوجيا و علم البية 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 :

**Isolement et identification des bactéries dans la rhizosphère de
5 variétés de fèves et détermination leurs caractères PGPR**

Présenté et soutenu par : M^{elle} LADJABI Chaima

Le : 17/07/2019

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr. KECHID M. (M.C.B – INATAA - UFM Constantine).

Encadrant : Dr. MAUGAL R.T. (M.C.B – INATAA- UFM Constantine).

Examineur : Dr. TEMAGOULT M. (M.A.A – SNV- UFM Constantine).

*Année universitaire
2018 - 2019*

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 INATA 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 la présidente Dr. KECHID M. pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils Et à l'Examineur Dr. TEMAGOULT M. 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 GBBV madame Chafika et Bouldje Rima Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A mes chers parents pour leur soutien, leur aide, et leur sacrifice et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude et tout mon amour.

A mes frères Ali et Aymen et mes sœur Selma, Soumia et Hadjer pour leurs conseils et mon neveu Fadi et ma nièce Maya .

A toute ma famille et à toutes mes amies en particulier ma copine Imen.

A toute la promotion «biotechnologie génomique et végétale « 2018-2019».

Résumé

Les rhizobactéries jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre du sol, parmi ces bactéries, il y a celles qui ont montré leur capacité à favoriser la croissance des plantes, elles sont connues sous le terme de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), elles agissent positivement sur la croissance de la plante. Nous nous sommes intéressés dans notre travail de caractériser 110 souches bactériennes isolées au champ dans la région de Ben Badis (Constantine) à partir de 5 variétés de la fève (Aquadulce, Maltais, Herst, Galla et Histal). La caractérisation phénotypique et biochimique a montré que la plupart des isolats sont de couleur crème, légèrement élevés, plats et opaques, de gram⁻, catalase⁺ et oxydase⁻, de forme Bacille. Nous avons utilisé l'ACP pour sélectionner les 40 isolats avec un grand degré de variabilité, pour continuer notre travail. Les résultats obtenus nous ont orientés vers des groupes taxonomiques différents (*Rhizobium Pseudomonas bacillus* etc.). L'évaluation du potentiel PGPR des bactéries (phytostimulation, biofertilisation et biocontrôle), a montré que 100% des bactéries sont capables de produire l'auxine à différentes concentrations chez l'isolat 6 a montré la concentration la plus élevée (177,77µg/ml) et l'isolat 72 a produit la plus faible concentration parmi les 40 isolats (13,23µg/ml). , et plus de 50% des isolats sont capables de produire l'azote, l'ammoniac et la minéralisation du phytate. donc ses caractères de PGPR ont un effet direct sur la croissance des plantes de cinq variétés de la fève et peut nous servir à sélectionner les bactéries les plus performantes pour des tests d'inoculations.

Mots clés : PGPR, fève, auxine, ammoniac, azote, phytate.

Summary

Rhizobacteria play an important role in maintaining soil balance, among these bacteria, there are those that have shown their ability to promote plant growth, they are known as *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) they act positively on the growth of the plant. We were interested in our work to characterize 110 bacterial strains isolated in the field in the region of ben badis (Constantine) from 5 varieties of the bean (*Aquadulce, Maltese, Herst, Galla and Hista*). The phenotypic and biochemical characterization was showed that most isolates are cream-colored, slightly raised, flat and opaque, of gram-, catalase + and oxidase-, of Bacillus form. We used ACP to select the 40 isolates with a high degree of variability to continue our work. The results obtained led us to different taxonomic groups (*Rhizobium Pseudomonas bacillus* etc.). The evaluation of the PGPR potential of the bacteria (phytostimulation, biofertilization and biocontrol), showed that 100% of the bacteria are capable of producing auxin at different concentration in isolate 6 showed the highest concentration (177.77 $\mu\text{g} / \text{ml}$) and isolate 72 produced the lowest concentration among 40 isolates (13.23 $\mu\text{g} / \text{ml}$). , and more than 50% of the isolates are capable of producing nitrogen, ammonia and mineralization of phytate, so its PGPR traits are a direct effect on plant growth of five varieties of the bean and can be used to select the most efficient bacteria for inoculation tests.

Keywords: PGPR, fève, auxine, ammoniac, azote, phytate.

Rhizobacteria دوراً مهماً في الحفاظ على توازن التربة ، ومن بين هذه البكتيريا ، هنالك أثبتت قدرتها على تعزيز نمو النبات ، وتعرف باسم (PGPR) Rhizobacteria ، لديهم تأثير إيجابي على نمو النبات ونحن مهتمون في عملنا 110 سلالات بكتيرية معزولة في حقل في بن باديس المنطقة (قسنطينة) من 5 (Aquadulce, Maltais, Herst, Galla et Histal) ، أظهرت الصفات المظهرية والكيمياء الحيوية أن معظم العزلات ذات لون قشدي ، مرتفعة قليلاً ، مسطحة وغير شفافة + + وأكسيداز-

أدت النتائج التي تم الحصول عليها إلى مجموعات تصنيفية مختلفة (*rhizobium Pseudomonas bacillus*) أظهر تقييم إمكانات PGP للبكتيريا (التحفيز النباتي ، والتسميد الحيوي ، والتحكم البيولوجي) ، أن 100 البكتيريا قادرة على إنتاج I'auxine على مستويات مختلفة. أظهر التركيز في العزلة 6 أعلى تركيز (177.77 ميكروغرام / مل) ، بينما أنتجت العزلة 72 أقل تركيز بين 40 (13.23 ميكروج /) 50 العزلات قادرة على إنتاج النيتروجين والأمونيا و la minéralisation du phytate PGPR لها تأثير ويمكن استخدامها لاختيار البكتيريا الأكثر كفاءة لاختبارات التلقيح.

المفتاحية : PGPR ، I'auxine ، الأمونيا ، النيتروجين ، phytate

Sommaire

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

Synthèse bibliographique

Introduction générale	1
1-Le sol	3
1-Définition de sol	3
2-Définition de rhizosphère	4
1-2-Les Rhizobactéries promotrices	4
3-Rôle de la rhizosphère	5
4-Exsudats racinaires	6
5-Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère	6
5-1-Les interactions entre les microorganismes	7
5-2-Les interactions plantes-microorganismes	7
6-Effet de la rhizosphère	8
7-Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)	8
7-1 Effet directe des PGPR sur la plante	10
7-1-1-Fixation d'azote	10
7-1-2-Solubilisation du phosphate	10
7-1-3-Solubilisation du potassium	11
7-1-4-Production des sidérophores	11
7-1-5-Production des phytohormones	12
7-1-6-Acide Indole Acétique (IAA)	12
7-2-Effet indirect des PGPR sur les plantes	13
7-2-1-Productions des antibiotiques	13
8-Utilisation des PGPR	14
II- Les légumineuses	14
1-Présentation des légumineuses	14
2-L'importance agro-économique et nutritionnelle des légumineuses	15
3-La symbiose légumineuse –rhizobia	15
4-Généralités sur la fève (<i>Vicia faba L.</i>)	16

5-Position systématique de fève	16
6-Importance agro-économique de la fève	17
7-Importance et répartition du <i>vicia faba L</i>	18
Matériel et méthodes	
I-Lieu et description de l'étude	19
II-Méthodes de travail	19
1-Le Poids sec aérien des plantes	19
2-La préparation de la solution mère	19
2-1-Isolement des souches	20
2-2Préparation des dilutions	20
3-Densité des bactéries totales cultivables	21
4-Conservation des isolats	22
5-Etude des bactéries rhizosphériques	22
5-1-Etude macroscopique	22
5-2-Etude microscopique	23
5-2-1-Examen à l'état frais	23
5-2-2-Observations microscopiques	23
6- Etude biochimique et physiologique	23
6-1-Production de pigments	23
6-1-1-Détection de pyoverdine	23
6-1-2- Détection de pyocyanine	24
6-1-3-Détection des rhizobiums	24
6-2- Etude des enzymes respiratoires	24
6-2-1- Recherche de la catalase	24
6-2-2- Recherche de l'oxydase	24
7- Analyse des caractères PGPR	24
7-1-Dosage de l'acide Indole acétique (AIA)	24
7-2- les bactéries minéralisant le phytate	25
7-3- Fixation d'azote	25
7-4-Production d'ammoniac (NH ₃)	25
8- analyse statistique	26
Résultats et discussion	
I- Le poids sec aérien des plantes	27

II-Isolement et comptage bactériennes	28
1- Densité des bactéries totales cultivables	28
III-Etude des bactéries rhizosphériques	30
1-Etude macroscopique	30
2-Etude microscopique	32
3-Etude biochimique et physiologique	33
3-1- Production de pigments	33
3-1-1-Détection de pyoverdine	33
3-1-2-Détection de pyocyanine	34
3-2-Croissance des isolats sur milieu YMA	35
3-3-Etude des enzymes respiratoires	35
3-3-1-la catalase	35
3-3-2-l'oxydase	36
4- sélection d'isolats	36
IV-Analyse des caractères PGPR	38
1-Production de l'acide indole acétique (AIA)	38
2-Les bactéries minéralisant le phytate	39
3- Fixation d'azote	40
4-Production d'ammoniac	41
Conclusion et perspectives	43
références bibliographiques	44
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Analyse de la valeur nutritionnelle des graines de légumineuses.	15
Tableau2: composition chimique moyenne pour 100g de fève	18

Liste des figures

Figure 1 : les cinq compartiments du sol chacun des traits symbolise une possibilité d'interaction.	3
Figure2 : La zone rhizosphérique.	4
Figure03 :Représentation des trois zones de la rhizosphère	5
Figure 04 : représentation schématique décrivant les interactions plantes-micro-organismes dans la rhizosphère.	8
Figure 5 : Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère	9
Figure 6 : Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate	12
Figure 07 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries	13
Figure 8 : anatomie de la Fève (<i>Vicia faba. L</i>)	16
Figure 9 : forme des graines des <i>vicia baba</i>	17
Figure 10 : Photo présentant des 5 variétés des fèves a Elkhroub	19
Figure 11 : Photo présentant la préparation de la solution mère	20
Figure 12 : Photo représente les dilutions de la solution mère	20
Figure 13 : Photo représente 3 gouttes par dilution	21
Figure 14 : Photo présente la Conservation des bactéries dans une solution glycérol 50%	22
Figure 15 : La variation du poids sec de la partie aérienne des plantes de Fève dans différents variétés.	27
Figure 16 : Le nombre de colonies bactériennes après l'incubation sur milieu	28
Figure17 : Densité des colonies bactériennes au niveau du sol rhizosphérique de la fève de cinq variétés.	29
Figure 18 : observation de quelques colonies sur le milieu LB gélosé	31
Figure 19 : observation du pourcentage de la variation des différentes colonies (couleur, relief, consistance et opacité)	31
Figure20 : Coloration différentielle de Gram (G : 10X100).	32
Figure 21 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.	33
Figure 22 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV	34
Figure 23 : Réaction de la catalase positive	35
Figure 24 : la variabilité des isolats bactériens donnés par l'ACP	37
Figure 25 : la sélection des bactéries totales différentes par l'ACP	37
Figure26 : production de l'AIA par quelques isolats bactériens.	38

Figure 27 : Quantité d'AIA produite par les isolats sélectionnés.	38
Figure 28 : observation de quelques bactéries minéralisant le phytate.	40
Figure29 : Résultats de quelques isolats à produire l'ammoniac (NH ₃)	41

Liste des abréviations et des acronymes

UFC	Unité Formant Colonie.
Zn	Zinc
Fe	Fer.
N₂	Azote
g	gramme.
P	Phosphore.
MOS	matière organique du sol
LB	Milieu Luria Bertani.
NBRIP	Institut National de Recherche Botanique.
PBS	Phosphore Sodium Buffer.
H₂PO₄	ion dihydrogéné phosphate
HPO₄²⁻	ion monohydrogéné phosphate
IAA	Indole Acide Acétique.
ACP	analyse en composantes principales
PGPR	plant growth promoting rhizobacteria
PGP	plant growth promoting
NH₃	Ammoniac
UV	Ultraviolet
YMA	yeast mannitol agar

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

Le sol est un réservoir important de microorganisme, il renferme une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels pour l'écosystème tellurique et les organismes pluri cellulaires qui y vivent. Parmi les organismes supérieurs du sol, les plantes bénéficient des effets directs et/ou indirects des microorganismes en particulier ceux de la flore rhizosphérique. (Munees et Mulugeta, 2014).

De nombreuses légumineuses constituent une source essentielle de protéines pour l'alimentation humaine et animale. Elles présentent la faculté de fixer l'azote atmosphérique via la symbiose avec des bactéries *rhizobia*, Cette caractéristique leur permet d'assurer leur nutrition azotée en dehors de toute fertilisation chimique contrairement aux autres cultures. La fève est parmi les légumineuses cultivées en Algérie. Elle présente des intérêts agro économiques et écologiques importants via sa capacité de fixer le N₂ (Dapaah *et al.*, 2003).la culture de la fève enrichit le sol avec différents espèces bactériennes: *Aerobacteraerogenes*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*. *Enterobacter sp* souche et *Escherichia coli*. Ces bactéries établissent une relation facultative à bénéfiques réciproques appelée « coopération » ou « symbiose associative ». (Suleimanova *et al.*, 2015).

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 Beauchamp, 1992). La sélection d'une souche PGPR efficace est liée à la caractérisation de ses propriétés favorisant la croissance végétale comme : la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores et de phytohormones, la capacité à fixer l'azote, et la lutte biologique contre les maladies des plantes (Cattelan *et al.*, 1999).

L'objectif de ce travail et de faire une - pré-identification des bactéries préalablement isolées de la rhizosphère de *Vicia faba*, notre plante modèle dans cette étude en se basant sur leurs caractères morphologiques : macroscopiques, microscopiques, biochimique et physiologique. Puis d'étudier les caractères PGPR en s'appuyant sur le screening de leur capacité à produire d'auxines (AIA), la fixation d'azote, La production d'ammoniac (NH₃) et la minéralisant de phytate.

Le manuscrit est scindé en quatre parties :

- Une partie synthèse bibliographique qui comprend la vie dans le sol les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) et les légumineuses.
- 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 qui résulte de ce travail réalisé.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1-Le sol

1-Définition de sol :

Le sol est la couche supérieure de la croûte terrestre, composée de matière minérale, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes. Il dispose de son atmosphère interne, ainsi que d'une flore et d'une faune spécifiques. Les sols proviennent de l'altération et de la transformation des roches sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges d'énergie qui s'y manifestent (Barles *et al.*, 1999). Les micro-organismes présents dans le sol sont impliqués dans le recyclage de nombreux éléments chimiques (carbone, azote, phosphore, soufre, fer, et autres).ils 'agit surtout de ceux impliqués dans la formation et la dégradation de l'humus. Ainsi que ceux ayant un rôle important dans la solubilisation des composants organiques et inorganiques inaccessibles aux plantes (Ameur, 2014).

Le sol est un système dispersé à trois phases (Hillel, 1974 in Hubert 2008).

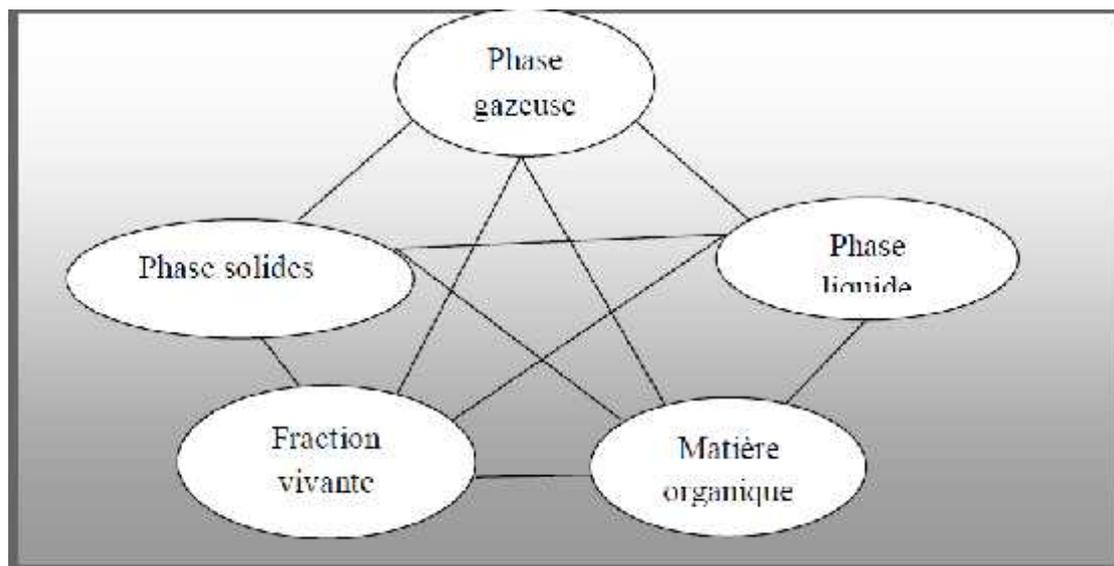


Figure 1 : les cinq compartiments du sol chacun des traits symbolise une possibilité d'interaction (Bouras M, 2014).

2-Définition de rhizosphère

Le terme de la rhizosphère a été créé par Hiltner (1904) comme le volume du sol entourant la racine, influencé chimiquement, physiquement et biologiquement par la présence de racines végétales vivantes. C'est un environnement écologique dynamique où les microorganismes et les plantes interagissent pour l'exploitation des micros et

macronutriments du sol présent en quantité limitées affectant ainsi la croissance des plantes (Gholami *et al.*, 2012).

L'extension spatiale de la rhizosphère est variable en fonction de la structure du sol, de la taille des particules, de l'eau contenu et capacité tampon. La rhizosphère varie en taille de à quelques millimètres de la surface des racines, où les nutriments solubles tels que les nitrates et les composés volatils sont impliqués, à moins d'un mm, et lorsque des nutriments non mobiles tels que le phosphate sont présents (Figure2) (Bertin *et al.*, 2003). Dans le sol, les bactéries sont les organismes les plus variés et les plus nombreux, leur densité est de l'ordre de 10^9 UFC par gramme du sol. Cependant, la densité des populations de la microflore associées aux racines est significativement plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol nu (Davet, 1996 ; Van, 2007 ; Valencia, 2008).

2-1-Les Rhizobactéries promotrices



Figure2: La zone rhizosphérique (Bazot S, 2005)

Par rapport aux racines, la rhizosphère peut être divisée en trois zones distinctes (figure 3) :

-l'endorhizosphère comprend des parties du cortex et de l'endoderme dans lesquelles les Microbes et les cations peuvent occuper l'espace libre entre les cellules, de Ce fait, le contact entre la plante et les microorganismes aura lieu à l'intérieur des racines.

-le rhizoplan représente la zone médiane directement adjacente à la racine, y compris L'épiderme racinaire et le mucilage.

-l'ectorhizosphère représente la zone extérieure qui se trouve directement après le Rhizoplan. (David *et al.*, 2013).

La plante va donc libérer au sein de la rhizosphère divers éléments carbonés, dont les photosynthétats, regroupés sous le terme de rhizodépôts. Les rhizodépôts sont composés des exsudats racinaires (ou photosynthétats : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones, vitamines), de sécrétions de mucilage (sucres polymérisés, enzymes) et de cellules sénescents (cellules de la coiffe racinaire, cellules corticales et épidermiques) puis de l'ensemble de la racine à la mort de la plante. (Lynch *et* Whipps ,1990).

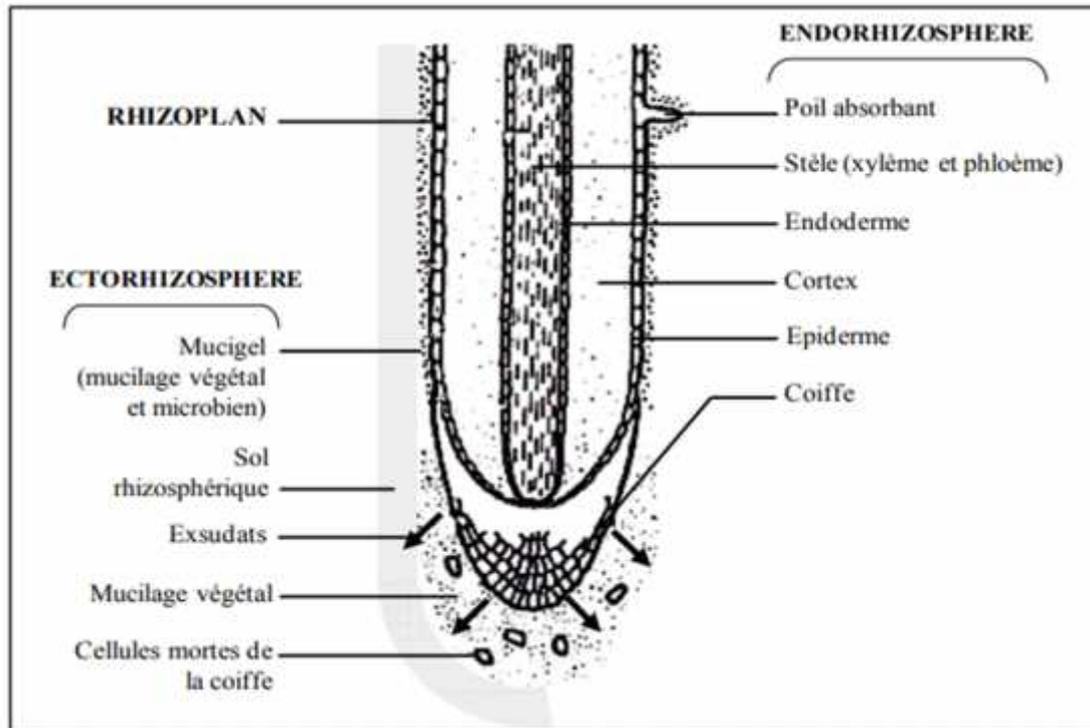


Figure03:Représentation des trois zones de la rhizosphère (D'après Lynch 1983). La rhizosphère se décompose en trois régions qui sont l'endorhizosphère (tissus racinaires), le rhizoplan (surface des racines) et l'ectorhizosphère (sol adhérent aux racines ou sol rhizosphérique).

3-Rôle de la rhizosphère

La rhizosphère joue un rôle actif dans la régulation des interactions entre plantes et microorganismes (Hirsch *et al.*, 2003). C'est une zone de vie, où les exsudats racinaires, d'une part, permettent le développement d'une faune et d'une flore spécifiques et d'autre part, permettent le développement d'une flore symbiotique qui assure une bonne croissance aux plantes, en produisant de substances bénéfiques à la croissance comme les phytohormones et les antibiotiques assurant la protection contre des phytopathogènes.

C'est une niche écologique qui éveille et stimule diverses activités microbiennes, en participant ainsi, au fonctionnement des cycles des nutriments majeurs et des oligoéléments comme le carbone, l'azote, le phosphore, le fer, etc. (De carne *et al.*, 2010).

4-Exsudats racinaires

Exsudats représentent la partie la plus importante des substances libérées par les racines. C'est également elle la plus rapidement métabolisée par les microorganismes. Ils sont généralement composés de sucres, d'acides aminés, de facteurs de croissance, de vitamines, d'enzymes et d'acides organiques. Ils représentent une source nutritionnelle pour la microflore rhizosphérique. Ils agissent soit en stimulant ou en inhibant certaines espèces (effet rhizosphérique) (Soufiane, 1998). Les exsudats sont principalement composés de carbone composés dérivés de produits de la photosynthèse, ils peuvent représenter entre 30 et 40% des propriétés photosynthétiques de la plante. L'Exsudation racinaire, également appelée rhizodéposition, influe clairement sur la croissance des plantes et l'écologie des sols, et est également impliqué dans les processus rhizosphériques, y compris acquisition de nutriments (tels que Fe et Zn) (Bretin *et al.*, 2003). Des études ont montré que la composition des exsudats racinaires peut changer le long du système racinaire (Plassard, 2015).

Les exsudats racinaires jouent un rôle important dans un certain nombre d'associations végétales et microbiennes telles que symbiose Rhizobium avec des racines de légumineuses. Dans l'interaction symbiotique légumineuses – Rhizobium, spécifique les flavonoïdes produits par les racines des légumineuses améliorent la croissance des cellules bactériennes, favorise le mouvement bactérien vers la plante et induit la transcription de gènes de nodulation rhizobienne (nod). (Philips *et al.*, 1992).

5-Les interactions dans la rhizosphère

Il existe différentes interactions dans la rhizosphère (Djijel, 2003 cité par Kaioua Amel, 2015) Les processus racinaires impliqués dans ces interactions sont entre autres la rhizodécomposition, la respiration de la racine, l'absorption d'eau et des nutriments (Bazote, 2005).

5-1-Les interactions entre les microorganismes

Les microorganismes en particuliers les bactéries sont fréquemment impliquées dans une multitude d'interactions non génétiques avec d'autres microorganismes, notamment au niveau de la rhizosphère. Ces interactions sont souvent nutritionnelles. Un micro-organisme dépend d'un autre micro-organisme pour la dégradation de produits ou de substrats spécifiques, ou différents microorganismes sont en compétition pour le même substrat (kaioua *et al.*, 2015). Dans d'autres cas, un microorganisme peut exercer un effet nuisible sur les autres microorganismes, par exemple par la production d'antibiotiques ou de composés toxiques. Les interactions entre populations microbiennes peuvent être reconnues comme des interactions négatives (compétition, amensalisme), positives (commensalisme, synergie et mutualisme), ou positives pour l'un et négatives pour l'autre population (parasitisme ou prédation). (Trevors *et al.*, 1997).

5-2-Les interactions plantes-microorganismes

Il est communément admis que tout groupe microbien peut développer des fonctions importantes dans l'écosystème (Giri *et al.*, 2005). Cependant, la plupart des études sur la rhizosphère microbiologie, en particulier celles décrivant les coopératives interactions plantes – microbiens, se sont concentrés uniquement sur bactéries et champignons. En conséquence, cet examen portera sur ces deux types de microbes. Les bactéries et les champignons ont des habitudes trophiques / de vie différentes, et une variété de relations saprophytes ou symbiotiques, soit nuisibles (pathogènes), soit bénéfiques (mutualistes), ont été signalés (Kobayashi *et* Crouch, 2009). Les microbes nuisibles comprennent les principaux phytopathogènes et les rhizosphères nuisibles parasitant et non parasitant organismes. Les bactéries et les champignons saprophytes bénéfiques peuvent promouvoir la croissance et la santé des plantes (Figure 04). Les symbiotes mutualistes bénéfiques pour les plantes comprennent les bactéries fixatrices de N₂ et les champignons mycorhiziens arbusculaires (barea *et al.*, 2005).

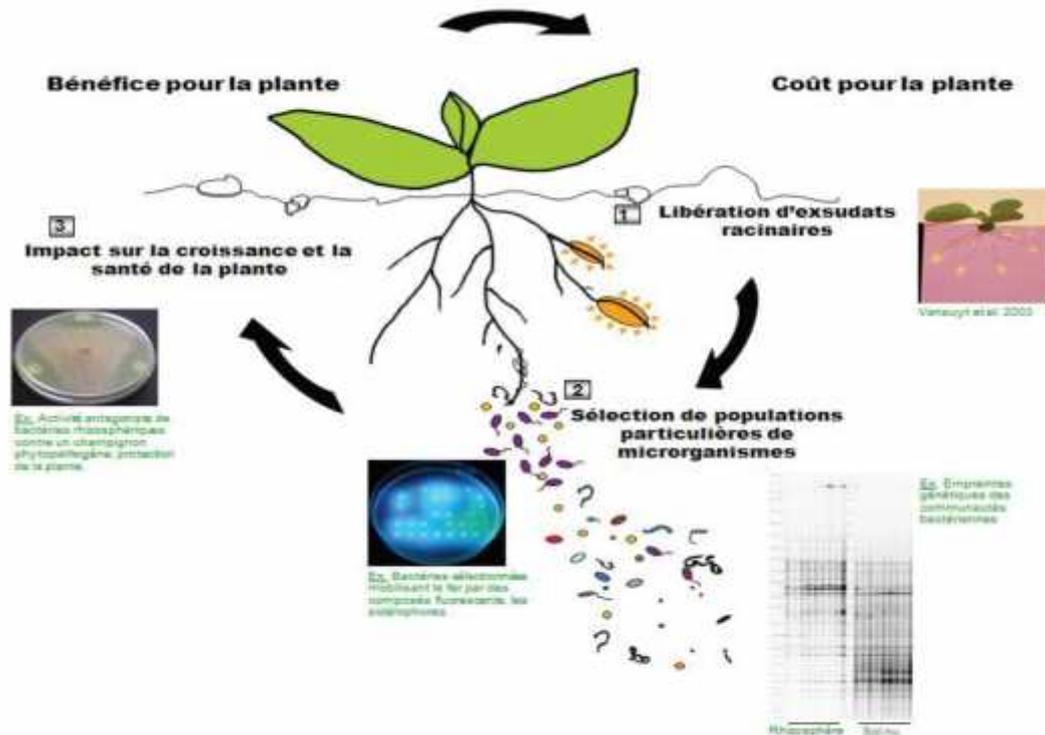


Figure 04 : représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère (Lemanceau *et al.*, 2006).

6-Effet de la rhizosphère sur la plante

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. La libération de carbone organique dans la rhizosphère constitue une source importante de nutriments pour ces microorganismes. Cette interaction trophique est à la base de l'effet rhizosphère. (Clémentine L, 2013).

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).

7-Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Le terme PGPR provenant de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des

plantes par différents moyens (Abnatura, 2013). Le terme PGPR a été inventé pour la première fois par Kloepper *et schorth* pour décrire cette population microbienne dans la rhizosphère, Ces microorganismes bénéfiques ou PGPB “Plant Growth-Promoting Bacteria” peuvent provenir de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère. Généralement, elles sont des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire des plantes riches en éléments nutritifs, leur abondance dans le sol s’explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme source d’énergie et d’éléments nutritifs. Les PGPRs sont divisés en deux grands groupes en fonction de leur relation avec les plantes hôtes : les bactéries libres (non rhizosphériques), vivants dans le sol et n’utilisant pas les exsudats racinaires pour leur croissance et les bactéries symbiotiques à effet direct sur les composés organiques présents dans les racines.

Les PGPRs forment un groupe hétérogène de bactéries dont les genres les plus étudiés sont: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* qui favorisent la croissance des plantes par des mécanismes directs et/ou indirects (kloepper et *al.*, 1999) (Figure 5), tel que la fixation d’azote, l’inhibition de la synthèse d’éthylène par la plante et la synthèse des phytohormones (Nadji, 2017).

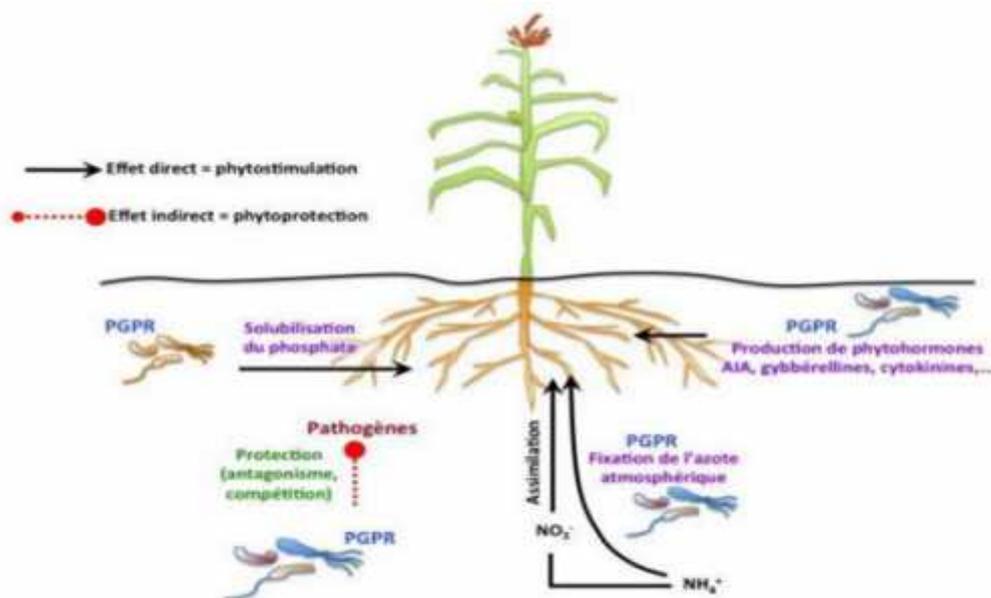


Figure 5: Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère (Khan *et al.*, 2009)

7-1 Effet directe des PGPR sur la plante

Les bactéries PGPR facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (Munees *et* Mulugeta, 2014)

7-1-1 Fixation d'azote

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N₂ dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N₂ atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N₂ par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim *et* Rees, 1994). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote. La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racines dans le végétale, dans le quelle l'azote est fixé à L'ammoniaque et le rendre disponible pour l'hôte. (Munees *et* Mulugeta, 2014)

7-1-2-Solubilisation du phosphate

Le phosphore et le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, il est largement disponible dans le sol sous deux forme organique et inorganique (khan *et al.*, 2009). Il joue un rôle pratiquement important dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (Khan *et al.*, 2010). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles: les ions monobasique (H₂PO₄) et basique (HPO₄²⁻) (Govind *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 bio disponible 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 (Salma, 2015)

7-1-3-Solubilisation du potassium

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar *et* Sindhu, 2013). En outre, en raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles. (Kumar *et* Dubey, 2012) On a signalé que les microorganismes des sols jouaient un rôle clé dans le cycle K naturel et, par conséquent, les microorganismes solubilisants de potassium présents dans le sol pourraient fournir une technologie alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers *et al.*, 1998)

7-1-4-Production des sidérophores

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Neilands, 1995). Ces oligoéléments qui ont une forte compétition avec certaines bactéries sont capables de séquestrer le fer du milieu environnant par une molécule appelée sidérophore. Ces sidérophores se lient avec l'ion ferrique et forment un complexe sidérophore-ferrique qui se lie ensuite avec des récepteurs dépendants de la suspension de fer à la surface de la cellule bactérienne. L'ion ferrique est ensuite relâché et actif dans le cytoplasme comme ion ferreux. Beaucoup de plantes peuvent utiliser divers sidérophores bactériens comme sources de fer, beaucoup de bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* de la rhizosphère (Kuffner *et al.*, 2008). Le sidérophore le plus connu est l'aérobactine (figure 6), isolée pour la première fois de *Aerobacteraerogenes* (Gibson *et* Magrath, 1969).

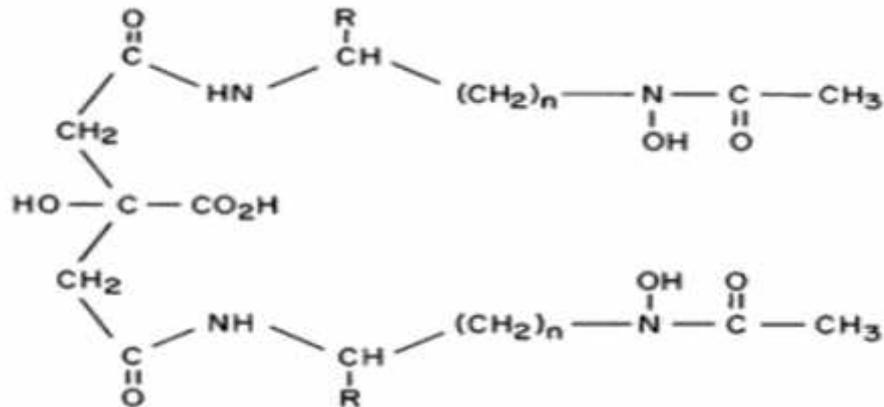


Figure 6 : Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate (Gibson *et* Magrath, 1969).

7-1-5-Production des phytohormones

Une large gamme de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des substances qui régulent la croissance et le développement des plantes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2013)

7-1-6-Acide Indole Acétique (IAA)

Les plantes ont développé des systèmes élaborés pour réguler les niveaux cellulaires de l'IAA (Normanly *et* Bartel, 1999). L'IAA représente l'une des hormones végétales les plus importantes, ce qui renforce de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes tout au long du cycle cellulaire de la plante, de la division cellulaire, de l'allongement cellulaire et de la différenciation (Guilfoyle *et al.*, 1998). Généralement, IAA affecte la division, l'extension et la différenciation des cellules végétales; Stimule la germination des semences et des tubercules; Augmente le taux de développement du xylème et des racines; Contrôle les processus de croissance végétative; Initie la formation de racines latérales et accidentelles; Médiatise les réponses à la lumière, à la gravité et à la fluorescence; Affecte la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance à des conditions stressantes. En outre, l'IAA bactériennes augmentant la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol.

En outre, l'IAA rhizobactérien le dégage les parois cellulaires de la plante et, en conséquence, facilite une augmentation de l'exsudation des racines qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries rhizosphériques (Glick, 2012). Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes.

Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en imitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines. Les poids des tiges et des racines des plantes de blé sont influencés positivement par l'ajout de l'AIA (Cherif, 2014)

7-2-Effet indirect des PGPR sur les plantes

7-2-1-Productions des antibiotiques

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de biocontrôle les plus puissants et les plus étudiés chez les PGPR (figure 07). (Shilev, 2013) exemple d'antibiotiques produits par PGPR : l'acide phénazine-1-carboxylique l'oomycineA, les rhamnolipides (Fernando *et al.*, 2005)

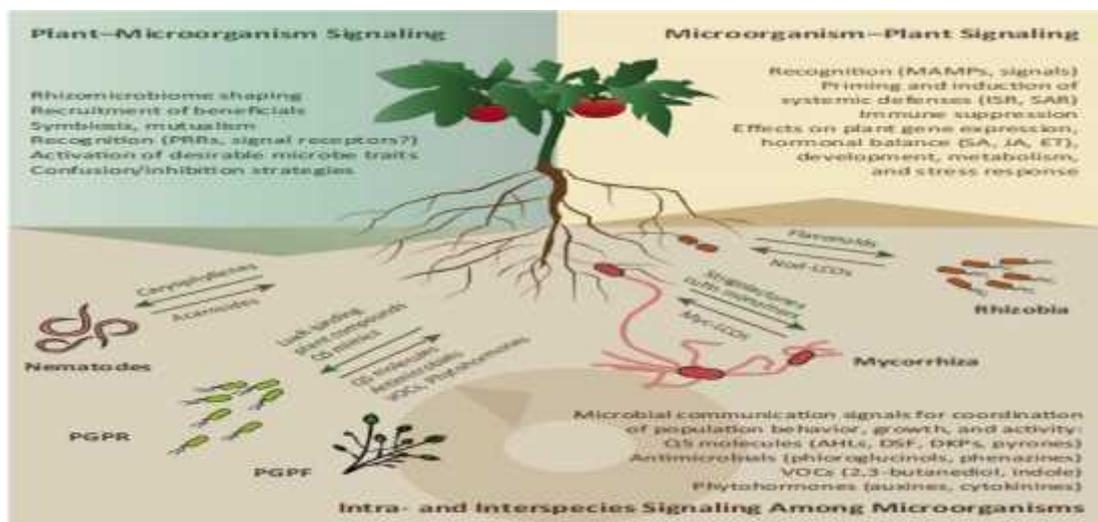


Figure 07 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Venturi *et al.*, 2016)

8-Utilisation des PGPR

Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques, sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson, 2004). Ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et les éléments nutritifs (Siddiqui, 2003). Elles renforcent les capacités défensives des plantes contre les maladies (Van Loon *et al.*, 1998). Elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick *et al.*, 1999).

II- Les légumineuses

1-Présentation des légumineuses

Les légumineuses ou Fabaceae sont classées parmi les Angiospermes, Il s'agit de la troisième plus grande famille des Angiospermes en nombre d'espèces (après les Orchidaceae et les Asteraceae), avec 727 genres et près de 20000 espèces (Cronk *et al.* 2006). Cette famille est divisée en trois sous-familles, deux sont monophylétiques (Papilionoideae, Mimosoideae) et la troisième paraphylétique (Caesalpinoideae) (Guignard *et Dupont*, 2005). Elles constituent de loin le groupe le plus important de plantes participant à la fixation de l'azote avec des bactéries symbiotiques (Raven *et al.*, 2000).

Deux groupes de légumineuses peuvent être distingués :

-Les légumineuses fourragères (trèfle, luzerne, sainfoin...) consommées soit directement par pâturage des prairies, soit récoltées sous forme de fourrage, voire déshydratées.

-Les légumineuses cultivées pour leurs graines. Dans cette catégorie, on distingue encore :

Les espèces à graines riches en protéines et en huiles, sans amidon, classées comme oléagineux (soja, arachide, ...) et les espèces à graines riches en protéines, classées comme protéagineux (pois, féverole, fève,...) ou légumes secs (haricot, lentille, pois chiche,...) (Zhu *et al.*,2005).

Les légumineuses à graines constituent toujours une part importante de l'alimentation du monde, particulièrement dans les pays en développement où elles sont la principale source de protéines pour l'Homme. C'est le cas de la Fève (*Vicia faba*) dans le bassin méditerranéen, le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) en Amérique Latine, le Pois Chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*) et le Soja (*Glycine max*) en Asie sans oublier l'Arachide (*Arachis hypogea*) et le Pois (*Pisum sativum*) dans le monde entier (Zhu *et al.*, 2005).

2-L'importance agro-économique et nutritionnelle des légumineuses

L'intérêt agronomique des légumineuses provient en premier lieu de leur aptitude à la fixation symbiotique de l'azote. Environ 175 millions de tonnes d'azote atmosphérique sont fixés annuellement, alors que la quantité d'engrais azotés utilisée en agriculture est de 40 millions de tonnes par an (Lévêque *et* Mounoulou, 2001).

Cette fixation permet à ces plantes de produire en abondance des protéines végétales ce qui constitue une source très importante dans l'alimentation humaine et animale (Baudoin, 2001). Leurs graines contiennent généralement 20 % à 30 % de protéines et riches en Lysine, complétant les profils nutritionnels des céréales et des tubercules dans l'alimentation (tableau 01) (Duranti *et* Gius, 1997). Elles sont riches aussi en fibre et en énergie. Même dans l'élevage intensif et la production du lait, où les cultures céréalières sont les principales sources alimentaires, les légumineuses fourragères sont tenues de maintenir la santé des animaux (Wattiaux *et* Howard, 2001).

Tableau 1 : Analyse de la valeur nutritionnelle des graines de légumineuses. (Roudaut *et* Lefrancq, 2005).

Nutriments	Teneurs
Protéines	20 à 30%
Lipides	Teneurs très variable
Glucides	Teneurs 20a 50%
Minéraux vitamines	Diverses selon les variétés

3-La symbiose légumineuse –rhizobia

La symbiose rhizobium/légumineuse est un processus bénéfique à la plante pour acquérir l'azote sous forme réduite, mais aussi aux *rhizobia* pour obtenir les nutriments nécessaires à leur développement (Raven *et al.*, 2000). Dans les associations symbiotiques, la plante représente l'hôte et le partenaire bactérien le symbionte. Chez les légumineuses, les *rhizobia* s'installent dans les racines des plantes. Le végétal fournit des matières nutritives à la bactérie et celle-ci capte l'azote de l'air et le donne à son hôte (Pousset, 2003). L'optimisation de la symbiose entre les légumineuses et le microsymbionte exige la présence dans la rhizosphère de souches compatibles, compétitives et infectives qui sont hautement effectives

pour la fixation de l'azote et présentes en nombre suffisant pour maximiser la nodulation (Vessey *et* Chemining, 2006).

4-Généralités sur la fève (*Vicia faba* L.)

C'est une plante herbacée annuelle (Ouslim , 2016), de 30-120 cm, glabrescente, dressée et robuste. Les feuilles, de 1 à 3 paires de folioles, sont grandes, ovales, entières et succulentes. Ses fleurs sont de couleur blanche avec des ailes noires, regroupées de 2 à 5 en petites grappes. Le fruit appelé « gousse » a une longueur de 10 à 20 cm. Il est renflé, charnu, dressé et noir à la maturité. Les graines ont une longueur de 2-3 cm. Elles sont ovales, à hile linéaire (Benoît Bock ,2011). 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 (Figure 8) .Au niveau des premiers noeuds à proximité du sol, la plante peut former des pousses latérales (Schilperoord, 2016).



Figure 8 : anatomie de la Fève (*Vicia faba*. L)

5-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

6-Importance agro-économique de la fève

Comme toutes les légumineuses, la fève en association avec les rhizobiums peut fixer jusqu'à 120 kg d'azote / ha (Workalemah, 2009). Ainsi, elle contribue au maintien de la fertilité des sols et permet d'économiser au moins une partie des frais d'intrants azotés coûteux et polluants pour l'environnement. Cette plante constitue également une source importante de protéine, elle est consommée soit comme des légumes verts ou en tant que des semences sèches (Bissar, soupe, etc.). Après la récolte, la paille est également utilisée pour nourrir le bétail. Les graines mûres de la fève constituent une bonne source de protéines, amidon, cellulose, vitamine C et de minéraux (figure 09) (Ibrahim et al ., 2007).



Figure 9 : forme des graines de *vicia faba* (Bentama et Boursas , 2016)

7-Importance et répartition du *vicia faba* L

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) (tableau 2). (Ouslim , 2016).

Tableau2: 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	B2 (riboflavine)	0,2
Fibres alimentaires	6,50	B3 (nicotamide)	1,8
Minéraux		Apports énergétique	
Potassium	210	K calories	64
Phosphate	105	K joules	268
Calcium	24		
Magnésium	10		
Soufre	27		
Sodium	04		
Cuivre	14		

MATERIEL & METHODES

I-Lieu et description de l'étude

Ce travail fait partie d'un projet de recherche PHC Maghreb et l'étude a été réalisée au sein du laboratoire de biotechnologies et amélioration des plantes du laboratoire de recherche de génétique, biochimie et biotechnologie végétales (GBBV).université frères Mentouri Constantine 1.

L'étude a été menée au champ chez un agriculteur dans la commune d'Ibn Badis (Elkhroub) (figure 10). Ou 5 variétés de fèves (*Vicia faba*) ont été cultivées (V1Aquadulce, V2 Maltais, V3 Herst, V4 Ghalla et V5 Hystal). Dans notre travail nous nous sommes intéressés au sol rhizosphérique, On a prélevé 3 plantes de chaque variété d'une façon randomisée. Le sol rhizosphérique prélevé a été conservé dans des sacs en plastique propres puis à -20°C après la collecte. Au laboratoire, ces échantillons ont fait l'objet de différentes analyses.



Figure 10 : Photo présentant des 5 variétés des fèves a Elkhroub

II-Méthodes de travail

1-Le Poids sec aérien des plantes

Après séparation des racines de la partie aérienne des plantes, les sols rhizosphériques ont été récupérés puis stockés à -20°C . Les poids secs des différentes parties de la plante ont été déterminés après séchage à l'étuve à 70°C pendant 48h.

2-La préparation de la solution mère

A partir de chaque échantillon de sol des 15 plantes destinées à l'analyse microbiologique nous avons mis en suspension le sol rhizosphérique ($1\text{g} \cdot (\text{ml})^{-1}$) dans un tube

Falcon de 50ml contenant de tampon PBS stérile (figure 11) (Annexe 2). Le tube est ensuite agité manuellement. Le contenu représente la solution mère (Gouzou., 1992).



Figure 11 : Photo présentant la préparation de la solution mère .

2-1-Isolement des souches

L'isolement des bactéries est effectué par la méthode des suspensions-dilutions selon le protocole suivant :

2-2Préparation des dilutions

Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, 1 ml de la solution mère est ajouté, ce qui représente la dilution 10^{-1} . (Figure 12) Un ml de cette dilution est 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).

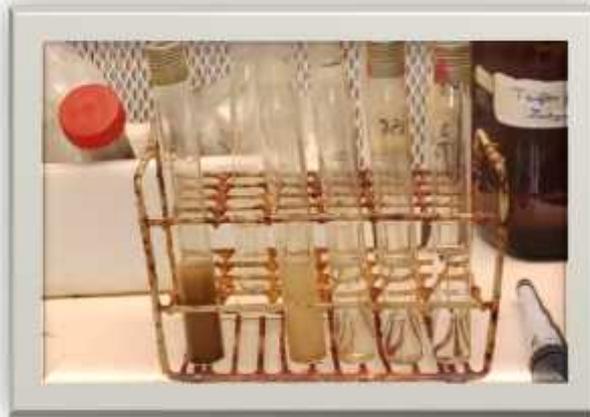


Figure 12 : Photo représente les dilutions de la solution mère

Chaque boîte de pétri est ensemencées en touche avec 3 répétitions par souche aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} étalées sur milieux LB et NBRIP (3 gouttes boîtes par dilution) en utilisant la technique dite « de la goutte » ou les boîtes sont divisé en 3 parties (figure 13) chaque partie est ensemencé une fois avec une dilution. Avant d'être mise à incuber à 28°C (Kirdi., 2011).

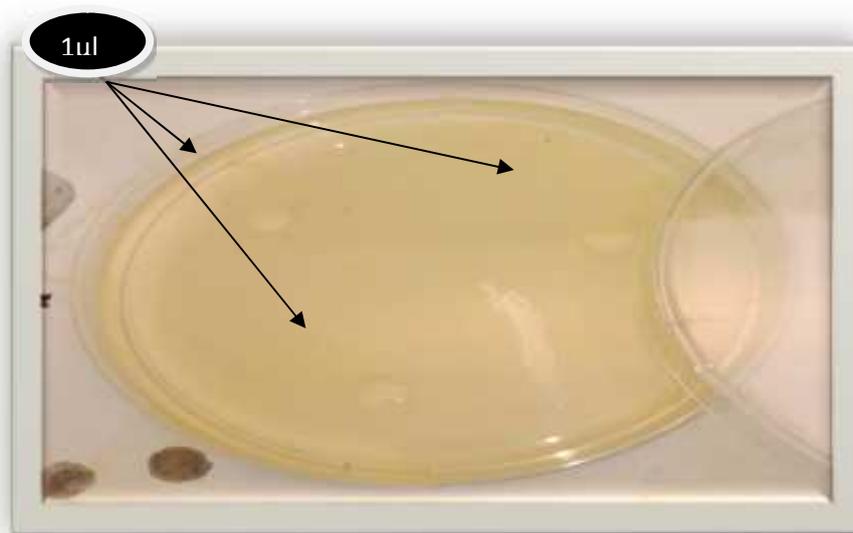


Figure 13 : Photo représente 3 gouttes par dilution

3-Densité des bactéries totales cultivables

Le principe général du comptage consiste à dénombrer les bactéries cultivables présentes sur un milieu solide issu d'une dilution, $1\mu\text{l}$ ont été prélevés aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} et ont été étalées sur milieu LB (Annexe 1).

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, d'incubation à 28 °C. Cette période d'incubation permet la stabilisation du nombre d'UFC.

4-Conservation des isolats

La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches en tube d'appendorf contient de 50% de milieu LB. 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 14)



Figure 14 : Photo présente la Conservation des bactéries dans une solution glycérol 50%.

5-Etude des bactéries rhizosphériques

5-1-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 (Joffin *et* Leyral, 2006).

- 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.

5-2-Etude microscopique

La coloration de Gram est une coloration différentielle permettant de classer les bactéries en deux groupes selon la structure de leur paroi en :Bactéries à Gram positif et à Gram négatif en effet quand les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane puis soumises à l'action du Lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout la couche en peptidoglycane de membrane des bactéries. Cependant, lorsque ces bactéries colorées sont lavées a l'alcool, seules celles a Gram négatif (présence membrane externe et couche mince de peptidoglycane), qui perdent leur coloration et prennent la couleur rose après la coloration par la Fushine.les bactéries a Gram positif possèdent une couche épaisse de peptidoglycane qui empêche la pénétration de l'alcool et donc restent en couleur violet.

5-2-1-Examen à l'état frais

Une préparation à l'état frais permet d'examiner et de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. Ces caractères ont été étudiés par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle (Joffin *et* Leyral, 2006).

5-2-2-Observations microscopiques

L'observation des échantillons a été faite au microscope optique (Zeiss) à faible et à fort grossissement. Afin d'augmenter le pouvoir résolvant de l'objectif 100X, une goutte d'huile d'immersion a été déposée sur la lame..Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

6- Etude biochimique et physiologique

6-1-Production de pigments

6-1-1-Détection de pyoverdine

La production de la pyoverdine a été recherchée sur milieu solide « King B » favorisant la production et la détection de ce sidérophore grâce au sulfate de magnésium et au phosphate bipotassique (Annexe 01) (King *et al.*, 1954). L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

6-1-2- Détection de pyocyanine

Afin de mettre en évidence la production de pyocyanine, des bactéries ont été cultivées sur milieu solide « King A » (Annexe 01) (King *et al.*, 1954) à 30°C pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

6-1-3-Détection des rhizobiums

YMA est un des milieux solides les plus utilisés pour la culture de rhizobia (Vincent, 1970). Sur ce milieu les colonies apparaissent sous forme circulaire, blanche, opaque ou laiteuses, humides, translucides, elles peuvent être brillantes. L'opération est réalisée dans les boîtes de pétris contenant de milieu YMA. L'incubation des bactéries a été faite pendant 48 h.

6-2- Etude des enzymes respiratoires

6-2-1- Recherche de la catalase

La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H₂O₂ à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (Lévy *et al.*, 1992).

6-2-2- Recherche de l'oxydase

Le test oxydase a été réalisé grâce à des disques d'oxydase prêts à l'emploi contenant de l'oxalate N- diméthyl-paraphénylène diamine. Les bactéries oxydases positives dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violette foncée après quelques secondes (Marchall *et al.*, 1982).

7- Analyse des caractères PGPR

Après les résultats de l'étude macroscopique et microscopique et biochimique, nous avons fait une pré sélection pour choisir les différents isolats.

Un screening des activités PGP de l'ensemble des rhizobactéries dans le but de sélectionner les souches les plus performantes a été effectué :

7-1-Dosage de l'acide Indole acétique (AIA)

Les bactéries sont mises en culture pendant 48h dans le milieu LB liquide contenant 0,5g/l du tryptophane (Annexe 1), la croissance est assurée à une température de 28°C sous

agitation et en l'obscurité totale. Après croissance, les cultures de différentes bactéries sont centrifugées à 14000g pendant 5 minutes et le surnageant est récupéré.

Après récupération du surnageant, 1ml de celui-ci est mélangé avec 1ml du réactif salkowski déjà préparé (Annexe 1), les préparations sont ensuite mises à température ambiante à l'obscurité pendant 20 minutes. L'absorbance de la couleur rose résultante qui indique la production de l'AIA a été lue à 530nm avec un spectrophotomètre (Gravel *et al.*, 2007).

Les valeurs obtenues sont converties en taux d'auxine par le biais d'une courbe d'étalonnage (annexe 04), préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en AIA.

7-2-les 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 (Annexe1) (Singh *et al.*, 2014).

Les colonies ont été incubées pendant 7-15 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).

7-3- Fixation d'azote

Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, ces dernières ont été cultivées à 30°C pendant 48 h, sur milieu solide exempté d'azote « Burk's N-free » (Annexe 01), Selon le protocole de Wilson *et Knight* (1952) et Park *et al.* (2005). Toute croissance sur ce milieu traduit la capacité des bactéries à fixer l'azote.

7-4-Production d'ammoniac (NH₃)

La production de NH₃ a été testée sur le milieu BK131 (Annexe 1). La suspension bactérienne de 2 ml a été incubée à 30°C/3 jours/150 rpm (Cappuccino *et Sherman*, 1992). L'accumulation de l'ammoniac a été détectée par l'addition de 0.5 ml de réactif de Nessler (1,75g KI +2,5g HgCl₂ +4g NaOH +25ml H₂O) dans chaque culture bactérienne donnant une couleur jaune à orange (Bakker *et al.*, 1987).

8- analyse statistique

Chaque expérience a été faite en triplicats. Les données ont été analysées statistiquement par ANOVA (analyse de variance), le test de Newman-Keuls (SNK) avec analyse des différences entre les modalités à un intervalle de confiance de 95%.a été calculée à l'aide du logiciel XLSTAT (2008) version 7.03.

Les isolats ont été comparés par analyse en Composantes Principales (ACP) utilisant Statistica (logiciel d'analyse de données) la version 7.1 de stat soft Inc. (2011) permettant d'établir une relation entre plusieurs variables et définir le comportement d'individus vis-à-vis de ces variables. Cette méthode est réalisée dans le but de mettre en évidence les isolats les plus différents.

RESULTATS & DISCUSSION

Le travail présenté dans ce mémoire porte sur l'identification des différents isolats bactériens dans la rhizosphère de cinq (5) variétés de fèves, dans un premier temps une caractérisation phénotypique basée sur les caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques a été faite. La deuxième partie consiste à faire une analyse qualitative et quantitative de certains caractères PGPR.

I- Le poids sec aérien des plantes

Les poids secs aériens des plantes de la fève ont varié entre 15,80g et 33,74 g par plante (figure 15). Les plantes de la variété Aquadulce ont montré la biomasse aérienne la plus faible (15,80g±1,65) alors que Ghalla a présenté la biomasse aérienne la plus élevée (33,74g±2,44). Les autres variétés ont montré des biomasses aériennes allant de 22,89g±0,32 pour Maltais, 26,05g±4,09 pour Herst et 29,06g±8,79 pour Histal.

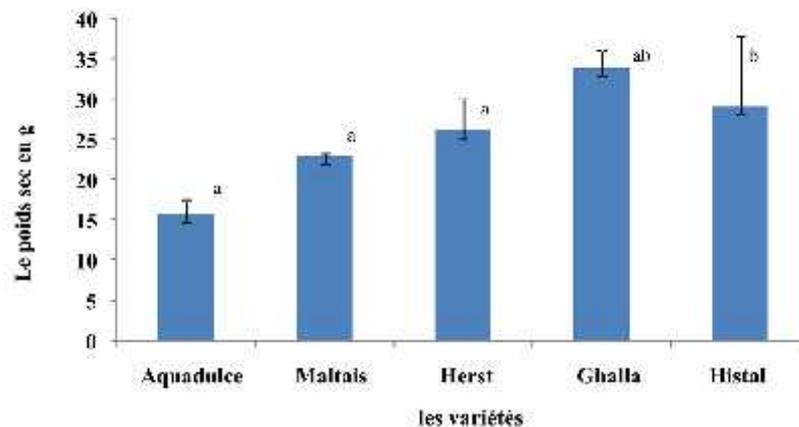


Figure 15 : La variation du poids sec de la partie aérienne des plantes de Fève dans différents variétés.

Ces résultats montrent qu'il existe une différence significative entre les variétés Aquadulce, Maltais, Herts et Ghalla, Histal concernant la biomasse aérienne de la partie sèche de la plante ($p > 0,007$).

Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par l'étude de Mouafek (2010) sur des cultures de *Vicia faba* au champ dans la région de Biskra, qui a dit que la biomasse sèche aérienne moyenne des plantes de la fève varie entre 2,9g à 11 g. Rezaei-Chianeh *et al.*, (2011) ont montré que la croissance et le rendement de la fève était très élevée en association avec le maïs et non pas avec le blé et les travaux de Lithourgidis et Dordas., (2010) ont montré que les

paramètres de la croissance était réduite au niveau de la fève en association avec des céréales en comparaison avec la culture seule et en particulier avec l'orge à cause de sa forte compétitivité.

De nombreuses études ont montré que le poids sec est un bon indicateur de l'efficacité de la souche de *Rhizobium*, car il existe une relation entre la production de matière sèche et la capacité des légumineuses à fixer l'azote (Somasegaran *et* Hoben, 1994 ; Peoples *et al.*, 2002)

II-Isolement et comptage bactérien

1- Densité des bactéries totales cultivables

Le nombre de colonies bactériennes totales par gramme de sol (UFCg⁻¹) des 5 variétés a été déterminé après 48h d'incubation à 28°C sur milieu LB (figure 16).

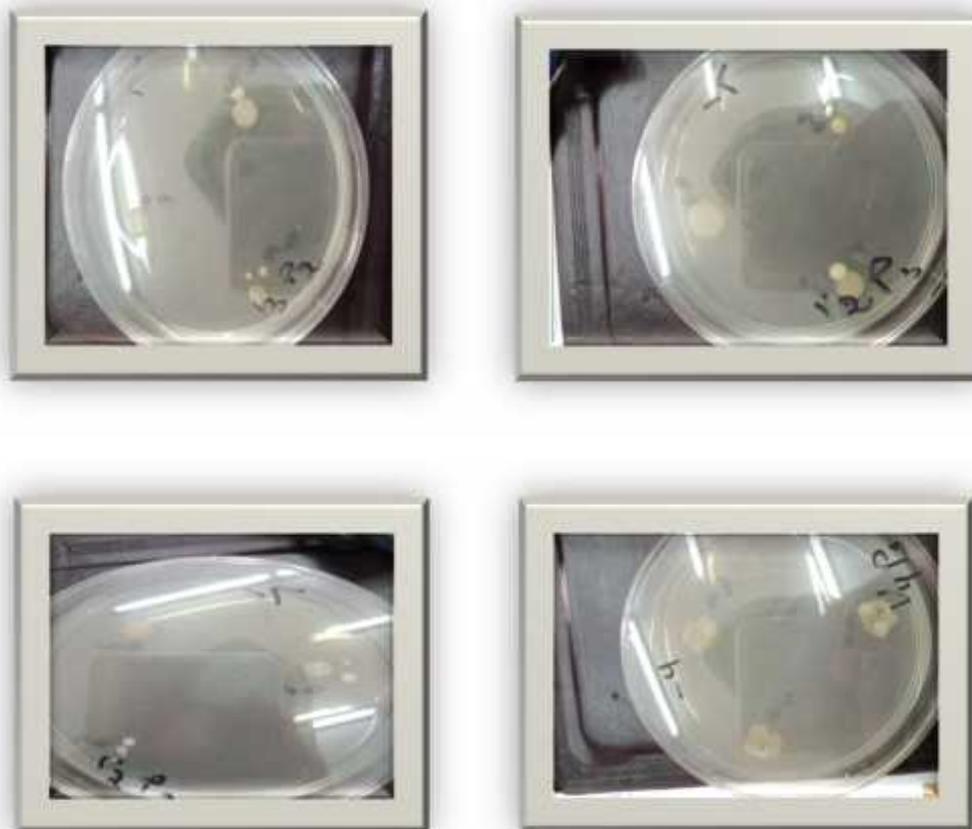


Figure 16 : Le nombre de colonies bactériennes après l'incubation sur milieu LB

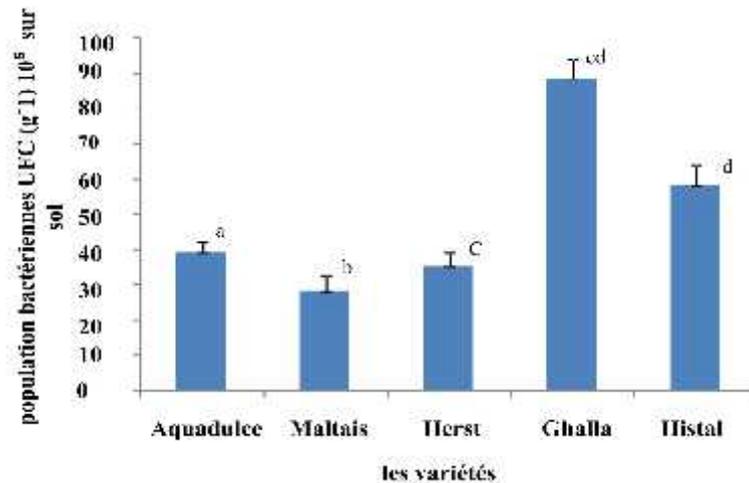


Figure17: Densité des colonies bactériennes au niveau du sol rhizosphérique de la fève de cinq variétés.

Les résultats sont présentés dans la (figure17), qui illustre le nombre de bactéries totales sur milieu LB. Cet histogramme indique que la variété Ghalla présente une moyenne de bactéries isolés de la rhizosphère plus élevée ($88.6 \cdot 10^5 \text{ UFCg}^{-1} \pm 5,6 \cdot 10^5$) suivie par la variété Histal avec un nombre de bactéries élevée ($58 \cdot 10^5 \text{ UFCg}^{-1} \pm 5,7 \cdot 10^5$) alors que la variété maltais présente la faible moyenne des bactéries isolées de la rhizosphère ($28 \cdot 10^5 \text{ UFCg}^{-1} \pm 4,7 \cdot 10^5$).

Les résultats montrent que la différence de nombre de bactéries entre les 5 variétés indique une différence significative ($p < 0,0001$). Et que les variétés Ghalla et Aquadulce ont présentées une communauté bactérienne plus importantes que les autres variétés (Maltais, Hert et Histal).

Ces résultats montrent que le sol des 5 variétés dans la région d'Iben Badis présente une microflore rhizosphérique très variable. Des résultats similaires ont été rapportés par Bouchareb (2018) qui a montré 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.

Les plantes modifient leur sol entourant par la sécrétion d'exsudats racinaire. D'après les études de Bais *et al.*,(2006),il est maintenant prouvé que ces exsudats exercent un effet sélectif sur les communautés bactériennes de la rhizosphère de la plante.

Selon les études de Tungao *et al.* ,(2012),en dehors de l'effet du type de sol, le nombre de bactéries totales cultivables est significativement plus élevé dans le sol rhizosphérique pour le haricot (*Phaseolus vulgaris*).leur résultats réaliser sont pareille avec nos résultats obtenus sur la fève.

La grande densité bactérienne au niveau de la rhizosphère peut donc être expliquée par la présence des exsudats racinaires. La population microbienne dans la rhizosphère utilise ces exsudats s'écoulant à partir des racines des plantes pour la croissance et leur reproduction (Hiltner, 1904 ; Bais *et al.*, 2006). La quantité et la composition des exsudats racinaires affectent la composition de la communauté microbienne qui à son tour influence la disponibilité des nutriments (Rengel, 2008).

Aurélien (2010) a révélé que les communautés bactériennes différenciées du sol à un autre à cause de ces propriétés physico-chimiques qui favorisent le développement des taxons bactériens spécifiques. Des facteurs physico-chimiques tels que l'humidité du sol, le pH, la température, la conductivité et des facteurs physiologiques comme l'âge de la plante et plusieurs d'autres facteurs sont connus pour la variabilité de la densité des bactéries (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. Une meilleure croissance des plantes de la fève.

III-Etude des bactéries rhizosphériques

1-Etude macroscopique

Au cours de notre travail, Les colonies bactériennes isolées (110 isolats) à partir de la rhizosphère de *Vicia faba* ont été observées directement sur la gélose après purification et incubation pendant 48h (figure 18). Ces observations ont montré des caractéristiques similaires pour quelques-unes et relativement variables pour d'autres.



Figure 18 : observation de quelques colonies sur le milieu LB gélosé

Les colonies sont toutes rondes au contour régulier et avec une surface lisse. Nous avons observé une variation dans la couleur, le relief, opacité et la consistance. (Figure 19). (Annexe 03)

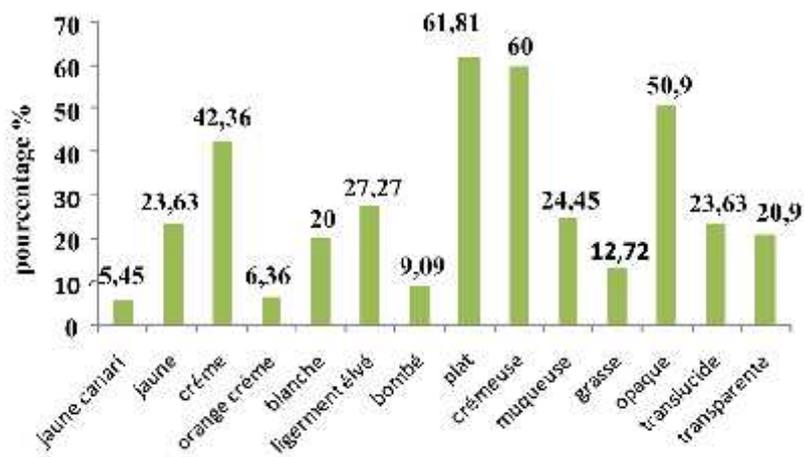


Figure 19 : observation en pourcentage de la variation des différentes colonies (couleur, relief, consistance et opacité)

Figure (19) montre également que la plupart des bactéries sont de couleur crème (42,36%), de relief plats (61,81%), de consistance crémeuse (60%) et d'opacité opaque (50.9%).

Nos résultats expérimentaux similaires avec l'étude d'Aoune *et* Hamani (2017) montrent des différents types de colonies observées sur la boîte de culture pour orienter l'identification des bactéries.

2-Etude microscopique

La coloration de Gram nous a permis de différencier les bactéries d'après leur forme (Bacille, coccobacille, coque), et leur affinité pour les colorants (figure20). 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 (94,54%). (Annexe 03)

Les résultats de la forme des bactéries à partir de l'observation microscopique sont variés 60% sont des bacilles, 23,63% des cocci et 15,45% des coccobacilles. (Annexe 03)

Plusieurs études ont montré la présence d'un grand nombre des bactéries très variés présentant différents formes telles que la forme bâtonnet, la forme spirale et la forme Cocci (Khan *et al.*,2010). parmi celle- ci, les bacilles en forme de bâtonnet semblent être les plus abondants dans le sol (khan *et al.*,2010). Ce qui correspond à notre résultat.

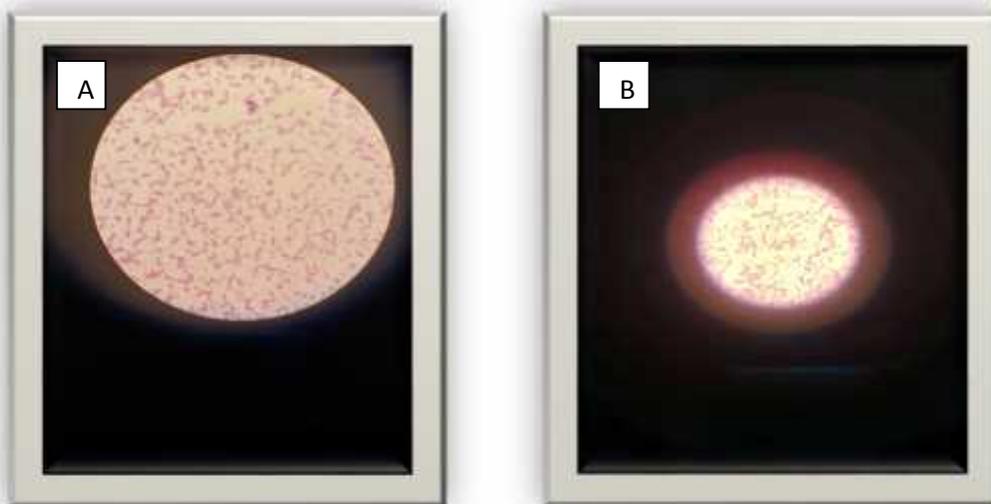


Figure20 : Coloration différentielle de Gram (G : 10X100).

(A) bactéries à Gram négatif (B) bactéries à Gram positif

plusieurs travaux ont évoqués le rôle des bactéries Gram négatif comme bactéries promotrices de la croissance de la fève, comparativement aux bactéries Gram positif qui sont rarement mentionnés (Bashan *et al.*, 2004 ; Christie, 2009 ; Akhtar *et* Siddiqui, 2009).

Mise à part les *Bacillus* la plupart des PGPR sont connus peut être Gram négatif. Les bactéries à Gram négatif comme le 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-Etude biochimique et physiologique

3-1- Production de pigments

3-1-1-Détection de pyoverdine

L'Observation d'une couleur jaune-vert a mis en évidence la production de pyoverdine (figure21), les résultats montrent que 55,45% des bactéries ont présentés une fluorescence jaune-vert contre 43.63% sans fluorescence. (Annexe 03) Cette fluorescence pourrait être indicatrice de l'appartenance des bactéries à l'espèce *Pseudomonas fluorescens*.

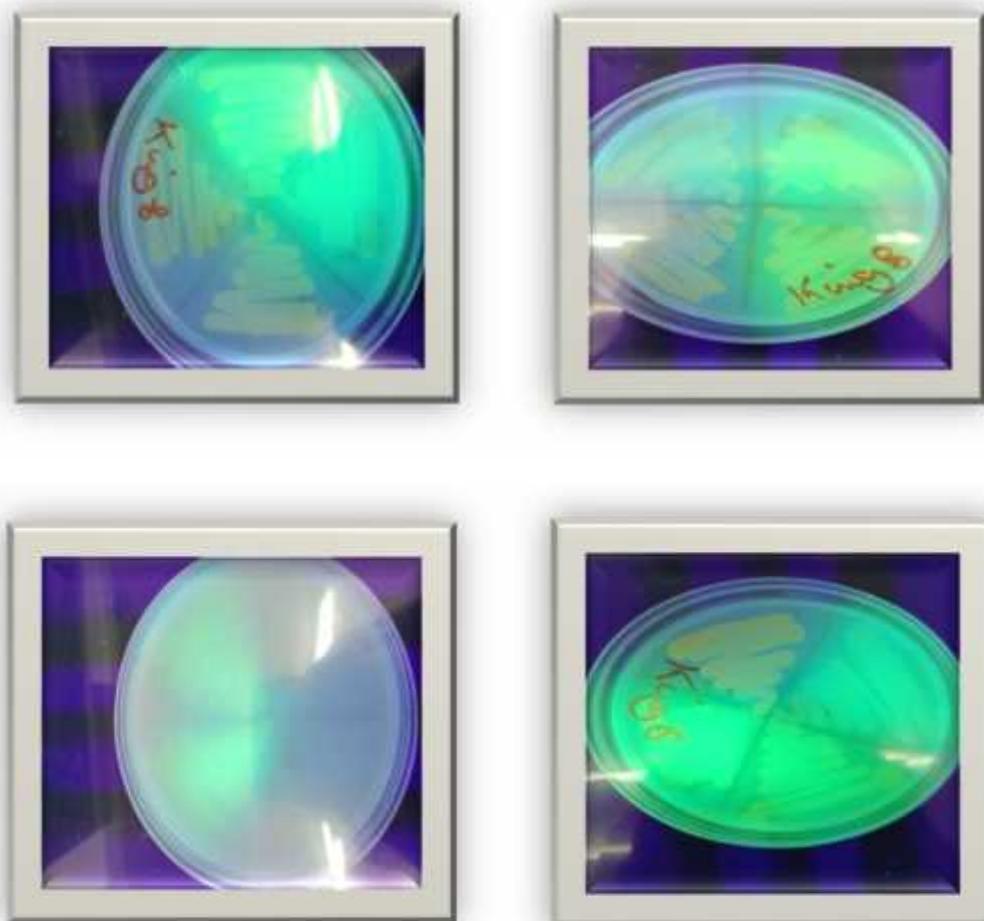


Figure 21 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas fluorescens* sont parmi les bactéries à Gram négatif les plus abondantes dans la rhizosphère (Kaioua *et* Grairi, 2015). La pyoverdine joue pour la bactérie le rôle d'un sidérophore : molécule captant les ions fer ferrique fondamentale pour la croissance des bactéries (Tourkya *et al.*, 2009).

3-1-2-Détection de pyocyanine

Les observations de la détection des pigments des isolats bactériens sont montrés sur la (figure 22), on observe différents pigments : 32,72% sont bleu vert, 21,81% bleu, 10,90% bleu clair 10,90%jaune vert, 3,63% vert claire et 20% absence de fluorescence. (Annexe 03).

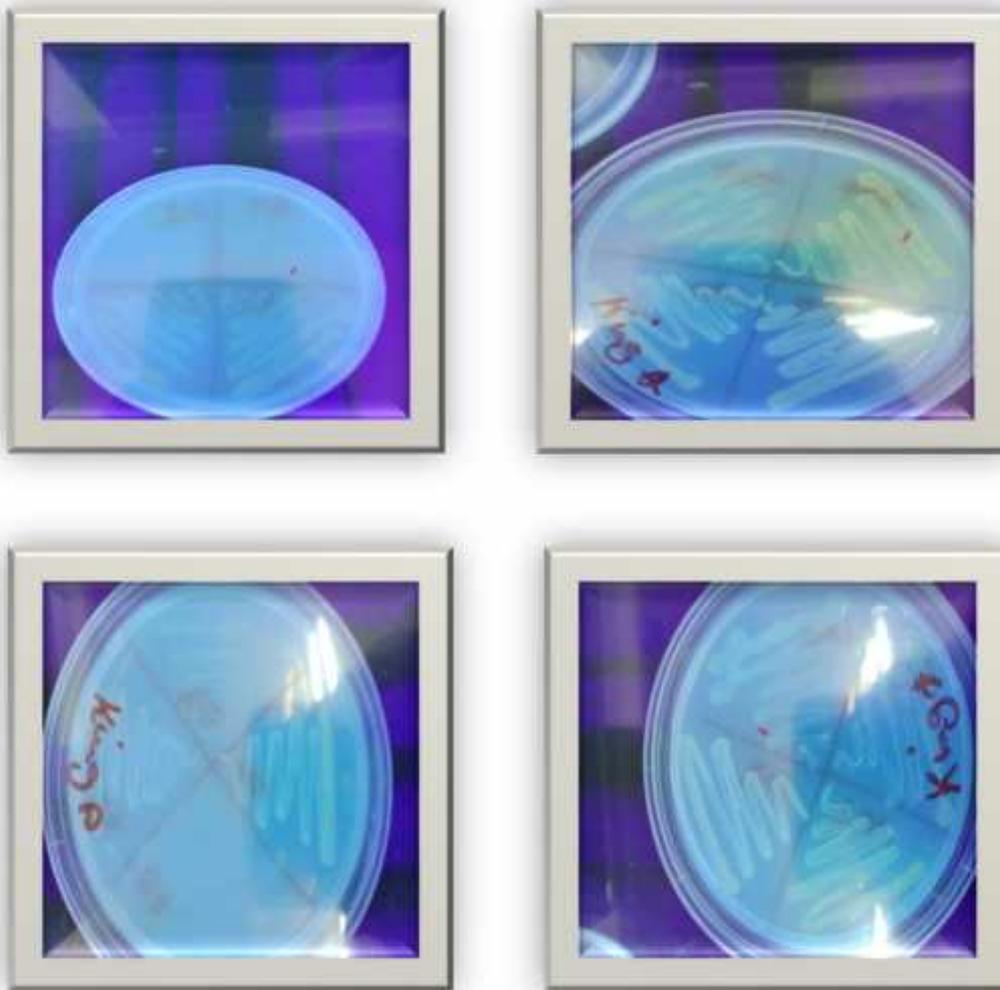


Figure 22 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV.

Nos résultats sur le milieu sélectif « king A » et qui ont montrés des bactéries fluorescentes de couleur bleu-vert peut montrer qu'il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit spécialement ce pigment. (Joffin *et* Leyral, 1998 ; Dumas *et al.*, 2013).

La pyocyanine est soluble dans le chloroforme, en outre, elle est toxique pour une large gamme de pathogènes contrairement à la pyoverdine, (Bouras, 2014).

Certains souches de *P. aeruginosa* perdre leurs capacités à produire le pigment puisque ils ont subi d'une mutation (El-Fouly *et al.*, 2014).

3-2-Croissance des isolats sur milieu YMA

Nos isolats présentent après 48 heures de croissance sur milieu YEM, des colonies, circulaires légèrement bombées lisses, opaques, avec une texture translucide blanchâtres. Elles sont mucilagineuses. Notre résultat montre que (82,72%) des isolats sont positif et (17,27%) sont négatifs (Annexe 03). La plupart des isolats présentent les caractéristiques morphologiques des rhizobia sur le milieu YMA gélosé.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Getaneh (2008) et Zerihum (2006) qui ont observé des caractéristiques similaires de *rhizobium* isolés de la féverole.

Sawada *et al* (2003) ont montrés que les souches des *rhizobia* peuvent se comporter comme des PGPR quand elles colonisent les racines des plantes légumineuses dans une relation spécifique.

3-3-Etude des enzymes respiratoires

3-3-1-la catalase

Le test de catalase (figure23) de nos résultats a montré que 87,5% sont catalase ⁺, et 12.5% sont catalase ⁻. (Annexe 06).



Figure 23 : Réaction de la catalase positive.

La dégradation des bulles d'air a confirmé que les bactéries possèdent l'enzyme de la catalase et donc de pouvoir décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) ainsi qu'en oxygène (O_2).

Nos résultats sont compatibles avec les travaux d'Aoune *et* Hamani (2017), et de Boucherb (2018).

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

3-3-2-l'oxydase

Les résultats de l'étude de l'enzyme respiratoire sur nos isolats bactériens ont montré que 65% des isolats sont l'oxydase négative, et 35% sont positif (Annexe 06). Cela signifie que la majorité des souches sur lesquelles nous travaillons ne possèdent pas l'enzyme respiratoire (cytochrome oxydase).

L'oxydase est l'un des critères le plus discriminatif et le plus employé pour l'identification des bactéries, par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où la colonie a été déposée surtout celles à Gram négatif (Bendoukhane *et* Djaafer 2016).

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

4- sélection d'isolats

Sur la base des résultats obtenus dans l'étude macroscopique, microscopique et biochimique nous avons sélectionné les isolats qui présentent un certain degré de variabilité. La projection sur un plan de l'analyse factorielle est présentée en figure 24.

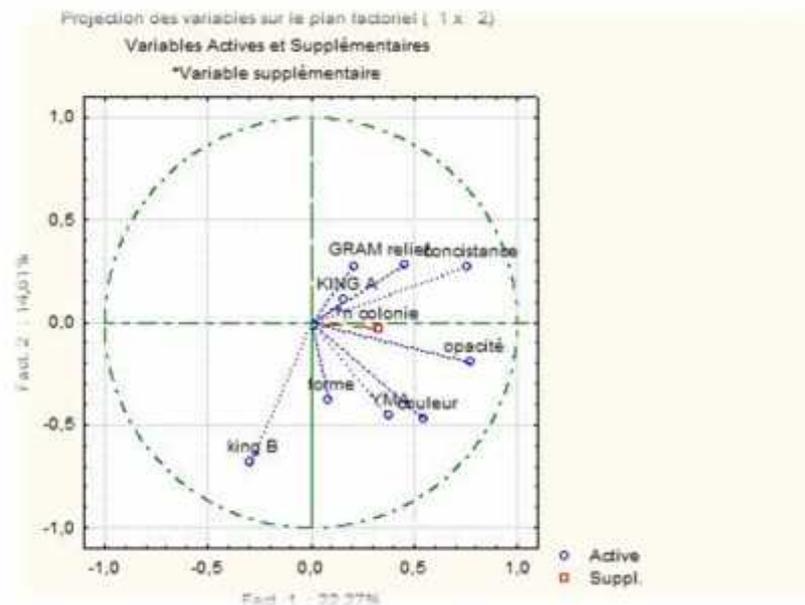


Figure 24 : la variabilité des isolats bactériens donnés par l'ACP

L'analyse factorielle de ces tests nous a permis de réaliser un nuage de point rassemblant les isolats avec un certain degré de similarité (mesuré par la distance entre les points) . Nous avons utilisé l'ACP pour sélectionner les 40 isolats avec un grand degré de variabilité (Figure 25) pour continuer notre travail.

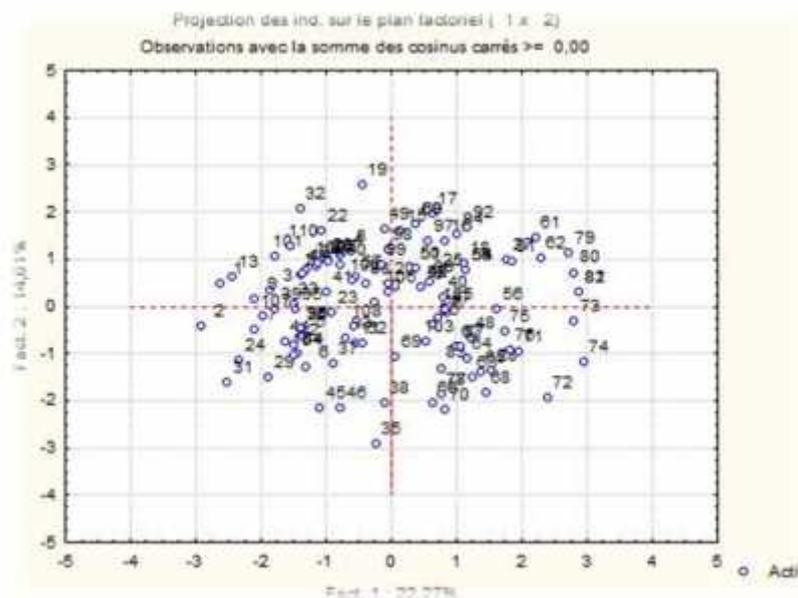


Figure 25: la sélection des bactéries totales différentes par l'ACP

IV-Analyse des caractères PGPR

1-Production de l'acide indole acétique (AIA)

La mise en évidence de la production d'AIA a été réalisée sur milieu LB additionné de Tryptophane. L'apparition de la couleur rose traduit la production d'AIA par les isolats. (Figure 26) (Annexe 06)



Figure 26 : production de l'AIA par quelques isolats bactériens.

Les résultats obtenus ont montrés que les quantités de l'AIA produites par les isolats bactériens sont significativement différentes et varient entre 13,23 $\mu\text{g/ml}$ et 177,77 $\mu\text{g/ml}$ (figure 27). L'isolat 6 a produit la quantité la plus élevée (177,77 $\mu\text{g/ml}\pm 4,9$) et l'isolat 72 a produit la plus faible concentration parmi les 40 isolats (13,23 $\mu\text{g/ml}\pm 0,52$).

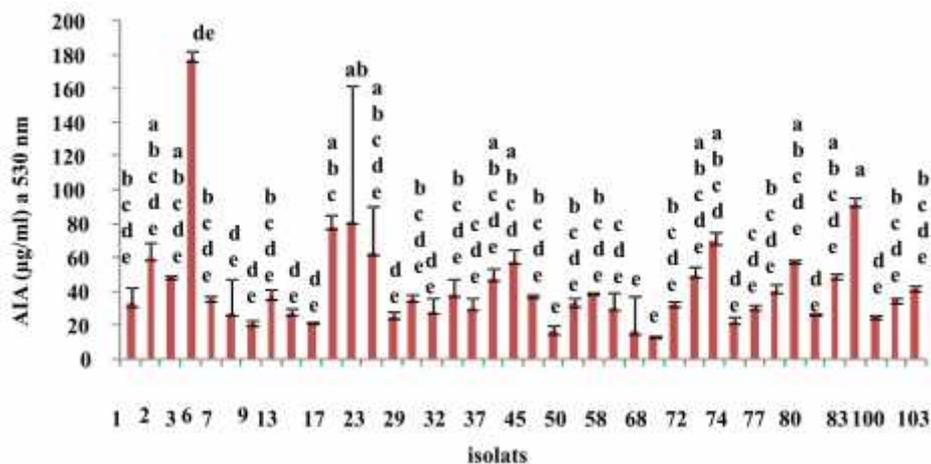


Figure 27 : Quantité d'AIA produite par les isolats sélectionnés.

L'Analyse de la variance a montré une différence significative à ($p < 0,0001$).

Ces résultats sont en accords avec les travaux de Chaiharn et Lumyong (2011), qui ont constaté qu'environ 80 % des bactéries de la rhizosphère peuvent sécréter de l'AIA, cela semble être dû à une forte quantité de matière organique dérivée des racines des plantes et des exsudats radiculaires nécessaire à la croissance bactérienne.

La capacité à synthétiser l'IAA est un trait commun aux 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 N_2 chez de nombreuses légumineuses, (Othman *et Tamimi S.*, 2016).

La plupart des études antérieures ont montré que les organismes producteurs d'IAA sont Gram négatifs (Datta *et Basu.*, 2000).

Les bactéries sécrétant une grande quantité d'auxine soit l'AIA, dans le sol causent une augmentation maximale de la croissance et le rendement des récoltes (Khalid *et al.*, 2004). La production de ce composé est variable entre les souches de différentes espèces. Cette variation est aussi influencée par les conditions de culture, la phase de croissance et la disponibilité du substrat (Mirza *et al.*, 2001).

2-Les 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), les résultats obtenus de cette étude montrent que 50% des colonies bactériennes (Annexe 04) sont capable de produire l'enzyme phytase, Où nous avons observé une formation de halo autour des bactéries, donc le degré de la minéralisation du phytate est différent entre les souches bactériennes. (Figure 28)



Figure 28 : observation de quelques bactéries minéralisant le phytate.

Les résultats obtenus indiquent que la moitié des souches de la rhizosphère ont pu pousser et ont donc pu dégrader le phytate, et sont donc capables de produire des enzymes appelées phytases. Ces enzymes vont permettre de libérer les ions phosphates à partir des phytates, et seront ainsi disponibles pour les racines des plantes. (Singh *et al.*, 2014).

L'étude menée par Nautiyal (1999), a démontré que le milieu NBRIP donne des résultats pour l'activité de minéralisation du phytate ce qui confirme nos résultats.

Par ailleurs Kadiri *et al.* ,(2013) qui ont utilisé le même milieu NBRIP ont montré que les bactéries de solubilisation du phytate sont des bactéries aérobies dont certaines sont des bactéries sporulantes.

Au vue de leurs propriétés, les bactéries qui solubilisent et minéralisent le phosphore ont un intérêt majeur dans le cadre d'une fertilisation agricole. En effet, une fois introduites dans le sol, elles peuvent tirer parti des réserves en phosphore présentes dans le milieu, en grande parties indisponibles, pour les rendre disponible pour les plantes. Pour cela, elles solubilisent et minéralisent le phosphore inorganique et organique, et permettent ainsi de libérer des phosphates solubles aux racines. (Amour., 2018)

3- Fixation d'azote

La croissance des bactéries sur le milieu « Burk's N-free » dépend de leur aptitude à fixer l'azote Nos résultats ont montré que 72,5% des isolats testés sont aptes à fixer l'azote. (Annexe 06)

Les résultats obtenus indiquent que la majorité des isolats bactériens testés ont été capable de fixer l'azote atmosphérique. Ces résultats sont en accords avec les travaux de Aouane et Hamani, (2017) montrent qu'environ 70 % des bactéries de la rhizosphère peuvent fixer l'azote.

Actuellement, il est admis scientifiquement que les effets de stimulation de plantes par les PGPR sont liés essentiellement à leur capacité à fixer l'azote. (Vessy, .2003)

Les souches bactériennes fixatrices d'azote telles que *Pseudomonas* et *Bacillus* présentent un grand intérêt dans le domaine de la fixation d'azote (Cakmakci *et al.*,2007) et ainsi leurs formulation biologique sont utilisées comme biofertilisants pour un meilleur rendement et une meilleur culture .

L'azote est l'élément le plus important pour la croissance et la productivité des végétaux. Bien qu'il y ait environ 78% de diazote (N_2) dans l'atmosphère, il n'est pas disponible pour l'utilisation directe par les plantes en croissance. Certaines PGPR ont la capacité de fixer l'azote et sont aptes à former une interaction libre (non obligatoire et non durable) avec la plante hôte (Ahemad *et* Kibret, 2013).

4-Production d'ammoniac

L'aspect du milieu après incubation à 30°C et l'ajout du réactif de Nessler. On résulte les milieux apparaissent de couleur jaunâtre ou orange. (Figure 29) ce qui correspond a 67,5% de nos bactéries sont productrice d'ammoniac. (Annexe 06).



Figure29: Résultats de quelques isolats à produire l'ammoniac (NH_3)

D'après les résultats obtenus, la production de NH_3 existe chez la majorité de nos isolats. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Ahmed *et al.*, (2008). Ces derniers ont révélé que la production d'ammoniac est communément détectée chez tous les isolats de *Pseudomonas*, *Bacille* et *Azotobacter*. La production d'ammoniac est l'un des traits de promotion indirecte de la croissance des plantes. De même selon Yadav *et al.*, (2010), tous les *Bacillus* et les *pseudomonas* isolés de la rhizosphère de la culture de pois chiche en Inde ont produit de l'ammoniac.

La production d'ammoniac par les bactéries est l'un des mécanismes impliqués dans la lutte contre les champignons phytopathogènes (Kavitha *et al.*, 2013). Elle est considérée comme une caractéristique importante des rhizobactéries améliorant indirectement la croissance des plantes (Josephe *et al.*, 2007).

L'enzyme nitrogénase joue un rôle important dans la réduction de N_2 fixé en NH_3 chez les bactéries fixatrices d'azote. L'ammoniac fixe est assimilé en glutamate et glutamine qui sont importants pour former des composés azotés organiques dans les cellules telles que les acides aminés, les acides nucléiques, les protéines, etc. Après la mort bactérienne et la lyse, ces composés sont rejetés dans l'environnement et utilisés comme sources d'azote par d'autres organismes tels que les plantes (Hartono *et al.*, 2016).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Conclusion

A travers ce présent travail et les expériences réalisées, nous avons affirmé la présence d'une relation entre les bactéries de la rhizosphère de la plante *Vicia faba* dans la région de Constantine (Ben Badis) grâce à leurs intérêts agro-économiques, environnementaux et écologiques importants via sa capacité de fixer le N₂. Nous avons étudié dans ce mémoire 5 variétés de la fève (Aquadulce, Maltais, Herst, Ghalla et Hista).

Les isollements et dénombrements bactériens dans la rhizosphère de la légumineuse *Vicia faba* des 5 variétés a montré une densité de la communauté bactériennes plus importante chez l'identification phénotypique des 110 isolats bactériens qui a permis de démontrer qu'il existait une différence entre les bactéries de la rhizosphères des 5 variétés étudiées. La plupart des isolats sont de couleur crème, légèrement élevé, plats et opaque, de gram⁻, catalase⁺ et oxydase⁻, De forme différentes (majoritairement des Bacille) ce qui confirme l'existence d'une diversité au sein de ces populations bactériennes.

L'étude de l'effet PGPR des 40 bactéries ont été sélectionnées pour leur différence ont montré leur capacité à produire l'AIA a différentes concentrations chez l'isolat 6 a montré la concentration la plus élevée (177,77µg/ml) et l'isolat 72 a produit la plus faible concentration parmi les 40 isolats (13,23µg/ml) leur capacité de solubiliser le phytate (50%), a produire l'azote (72,5%) et l'ammoniac a (67,5%).

Les résultats obtenu sur les tests PGPR montre l'importance agronomique et écologique de la croissance de *Vicia faba* à partir de l'association avec leurs partenaires microbiens. De meilleures connaissances des mécanismes d'interaction plantes-microorganismes permettent de favoriser des populations déjà présentes dans la rhizosphère et qui sont bénéfiques pour les plantes. Donc ses isolats, peuvent donc être plus en profondeur étudiées et valorisées, afin d'être utilisées en agriculture et en biotechnologie.

Perspectives :

- Identification des isolats (moléculaire 16s).
- Confirmer par des tests de dosages d'enzymes les tests présomptifs sur milieux (dosage phytase, dosage nitrogénase, dosage Ammonium et ACC désaminase).
- Utilisation des bactéries compétentes dans des tests d'inoculation.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abnatura RD. (2013).** Les Rhizobactéries PGPR. Bulletin Technique. Avril 2013 Issue <http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin. (Accessed 21.04.18).
- Ahemad, M. and Kibret, M.(2014).** Mechanisms and Applications of Plant Growth promoting Rhizobacteria: Current Perspective. Journal of King Saud University-Science, 26, 1-20.
- Ahmed, O.H., H. Aminuddin et M.H.A. Husni .(2008).** Ammonia volatilization and ammonium accumulation from urea mixed with zeolite and triple superphosphate. Act Agric. Scand., 58: 182-186.
- Akhtar, M., et Siddiqui, Z. (2009).** Effects of phosphate solubilizing microorganisms and rhizobium sp. on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. African Journal of Biotechnology, 8(15).
- Al Mohandes Dridi B, Loumerem M, Ibn Maaouia Houimli S, Jabbes N, Tlahig S. (2011).** Caractérisation phéno-morphologique de quelques lignées de fève (*Vicia faba* L.) sélectionnées et adaptées aux conditions de culture dans les régions arides en Tunisie. Afrika focus — Volume 24, Nr. 1, pp. 71-94.
- Ameur H. .(2014).**Effet d’osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de stréptomycètes et de plantes d’intérêt agricole sur sol salé ou aride .thèse de doctorat microbiologies université Ferhat abbas Sétif.120p.
- Amour Karima.(2018).** Caractérisation de quelques modes d’action des PGPR chez 30 souches bactériennes isolées de la rhizosphère et le rhizoplan du blé dur,32p.
- Aoune maroua et Hamani Hanen (2017).** Etude des PGPR “Plant Growth Promoting rhizobacteria” des plantes actinorhiziennes : cas de Casuarina equisetifolia et d’Elaeagnus angustifolia Faculté des sciences de la nature et de la vie UFM Constantine 1.
- Arora NK, Tewari S, Singh R .(2013).**Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs. In: Arora NK (ed.) Plant microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances. Springer, 411-449.
- Bais H.P.,Vepachedu R.,Gilroy S.,cclaaway R.M. et Vivanco J.M.(2006).**the role of root exudates in rhizosphère interaction with plants and othervorganisms.the annual review of plant biology ,57:233-66.
- Bakker, P.A.H.M., van Peer, R. & Schippers, B. (1987).** Specificity of siderophore receptors and biocontrol by *Pseudomonas spp.* In: Biologicalcontrol of soil-borne plant pathogens. Hornby, D. (ed). *CAB International*, Wallingford, pp. 131-479.

- Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C.(2005).** Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: Buscot F, Varma A, editors. microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. Berlin, Heidelberg: Springer-verlag; p 195–212.
- Barles, S., Breysse, D., Guillerme, A. et Laeyval, C. (1999).** Le Sol Urbain. Collection VILLES, Economica, Paris. 278p.
- Bashan, Y., Holguin, G., et De-Bashan, L. E. (2004).** Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian journal of microbiology, 50(8), 521-577.
- Baudoin, J.P.(2001).** Contribution des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. Biotechnol. Agron. Soc. Environ 5(4): 221-230.
- Bay Ahmed Salah.(2013).** les pucerons dans la région de Ghardaai en algérie : biodiversité et importance dans un champ de fève (*vicia faba* L.)
- Bazot S. (2005).** Contribution à l'étude de l'allocation des photoassimilats récents dans la plante et la rhizosphère chez une graminée pérenne, Unité Mixte de Recherche INRA INPL agronomie Environnement Nancy Colmar.176: 25-26.
- Bendoukhane, H. & Djafer, K. (2016).** MALDI -TOF spectrométrie de masse : Un outil efficace pour l'identification rapide et fiable des souches bactériennes, Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes, UMF Constantine 1, 45p.
- Benoît Bock .(2011).** Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France Tela Botanica.
- Bentama,N.Boursas,S.(2016).** étude de la variation chromosomique chez l'espèce *Vicia faba*.
- Bertin Cecile, Xiaohan Yang et Leslie A. Weston.(2003).** The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere, *Plant and Soil* 256: 67–83P.
- Bouchare Rayane.(2018).** Densité, Diversité de bactéries cultivables minéralisant le phytate dans la rhizosphère de la fève (*Vicia faba*) de la région d'El Hamma.
- Bouras, M. (2014).** 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, 94p.
- Bourass, M. (2014).** Isolement et identification des *Pseudomonas spp* fluorescents à partir de la rhizosphère des plantes actinorhiziennes. UFM Constantine 1. 66p.
- Cakmakci,R.,Donmez,F., Aydim,A.,Sahin,F.(2006).** Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions, soil biology and biochemistry,38(6),1482-1487.

- Cattelan, A.J., Hartel P.G., et Fuhrmann J.J. (1999).** Screening for plant growth promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J* 63(6): 1670-1680.
- Chaiharun,M.,Lumyong,s. (2011).**screening and optimization of indol-3-acetic acid production and phosphate solubilization drom rhizzobacteria aimed at improving plant growth.current microbiology,62(1),173-181.
- Chang F. T,Tao W, Li J. W, Tian X. H, Wen F.C,Chun T. G,1 Jin G. G , Wen X. C.(2008).**Rhizobium fabae sp. nov., a bacterium that nodulates Vicia faba, Systematic and evolutionaryMicrobiology, 58 (2008) 2871–2875.
- Cherif Hafsa .(2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec Bacillus sp. et Pantoea agglomerans isolées de sols arides. Thèse de doctorat. laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Christie, P. J. (2000).** Agrobacterium and plant cell transformation. Encyclopedia of microbiology, 1, 86.
- Clémentine LEPINAY.(2013).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes microbes, au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale.18P.
- Cook, R.J., Thomashow, D.M., Weller, D., Fujimoto, M., Mazzola, G. Bangera et D.S. Kim. (1995).** Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proc natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 4197-4201.
- Cronk ,Q., Ojeda ,I., Pennington, R.T.(2006).** Legume comparative genomics: progress in phylonenetics and phylogenomics. Current Opinion in plant biology 9: 99-103.
- Dapaah HK, Asafu-Agyei JN, Ennin SA, Yamoah .C. (2003).** Yield stability of cassava, maize, soya bean and cowpea intercrops. *J.Agric. Sci.* 140: 73-82.
- Datta, C., & Basu, P. S. (2000).** Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub, Cajanus cajan. *Microbiological Research*, 155(2), 123-127.
- Daur I , Saad M M, Eida A A, Shakeel A Zahid H , Muhammad Z. I, Yasir M , Sayed S, Heribert H.(2018)** Boosting Alfalfa (Medicago sativa L.) Production With Rhizobacteria from Various Plants in Saudi Arabia, 2018.
- Davet P . (1996).**Vie microbienne du sol et production végétale.Edition INRA ,pp 19-94-95.
- David, H. and McNear, J. R. (2013).** The rhizosphere - roots. Soil and everything in between. *Nature education knowledge* 4 (3): 1.

- De Carne, C.Ch. (2010).** Agriculture biologique, une approche scientifique. Edition : France agricole. Productions végétales et grandes cultures, 434 p. ISBN : 978-2-85557- 211-6.
- Djigal, D. (2003).** Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhizienne) et les nématodes bactéricivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différente plante. Diplôme de docteur de 3ème cycle de biologie végétal, 166p.
- Dumas, Z., Ross-Gillespie, A. et Kümmerli, R. (2013).** Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments.
- Durante, M. and C. Gius.(1997).** Legume seeds: protein content and nutritional value. Field crop Res., 53: 31–45.
- El-Fouly, M.Z., Sharaf, A.M., Shahin A.A.M., El-Bialy, H.A. & Omara, A.M.A. (2014).** biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Radiation research and Applied Sciences 8(1): 36-48.
- Fernandez. (1999).** Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. Austral. Plant Pathol. 28:21–26.
- Fernando .Mark D. Lazzaro.(2005).** Growth and development of conifer pollen tubes. 149 162P.
- Getaneh,T.(2008),**symbiotic and diversity of rhizobial isolates nodulating faba bean (*vicia faba L.*)from western shoa and western Haraghe,ethiopia.an MSC Thesis,school of Graduate studies ababa university addis ababa .150pp.
- Gholami, A.,Biyari,bA.,Ghlipoor, M. ,Asadi Rahmani , H .(2012).** Growth promotion of maize (*zea mays L.*)By plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. communications in soil science and plant analysis, 43(9), 1263-1272.
- Gibson, F., and Magrath, D. J. (1969).** Biochim. Biophys. Acta 192, 175–187.
- Giri B, Giang PH, Kumari R, Prasad R. (2005).**Microbial diversity in soils. In: Buscot F, varma A, editors. Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. Heidelberg, germany: Springer-Verlag;. p 195–212.
- Glick B.R.(2012).**Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applicationsHindawi publishing Corporation, Scientifica.
- Glick peter, Susan T. Fiske, Antonio Mladinic, Jos6 L. Saiz.(1999).** Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils.
- Gordon M.M .(2004).**haricot sec ; situation prospective et agroalimentaire .canada , pp1-7.

- Gouzou L.(1992).**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, 176p.
- Govind, P, S, Singh, A, N, Kumar, (2015).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. J Microb Biochem technol, p. 096-102.
- Gravel, V., Antoun, H. & Tweddell, R.J. (2007).** Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *trichoderma atroviride*: possible role of indole 3 acetic acid (IAA) *Soil Biol Biochem* 39(8): 1968-1977.
- Guignard ,J.L., Dupont, F.(2005).** Botanique. 13ème Edition Masson Paris.
- Guilfoyle, Gretchen Hagen, Tim Ulmasov, Jane Murfett.(1998).** How Does Auxin Turn On genes?
- Hartono, H., Nurfitriani, Fais, A., Harniyati, C., Nur, I.H. & Muhammad, J. (2016).** ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogenfixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. ARPN journal of Engineering and Applied Sciences 11(19): 11735-11741.
- Hillel, D. (1982).** Introduction to Soil Physics. Ed. Academic Press. New York, USA, 364 p.
- Hillel, D.(1974).** L'eau et le sol: principes et processus physiques, Louvain, 288 pp.
- Hirsch, A.M., Bauer, W.D., Bird, D.M., Cullimore, J., Tyler, B. and Yoder, J.I. (2003).** molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecol.* **84**: 858-868.
- Hiltner L. (1904).** Uber neue erfahrungen und probleme auf dem gebit der boden bacteriologies und unter besonderer berucksichti gung der gundung und brache.Arb.Deut.ladwirsch ges, 98:95-78.
- Ibrahim, M.E., Bekheta, M.A., El-Moursi ,A., Gaafar ,N.A.(2007) .**Amélioration de la croissance et le rendement grainier de la qualité de *Vicia faba* . Journal d'Australie et des sciences appliquées de base, 657-666.
- Joffin J. N & Leyral G. (2006).** Microbiologie technique, 2ème Ed, Collection Biologie technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 304p.
- Joseph, B., RR. Patra et R. Lawrence. (2007).** Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). Int. J. Plant Prod., 2: 141-152.
- Kaioua, A et Grairi, I.(2015).**Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre *Pseudomonas* isolées des sols

rhizosphériques. Identification de souches représentatives. Microbiologie Générale et biologie moléculaire des Micro-organismes, UFM Constantine I. 52p.

Kavitha T., Nelson R. et Jesi S.J. (2013). Screening of rhizobacteria for plant growth promoting traits and antifungal activity against charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*, *Int. J. Pharm. Bio Sci.* 4: 177-186.

Khalid, A., M.Arshad. et Z.A. Zahir .(2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.*, 96: 473-480(8).

Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M.(2009). Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.

khan,M S., Zaidi, A., Wani, P. A.(2009). role phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture- a review.in:agronomy for sustainable development,27(1),29-43.

Khan,M.S.,Zaidi,A.,Ahmad,M.,Oves,M.,Wani,P.A.(2010),plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi-current perspective .*Archives of Agronomy and soil science*,56(1),73-98.

Kim J, D.C. (1994).Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation *Biochemistry*, 33,pp.389–397.

King ED, Ward MK, Raney DE. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44, 301–7.

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

Kloepper, J. W., R. Rodriguez-Ubana, G. W. Zehnder, J. F. Murphy, E. Sikora, and C.

Kloepper, J.W. et Beauchamp, C.J. (1992). A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can, J. Microbiol* 38(12):1219-1232.

Kobayashi DY, Crouch JA.(2009). Bacterial/fungal interactions: from pathogens to mutualistic endosymbionts. *Annu Rev Phytopathol*;47:63–82.

Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Gorfer M, Sessitsch A .(2008).Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant Soil* 304: 35- 44

Kumar P, Dubey RC .(2012).Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolus vulgaris*. *J CurrPersApplMicrobiol* 1: 6
38

- Kumar V , Singh P , Jorquera M A , SangwanP , Kumar P , A. K. Verma , Agrawal . (2013)** 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 1361–1369.
- Labidi, A. (2016).** Les auxines et leurs effets sur les végétaux. *Agrimaroc*. [En ligne] <http://www.agrimaroc.ma/les-auxines-et-leurs-effets-sur-les-vegetaux>[Consulté:15-05 2018].
- Lakhal Raja.(2011).** Etude de l'Effet de l'Oxygène sur la Physiologie et le Métabolisme de la bactérie hyperthermophile anaérobie *Thermotoga maritima*.
- Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G. (2006).** Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
- Lévêque C., Mounoulou J.C. (2001).** Biodiversité, Dynamique biologique et conservation. édition Dunod, Paris.
- Lévy, E., Eyal, Z., Chet, I. & Hochman, A. (1992).** Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 40(3):163-71.
- Lithourgidis AS, Dordas CA. (2010).** Forage yield, growth rate, and nitrogen uptake of faba bean intercrops .
- Lynch, J.M. (1983).** *Soil Biotechnology - Microbiological factors in crop productivity* blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lynch, J.M. (1990).** *The Rhizosphere*. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Lynch, J.M. et Whipps, J.M. (1990).** Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 129, 1- 10.
- Manoharachary C, Mukerj K. J. (2006).** *Rhizosphere Biology-an Overview*. (Eds), microbial Activity in the Rhizosphere, 7p.
- Marchall, N., Bourdon, J.L. & Richard, C. (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris.
- Mirza, M., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., & Malik, K. A. (2001).** Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (pGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro *Plant and Soil*, 237(1), 47–54.
- Mouafek A.(2010).** 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, 114p.

- Munees ,A, Mulugeta ,K. (2014)** .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of King Saud University – Science, January volume 26, Issue 1, Page 1–20
- Nadji W.(2017)**. 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, 203p.
- Nautiyal, C. S. (1999)**. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS microbiology Letters, 170(1), 265-270.
- Neilands, J.B.(1995)**. Siderophores structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem. 270, 26723–26726.
- Nelson L. M. (2004)**. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : Prospects for New
- Normanly, J., and Bartel, B.(1999)**. Redundancy as a way of life-IAA metabolism. Curr. opin. PlantBiol., 2, 207-213.
- Othman H, Tamimi S. M.(2016)**. Characterization of rhizobia nodulating faba bean plants isolated.
- Ouslim S.(2016)**. BNL associées aux légumineuses alimentaires (*vicia faba l*) dans l'ouest algérienne « caractérisation et importance », Université d'Oran, 159p.
- Park, M., Kim, C., Yang J., Lee, H., Shin, W., Kim, S., et al. (2005)**. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol. Res* 160(2) : 127-133.
- Parmar P, Sindhu SS .(2013)**. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J Microbiol Res* 3: 25-31.
- Peoples,M.B.,Giller,K.E.,Herridge,D.F.,et Vessey,J.K.(2002)**.limitations to biological nitrogen fixation as a renewable source of nitrogen for agriculture .Nitrogen Fixation global perspectives, 356-360.publishing,Walling Ford,UK,448pp.
- Philips.D.A and S.M. Tsai.(1992)**.flavonoids as plant signals to rhizosphere microbes.Mycorrhizal: 55-58P.
- Plassard C., Robin A., Le Cadre E., Marsden C., Trap J.4, Herrmann L., Waithaisong K., Lesueur D., Blanchart E., Chapuis-Lardy L., Hinsinger P.(2015)**. Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol. *Innovations Agronomiques INRA* , 43 ,115-138P.
- Pousset, J.(2003)**. Engrais verts et fertilité des sols. 2ème Edition Agri décisions, Paris.
- Raven ,P. H., Evert ,R. F., Eichlorn ,S. E.(2000)**. Biologie végétale. La 6ème Edition de boeck ,Paris.

- Rengel Z.(2008).**bioavailabiliy of phosphorus and micronutrients in the soil-plant-microbe continuum,5th international symposium ISMOM-pucon chile.
- Rezaei-C.E, A. Dabbagh M , Nassab1, M. R. Shakiba1,K. G-G, S. Aharizad et F. Shekari2 .(2011).** Intercropping of maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) at different plant population densities. African Journal of Agricultural Research Vol. 6(7), pp. 1786-1793, 4 April, 2011.
- Rogers J.R., Bennett, P.C. and Choi, W. (1998).** Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. American Mineralogy, 83, 1532-1540.
- Roudaut ,H.,Lefrancq ,E. .(2005).** Alimentation théorique partie 2 pp150.
- Salma Taktek. (2015).** Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries mycorhizes. Thèse de doctorat . université LAVAL québec Canada
- Sawada Young JM, Kuykendall LD, Martínez-Romero E, Kerr A .(2003).**Classification and nomenclature of Agrobacterium and Rhizobium.
- Schilperoord P .(2016).** La fève commune des champs, Plantes cultivées en Suisse, 1-32.
- Shao, Y., Gan, Z., Epifanovsky, E., Gilbert, A. T., Wormit, M., Kussmann, J et Ghosh, D. (2015).** Advances in molecular quantum chemistry contained in the Q-Chem 4 program package. *Molecular Physics*, 113(2), 184-215.
- Shilev S .(2013).** Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable elements by Plants. Chappitre5 plant microbe symbiosis fundamentals and advance naveenkumararora editor.
- Siczek Anna , and Jerzy Lipiec,(2016).**impact of faba bean-seed rhizobial inoculation on microbial activity in the rhizosphere soil during growing season.
- Siddiqui Z. A.(2003).** PGPR : Prospective biocontrol agents of plabt pathogens .In.
- Singh P, Kumar V, Agrawal S.(2014).** Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their plant Growth Promoting Activities, International Journal of Microbiology, 1-7.
- Singh P, Kumar V, Agrawal S.(2014).** Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their Plant Growth Promoting Activities, International Journal of Microbiology, 1-7.
- Somasegaran S.S.et Hoben H.J.(1994).**handbook for rhizobia sringer verlage new york.p466.
- Soufiane B. (1998).** Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistesaux champignon phytopatogènes .mémoire de maitrise.faculté des science de l'agriculture et de l'alimentation .université Laval, Québec.

- Tourkya, B., Boubellouta, T., Dufour, E. & Leriche, F. (2009).** Fluorescence Spectroscopy as a promising tool for a polyphasic approach to *Pseudomonad* Taxonomy. *Curr.Microbiol.* 58(8): 39-46.
- Trevors,J. T.&VanElsas,J. D.(1997).** Microbial Interactions in soil. In: VanElsasJ d,TrevorsJ.T.&WellingtonE.M.H.(eds)Modern soil microbiology. Marcel Dekker, INC newYork.215-243.
- Tungao W.,Nimnoi P.,Lumyong S. et Pongsilp N.(2012).**Determination of bacterial diversity in bulk soi and rhizospheres using molecular fingerprintings and phenotypic features word applied sciences journal,19(11):1613-1620.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud M. L, Touraine B, Loccoz Y. M, Muller D, Legendre L, Wisniewski F, Combaret C. P.(2013).** Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning, *Plant science*, 19,256-275.
- Valencia, L. G. H. (2008).** Etudes des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopolysaccharides bactériens, Université Joseph Fourier Grenoble 1,196:22-23.
- Van Loon L.C., Bakker P. and Pieterse C. M. J. (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483P.
- Van Loon, L.C. (2007).** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant pathol.* 119: 243-254.
- Venturi and Christoph Keel.(2016).** Signaling in the Rhizosphere. Special Issue: Unravelling the Secrets of the Rhizosphere.187-189P^
- Vessey ,J.K.(2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers plant and soil,255(2),571-586.
- Vessey ,J.K., Chemining ,G.N.(2006).** The genetic diversity of *Rhizobium leguminosarium* bv. *Viciae* in cultivated soils of the eastern Canadian prairie. *Soil Biology & Biochemistry* 38
- Vincent J.M.(1970).** The manual for the practical study of root nodule bacteria. Blackwell scientific Publication Ltd., Oxford, United Kingdom.
- Wattiaux MA, Howard TM. (2001).** Technical Dairy Guide: Nutrition and Feeding. university of Wisconsin. wheat, barley, and rye in three seeding ratios. *Crop Sci* 50:2148-2158.
- Wilson, P.W. & Knight, S.C. (1952).** Experiments in bacterial physiology Minneapolis, minn: Burgess Publishing Co, USA, pp. 49.

Workalemahu,A .(2009). L'effet des peuples autochtones et Nodulating bactéries Root sur la nodulation et la croissance) de La fève (*Vicia faba*) dans le faible niveau d'intrants des systèmes agricoles du Tigré Highlands, Nord de l'Ethiopie.

Yadav,J.,Verma,J.P.,Tiwari,K.N.(2010).effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and plant growth chichpea (*cicer arientinum*) under in vitro conditions biological frum,2(2),15-18.

Zerihm,B (2006).symbiotic and phenotypic diversity of Rhizobium leguminosarum by vicia isolates(vicia faba)from Northern gondar ,Ethiopia.an Msc thesis,school of Graduate studies,addis ababa university,addis ababa ,73pp.

Zhu, H., Choi, H.K., Cook ,D .R., Shoemaker, R.C. (2005). Bridging Model and Crop legumes through Comparative Genomics. Plant Physiology 137: 1189–1196P.

ANNEXES

Annexe 01 : les milieux de culture

Milieu « LB » (Bertani, 1951)	
Tryptone	10g/l
Extrait de levure	5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Agar bactériologique	15g/l
Eau distillée (qsp)	1000ml
PH du milieu	7.2 0.2

Milieu « NBRIP »(Nautiyal,1999)	
Glucose	10g/l
(NH₄)₂so₄	1,7g/l
Mgso₄7H₂O	0,25g/l
Insp₆	5g/l
NaCl	0,2g/l
Kcl	0.2g/l
Eau distillée	1000ml
Agar	15g/l
PH	7

Tampon PBS	
Kcl	0,2g/l
NaCl	8g/l
Na₂hpo₄2H₂o	3,51g/l
KH₂po₄	0,48g/l
Eau distillée	1000ml
pH	7

Eau physiologique	
Eau distillée	1000ml
NaCL	9%

Milieu YMA	
Mannitol	10g/l
K₂HPO₄	0,5g/l
MgSO₄H₂O	0,2g/l
Extrait de levure	0,5g/l
NaCL	0,1g/l
Eau distillée	1000ml
PH	6,8

Milieu « KingB »(King et al.,1954)	
Peptone	20g/l
Glycérol	10ml
K₂HPO₄	1,5g/l
MgSO₄7H₂O	1,5g/l
Agar	15g/l
Eau distillée	1000ml
PH	7,2

Milieu « King A » (king et al., 1954)	
Peptone	20g/l
Glycérol	10ml
K₂SO₄	10g/l
MgCl₂	1,4g/l
Eau distillée	1000ml
Agar	12g/l
PH	7,1

Milieu « Burk's N-free » (Wilson et Knight, 1952)	
Phosphate de potassium Monobasique	0,4 g/l
Phosphate dipotassique	0,5 g/l
Sulfate de sodium	0,05 g/l
Chlorure de calcium	0,2 g/l
Sulfate de magnésium (7H₂O)	0,1 g/l
Sulfate de fer (7H₂O)	0,005 g/l
MolybD, Ate de sodium	0,003 g/l
Agar bactériologique	15 g/l
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,0 ± 0,1

Milieu «BK131»	
Peptone	10g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Phosphate disodique anhydre	3,56g/l
Phosphate monopotassique	1,50g/l
Eau distillée (qsp)	1000 ml

Annexe 02**Tableau:** Préparation de la solution mère à partir des rhizosphères de la fève.

Les variétés	Quantité du tampon (ml)
V1P1	30
V1P2	35
V1P3	30
V2P1	45
V2P2	35
V2P3	30
V3P1	35
V3P2	40
V3P3	35
V4P1	50
V4P2	45
V4P3	45
V5P1	35
V5P1	45
V5P3	50

Annexe 03

Tableau : Etude macroscopique, microscopique et biochimique des rhizobactéries de *vicia faba*

Origine	Isolats	Couleur	Surface	Relief	Opacité	consistance	milieu « King B »	milieu YMA	milieu « King A »	Gram	forme de bactéries
V1P1 Rep1	1	Jaune canari	lise	Légèrement Elevé	Opaque	crémeuse	-	+	bleu clair	-	B
V1P1 Rep1	2	Jaune canari	lise	Légèrement Elevé	Opaque	crémeuse	±	+	bleu clair	-	B
V1P1 Rep1	3	Jaune	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	-	+	bleu clair	-	B
V1P1 Rep1	4	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	bleu clair	-	B
V1P1 Rep1	5	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	±	+	vert clair	-	B
V1P1 Rep1	6	orange crème	lise	Légèrement Elevé	Opaque	crémeuse	+	+	vert clair	+	B
V1P1 Rep1	7	Jaune	lise	bombé	Opaque	crémeuse	±	+	vert clair	-	B
V1P1 Rep1	8	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	vert clair	-	B
V1P1 Rep1	9	Jaune	lise	Légèrement Elevé	Opaque	crémeuse	-	+	Bleu vert	-	B
V1P1 Rep1	10	orange crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	+	+	bleu vert	-	B
V1P1 Rep2	11	orange crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	-	B
VP2 Rep2	12	Jaune	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	-	Spirale
V1P1 Rep3	13	Jaune canari	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	jaune vert	-	B
V1P1 Rep3	14	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	jaune vert	-	B
V1P1 Rep3	15	Crème	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	jaune vert	-	B
V1P1 Rep3	16	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	+	jaune vert	-	B
V1P1 Rep3	17	Jaune	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	+	abc	-	B

V1P1 Rep3	18	orange crème	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	abc	-	B
V1P1 Rep3	19	Jaune canari	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	abc	-	B
V1P1 Rep3	20	Jaune	lise	Légèrement Elevé	Opaque	muqueuse	+	±	abc	-	B
V1P2 Rrp1	21	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	+	+	Bleu vert	-	B
V1P1 Rep1	22	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	bleu vert	-	B
V1P1 Rep1	23	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	-	C
V1P2 Rep3	24	Jaune	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	±	+	bleu vert	-	C
V1P2 Rep3	25	Jaune	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	-	bleu clair	-	Co
V1P2 Rep3	26	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	-	bleu clair	-	B
V1P2 Rep3	27	Crème	lise	Plat	Translucide	Grasse	+	-	bleu clair	-	B
V1P2 Rep3	28	Crème	lise	Plat	Translucide	Grasse	±	±	bleu clair	-	B
V1P3 Rep1	29	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	±	+	jaune vert	-	Co
V1P3 Rep1	30	Crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	+	+	jaune vert	-	B
V1P3 Rep2	31	jaune canari	lise	plat	Opaque	crémeuse	±	+	jaune vert	+	CB
V1P3 Rep2	32	jaune canari	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	jaune vert	-	B
V1P3 Rep2	33	Crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	+	+	blanc clair	+	B
V1P3 Rep2	34	Crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	+	+	bleu clair	-	B
V1P3 Rep3	35	orange crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	±	±	bleu clair	-	B
V1P3 Rep3	36	Crème	lise	Bombé	Opaque	crémeuse	-	+	bleu clair	-	Co
V2P1 Rep1	37	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	±	+	Abc	-	CB
V2P1 Rep1	38	orange crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	±	+	Abc	-	CB
V2P1 Rep2	39	Jaune	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	Abc	-	Co
V2P1 Rep2	40	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	+	Abc	-	Co
V2P1 Rep2	41	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	-	B
V2P1	42	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	+	bleu	-	B

Rep3									vert		
V2P2 Rep1	43	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	-	B
V2P2 Rep1	44	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	bleu vert	+	B
V2P2 Rep1	45	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	-	bleu vert	+	CB
V2P2 Rep1	46	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	±	±	bleu vert	-	CB
V2P2 Rep1	47	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	-	bleu vert	-	B
V2P2 Rep1	48	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	±	bleu vert	-	B
V2P2 Rep2	49	Jaune	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	Bleu	-	Co
V2P2 Rep2	50	Crème	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	bleu	-	CB
V2P2 Rep2	51	Crème	lise	Plat	Opaque	muqueuse	+	+	Bleu	-	CB
V2P2 Rep2	52	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	+	±	Bleu	-	Co
V2P2 Rep3	53	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	-	bleu vert	-	B
V2P2 Rep3	54	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	-	bleu vert	-	B
V2P3 Rep1	55	Crème	lise	plat	Translucide	muqueuse	+	-	bleu vert	-	B
V2P3 Rep1	56	Blanche	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	-	bleu vert	-	Co
V2P3 Rep1	57	Jaune	lise	Plat	Opaque	muqueuse	-	+	bleu vert	-	Co
V2P3 Rep1	58	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	+	bleu vert	-	B
V2P3 Rep2	59	Jaune	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	+	bleu vert	-	B
V2P3 Rep2	60	Jaune	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	+	bleu vert	-	B
V2P3 Rep2	61	Crème	lise	Plat	Transparente	Grasse	+	+	bleu vert	-	B
V2P3 Rep2	62	Crème	lise	Plat	Transparente	Grasse	+	+	bleu vert	-	Co
V2P3 Rep3	63	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	-	bleu vert	-	Co
V2P3 Rep3	64	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	-	bleu vert	-	B
V2P3 Rep3	65	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	-	bleu	-	Co
V2P3 Rep3	66	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	-	Bleu	+	B

V3P1 Rep1	67	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	+	Bleu	-	Co
V3P1 Rep2	68	Blanche	lise	Plat	Transparente	crémeuse	-	-	Bleu	-	CB
V3P1 Rep2	69	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	crémeuse	-	+	bleu vert	-	B
V3P1 Rep2	70	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	crémeuse	-	±	bleu vert	-	B
V3P1 Rep2	71	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	Grasse	-	-	bleu vert	-	B
V3P1 Rep3	72	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	Grasse	-	±	bleu vert	-	Co
V3P1 Rep3	73	Blanche	lise	Plat	Transparente	Grasse	-	-	Bleu	-	B
V3P1 Rep3	74	Blanche	lise	Plat	Transparente	Grasse	-	-	Bleu	-	CB
V3P1 Rep3	75	Blanche	lise	Plat	Transparente	muqueuse	-	+	Bleu	-	Co
V3P2 Rep1	76	Blanche	lise	Plat	Transparente	muqueuse	-	+	Bleu	-	CB
V3P2 Rep1	77	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	crémeuse	-	-	Abc	-	Co
V3P2 Rep1	78	Blanche	lise	légèrement élevé	Transparente	crémeuse	-	-	Abc	-	Co
V4P1 Rep1	79	Blanche	lise	plat	Transparente	Grasse	+	+	Bleu	-	B
V4P1 Rep1	80	Blanche	lise	Plat	Transparente	Grasse	+	+	Bleu	-	Co
V4P1 Rep2	81	Blanche	lise	Plat	Transparente	Grasse	+	+	Bleu	-	CB
V4p1 Rep3	82	Blanche	lise	Plat	Transparente	Grasse	+	+	Bleu	-	CB
V4p1 Rep3	83	Blanche	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	+	±	Abc	-	Co
V4p1 Rep3	84	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	Bleu	-	CB
V4P2 Rep1	85	Crème	lise	Plat	Opaque	muqueuse	-	±	Bleu	-	B
V4P2 Rep2	86	Jaune	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	+	+	Bleu	-	B
V4P2 Rep2	87	Crème	lise	Plat	Translucide	crémeuse	+	±	Bleu	-	CB
V4P2 Rep2	88	Crème	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	Bleu	-	CB
V4P2 Rep3	89	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	-	+	Bleu	-	B
V4P2 Rep3	90	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	Bleu	-	CB
V4P3	91	Crème	lise	Plat	Opaque	Grasse	+	±	Abc	-	B

Rep1											
V4P3 Rep1	92	Crème	lise	Plat	Opaque	Grasse	+	+	Abc	-	Co
V4P3 Rep2	93	Crème	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	-	+	Abc	-	Co
V4P3 Rep2	94	Crème	lise	Plat	Translucide	muqueuse	+	+	Abc	-	B
V4P3 Rep3	95	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	Abc	-	B
V4P3 Rep3	96	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	Abc	-	Co
V5P1 Rep1	97	Jaune	lise	Plat	Transparente	crémeuse	+	+	Abc	-	B
V5P1 Rep1	98	Jaune	lise	Plat	Translucide	crémeuse	+	+	Abc	-	Co
V5P1 Rep1	99	Blanche	lise	Plat	Opaque	crémeuse	+	+	Bleu	-	B
V5P1 Rep2	100	Crème	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	+	+	Bleu	-	B
V5P2 Rep1	101	Jaune	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	+	+	bleu vert	-	B
V5P2 Rep1	102	Jaune	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	+	+	Bleu	-	B
V5P2 Rep2	103	Orange crème	lise	légèrement élevé	Translucide	crémeuse	+	+	jaune vert	-	B
V5P2 Rep2	104	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	jaune vert	-	CB
V5P3 Rep1	105	Crème	lise	Plat	Translucide	crémeuse	+	±	jaune vert	-	B
V5P3 Rep1	106	Crème	lise	Plat	Translucide	crémeuse	-	+	abc	-	B
V5P3 Rep2	107	Jaune	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	-	+	jaune vert	-	Co
V5P3 Rep2	108	Crème	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	+	±	jaune vert	-	B
V5P3 Rep3	109	Jaune	lise	Plat	Opaque	crémeuse	-	+	abc	-	B
V5P3 Rep3	110	Jaune	lise	légèrement élevé	Opaque	crémeuse	+	+	abc	-	B

V : variété ; **P** : plante ; **B** : Bacille ; **CB** : Coccobacille ; **CO** : Coque ; (+) : Présence ; (-) :

Absence ; **Abc** : absence.

Annexe 04

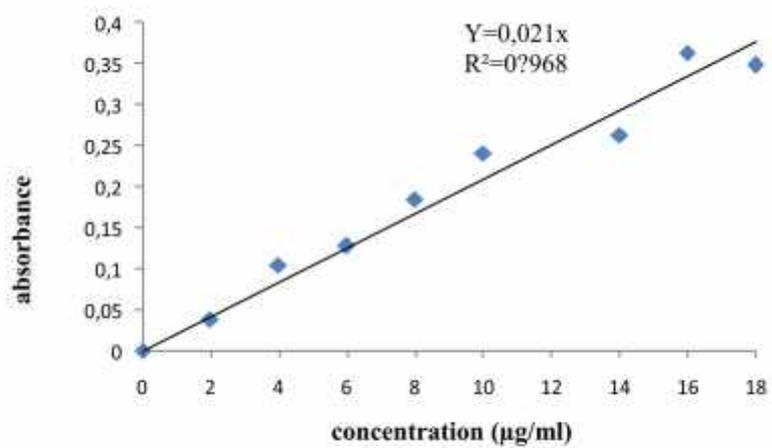


Figure : La courbe d'étalonnage de l'auxine.

Annexe 05

Tableau : présentation des bactéries minéralisant le phytate

Variétés	milieu NBRIP
v1p1-4	-
v1p1-5	+
v1p2-4	-
v1p2-5	+
v1p3-4	-
v1p3-5	-
v2p1-4	+
v2p1-5	+
v2p2-4	-
v2p2-5	-
v2p3-4	+
v2p3-5	+
v3p1-4	+
v3p1-5	-
v3p2-4	-
v3p2-5	-
v3p3-4	+
v3p3-5	-
v4p1-4	+
v4p1-5	-
v4p2-4	+
v4p2-5	-
v4p3-4	+
v4p3-5	+
v5p1-4	+
v5p1-5	-
v5p2-4	+
v5p2-5	-
v5p3-4	-
v5p3-5	+

Annexe 06

Tableau : résultats de la catalase, oxydase et analyse des caractères PGP (AIA, ammoniac et azote) des bactéries rhizosphériques sélectionnées.

Isolats	Catalase	Oxydase	détection d'azote	détection d'ammoniac	µg/ml
1	+	-	+	-	32,483
2	-	-	-	-	59,124
3	+	-	-	-	47,991
6	+	+	+	+	177,773
7	+	-	+	±	35,273
9	+	+	+	-	27,028
13	+	-	-	-	20,43
15	+	-	+	+	36,586
17	+	+	+	+	26,493
19	+	+	+	+	21,689
23	+	-	+	+	77,874
24	+	-	+	+	80,627
29	+	-	+	±	62,385
31	+	-	+	+	24,379
32	+	-	-	-	34,949
35	+	+	-	+	28,039
37	+	+	+	+	38,145
38	+	+	+	+	30,143
45	+	+	+	+	46,966
46	+	-	+	±	57,726
50	+	+	+	+	36,744
56	+	+	+	+	16,079
58	+	-	+	+	32,366
61	+	-	+	+	38,651
68	+	-	-	-	29,998
70	-	-	-	+	15,942
72	-	-	+	-	13,23
73	+	-	+	+	31,476
74	-	-	+	±	49,542
75	-	-	-	+	69,279
77	-	-	+	-	21,607
79	+	+	-	+	30,242
80	+	-	+	±	40,165

82	+	-	+	±	57,61
83	+	-	+	±	26,693
92	+	-	-	-	48,592
100	+	+	+	±	91,256
101	+	+	-	-	24,525
103	+	-	+	-	34,471
110	+	+	+	-	40,758

(+) : Présence ; (-) : Absence ; (**µg/ml**) : Concentration d'AIA

INTITULÉ

Isolement et identification des bactéries dans la rhizosphère de 5 variétés de fèves et détermination de leurs caractères PGPR

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

Résumé

Les rhizobactéries jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre du sol, parmi ces bactéries, il y a celles qui ont montré leur capacité à favoriser la croissance des plantes, elles sont connues sous le terme de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), elles agissent positivement sur la croissance de la plante. Nous nous sommes intéressés dans notre travail de caractériser 110 souches bactériennes isolées au champ dans la région de Ben Badis (Constantine) à partir de 5 variétés de la fève (Aquadulce, Maltais, Herst, Galla et Hista). La caractérisation phénotypique et biochimique a montré que la plupart des isolats sont de couleur crème, légèrement élevés, plats et opaques, de gram⁻, catalase⁺ et oxydase⁻, de forme bacille. Nous avons utilisé l'ACP pour sélectionner les 40 isolats avec un grand degré de variabilité, pour continuer notre travail. Les résultats obtenus nous ont orientés vers des groupes taxonomiques différents (*Rhizobium Pseudomonas bacillus* etc.) l'évaluation du potentiel PGPR des bactéries (phytostimulation, biofertilisation et biocontrôle), a montré que 100% des bactéries sont capables de produire l'auxine à différentes concentrations chez l'isolat 6 a montré la concentration la plus élevée (177,77 µg/ml) et l'isolat 72 a produit la plus faible concentration parmi les 40 isolats (13,23 µg/ml). , et plus de 50% des isolats sont capables de produire l'azote, l'ammoniac et la minéralisation du phytate. donc ses caractères de PGPR ont un effet direct sur la croissance des plantes de cinq variétés de la fève et peut nous servir à sélectionner les bactéries les plus performantes pour des tests d'inoculations.

Mots clés : PGPR, fève, auxine, ammoniac, azote, phytate.**Laboratoire de recherche :** Biochimie, Génétique et Biotechnologies Végétales

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. KECHID. M.	(M.C.B – INATAA - UFM Constantine).
Encadrant : Dr MAOUGAL .R .T	(M.C.B – INATAA - UFM Constantine).
Examineur : Dr. TEMAGOULT .M	(M.A.A – SNV - UFM Constantine).

Date de soutenance : 17 /07/2019

