



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

**Intitulé :**

**Caractérisation biochimique et effet de bactéries rhizosphériques sur  
la promotion de la croissance de la fève (*Vicia faba l.*) en  
hydroaéroponie**

Présenté et soutenu par : NEKKAA Ibtissem

Le : 09/07/2020

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Pr.DJEKOUN A. (Professeur - UFM Constantine 1).

**Encadrant :** Dr. MAOUGAL R.T (M.C.B-INATAA-UFM Constantine 1).

**Examineur :** Dr. TEMAGOULT M. (M.A.A-SNV-UFM Constantine 1).

*Année universitaire  
2019 - 2020*



*A mes chers parents*

*Ahmed et Habiba pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A mes chères sœurs*

*Warda, Rayen et Malek pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*à tous mes amis*

*à toute la promotion «biotechnologie génomique et végétale  
«2019-2020».*





*Tout d'abord, je remercie Dieu le tout puissant pour la force et la volonté qu'il m'a donné pour mener à bien ce modeste travail.*

*Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire, **Madame MAOUGAL Rim Tinhinen** maître de conférence classe B à*

*INATAA Constantine 1 . Je la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

*Merci à le président **Pr. DJEKOUN A.** 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.*

*Je remercie également toute l'équipe pédagogique de laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), Université Frères Mentouri (Constantine 1) et les intervenants professionnels responsables de ma formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci en particulier, **Mr. Nadir BELBEKRI** pour son assistance et ses conseils, ainsi que **Mme ZAHRAOUI***

***Chafika** et **Mme Bouldjedj Rima** qui ont été très patiente et bienveillante*

*avec nous.*

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

## Résumé

Les légumineuses alimentaires sont considérées depuis longtemps comme les plantes à graines les plus cultivées avec les céréales par l'homme. La fève (*Vicia faba L.*) est parmi les légumineuses alimentaires les plus cultivées pour l'alimentation humaine et joue aussi un rôle dans la fertilisation des sols. Des recherches récentes ont prouvé que l'utilisation des PGPR comme inoculant constitue une alternative biologique soutenable pour la production végétale. Dans le but de caractériser une série des bactéries et inoculer des graines pour leur effet sur la croissance de la fève (*Vicia faba L.*), nous avons entrepris une expérimentation qui consiste à travailler sur des isolats bactériens préalablement isolés de la rhizosphère de la fève (*Vicia faba L.*) dans la région d'Ibn badis Constantine.

Les résultats obtenus montrent que l'inoculation avec les souches de *rhizoium sp* entraîne une augmentation racinaire et aérienne principalement pour les souches 23, et 100, des études complémentaires sont nécessaire afin de déterminer leur efficacité dans l'absorption des éléments nutritifs principalement le phosphore et l'azote.

**Mots clé :** légumineuses, *Vicia faba L.*, *Rhizoium*, *PGPR*, inoculation, hydroaéroponie.

## Summary

Legumes have been considered for a long time as the most grown seed plants with cereals by men. Beans (*vicia faba*) are among the most grown legume products for the human nutrition and also play a role in the soil fertilization. Recent research proved that the use of "PGPR" as an inoculant contains an alternative biological sustainable for the vegetable production. In order to characterize a series of bacteria and inoculate seeds for their effect on the growth of the bean (*Vicia faba* L.), we have undertaken an experiment which consists in working on bacterial strains previously isolated from the rhizosphere of the broad bean (*Vicia faba* L.) in the region of Ibn badis Constantine.

The results obtained show that inoculation with rhizium sp strains leads to an increase in roots and air, mainly for strains 23 and 100, additional studies are necessary to determine their effectiveness in absorbing nutrients mainly phosphorus and nitrogen.

**Keywords:** Legumes, (*Vicia faba* L.), Rhizobium, PGPR , inoculation, hydroaeronic

## ملخص

لطالما اعتبرت البقوليات الغذائية أكثر محاصيل البذور التي يزرعها الانسان مع الحبوب على نطاق واسع. الفول ( *Vicia faba L* ) هو واحد من أكثر البقوليات المزروعة على نطاق واسع للاستهلاك البشري ويلعب أيضاً دوراً في تخصيب التربة. وقد أظهرت الأبحاث الحديثة أن استخدام PGPR كمطعم هو بديل بيولوجي مستدام لإنتاج النبات. من أجل وصف سلسلة من البكتيريا وتلقيح البذور لتأثيرها على نمو الفول ( *Vicia faba L* ) ، أجرينا تجربة تتكون من العمل على السلالات البكتيرية المعزولة سابقاً من جذور قشرة الفول. ( *Vicia faba L* ) في منطقة ابن باديس قسنطينة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن التلقيح بسلالات الريزوبيوم يؤدي إلى زيادة الجذور والهواء ، خاصة للسلالات 23 و 100 ، وهناك حاجة لدراسات إضافية لتحديد فعاليتها في امتصاص العناصر الغذائية بشكل رئيسي الفوسفور و نتروجين.

**كلمات البحث:** البقوليات - الفول - الريزوبيوم - PGPR - التلقيح - hydroaeroponie

## Liste des abréviations

**ANOVA:**.....Analyse Of Variance.

**AIA :**.....Acide Indole Acétique

**CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>:**.....Carbonate.

**Cm:**.....Centimètre.

**H<sub>2</sub>O:**.....monoxyde de dihydrogène (l'eau).

**Milieu LB:**.....Milieu Luria-Bertani.

**NaCl:**.....Chlorure de sodium.

**NH<sub>3</sub>:**.....Ammoniac.

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:**.....Dioxyde d'azote.

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:**.....Nitrate.

**N<sub>2</sub>:**.....Diazote.

**PGPR:**.....Plant Growth Promoting Rhizobactéria (Bactéries Favorisant la Croissance des Plantes).

**pH:**.....Potentiel hydrique.

**P.I.B:**.....Production Interne Brute.

**RFCP:**.....Rhizobactéries Favorisant la Croissance des Plantes.

**TDA:**.....Tryptophane désaminase.

**VP1/VP2:**.....Réaction de Voges-Proskauerest : une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane-2.3-diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries.

**°C:**.....Degré Celsius.

**2 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:**.....Ammonium.

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>1</b>	La zone rhizosphérique	<b>3</b>
<b>2</b>	l'activité microbiologique de la rhizosphère	<b>4</b>
<b>3</b>	Les différents Rôle des PGPR	<b>8</b>
<b>4</b>	Développement des nodules sur les racines dans un cas de symbiose entre Rhizobium et une plante légumineuse	<b>12</b>
<b>5</b>	description de la fève ( <i>Vicia faba L.</i> )	<b>15</b>
<b>6</b>	forme des graines de vicia faba	<b>16</b>
<b>7</b>	Variétés de la fève ( <i>Vicia faba major L.</i> ) et la féverole ( <i>Vicia faba minor</i> ) présentent en Algérie	<b>17</b>
<b>8</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Mannitol mobilité	<b>23</b>
<b>9</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Citrate de Simmons	<b>26</b>
<b>10</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Urée-Indole	<b>28</b>
<b>11</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Clarck et Lubs	<b>31</b>
<b>12</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Bouillon Nitrate	<b>34</b>
<b>13</b>	Résultats du changement de la couleur du milieu Triple Sugar Iron	<b>36</b>
<b>14</b>	Tailles moyenne des racines de la fève ( <i>Vicia faba L.</i> ) après inoculation	<b>43</b>
<b>15</b>	La variation du poids frais de la partie aérienne des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )	<b>44</b>
<b>16</b>	La variation du poids frais de la partie racinaire des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )	<b>45</b>
<b>17</b>	La variation du poids sec de la partie aérienne des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )	<b>46</b>
<b>18</b>	La variation du poids sec de la partie racinaire des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )	<b>46</b>



## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	composition de certaines graines légumineuses (%) de la matière sèche, sauf pour acides aminés exprimés en g/16g N	<b>14</b>
<b>2</b>	Les variétés de fève inscrites au catalogue officiel	<b>16</b>
<b>3</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 39 souches étudiées dans le milieu Mannitol mobilité	<b>23</b>
<b>4</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 31 souches étudiées dans le milieu Citrate de Simmons	<b>26</b>
<b>5</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Urée-Indole	<b>29</b>
<b>6</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 37 souches étudiées dans le milieu Clarck et Lubs	<b>33</b>
<b>7</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 26 souches étudiées dans le milieu Bouillon nitrate	<b>35</b>
<b>8</b>	Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Triple Sugar Iron	<b>39</b>
<b>9</b>	Caractéristiques générales des bactéries.	<b>41</b>

# Sommaire

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

## Partie synthèse bibliographique

### Chapitre 1: Les PGPRs

I- PGPRs et leurs modes d'actions.....	3
1- Rhizosphère.....	3
2- Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....	3
3- Différents genres des PGPR.....	4
3-1- <i>Azospirillum</i> .....	4
3-2- <i>Pseudomonas</i> .....	5
3-3- <i>Bacillus</i> .....	5
3-4- <i>Rhizobium</i> .....	5
3-5- <i>Frankia</i> .....	6
4- Modes d'actions des PGPR.....	6
4-1- Modes d'actions directes.....	6
4-2- Modes d'actions indirecte.....	7
II- Techniques d'étude de la diversité bactérienne.....	8
1- Les approches phénotypiques.....	8
2- Les approches moléculaires.....	9
3- Les approches biochimique.....	9
III- Effet des PGPR sur la croissance végétale.....	9
1- Germination.....	9
2- Enracinement.....	10
3- Absorption des nutriments.....	10
4- Rendement.....	11

## Partie synthèse bibliographique

### Chapitre 2: Les légumineuses

1- Présentation des légumineuses.....	13
2- L'importance agro-économique et nutritionnelle des légumineuses.....	14

<b>3-Origine et historique de la fève (<i>Vicia Faba L</i>).....</b>	<b>14</b>
<b>4-Description de la plante (<i>Vicia Faba L</i>).....</b>	<b>15</b>
<b>5-Position systématique.....</b>	<b>15</b>
<b>6-Les variétés de fève (<i>Vicia Faba L</i>).....</b>	<b>16</b>
<b>7- Principales variétés connues en Algérie.....</b>	<b>16</b>
• Séville.....	16
• Aguadulce.....	16
• Muchaniel.....	17
• Sidi Moussa.....	17
• Féverole.....	17
<b>8-Intérêt de la fève (<i>Vicia faba L</i>).....</b>	<b>18</b>
<b>8-1-Intérêt alimentaire.....</b>	<b>18</b>
<b>8-2-Intérêt agronomique.....</b>	<b>18</b>
<b>8-3-Intérêt économique et écologique.....</b>	<b>18</b>

### **Partie Matériel et Méthodes**

<b>1- Lieu et durée du travail pratique.....</b>	<b>19</b>
<b>2- Objectif du travail.....</b>	<b>19</b>
<b>3- Caractérisation biochimique des bactéries.....</b>	<b>19</b>
<b>4- Préparation des isolats.....</b>	<b>19</b>
<b>4-1-Préparation du milieu de culture LB.....</b>	<b>19</b>
<b>4-2-Repiquage des souches.....</b>	<b>19</b>
<b>5-Recherche des caractères biochimiques.....</b>	<b>19</b>
<b>5-1-Méthodes.....</b>	<b>19</b>
<b>A-Milieu mannitol mobilité.....</b>	<b>20</b>
-But.....	20
-Technique.....	20
<b>B-Milieu de Citrate de Simmons.....</b>	<b>20</b>
-But.....	20
-Technique.....	20
<b>C-Le milieu Urée-Indole.....</b>	<b>20</b>

-But.....	20
-Technique.....	20
D-Le milieu Clarck et Lubs.....	20
-But.....	20
-Technique.....	21
E-Le milieu Bouillon Nitrate.....	21
-But.....	21
-Technique.....	21
F-Le milieu Triple Sugar Iron (TSI).....	21
-But.....	21
-Technique.....	21
6- Essais d'inoculation en culture hydro-aeroponique.....	22
7- Evaluation statistique.....	22

### **Partie Résultats et discussion**

1- Les caractères biochimiques.....	23
1-1- Test biochimique de Mannitol mobilité.....	23
1-2- Test biochimique de Citrate de Simmons.....	26
1-3- Test biochimique de Urée Indole.....	28
1-4- Test biochimique de Clarck et Lubs.....	32
1-5- Test biochimique de Bouillon nitrate.....	35
1-6- Test biochimique de triple sugar iron.....	38
1-7- Caractéristiques générales des bactéries.....	41
2- Test d'inoculation sur la fève.....	43
2-1- La taille des racines des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> ).....	43
2-2- Le poids frais de la partie aérienne des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )...44	44
2-3- Le poids frais de la partie racinaire des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )..45	45
2-4- Le poids sec de la partie aérienne des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )....45	45
2-5- Le poids sec de la partie racinaire des plantes de fève ( <i>Vicia faba L.</i> )...46	46
2-6- Nombre des nodules.....	47
Conclusion.....	48

**Références.....50**  
**Annexes.....65**

# **Introduction**

### Introduction

Bien que secondaire par rapport aux secteurs pétroliers et industriels, l'agriculture joue un rôle important dans l'économie Algérienne, en employant 23% de la population active et en participant à 11% du P.I.B. dans cette dernière décennie. Les légumineuses alimentaires ont une superficie moyenne annuelle d'environ 60.000ha pour une production totale en grain secs de 250.000 tonnes (**Bank, 2008**). La superficie occupée par ce segment a évolué rapidement entre 2000 et 2015 en passant de 19.570 ha à 30.055 ha (**Djeghar, et Djeghar, 2014**).

Beaucoup de recherche sur les micro-organismes a été effectuée durant le siècle dernier afin de comprendre, de développer et d'utiliser leurs actions bénéfiques tant au niveau médical, industriel qu'agricole. L'agriculture durable a été l'objet de beaucoup de recherche étant donné que l'agriculture traditionnelle engendre des coûts de production de plus en plus élevés, une diminution de la production et même parfois les deux (**Adesemoye et Kloepper, 2009**). L'utilisation de pesticides et d'engrais chimiques dans l'agriculture peut être nocive pour l'environnement. Les grandes quantités de fertilisants chimiques utilisées représentent un coût élevé et sont liées à la pollution de l'environnement par son utilisation excessive. Une étude a démontré que l'utilisation d'engrais chimique peut graduellement augmenter l'acidité du sol, ce qui peut limiter la croissance des plantes (**Barak et al., 1997**).

De nombreux travaux ont été consacrés, ces dernières années, à l'utilisation de bactéries du sol pour l'amélioration de la croissance des plantes et la diminution des intrants coûteux et potentiellement polluants en agriculture. Ces bactéries promotrices de croissance (PGPR pour «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria») appartiennent à différents genres tels que *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter* et *Bacillus* (**Gaskins et al., 1985**). La fixation non symbiotique de l'azote a été l'un des premiers mécanismes bactériens identifiés dans la rhizosphère des végétaux comme susceptible d'induire une augmentation de la croissance des plantes (**Boddey et Döbereiner, 1988**). Aussi, de nombreuses souches bactériennes fixatrices d'azote ont été isolées du sol et de la rhizosphère et inoculées à diverses espèces végétales (**Jagnow, 1987; Rajaramamohan et al., 1987**).

L'expérimentation de cette présente recherche consiste à caractériser biochimiquement une série des bactéries préalablement isolées par des tests nutritionnels (sucres comme source de carbone), et Biochimiques dans un premier temps et de tester les capacités de six d'entre elles pour leur effet sur la sur la promotion de la croissance de la fève (*Vicia faba L.*).

Le présent mémoire est structuré en différentes parties:

1. Une introduction générale.
2. Une analyse bibliographique : qui comprend deux chapitres :
  - Les PGPRs: présentation des PGPRs, ses différents genres et sa caractérisation physiologique et biochimique, leurs modes d'action et en fin les différents effets sur la croissance végétale.
  - La fève *Vicia faba L*: contient des généralités sur les légumineuses et la plante de la fève et son intérêt.
3. Matériel et méthodes : Une description du matériel et des méthodes utilisées dans l'essai.
4. Résultats et discussions : Présentation des résultats obtenus et leur discussion.
5. Une conclusion générale.



**Synthèse**  
**bibliographique**

---

## I- PGPRs et leurs modes d'actions

### 1-Rhizosphère

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



**Figure 1: La zone rhizosphérique (Bazot, 2005).**

### 2-Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les PGPR ou «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactérie qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effet on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey et al., 2004; Herman et al., 2008; Microrsky, 2008). Ces bactéries sont utilisées en agriculture pour la biofertilisation des sols en fixant l'azote atmosphérique qui pourra être par la suite utilisé par les plantes, améliorant leur croissance lorsque l'azote du sol est limitant (Glick, 1995).

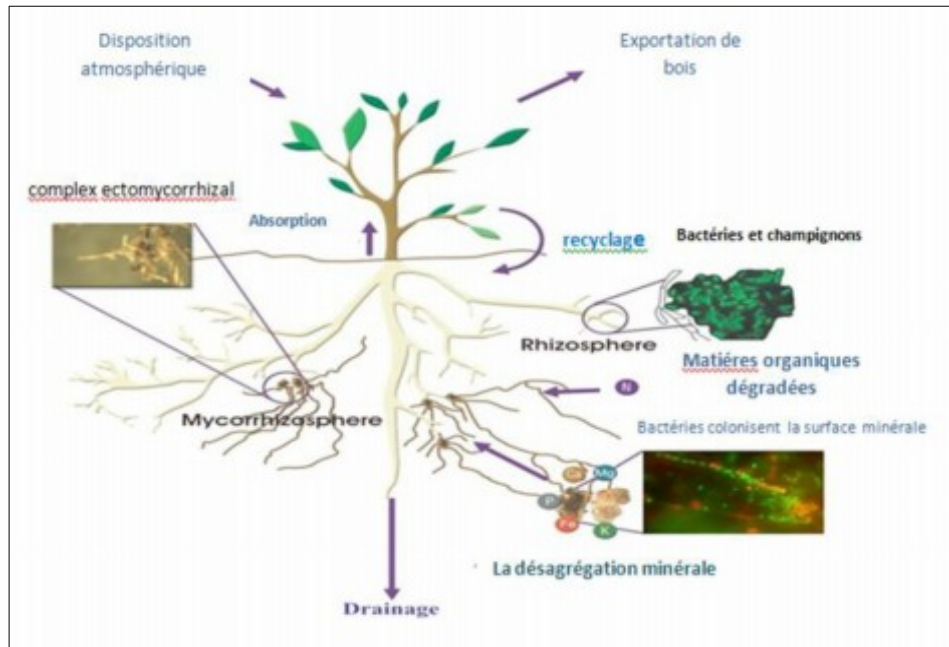


Figure 2: l'activité microbiologique de la rhizosphère (Vittorio et al., 2016).

### 3-Différents genres des PGPR

#### 3-1- *Azospirillum*

*Azospirillum* est une bactérie mobile, à Gram négatif, appartenant à l'ordre des *Rhodospirillales*, associée avec les racines des monocotylédones, notamment des cultures importantes comme le blé, le maïs et le riz. Plusieurs souches d'*Azospirillum* ont montré des effets bénéfiques sur la croissance des plantes et sur le rendement des cultures, en serre ou dans des essais au champ, sous divers sols et diverses conditions climatiques. Elles peuvent établir une symbiose associative avec les céréales (Bashan et al., 2004). L'association entre *Azospirillum* et la plante produit des changements morphologiques et physiologiques dans les racines. La bactérie produit des hormones de croissance, l'acide indole-3 acétique (AIA), qui favorise l'augmentation de la surface des racines, entraînant une augmentation de l'absorption de l'eau et des minéraux. De plus cette association permet la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (jusqu'à 50 kg de N/ha/ans) ce qui favorise la croissance et le rendement des cultures (Bashan et al., 2004). Les *Azospirillum* se fixent à la surface des racines, dans la zone d'élongation, ou au niveau des poils absorbants. Cette fixation implique une synthèse des polysaccharides de la capsule par des lectines

(glycoprotéines) de la plante et s'accomplir en deux étapes. Il y a d'abord attachement réversible à la surface de l'hôte par les flagelles, puis ancrage définitif par les exopolysaccharides. Les *Azospirillum* demeurent dans la couche mucilagineuse qui recouvre la surface des racines, ou s'enfoncent dans les assises corticales. Ils possèdent des enzymes pectonolytiques qui leur permettent de pénétrer dans les lamelles moyennes des cellules et de descendre, parfois jusqu'à l'endoderme. Des substances de croissance directement produites par les bactéries, modifient l'aspect du système racinaire (**Bashan et al., 2004**).

### **3-2-*Pseudomonas***

Les *Pseudomonas* appartiennent au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gamma proteobacteria*, ordre des *Pseudomonales*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, droits et fins, aux extrémités arrondies, d'une taille moyenne de 2 sur 0,5  $\mu\text{m}$  (**Palleroni, 1984**). Ces bactéries sont mobiles, elles sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme sources de carbone et d'énergie. Les *Pseudomonas* ont une capacité élevée à coloniser la rhizosphère ainsi que les racines des plantes, elles sont capables de former des associations intimes avec leurs hôtes (**Höfte et de Vos, 2006**), ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (**Reyes et al., 2004**).

### **3-3-*Bacillus***

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à Gram positif, appartenant à la famille des *Bacillaceae*, l'ordre des *Bacillales*, la classe des *Bacilli*. Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. C'est le genre le plus abondant dans la rhizosphère, l'activité PGPR de certaines de ces souches a été connue depuis plusieurs années (**Probanza et al., 2002**). Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique (**Nagórska et al., 2007**) et capables de solubiliser le phosphate, produire de l'AIA, séderophore et antifongique (**Charest et al., 2005**).

### **3-4-*Rhizobium***

Les *Rhizobiums*, ou *Rhizobia*, sont des bactéries aérobies du sol appartenant à la famille des *Rhizobiaceae* (**Sahgal et Johri, 2006**). Ces bactéries sont capables d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des plantes de la famille des légumineuses. Cette symbiose se traduit par la formation sur les racines de la plante hôte des nodules (nodosités). Les nodosités sont le lieu d'une activité symbiotique : la plante fournit les substances carbonées aux bactéries, et les bactéries fournissent à la plante les substances azotées synthétisées à partir de l'azote atmosphérique (**Downie, 2005**). Le processus de la fixation symbiotique d'azote aide la plante à survivre et à rivaliser efficacement sur

les sols pauvres en azote. (Akhtar et Siddiqui, 2009) ont montré que l'inoculation par *Rhizobium sp.* Entraîne une augmentation dans la croissance, le rendement et le nombre de nodules formé au niveau des racines par rapport aux plantes sans inoculation. En plus de leur activité bénéfique de fixation d'azote avec les légumineuses, les *Rhizobia* peuvent améliorer la nutrition des plantes par la mobilisation du phosphate organique et inorganiques.

### **3-5-Frankia**

L'actinomycète *Frankia* est une bactérie Gram-positive filamenteuse, et non un champignon comme le pensaient les microscopistes du XIXème siècle. Il s'agit plus précisément d'un actinomycète en raison de ses caractéristiques morphologiques et biochimique (Duhoux et Nicole, 2004). Contrairement aux bactéries fixatrices d'azote comme les *Rhizobia*, *Frankia* peut fixer l'azote atmosphérique à l'état libre (Pawlowski et Sprent, 2008). Elle a été détectée dans des sols dépourvus de plantes *actinorhizienne* (Wall, 2000).

## **4-Modes d'actions des PGPR**

### **4-1-Modes d'actions directes :**

Certaines PGPR stimulent la croissance des plantes en l'absence de pathogènes. Ces effets directs regroupent les accroissements de la masse aérienne et racinaire, les élongations racinaires, et les levées accélérées des plantules. Ces augmentations s'expliquent généralement par de meilleurs prélèvement et assimilation des éléments nutritifs par la plante, la production de phytohormones et le développement de résistance induite chez les plantes (Beauchamp, 1993).

Une meilleure nutrition azotée est assurée par la symbiose *Rhizobium*-légumineuses, et par les associations *Azospirillum*-céréales, et *Bacillus*-céréales (Gaskins et al., 1985). Diverses bactéries ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase, ou le phosphore inorganique par la libération d'acides organiques (Kloepper et al., 1989). Les semences de canola (*Brassica campestris L.*) inoculées avec la PGPR, GR12-2, ont un contenu en phosphore supérieur aux témoins non-inoculés (Lifshitz et al., 1987).

Plusieurs micro-organismes ont aussi la capacité de produire des auxines, des gibbérélines et des substances de type kinétines in vitro (Brown, 1974; Frankenberger et Arshad, 1991). Selon ces auteurs, les régulateurs de croissance qui sont produits dans la rhizosphère peuvent être prélevés directement par les racines et stimuler la croissance de la plante. Les quantités produites varient avec le micro-organisme impliqué et la présence des précurseurs métaboliques des régulateurs de croissance. La L-tryptophane est le précurseur des auxines chez les micro-organismes, dont des *Azotobacter*, des *Azospirillum*, des *Rhizobium*, des *Pseudomonas* et des *Bacillus spp.* En présence

d'adénine et d'alcool isopentyle, certains de ces micro-organismes produisent des kinétines. Finalement, plusieurs bactéries du sol, dont des *Pseudomonas spp*, vont produire de l'éthylène en présence de la L-méthionine ou la L-éthionine (**Beauchamp, 1993**).

La résistance induite envers les pathogènes des plantes a été démontrée chez plus de 25 espèces végétales, et s'exprime par la diminution du nombre et de la dimension de lésions d'attaque par ces pathogènes (**Kùc, 1987**). Certaines RFCP ont la capacité d'induire la résistance des plantes envers certains pathogènes (**van Peer et al., 1991; Wei et al., 1991**).

#### **4-2-Modes d'actions indirecte**

Certaines PGPR produisent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes en présence d'un pathogène ou d'un *rhizobia*. Ces modes d'action indirects sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et à la détoxification du milieu; chez les légumineuses, les PGPR mènent à l'accroissement du nombre de nodosités produites par les *rhizobia* (**Grimes et Mount, 1987; Polonenko et al., 1987**). Par ailleurs, la levée plus hâtive des plantules et la croissance plus rapide des racines liées aux PGPR permettent aux plantes d'échapper plus rapidement aux pathogènes (**Beauchamp, 1993**).

Les PGPR produisent des métabolites secondaires qui sont toxiques aux pathogènes du sol, dont les antibiotiques (**Howell et Stipanovic, 1979, 1980; Howie et Suslow, 1991; Thomashow et Weller, 1990**), le cyanide (**Schippers et al., 1991**), les sidérophores (**Démange et al., 1987; Leong, 1986; Loper et Buyer, 1991**), et diverses substances qui ont une gamme d'activités inhibitrices de la croissance des pathogènes (**Howell et al., 1988; Inbar et Chet, 1991; Keel étal, 1992; Sneh, 1981**). L'activité de ces métabolites secondaires a été démontrée à l'aide de bactéries mutantes négatives pour la production d'un principe actif (**Flaishman et al., 1990**).

D'autres PGPR agissent comme hyperparasites des champignons pathogènes et produisent des exo-enzymes dégradant la chitine, la cellulose ou les R-glucanes lysant leur paroi. L'activité chitinolytique de certaines RFCP explique leur activité inhibitrice de certains champignons pathogènes (**Inbar et Chet, 1991**).

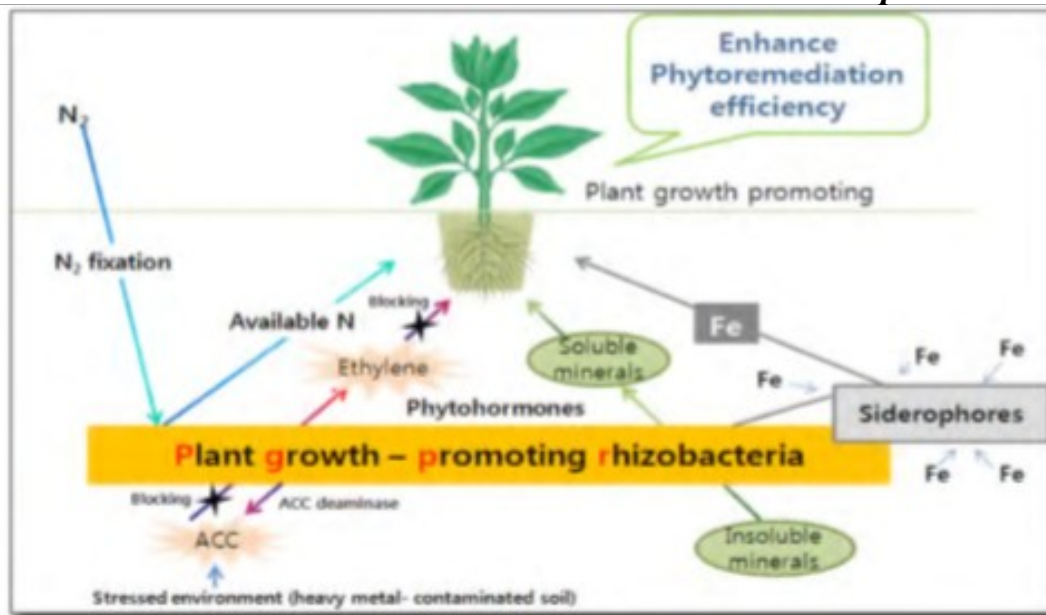


Figure 3 : Les différents Rôle des PGPR (Macking, 2007)

## II-Techniques d'étude de la diversité bactérienne

Certaines bactéries sont reconnues pour une caractéristique PGPR particulière. Par exemple, les *Rhizobium* sont reconnus pour leur capacité à fixer l'azote. Les *Bacillus* et *Pseudomonas* fluorescents sont reconnus pour leur capacité de produire des métabolites secondaires, certaines espèces de *Bacillus* dont *Bacillus megaterium* sont reconnues pour leur capacité de solubiliser le phosphate. Les *Azospirillum* sont reconnus pour leur capacité à fixer l'azote et produire des phytohormones (Hartmann, 2006). Une étude a démontré que l'utilisation de PGPR combinée à une quantité moindre de fertilisant chimique était aussi efficace que l'utilisation seule de fertilisant (Adesemoye, 2009). Un biofertilisant à base de quatre différentes bactéries a été démontré comme efficace pour augmenter la croissance du maïs et de légumes (Leaungvutiviroj, 2010). Une autre étude a démontré que l'inoculation de PGPR permettait la protection de plants de concombre contre trois phytopathogènes et que le mélange de PGPR comme inoculant permettait d'obtenir une plus grande constance dans la réduction de maladies causées par un mélange de phytopathogènes (Raupach, 1998).

### 1-Les approches phénotypiques

Les approches phénotypiques sont toujours admises comme étape primordiale pour la séparation et l'identification des souches nouvellement isolées. Elles constituent la base pour la description formelle des taxons depuis les espèces et les sous-espèces jusqu'aux genres et familles

(Vandamme et al., 1996). Chez les diazotrophes associatives, l'exploitation de leurs caractères morphologiques, physiologiques, biochimiques voire écologiques était à la base de l'identification des espèces du genre *Burkholderia* (Baldani et Baldani, 2005).

## 2- Les approches moléculaires

Diverses méthodes génétiques sont, actuellement, utilisées pour identifier et classer les bactéries endophytes symbiotiques et associatives. Chacune permet une classification phylogénétique à un niveau précis allant du genre, espèce, sous-espèce jusqu'à la souche spécifique. Cependant, chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients qui se manifestent au niveau de la résolution. Ainsi, une panoplie d'analyse moléculaire des acides nucléiques (ADN et ARN) permet d'évaluer les similarités et les dissemblances entre les bactéries isolées, à des degrés phylogénétiques différents (Vandamme et al., 1996).

## 3- Les approches biochimique

*Rhizobium* possède un système respiratoire, où l'oxygène est l'accepteur terminal des électrons dans les conditions d'aérobiose; alors que dans les conditions d'anaérobiose, les espèces *rhizobium* peuvent utiliser les nitrates et les nitrites comme accepteurs d'électrons (Werner, 1992 et Benguedouar, 2000).

Une croissance optimale de la plupart des souches de *Rhizobium* a lieu à des températures variant de 25 à 30°C et un pH 6,0 à pH 7,0 (Somasegaran et Hoben, 1994). Les températures extrêmes sont de 4°C et 42,5°C. Les souches de *Rhizobium* peuvent se développer à un pH compris entre 4,5 et 9,5 (Jordan, 1984).

## III-Effet des PGPR sur la croissance végétale

### 1-Germination

Les PGPR sont en mesure d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes telles que l'augmentation du taux de germination des graines. De nombreux travaux ont prouvé que l'utilisation des PGPR telles que *Azospirillum spp* (Rodriguez et al., 2001), *Hafnia alvei* P3 (Vargas et al., 2001), *Pseudomonas* PMZ2 ou avec *B. japonicum* (Zaidi, 2003), *Azotobacter chroococcum* C2 (Basavaraju et al., 2002) et *Azotobacter sp.* 17 et 20 (Reyes et al., 2008) ont donné une meilleure germination des graines de tomates, de poivre, de laitue, du radis, du maïs et des plants de soja. Bien que les études mentionnées sur l'effet des souches bactériennes sur la germination des différentes espèces végétales aient été menées dans des conditions optimales, (Kaymak et al., 2009) ont suggéré que *Agrobacterium rubi* A16, *Burkholderia gladii* BA7, P.



*putida* BA8, *B. subtilis* BA142, *B. megaterium* M3 appliquées sous stress salin pourrait procurer un pourcentage de germination plus élevé. De plus, les PGPR peuvent être employées contre des agents pathogènes. Ainsi, différents souches telles que *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* et *Brevibacillus brevis* ont servi à traiter des semences afin de supprimer les maladies causées par des champignons phytopathogènes. Ces souches augmentant la germination et la vigueur des plantules à des taux très élevés ont réduit l'incidence de la mycoflore des semences (**Begum et al., 2003**). Selon Araujo, (**2008**), l'inoculation des semences avec *B. subtilis* est une technologie prometteuse pour le traitement des semences.

## **2-Enracinement**

Plusieurs facteurs physiologiques et environnementaux influencent la formation des racines, les traitements exogènes des boutures étant particulièrement importants (**Couvillon, 1998**). Les producteurs ont tenté de stimuler l'enracinement en appliquant diverses substances chimiques comme régulateurs de croissance. Cependant, l'utilisation de produits chimiques peut causer des problèmes environnementaux et augmenter les coûts de la production. Les problèmes écologiques ont suscité l'intérêt des pratiques agricoles durables respectant l'environnement (**Salantur et al., 2005**). Par conséquent, l'utilisation de PGPR peut palier à ces problèmes liés à l'environnement (**Kaymak et al., 2008**). Elles appartiennent à plusieurs genres (*Agrobacterium*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* et *Alcaligenes*) et induisent la formation de racines et la croissance des boutures (**Bassil et al., 1991; Hatta et al., 1996; Rinallo et al., 1999**). Dans d'autres travaux, l'utilisation des PGPR comme *A. rubi*, *B. subtilis*, *B. gladii*, *P. putida*, *B. megaterium*, *B. simplex*, *P. polymyxa*, et *Comamonas acidovorans* ont montré leur efficacité à obtenir des pourcentages élevés d'enracinement des kiwis 40 (**Ercisli et al., 2003**), de la vigne (**Kose et al., 2003**), des roses (**Ercisli et al., 2004**), de la pistache (**Orhan et al., 2006**), du thé (**Erturk et al., 2008**) et de la menthe (**Kaymak et al., 2008**).

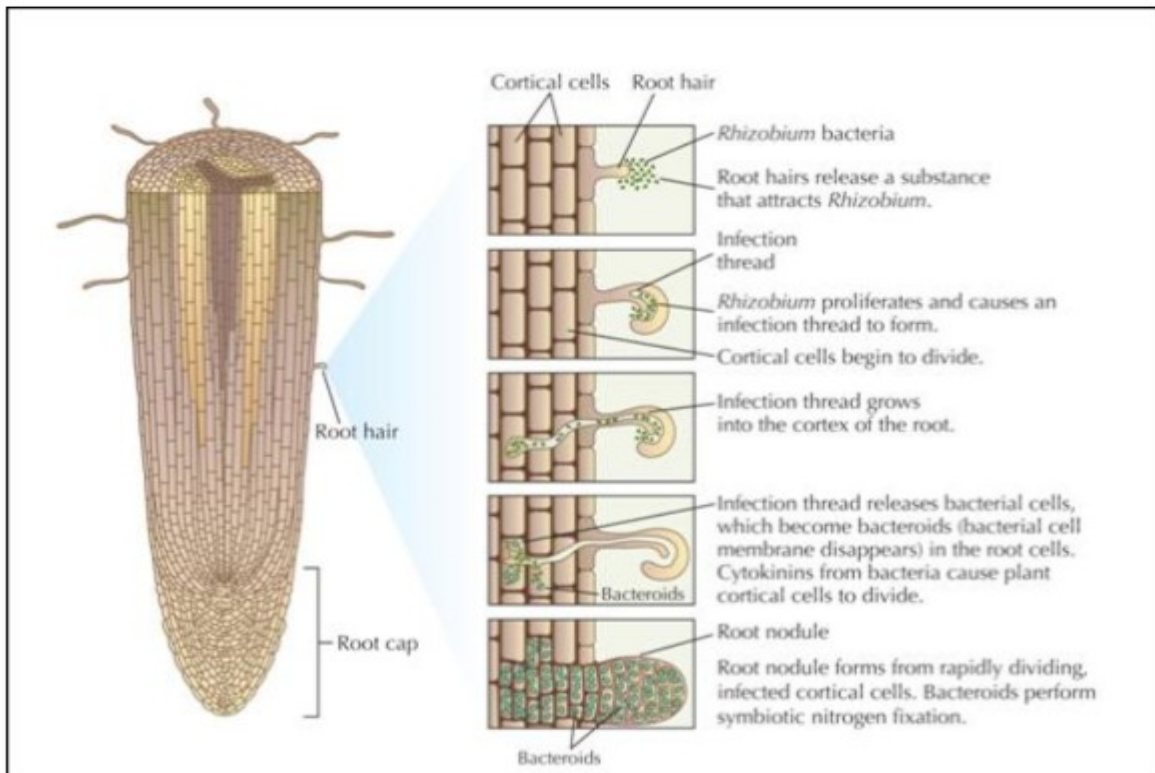
## **3-Absorption des nutriments**

Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles (**Yang et al., 2009**). Le phosphore et l'azote sont les nutriments majeur-clé limitant la croissance des plantes (**Kumar et Narula, 1999; Sundara et al., 2002; Podile et Kishore, 2006**). En outre, certaines PGPR améliorent l'absorption de ces éléments nutritifs en favorisant le

développement des racines (Mantelin et Touraine, 2004) par la production de phytohormones (Kloepper et al., 2007).

#### **4-Rendement**

L'augmentation et la qualité de la productivité agricole sont indispensables. Les applications des PGPR sont les pratiques les plus fiables offrant de meilleurs rendements des cultures agricoles. Les souches *Pseudomonas* BA-8 et *Bacillus* OSU-142 appliquées sur les feuilles et les fleurs des pommiers ont considérablement amélioré le rendement de la superficie de la section transversale du tronc (de 13,3 à 118,5%), le poids des fruits (4.2 à 7.5%), la longueur des tiges (de 20,8 à 30,1 %), et le diamètre des tiges (9,0 à 19,8%) par rapport au témoin (Pirlak et al., 2007). Ainsi, les combinaisons *Bacillus* M3 et/ou OSU142 et/ou *Microbacterium* FS01 ont le potentiel d'accroître le rendement et la croissance des pommiers. En outre, *Pseudomonas* BA-8, *Bacillus* OSU-142 et M3 ont également donné un effet bénéfique sur la longueur, le rendement des cultures et la qualité des fruits d'abricot, de cerise et de framboise (Esitken et al., 2005 ; Orhan et al., 2006). Le poids moyen des fruits de tomate par plante traitée avec *Rhodopseudomonas sp* KL9 (82,7 g) est supérieur par rapport au témoin non inoculé. La teneur en lycopène dans la tomate mûre a augmenté de 48,3% avec l'application de *Rhodopseudomonas sp*. KL9 (Lee et al., 2008). D'autres études ont montré que *Burkholderia gladii* BA-7, *Pseudomonas* BA-8, et *Bacillus* OSU-142 ont un grand potentiel pour accroître les paramètres de croissance des plantes de *Eruca sativa* (Dursun et al., 2008). Les espèces efficaces de *Bacillus*, comme OSU-142, RC07 et M-13, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *P. putida* RC06 et RC04 et *Rhodobacter capsulatus* peuvent être utilisées dans l'agriculture biologique et durable. Plusieurs études ont clairement démontré le potentiel de ces bactéries dans la croissance et le rendement des plantes (De Freitas, 2000; Herman et al., 2008).



**Figure 4 : Développement des nodules sur les racines dans un cas de symbiose entre *Rhizobium* et une plante légumineuse (laboratoire press, 2007).**

## **1-Présentation des légumineuses**

Les légumineuses ou *Fabaceae* forment, sans aucun doute, l'une des familles les plus remarquables du règne végétal. 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 20 mille espèces (Gepts et al., 2005, Cronk et al., 2006). Elles sont extrêmement diversifiées, cependant elles présentent un point commun, leur fruit est une gousse (Caratini, 1984).

En se basant sur la forme florale, cette famille est divisée en trois sous-familles, deux sont monophylétiques (*Papilionoideae*, *Mimosoideae*) et la troisième paraphylétique (*Caesalpinioideae*) (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). Cependant il y a encore 40% des légumineuses qui n'ont jamais été examinées pour la nodulation (Sprent, 1999).

La sous famille des *Papilionoideae* regroupe les espèces cultivées les plus importantes économiquement: le soja (*Glycine max*), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le pois (*Pisum sativum*), la luzerne (*Medicago sativa*), l'arachide (*Arachis hypogaea*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), et la fève (*Vicia faba*).

Cette appellation est due à la forme de la corolle qui se présente sous forme de «papillon» (Guignard et Dupont, 2005). La sous-famille monophylétique des *Papilionoideae* renferme plus des deux tiers des espèces et inclut presque toutes les légumineuses économiquement importantes (Sprent, 1995). Elle est cosmopolite et compte 11300 espèces réparties en 440 genres regroupés en 31 tribus (Labat et al., 1996). Dans cette sous-famille, 97% des espèces examinées peuvent être nodulées (Sprent, 1995). La majorité des espèces sont herbacées ; leur fleur est irrégulière composée de 5 pétales : un étendard, deux ailes et deux pétales partiellement fusionnés en une carène (Judd et al., 2001).

## **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).

En effet cette capacité de fixer l'azote rendent inutile l'utilisation d'engrais azotés dont la synthèse, le transport et l'épandage consomment des combustibles fossiles (2 tonnes de fuel pour une tonne d'ammoniaque) et contribuent à l'effet de serre (Dénarié, 2000).

## *Synthèse bibliographique*

### *Chapitre 2: Les légumineuses*

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 (Duranti and Gius, 1997). Elles sont riches aussi de fibre et d'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 and Howard, 2001**).

**Tableau 1: composition de certaines graines légumineuses (%) de la matière sèche, sauf pour acides aminés exprimés en g/16g N (feillet, 2000).**

	Amidon	Fibre	Lipides	Protéine	Lysine	Méthionine
Pois	50	15	2	22-25	7.1	2.4
Fève	43	18	2	28-32	6.5	2.1
Soja	1	22	10	35-39	4.3	2
Lupin blanc	2	20	20	36-40	6.2	2.8

Les légumineuses présentent toute une particularité dans leur système racinaire, une symbiose avec une bactérie du sol les *rhizobia*, qui leur permet de bénéficier de l'azote de l'aire pour leur croissance. Cela constitue en outre un apport azoté non négligeable pour la culture (**Hamadache et al., 1997; Solomon et Fassil Assef, 2014**).

En Algérie, elles sont cultivées sur les zones littorales jusqu'aux hauts-plateaux, on trouve de nombreuses espèces potagères comme le pois chiche, le haricot, la fève, le pois et la lentille (**Lazali, 2014**)

### **3-Origine et historique de la fève (*Vicia Faba L*)**

La majorité des auteurs considère l'origine de la fève à l'Est et l'Ouest de l'Asie. Selon (**Bond, 1986**) la fève fut cultivée dans l'Asie de l'Ouest il y a environ 6000 ans. Pour (**Abdallah, 1979**) l'origine de la fève fut l'Égypte, selon (**lawes et al., 1983**) l'Éthiopie et Afghanistan ; (**watt, 1972**) considère que la fève fut cultivée pendant longtemps en Inde (**Chafi, 2011**).

### **4-Description de la plante (*Vicia Faba L*)**

*Vicia faba L* est une plante herbacée annuelle, à tige simple, dressée, non ramifiée, creuse et de section quadrangulaire, se dressant à plus d'un mètre de haut du sol (**Peron, 2006**). Les feuilles alternes de couleur vert glauque ou grisâtre composées de deux ou trois paires de folioles opposées de forme ovale, son système racinaire est développé et descend profondément dans le sol (**Chaux et Foury, 1994**). La fève possède des fleurs qui sont généralement blanches avec des ailes noires, par deux à cinq petites grappes pédonculées (**Guinoolhet et De Vilmorin, 1984**). Les fruits sont de longues gousses vertes, épaisses, contenant de grosses graines ovales (**Couplen et Marm, 2009**).



**Figure 5 : description de la fève (*Vicia faba L.*)**

### **5-Position systématique**

D'après ( **Wojciechowski et al., 2004**),cette classification a été décrite comme suit :

Règne : *Plantae*

Sous-Règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-Classe : *Rosidae*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Fabaceae*

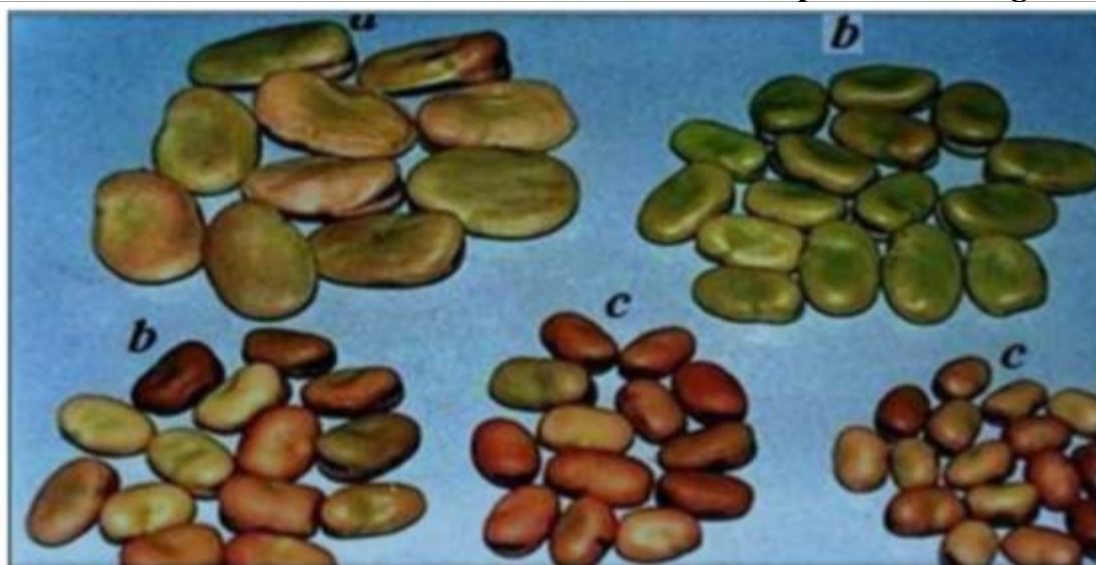
Genre : *Vicia*

### **6-Les variétés de fève (*Vicia Faba L.*)**

Le nombre de variétés inscrites au catalogue officiel est limité pour la fève. (**Bannasseur, 2005**).

**Tableau 2. Les variétés de fève inscrites au catalogue officiel. (Bannasseur, 2005).**

Fève	Caractéristique
Agrex	Très précoce
Aguadulce supersimonia	Extra hâtive à grains violets à très longue cosse
Karabiga	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.
Lobab	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.
Defes	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.



**Figure 6: forme des graines de *vicia faba* (Bentama et Boursas, 2016).**

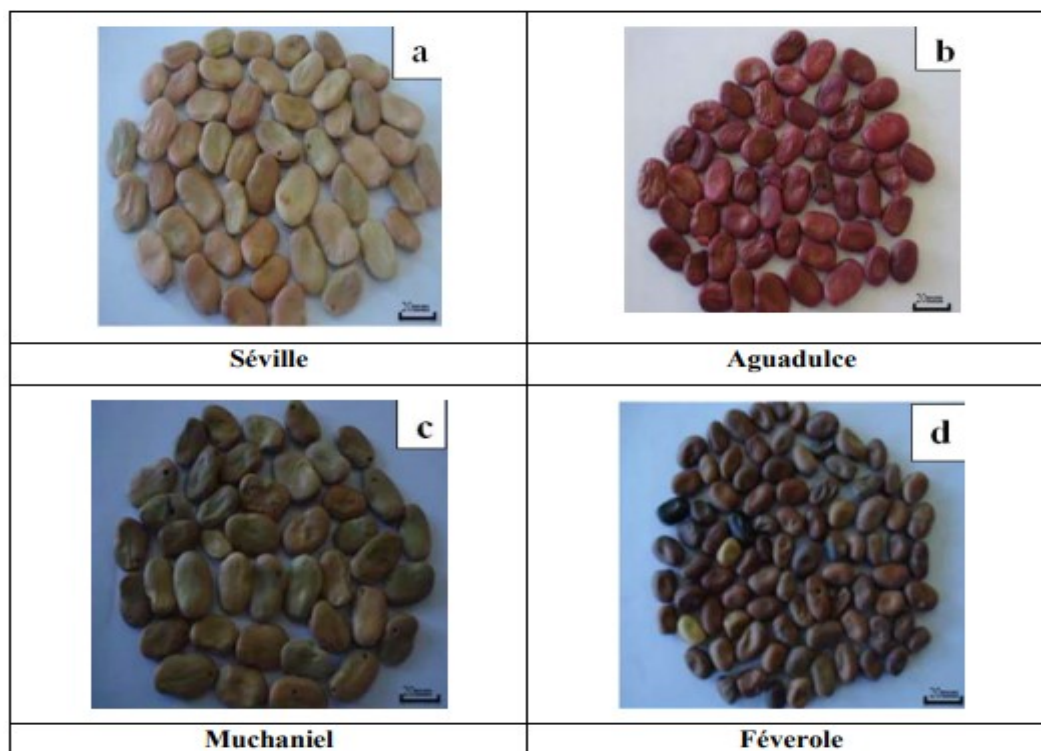
#### **7- Principales variétés connues en Algérie**

Essentiellement, Il existe quatre variétés de fèves et de féverole en Algérie, qui sont :

- **Séville** : variété précoce à gousses longues, renferment 5 à 6 grains volumineux (Figure 8 a). Sa tige est d'une hauteur de 70 cm, se distinguant des autres variétés par la couleur de son feuillage, d'un vert assez franc (Chaux et Foury, 1994). Ses gousses présentent une largeur d'environ 3 cm et une longueur de 25 cm (Laumonier, 1979).
- **Aguadulce** : variété demi précoce, très répandue en culture, se caractérise par une végétation haute de 1,10 à 1,20 m et possède des gousses de couleur vert franc, volumineuse et très longue, pouvant atteindre 20 à 25 cm renfermant 7 à 9 graines (Figure 8 b). Cette variété très productive (Chaux et Foury, 1994), elle est introduite avec la Séville d'Espagne (Zaghouane, 1991).
- **Muchaniel** : variété très précoce, elle a des gousses de couleur vert clair, de 20 cm de longueur en moyenne, renfermant 5 à 6 grains blancs (Figure 8 c), elle est très productive (Chaux et Foury, 1994).
- **Sidi Moussa** : variété sélectionnée à EL-Harrach en 1965, elle est convenable à tous les sols, résiste aux maladies cryptogamiques (*Botrytis*), aux insectes (*Aphis fabae*), aux plantes parasites (*Orobanche sp*) et aux nématodes (Zaghouane, 1991).
- **Féverole** : possède un système racinaire très repoussant et structurant, et de surcroît l'une des plus performantes, en matière de fixation de l'azote (Thomas, 2008). Les graines de féverole sont de forme ovale, plus ou moins régulière et parfois rétrécie en leur milieu suivant les variétés, de couleur allant du brun au rouge foncé (Figure 8 d). Selon (Lebreton

et al., 2009), la féverole n'est pas sensible à l'Aphanomyces du pois, de plus les limaces sont très peu friandes de féverole, voir les repoussent et préfèrent les autres plantes, ce qui en fait une plante assez facile à installer et réussir (Thomas, 2008).

En Algérie, la seule variété de féverole cultivée est «Sidi Aich» (Zaghouane, 1991).



**Figure 7: Variétés de la fève (*Vicia faba major L.*) et la féverole (*Vicia faba minor*) présentes en Algérie (Mezani, 2011)**

## **8-Intérêt de la fève (*Vicia faba L.*)**

### **8-1-Intérêt alimentaire**

La fève constitue avec les autres légumineuses, la seconde source protéique pour l'alimentation humaine et animale après les céréales. Elle offre de grandes possibilités pour l'alimentation des animaux d'élevage (ruminants et volailles) grâce à son excellente valeur nutritive, à son appétibilité universelle et à sa préparation facile (Daines, 2018).

Elle renferme un taux élevé en protéine, tout en restant un aliment énergétique (55% de glucides; 340 cal/100g) et peut efficacement remplacer les protéines animales dans les pays pauvres (Fachmann et Kraut, 1995).

Cette légumineuse est également une excellente source de fibres solubles et insolubles, de vitamines de groupe B en particulier (B3, B5, B9 ou acide folique) et de vitamine C, de minéraux tel que: le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc (Mezani,



2011). Elles sont aussi une bonne source de glucides (50-60% d'amidon) et considérée parmi les cultures les plus riches en matières nutritives (**Mouafek, 2010**).

### **8-2-Intérêt agronomique**

Comme toutes les légumineuses, l'espèce *Vicia faba L.* assure sa nutrition azotée par deux voix: l'assimilation de l'azote minéral du sol et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Cette aptitude à fixer l'azote atmosphérique limite l'utilisation des engrais azotés qui sont coûteux pour l'agriculteur et néfastes pour la santé humaine et l'environnement (**Nouri, 2012**).

Cette culture permet aussi de renforcer la structure du sol grâce à son système racinaire puissant et dense, et enfin les résidus de récolte enrichissent le sol en matière organique (**Mezani, 2011**).

### **8-3-Intérêt économique et écologique**

Parmi les légumineuses, la fève (*Vicia faba L.*) est aujourd'hui parmi les plantes légumières les plus cultivées dans le monde. Sa superficie mondiale est estimée à 3 millions d'hectares dont plus de 50% se situent en Chine, 20% en Afrique du Nord et moins de 10% en Europe (**Nouri, 2012**).

La fève reste la plus importante et occupe toujours la première place parmi les légumes sec (**Benachour et al., 2007**). Elle préfère les sols profonds, silice argileux riches en matière nutritives et en humus. Cette plante est capable de s'adapter à des sols très pauvres et très dégradés, donc elle à un rôle améliorateur des sols, en plus d'un intérêt alimentaire (**Beraud, 2007**).

La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétatif utilisé en écotoxicologie dans un grand nombre d'étude (**Nouri, 2012**). La fève est aussi employée pour étudier les réponses des marqueurs au stress oxydant et d'autres mécanismes de défenses antitoxiques de la plante comme les phytochélatines (**Beraud, 2007**).

**Matériel**  
**Et**  
**méthodes**

### **1- Lieu et durée du travail pratique**

Ce travail a duré pendant la période allant de janvier à mars, a été réalisé au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), Université Frères Mentouri (Constantine 1).

### **2- Objectif du travail**

Ce travail a pour objectif de caractériser biochimiquement une série des bactéries préalablement isolées et de tester les capacités de six d'entre elles pour leur effet sur la croissance de la fève.

### **3- Matériel biologique**

Cette expérimentation consiste à travailler sur les isolats bactériens isolés de la fève (*Vicia faba* L.).

### **4- Caractérisation biochimique des bactéries**

La caractérisation est basée sur l'identification des quelques caractères biochimiques des souches. Ces souches bactériennes sont isolées de la rhizosphère de la fève (*Vicia faba* L.) de la région d'Ibn badis Constantine durant la saison 2018-2019 conservées au laboratoire GBBV à -80 °C et fournis par Mme MAOUGAL. RT. MCB. INATAA

### **4-Préparation des isolats**

#### **4-1-Préparation du milieu de culture LB**

Voir annexes, le milieu est ensuite laissé à refroidir après stérilisation dans l'autoclave. Il peut ensuite être distribué en boîtes de pétri.

#### **4-2-Repiquage des souches**

Un ensemble de 40 isolats choisis selon leur caractéristiques PGPR (**Ladjabi, 2019**) été remis en culture à partir des tubes eppendorff conservés au glycérol à -80°C dans des conditions de travail en asepsie totale, qui consiste à étaler sur la surface de la boîte des stries qui sont faites à l'aide d'une anse de platine stérile, chaque souche est ensemencée sur une boîte de Pétri contenant le milieu LB. Ceci permet d'obtenir des colonies jeunes et séparées. Après l'ensemencement, les boîtes sont fermées et incubées dans une étuve à 28°C pendant 48h.

### **5-Recherche des caractères biochimiques**

#### **5-1-Méthodes**

Après l'isolement des bactéries, on a réalisé la mini galerie biochimique classique pour mettre en évidence les caractères biochimiques de ces bactéries. Pour chaque souche, préparer d'abord la suspension en mettant une colonie prélevée de la boîte de Pétri après repiquage dans LB liquide.

Les milieux de culture suivants ont été utilisés:

#### **A-Milieu mannitol mobilité**

##### **But**

## *Matériel et méthodes*

Le milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites.

### **Technique**

Ensemencer avec un fil de platine ou d'une pipette Pasteur, par piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose.

### **B-Milieu de Citrate de Simmons**

#### **But**

Ce milieu permet l'étude de l'utilisation, par la bactérie, du citrate (acide organique) comme seule source de carbone.

#### **Technique**

A l'aide d'une anse de platine stérile, on prend une goutte de la suspension bactérienne et on la dépose sur le milieu citrate de Simmons incliné en faisant des stries et en montant d'en bas jusque en haut

### **C-Le milieu Urée-Indole**

#### **But**

- recherche de l'uréase

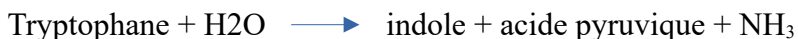
L'uréase dégrade l'urée selon la réaction suivante :



Les ions  $\text{CO}_3^{2-}$  vont entraîner une forte alcalinisation du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge violacé).

- recherche de la production d'indole (mise en évidence de la tryptophanase)

La tryptophanase hydrolyse le tryptophane selon la réaction suivante :



L'indole forme un complexe coloré en rouge en présence d'un réactif : le réactif de Kovacs.

#### **Technique**

- Ensemencer avec quelques gouttes de suspension bactérienne ou avec une colonie prélevée à l'anse sur un milieu solide.
- Incubation 24 heures à 37°C.

### **D-Le milieu Clarck et Lubs**

#### **But**

Ce milieu permet d'étudier une voie de fermentation du glucose

#### **Technique**

## *Matériel et méthodes*

Ajouter quelques gouttes de la suspension dans le tube contenant le milieu Clark et Lubs, incubation à 37°C dans l'étuve pendant 48 heures. Après 48 heures, verser le contenu dans deux tubes d'hémolyse.

**Tube 1** : ajouter quelques gouttes de rouge de méthyle.

**Tube 2** : ajouter quelques gouttes de VP1 (réaction de Voges-Proskauerest : une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane-2.3-diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries). Attendre quelques secondes et rajouter deux ou trois gouttes de VP2 (réaction de Voges-Proskauerest : une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane-2.3-diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries) Mettre les deux tubes dans une position inclinée pour bien observer le virage de couleur.

### **E-Le milieu Bouillon Nitrate**

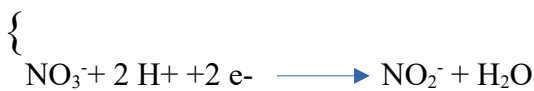
#### **But**

Ce milieu liquide permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique : la nitrate réductase.

Dans la respiration nitrate,  $\text{NO}_3^-$  est utilisé comme accepteur final d'électrons provenant de l'oxydation d'un composé organique (ex : glucose).  $\text{NO}_3^-$  est réduit par la nitrate réductase :

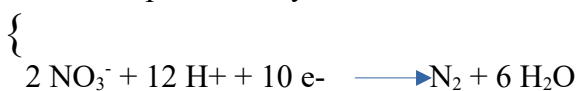
- soit en nitrite  $\text{NO}_2^-$

Glucose produits oxydés + n e-



- soit en diazote  $\text{N}_2$

Glucose produits oxydés + n e-



#### **Technique**

1. Ensemencer le bouillon nitraté avec quelques gouttes de suspension bactérienne.
2. Incuber 24h à 37 °C.

### **F-Le milieu Triple Sugar Iron (TSI)**

#### **But**

La mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

#### **Technique**

- Pour inoculer, ne toucher délicatement que le centre d'une colonie isolée sur un milieu entérique plaqué avec une aiguille froide et stérile.

- Pénétrer dans le milieu au fond du tube.
- Puis faire des va-et-vient le long de la surface de l'inclinaison.
- incubé à l'étuve à 37°C durant 24 heures.

### **6-Essais d'inoculation en culture hydro-aéroponique**

Six des 40 bactéries testées et ayant obtenus de bon paramètres PGPR (Laajabi, 2019) ont été testé par inoculation sur la fève. Il s'agit des souches 23, 24, 29, 46, 82, 100 et cela en présence du rhizobium OL13 qui sera le témoin.

La variété Aquadulce de la fève (*Vicia faba L*) a été stérilisée en surface avec de l'hypochlorite de Na à 3% et rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile.

La germination a été faite en boîte de pétri sur du papier et les graines uniformes ont été sélectionnées et inoculées 30 minutes avec 100 ml de milieu contenant  $10^8$  de cellule par ml.

Les racines inoculées sont passées délicatement dans une pièce en polystyrène trouée et fixées avec du coton et placées dans un bac contenant 40 litres de façon à avoir 9 plantes par bac. Les bacs sont placées dans une serre semi-contrôlée.

Chaque bac de 40 litres d'eau a été supplémenté d'une solution nutritive (voir annexes) et renouvelée chaque 15 (jours et à partir de la 5<sup>ème</sup> semaine de croissance chaque semaine, la solution a été aérée avec de l'air compressé et le pH maintenu autour de 7 par addition de 1 g de  $\text{CaCO}_3 \text{ l}^{-1}$

La solution contenait 2 mM urée comme starter N durant les 15 premiers jours de transplantation.

### **7- Evaluation statistique**

Une analyse de la variance (ANOVA) des résultats obtenus, en utilisant le logiciel Excel Stat 2020.3.1.3. Les groupes homogènes sont donnés en utilisant le test de Tukey et Fisher (LSD) à un seuil d'erreur =0,0001.

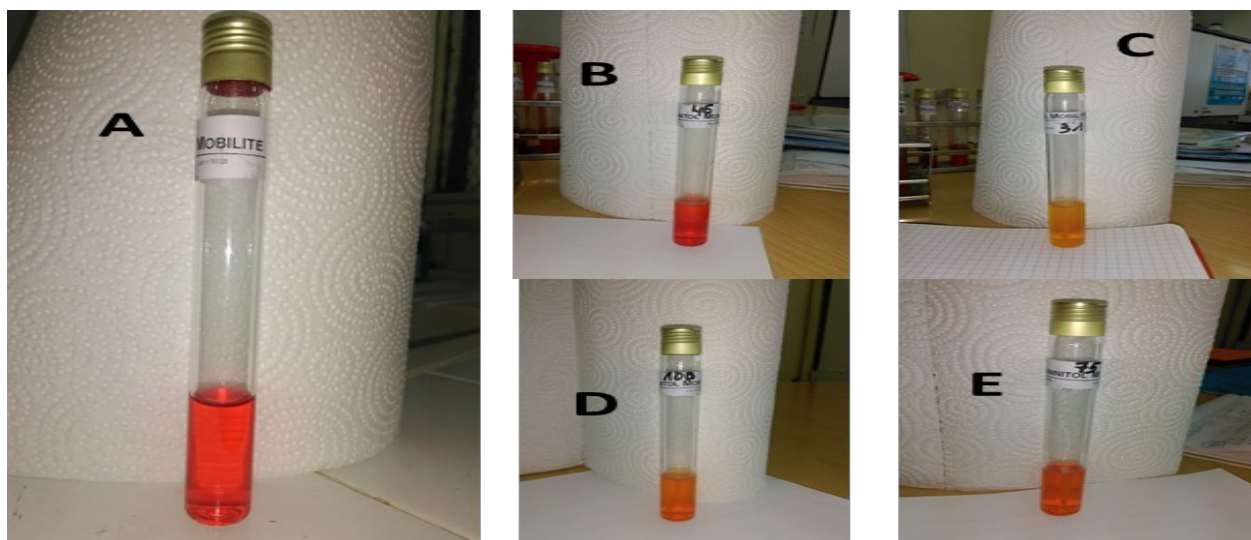
**Résultats**  
**et**  
**discussion**

**1. Les caractères biochimiques**

La mini galerie biochimique nous a permis d'identifier quelques caractères biochimiques des bactéries testées: le changement du nombre des bactéries à chaque test c'est relatif à la disponibilité des produits.

**1-1- Test biochimique de Mannitol mobilité**

**Figure 8: Résultats du changement de la couleur du milieu Mannitol mobilité:**



- A: Couleur d'origine de milieu (couleur rouge)
- B: Pas de fermentation de mannitol (couleur rouge)
- C: Fermentation de mannitol (couleur jaune)
- D: Culture uniquement au niveau de la piqûre centrale (immobiles)
- E: Diffusion des bactéries dans la gélose (mobiles)

**Tableau 3: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 39 souches étudiées dans le milieu Mannitol mobilité:**

Bactérie	Mannitol		Mobilité	
	Pas de fermentation (rouge)	Fermentation (jaune)	Mobile	Non mobile
1	-		+	
2	-		+	
3	-			-
6	-			-
7	-			-
9	-		+	



## *Résultats et discussion*

**Tableau 3: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 39 souches étudiées dans le milieu Mannitol mobilité (suite):**

13	-		+	
15	-		+	
17	-		+	
19	-		+	
23	-		+	
24		+	+	
29		+	+	
31		+	+	
32	-		+	
35	-		+	
37	-			-
38	-			-
45	-			-
46	-			-
50		+	+	
56	-			-
58	-		+	
61	-		+	
68		+	+	
70		+	+	
72		+	+	
73	-		+	
74	-		+	
75	-		+	
77	-			-
79	-			-
80	-		+	
82	-		+	
83	-			-
92	-		+	
100		+	+	

**Tableau 3: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 39 souches étudiées dans le milieu Mannitol mobilité (suite et fin):**

101	-		+	
103	-		+	

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu / bactérie mobile

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur / bactérie non mobile

**- Fermentation du mannitol**

D'après le tableau 4 de la galerie biochimique classique obtenue pour les 39 souches étudiées dans le milieu Mannitol mobilité, on remarque que la plupart des bactéries ne fermentent pas le mannitol (**bactéries mannitol -**). Nous avons remarqué que 31 sur les 39 des bactéries testées sont de couleur rouges (couleur inchangée), et que 8 des bactéries testées sur les 39 sont de couleur jaune, ces dernières fermentent le mannitol c'est à dire qu'il y a une acidification du milieu révélée par un virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (**bactéries mannitol +**).

Conformément à la littérature de **Nkang et al., (2009)** et durant notre étude, nous avons bien observé des souches, qui ont utilisé le mannitol comme source de carbone et d'énergie.

**- Mobilité**

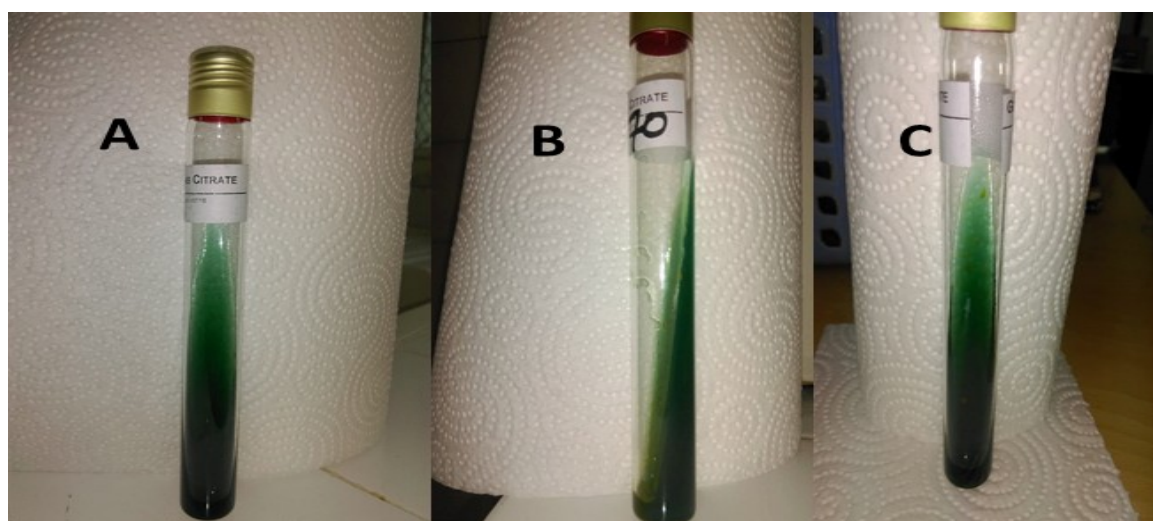
Pour la mobilité, on remarque que la plupart des bactéries sont mobiles (**Mobilité +**). 24 sur les 39 des bactéries testées sont déplacées dans le milieu (gélose semi-molle), et que 11 sur les 39 des bactéries testées ne se sont pas déplacées dans le milieu et, donc les bactéries sont probablement **immobiles**.

Des résultats similaires étaient rapportés par **Gerhardt et al., (1994)**, Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement. Et celles de **Marchal et al., (1991)**, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries.

D'après notre étude, nous avons obtenu des résultats positifs concernant le test de mobilité avec les souches testées. Ces résultats sont corroborés par les études de (**Dhayanithi et al., 2010; Zarei et al., 2010; Catherine et al., 1999**).

**1-2- Test biochimique de Citrate de Simmons**

**Figure 9: Résultats du changement de la couleur du milieu Citrate de Simmons:**



A : Couleur d'origine de milieu (couleur verte)

B : Présence de culture bactérienne (couleur bleu)

C : Absence de culture bactérienne (couleur verte)

**Tableau 4: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 31 souches étudiées dans le milieu Citrate de Simmons:**

Bactéries	Citrate + (Bleu)	Citrate - (Vert)
1		-
2		-
3		-
6	+	
7	+	
9		-
13	+	
15	+	
17	+	
19		-
23		-
24	+	
29	+	
31	+	

**Tableau 4: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 31 souches étudiées dans le milieu Citrate de Simmons (suite et fin):**

32		-
35		-
37	+	
38		-
45	+	
46	+	
50	+	
56	+	
58		-
61	+	
68	+	
70	+	
72		-
73		-
74	+	
75		-
77	+	

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu.

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur.

D'après le tableau 6 de la galerie biochimique classique obtenue pour les 31 souches étudiées dans le milieu Citrate de Simmons, on remarque que:

- 18 sur les 31 des bactéries testées: (couleur de milieu est bleu): les bactéries utilisent le citrate comme seule source de carbone avec alcalinisation du milieu, Les bactéries possèdent un citrate perméase elles sont dites **citrate +**
- 13 sur les 31 des bactéries testées: absence de culture bactérienne (couleur de milieu inchangé: reste vert) : Les bactéries n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone. Les bactéries ne possèdent pas de citrate perméase elles sont dites **citrate -**.

Nos résultat sont similaires a celles de **Marchal et al., (1991)**, qui ont montré:

- Citrate positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée).

## Résultats et discussion

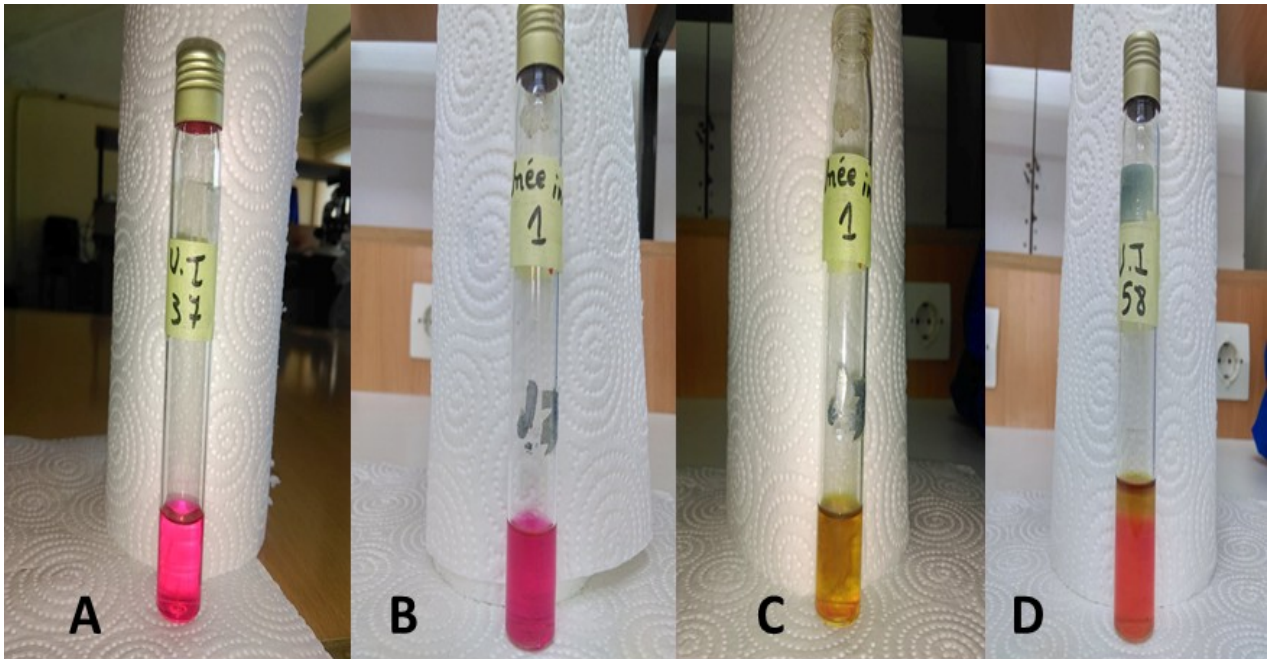
Selon **Graham et parcker, (1964)**, les bactéries à croissance rapide présentent une assimilation très large vis-à-vis des substrats carbonés par rapport aux bactéries à croissance lente.

Des résultats similaires étaient rapportés par **Schaad et al., (2001)**, Les bactéries « citrate positives » poussent sur le milieu de Simmons en provoquant une alcalinisation du milieu qui se traduit par un virage au bleu de la coloration du tube. Les bactéries « citrate négatives » ne croissent pas sur le milieu.

Les résultats obtenus avec nos espèces bactériennes analysées sont superposables à ceux obtenus par les travaux de (**Sylla, 2005; Ying et al., 2009; Nkang et al., 2009; Zarei et al., 2010**), qui ont montré que le milieu de citrate de Simmons est un milieu synthétique où la seule source de carbone est le citrate.

### 1-3- Test biochimique de Urée Indole

**Figure 10: Résultats du changement de la couleur du milieu Urée-Indole:**



A : Couleur d'origine de milieu (couleur rose)

B : Absence d'uréase (couleur rose/rouge)

C : Présence d'uréase (couleur orangé)

D : Après kovac (anneau orangé)

## Résultats et discussion

Tableau 5: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Urée-Indole:

Bactérie	Uréase		Indole	
	Rouge	Orangé	Avant kovac	Après kovac
1		-	-	Annaux orange
2	+		-	Annaux orange
3	+		-	Annaux orange
6	+		-	Annaux orange
7	+		-	Annaux orange
9	+		-	Annaux orange
13	+		-	Annaux orange
15	+		-	Annaux orange
17	+		-	Annaux orange
19	+		-	Annaux orange
23	+		-	Annaux orange
24	+		-	Anneau orange
29	+		-	Anneau orange
31	+		-	Anneau orange
32	+		-	Anneau orange
35	+		-	Anneau orange
37	+		-	Anneau orange
38	+		-	Anneau orange
45	+		-	Anneau orange
46	+		-	Anneau orange
50	+		-	Anneau orange
56	+		-	Anneau orange
58	+		-	Anneau orange
61	+		-	Anneau orange
68	+		-	Anneau orange
70	+		-	Anneau orange
72	+		-	Anneau orange
73	+		-	Anneau orange

**Tableau 5: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Urée-Indole (suite et fin):**

74	+		-	Anneau orange
75	+		-	Anneau orange
77	+		-	Anneau orange
79	+		-	Anneau orange
80	+		-	Anneau orange
82	+		-	Anneau orange
83	+		-	Anneau orange
92	+		-	Anneau orange
100	+		-	Anneau orange
101	+		-	Anneau orange
103	+		-	Anneau orange
110	+		-	Anneau orange

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu.

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur.

### - Recherche d'uréase:

D'après le tableau 8 de la galerie biochimique classique obtenue pour les 40 souches étudiées dans le milieu Urée-Indole, on remarque que:

- 39 sur les 40 des bactéries testées sont de couleur de milieu rouge : Alcalinisation du milieu due à la dégradation de l'urée, la bactérie possède l'uréase elle est dite **uréase +**
- 1 des 40 des bactéries testées est de couleur de milieu orangé: Pas d'alcalinisation du milieu, la bactérie ne possède pas l'uréase elle est dite **uréase -**.

Nos résultats sont identiques à ceux de **Prescott, (1999)**, qui a montré que l'apparition de couleur rose : Uréase (+).

D'après notre étude, nos bactéries donnent une réaction positive avec le test d'uréase, ceci a été décrit dans la littérature dans les travaux de **(Dhayanithi et al., 2010; Xian et al., 2011)**.

### - Recherche de la production d'indole:

Après l'ajout de 3 gouttes du réactif de Kovac et sans agiter le milieu, on remarque que:

- 25 sur les 40 des bactéries testées y a une apparition d'un anneau rouge : Présence d'indole. Le tryptophane a donc été hydrolysé, La bactérie a produit de l'indole elle est dite **indole +**.

## Résultats et discussion

- 12 sur les 40 des bactéries testées l'anneau reste orangé : Absence d'indole, la bactérie n'a pas produit d'indole elle est dite **indole -**.

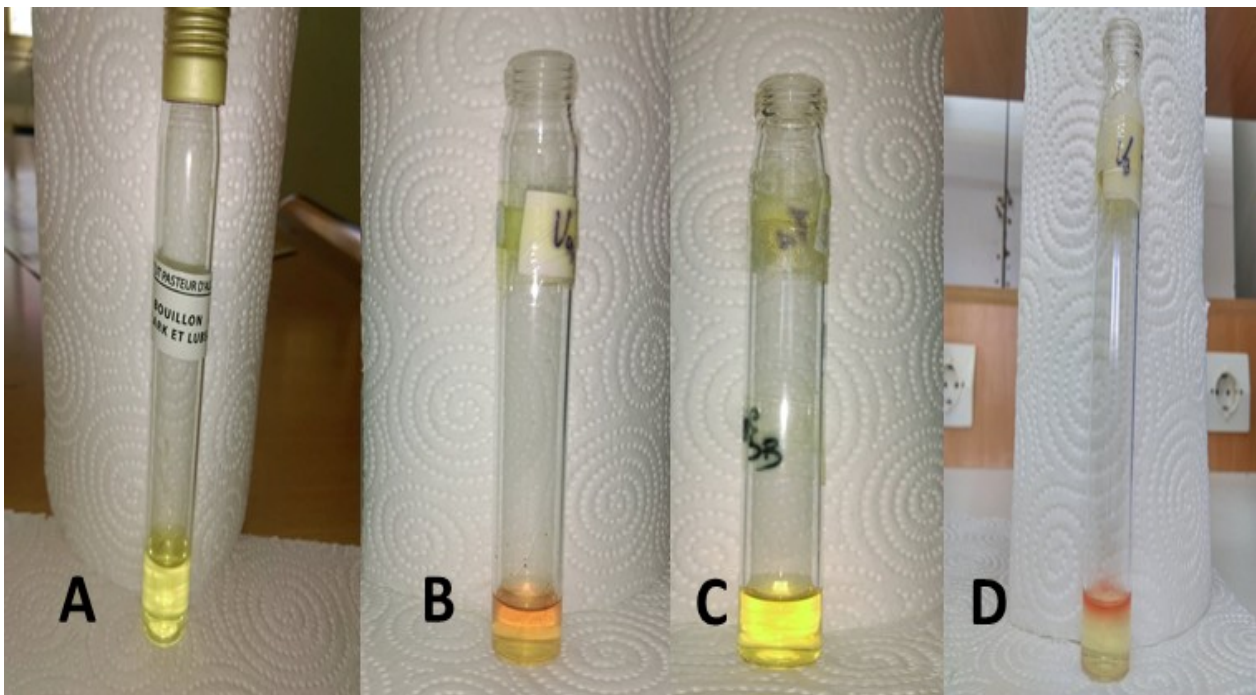
La production d'IAA, par les bactéries, est une caractéristique intéressante étant donné que l'IAA est une phytohormone impliquée dans plusieurs aspects de la croissance de la plante (Giroux, L. 2015).

Idris et al., (2007) ont été démontré qu'environ 80 % des bactéries de la rhizosphère sont capables de produire de l'IAA.

Notre étude nous a permis de distinguer des souches qui ont donné une réaction positive avec le test indole. Ces résultats sont confirmés par la littérature, en comparant nos résultats avec ceux obtenus par (Soomro et al., 2002). Par contre, ce n'était pas le cas pour les autres espèces étudiées. Ces résultats sont d'une part conformes à ceux rapportés par (Alves et al., 2006; Zarei et al., 2010; Nkang et al., 2009).

### 1-4- Test biochimique de Clarck et Lubs

Figure 11: Résultats du changement de la couleur du milieu Clarck et Lubs:



A : couleur d'origine de milieu (couleur jaune)

B : Fermentation du glucose (couleur rouge)

C : Pas de Fermentation du glucose (couleur jaune)

D : Après vp (coloration rouge du milieu)



## *Résultats et discussion*

**Tableau 6: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 37 souches étudiées dans le milieu Clarck et Lubs:**

Bactéries	Réaction de rouge de méthyl		Réaction de Voges – proskauer	
	Rouge	Jaune	Avant VP (rien)	Après VP (rouge)
1		-	-	-
2		-	-	-
3		-	-	-
6	+		-	+
7		-	-	-
9		-	-	-
13		-	-	-
15		-	-	+
17		-	-	-
19		-	-	-
23	+		-	-
24	+		-	+
29	+		-	-
31	+		-	-
32	+		-	-
35	+		-	-
37		-	-	-
38		-	-	-
45		-	-	+
46		-	-	-
50		-	-	+
56	+		-	+
58		-	-	-
61		-	-	-
68		-	-	-
70		-	-	+
72		-	-	-
73		-	-	-
74		-	-	-

## Résultats et discussion

**Tableau 6: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 37 souches étudiées dans le milieu Clarck et Lubs (suite et fin):**

75		-	-	-
77		-	-	-
79		-	-	-
80		-	-	-
82		-	-	+
83		-	-	-
92		-	-	-
100	+		-	+

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu.

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur.

D'après le tableau 10 de la galerie biochimique classique obtenue pour les 37 souches étudiées dans le milieu Clarck et Lubs, on remarque que ce milieu permet d'étudier une voie de fermentation du glucose:

- Rouge de méthyle : Il permet de détecter la production d'acides plus ou moins forts et plus ou moins volatiles au cours de la fermentation.

- 8 sur les 37 des bactéries testées produisent des acides forts au cours de la fermentation. Le milieu reste acide et donc en rouge.
- 23 sur les 37 des bactéries testées produisent des acides faibles le milieu s'est acidifié, puis ré-alkalinisé. Le milieu est donc jaune.

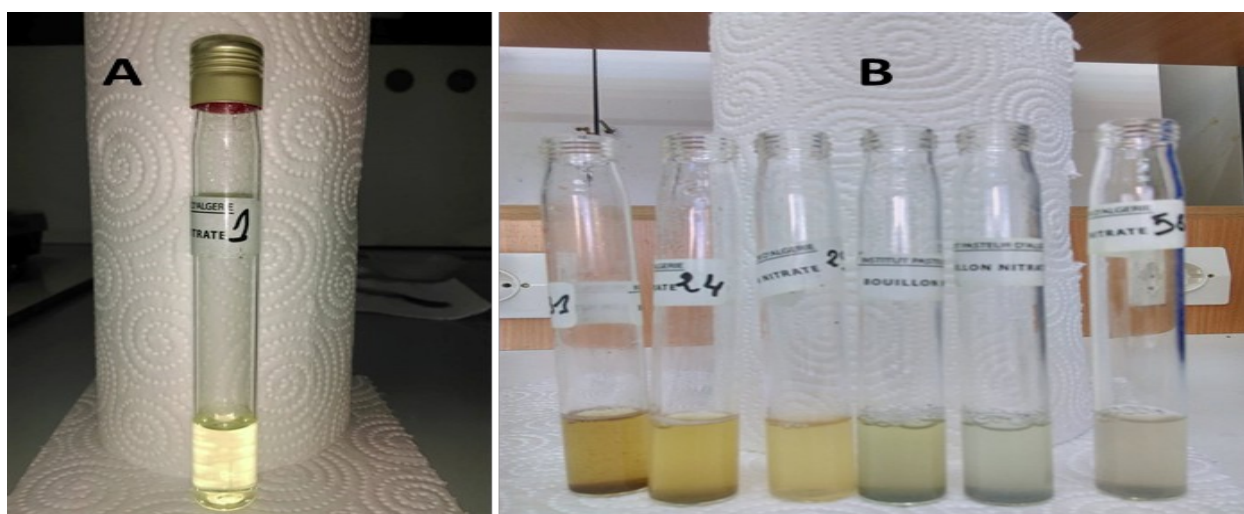
- Vp1 et VP2 : Il permet de détecter la production d'acétoïne, de dyacétyl et de butane-diol à partir de la fermentation du glucose. Le réactif ajouté (l'alpha naphthol) permet dans le cas d'un milieu basique et en présence de dioxygène, d'obtenir une coloration rosé ou rouge.

Selon **Graham et parcker, (1964)**, les bactéries à croissance rapide présentent une assimilation très large vis-à-vis des substrats carbonés par rapport aux bactéries à croissance lente.

**Clarck et Llubs, (1915)**, ont démontré que le test acétoïne ou réaction de Voges-Proskauer (VP) : Si après ajout de VP1 et VP2, il y a apparition de coloration rose ou rouge au bout de 15 min, la souche testée produit de l'acétoïne.

**1-5- Test biochimique de Bouillon nitrate**

**Figure 12: Résultats du changement de la couleur du milieu Bouillon Nitrate:**



A : couleur d'origine de milieu (couleur jaune)

B : Dégradation des couleurs du milieu

**Tableau 7: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 26 souches étudiées dans le milieu Bouillon nitrate:**

Bactéries	réactif de Griess (Nitrite I + Nitrite II)		Pas de coloration du milieu (jaune) Ajout de poudre de Zn	
	Coloration du milieu (rouge)	Pas de coloration du milieu (jaune)	Coloration du milieu (rouge)	Pas de coloration du milieu (jaune)
1	+			-
2	+			-
3	+			-
6	+			-
7	+			-
9	+			-
13	+			-
15	+			-
17	+			-
19	+			-
23		-	+	
24		-	+	

**Tableau 7: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 26 souches étudiées dans le milieu Bouillon nitrate (suite et fin):**

29		-	+	
31		-	+	
32	+			-
35	+			-
37	+			-
38		-		-
45		-		-
46		-	+	
50		-	+	
56	+			-
58		-		-
61		-		-
68		-	+	
70		-	+	

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu.

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur.

D'après le tableau 12 obtenu pour les 26 souches étudiées dans le milieu Bouillon nitrate, qui permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique : la nitrate réductase.

**Ajout de réactif de Griess (Nitrite I + Nitrite II):**

- 14 sur les 26 des bactéries testées sont de coloration de milieu rouge: présence de  $\text{NO}_2^-$  issus de la réduction des  $\text{NO}_3^-$  . Donc la bactérie est dite **Nitrate réductase + (stade  $\text{NO}_2^-$ )**.
- 12 sur les 26 des bactéries testées sont de coloration de milieu jaune: pas de présence de  $\text{NO}_2^-$  issus de la réduction des  $\text{NO}_3^-$  . Donc la bactérie est dite **Nitrate réductase -**.

**Ajout de poudre de Zn:**

- 8 sur les 26 des bactéries testées sont de coloration de milieu rouge : le Zn a réduit  $\text{NO}_3^-$  encore présents en  $\text{NO}_2^-$  qui sont révélés par les réactifs. Pas de réduction de  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{N}_2$ . Donc la bactérie est dite **Nitrate réductase -**.
- 18 sur les 26 des bactéries testées n'ont pas de coloration de milieu: pas de présence de  $\text{NO}_2^-$  issus des  $\text{NO}_3^-$ . Les  $\text{NO}_3^-$  été réduits en  $\text{N}_2$  par la bactérie. Donc est dite **Nitrate réductase + (stade  $\text{N}_2$ )**.

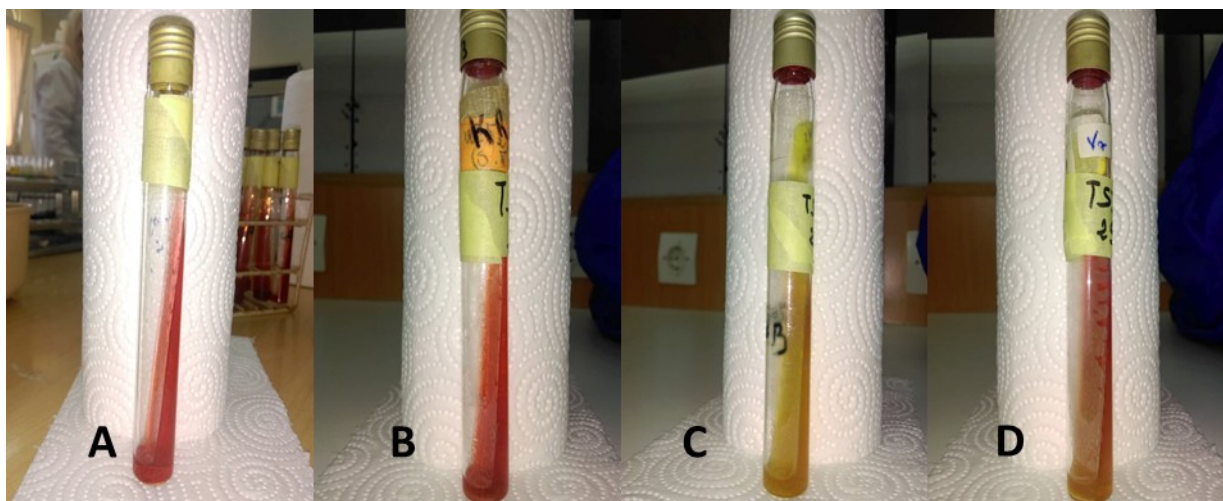
## Résultats et discussion

Ceci est en accord avec des résultats obtenus par **Tiso et Schechter, (2013)**, qui ont montré que la dénitrification est la réduction des oxydes d'azote en sels d'ammonium, et inversement, une nitrification, qui par l'intermédiaire des bactéries du sol, oxyde l'ammoniac  $\text{NH}_3$  en nitrites  $\text{NO}_2^-$  et nitrates  $\text{NO}_3^-$ .

Ce résultat est confirmé en détail dans les travaux de **Gharzouli, (2006)**, qui a montré que la disponibilité des enzymes nécessaires à l'hydrolyse des constituants de la paroi végétale est testée (pectinase, cellulase); la même chose pour les enzymes en relation avec le processus de nodulation (pectinase), et avec le métabolisme azoté (uréase, nitrate-réductase). Toutes les souches douées d'une activité uréasique, polygalacturonique, cellulosique, sont impliqués dans le processus infectieux des racines de la légumineuse par les isolats. Des résultats similaires étaient rapportés par **(Beck et col. 1993)**, qui retrouve une enzyme impliquée dans le processus de fixation et transformation de l'azote atmosphérique dans les souches (Nitrate-réductase).

### 1-6- Test biochimique de Triple Sugar Iron

Figure 13: Résultats du changement de la couleur du milieu Triple Sugar Iron:



A : couleur d'origine de milieu

B : Pas de fermentation du milieu (couleur rouge)

C : Fermentation du milieu (couleur jaune)

D : Gaz formé (couleur rouge/jaune)

## *Résultats et discussion*

**Tableau 8: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Triple Sugar Iron:**

Bactérie	Pas de fermentation (glucose/lactose/ saccharose)	Fermentation de glucose uniquement	Gaz fermenteur (glucose/lactose/ saccharose)
	rouge/rouge	rouge/jaune	jaune/jaune
1		+ -	
2	-		
3	-		
6	-		
7	-		
9	-		
13		+ -	
15		+ -	
17	-		
19		+ -	
23			+
24		+ -	
29		+ -	
31		+ -	
32	-		
35	-		
37	-		
38	-		
45	-		
46		+ -	
50		+ -	
56		+ -	
58		+ -	
61	-		
68		+ -	
70			+

**Tableau 8: Résultats de la galerie biochimique classique obtenus pour les 40 souches étudiées dans le milieu Triple Sugar Iron (suite et fin):**

72		+-	
73		+-	
74		+-	
75			+
77	-		
79		+-	
80	-		
82	-		
83	-		
92		+-	
100			+
101	-		
103	-		
110	-		

+ : indique qu'il y'a un changement de couleur dans le milieu.

- : indique qu'il n'y'a aucun changement de couleur.

D'après le tableau 14 de la galerie biochimique classique obtenu pour les 40 souches étudiées dans le milieu Triple Sugar Iron, on remarque que:

**- Bactéries ne fermentent pas le glucose/ lactose et saccharose**

- 19 sur les 40 des bactéries testées sont de couleur de culot rouge (couleur inchangé), cela veut dire que la bactérie n'a pas fermenté ni le glucose, ni le lactose et le saccharose.

**- Fermentation de glucose uniquement**

- 17 sur les 40 des bactéries testées sont de couleur de culot de jaune/rouge, on comprend donc que le glucose a été fermenté par la bactérie.

**- Gaz fermenteur de glucose/ lactose et saccharose**

- 4 sur les 40 des bactéries testées sont de couleur de culot jaune, cela confirme la production d'une grande quantité d'acide ce qui rend le rouge de phénol jaune en bout et en pente.

**Stowers, (1985)** a été montré que les isolats à croissance rapide possèdent une préférence pour les disaccharides (saccharose et lactose) , ce qui est en accord avec nos résultats.

## *Résultats et discussion*

Au cours de notre étude, nous avons trouvé que toutes les souches que nous avons analysées fermentent le lactose, le saccharose, le glucose avec production de gaz, et sans production de l'H<sub>2</sub>S. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Hajna, 1945; Berche et al., 1988).

Ce test permet également d'observer la production de gaz CO<sub>2</sub> (bulles dans la gélose) (Marchal et al., 1991).

**Tableau 9: Caractéristiques générales des bactéries**

Bactéries	Mannitol mobilité		Citrate de simmons	Urée Indole		Clarck et Lubs		Bouillon nitrate	Triple sugar iron
	Mannitol	Mobilité		Uréase	Indole	RM	VP		
1	-	+	-	-	+	-	-	+	+
2	-	+	-	+	+	-	-	+	-
3	-	-	-	+	+	-	-	+	-
6	-	-	+	+	+	+	+	+	-
7	+	-	+	+	+	-	-	+	-
9	-	+	-	+	+	-	-	+	-
13	-	+	+	+	+	-	-	+	+
15	-	+	+	+	+	-	+	+	+
17	+	+	+	+	+	-	-	+	-
19	+	+	-	+	+	-	-	+	+
23	+	+	-	+	+	+	-	-	+
24	+	+	+	+	+	+	+	-	+
29	+	+	+	+	+	+	-	-	+
31	+	+	+	+	+	+	-	-	+
32	-	+	-	+	+	+	-	+	-
35	+	+	-	+	+	+	-	+	-
37	+	-	+	+	+	-	-	+	-
38	+	-	-	+	+	-	-	-	-
45	-	-	+	+	+	-	+	-	-
46	+	-	+	+	+	-	-	-	+
50	+	+	+	+	+	-	+	-	+
56	-	-	+	+	+	+	+	+	+
58	+	+	-	+	+	-	-	-	+
61	+	+	+	+	+	-	-	-	-



**Tableau 9: Caractéristique générales des bactéries (suite et fin):**

68	+	+	+	+	+	-	-	-	+
70	+	+	+	+	+	+	+	-	+
72	+	+	-	+	+	+	-		+
73	+	+	-	+	+	-	-		+
74	+	+	+	+	+	-	-		+
75	+	+	-	+	+	+	-		+
77	+	-	+	+	+	-	-		-
79	-	-		+	+	-	-		+
80	-	+		+	+	+	-		-
82	-	+		+	+	+	+		-
83	-	-		+	+	-	-		-
92	-	+		+	+	-	-		+
100	+	+		+	+	+	+		+
101	-	+		+	+				-
103	-	+		+	+				-
110				+	+				-

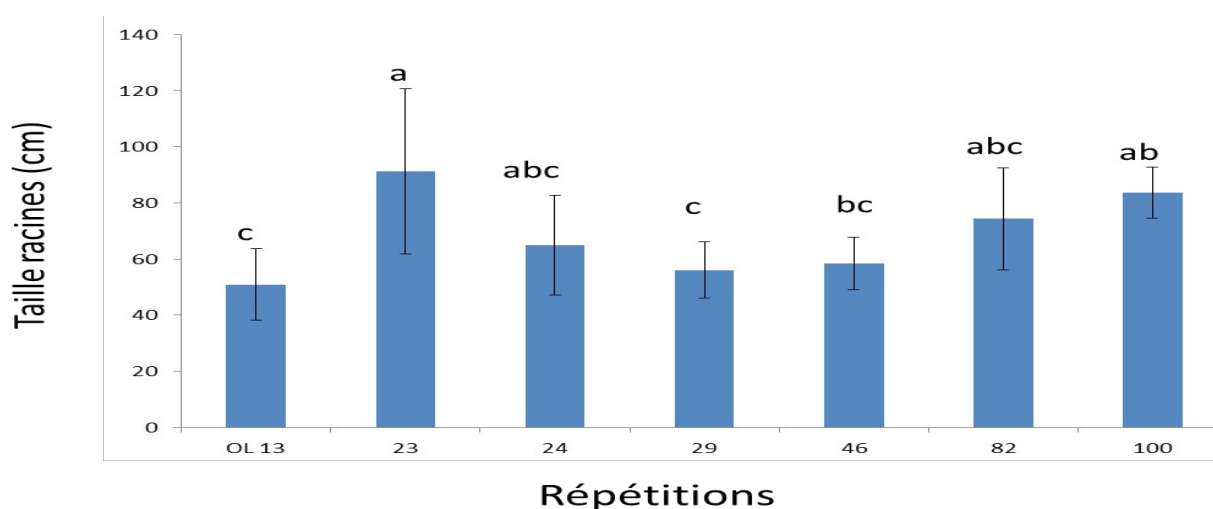
NB: les vides représentent des analyses non effectuées pour cause de manque de produits

## 2- Test d'inoculation sur la fève

### 1. La taille des racines des plantes de fève (*Vicia faba L.*):

La figure 1 représente les différentes longueurs racinaires des plantes de la fève qui ont varié entre 91,25 cm et 50,86 cm par plante.

Nous notons que les six bactéries et le témoin OL13 présentent des résultats significativement différents ( $P < 0.05$ ) (Figure. 1). La bactérie 23 a montré le résultat le plus élevé avec 91,25 cm  $\pm$  29,34, et la bactérie 29 a présenté la longueur de racine la plus basse avec le témoin OL13 avec des moyennes 56 cm  $\pm$  10,02 et 50,86 cm  $\pm$  12,71.



**Figure 8: Tailles moyenne des racines de la fève (*Vicia faba L.*) après inoculation**

On note à partir de nos résultats que l'augmentation de l'absorption des nutriments par les plantes inoculées avec des souches efficaces a été attribuée à la production de régulateurs de croissance des plantes par les bactéries à l'interface des racines, ce qui a stimulé le développement des racines et a entraîné une meilleure absorption de l'eau et des nutriments du sol, comme indiqué par (Lifshitz et al., 1987). Nos résultats sont en accord avec plusieurs auteurs (Smith, 2001); (López et al., 2003); (Vance et al., 2003); (Plaxton, 2004); (Shulaev et al., 2008). Ces auteurs rapportent que les réponses morphologiques impliquent la modification de l'architecture racinaire, principalement par une baisse de la croissance des racines primaires et l'augmentation du nombre des racines latérales et la formation des poils absorbants. (Vikram, 2007), a montré que les auxines produites par ces rhizobactéries peuvent influencer la croissance des plantes, y compris le développement racinaire qui améliore l'absorption d'éléments nutritifs, en augmentant de ce fait la croissance végétale, ce qui soutient nos résultats.

Après toutes ces résultats on a montré que l'inoculation a des effets bénéfiques sur la plante et ceci confirmé par plusieurs autres auteurs que l'inoculation peut favoriser l'allongement de la racine

(Dobbelaere et al., 1999), le développement des racines latérales et adventives (Creus et al., 2005; Molina-Favero et al., 2008), les poils absorbants (Hadas et Okon, 1987) et la ramification des poils racinaires (Jain et Patriquin, 1985). Ces réponses de développement de la morphologie racinaire sont déclenchées par des phytohormones synthétisées par les rhizobactéries, ce qui est confirmé par nos résultats.

### 2. Le poids frais de la partie aérienne des plantes de fève (*Vicia faba L.*):

La figure 2 représente la biomasse aérienne fraîche des plantes de la fève. Cette biomasse moyenne varie entre 30,00 g et 16,25 g par plante.

Les plantes de la bactérie 100 ont montré le résultat le plus élevé avec  $30,00 \text{ g} \pm 19,15$ , alors que les plantes de la bactérie 24 ont montré le poids frais de la partie aérienne le plus bas avec le témoin OL13 avec moyenne  $16,25 \text{ g} \pm 11,42$  et  $20,00 \text{ g} \pm 10,00$ .

On observe d'après le test statistique (test Tukey) qu'il y a aucune différence entre les différentes bactéries testées comparativement au témoin OL13.

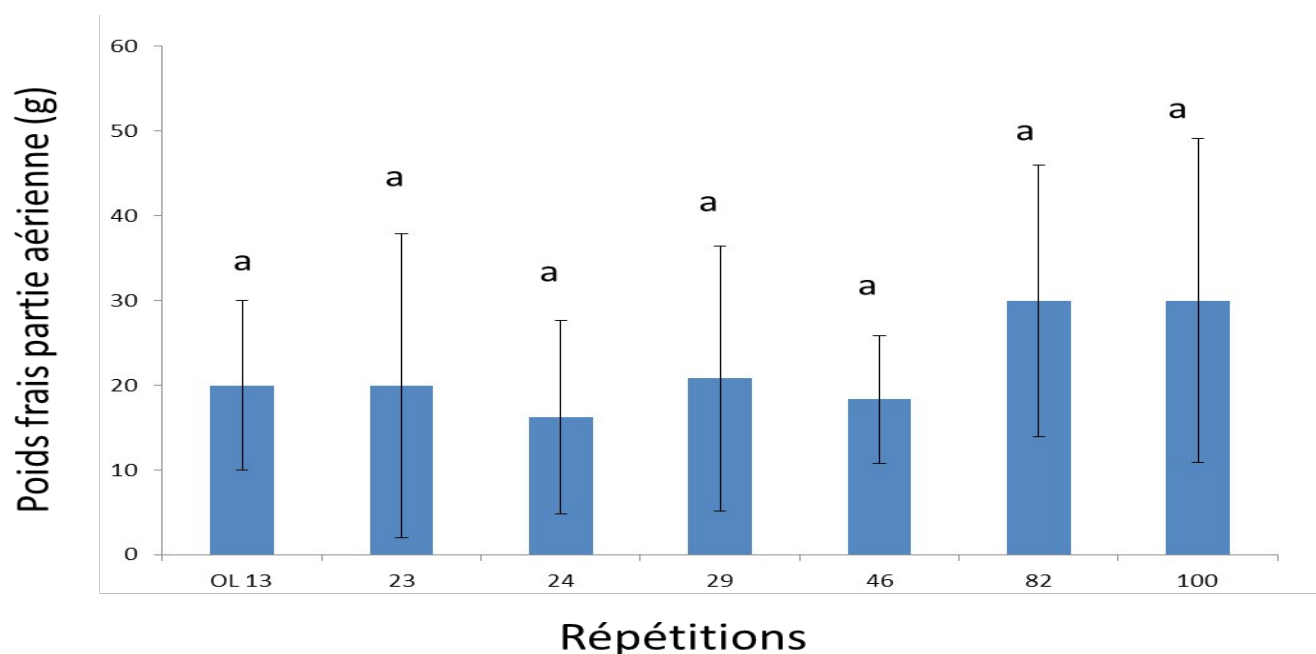


Figure 9: La variation du poids frais de la partie aérienne des plantes de fève (*Vicia faba L.*)

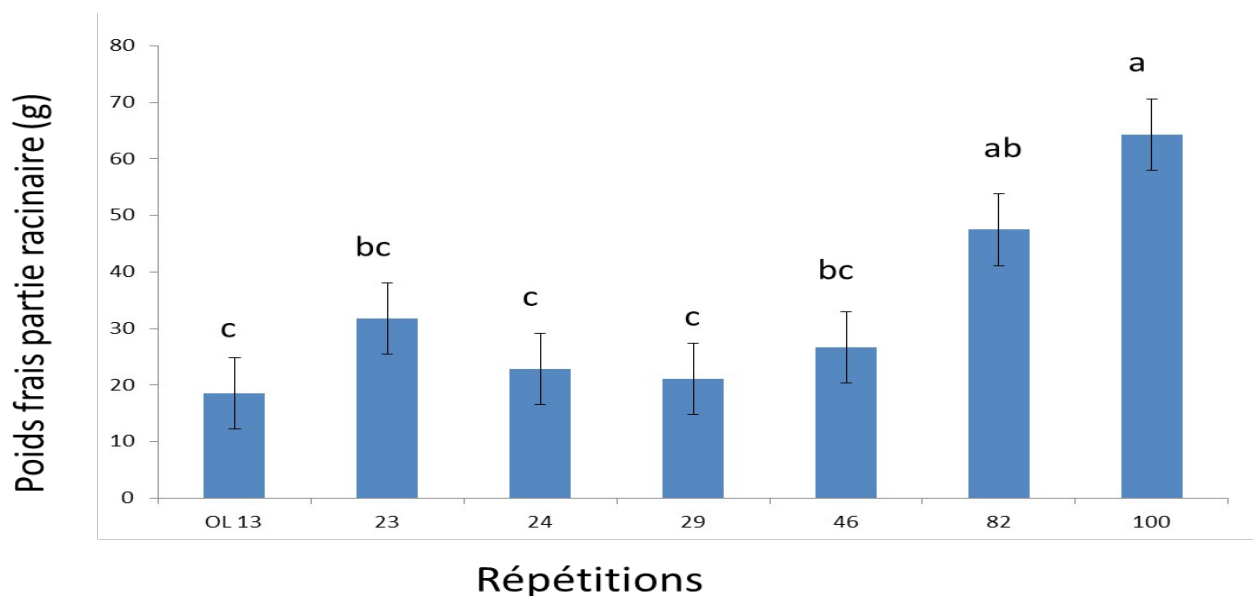
Ces valeurs de la biomasse des parties aériennes sont équivalentes à celles obtenues par (Solmon et Fassil, 2014) en Ethiopie chez des plantes de (*Vicia faba L.*) dans des conditions de culture en pot, et celles de (ouserir et al., 2018), qui ont montré que dans les expériences, sous serre et en plein champ, les poids frais et secs des biomasses aérienne et racinaire sont nettement améliorés avec les inoculations par rapport aux témoins.

Ainsi des autres auteurs comme (Vessey, 2003) et (Salantur et al., 2006), suggèrent que la sécrétion bactérienne de substances favorisant la croissance des plantes pourrait être responsable des effets bénéfiques des PGPR.

### 3. Le poids frais de la partie racinaire des plantes de fève (*Vicia faba*):

La figure 3 représente la biomasse racinaire fraîche des plantes de la fève Cette biomasse moyenne varie entre 64,29 g et 18,57 g par plante.

Nous notons que les six bactéries et le témoin OL13 présentent des résultats significativement différents ( $P < 0.05$ ) (Figure. 3). Les plantes de la bactérie 100 a montré le résultat le plus élevé avec  $64,29 \text{ g} \pm 36,45$ , alors que les plantes de la bactérie 29 ont montré le poids frais de la partie racinaire le plus basse avec le témoin OL13 avec  $21,07 \text{ g} \pm 15,34$  et  $18,57 \text{ g} \pm 12,15$ .



**Figure 10: La variation du poids frais de la partie racinaire des plantes de fève (*Vicia faba L.*)**

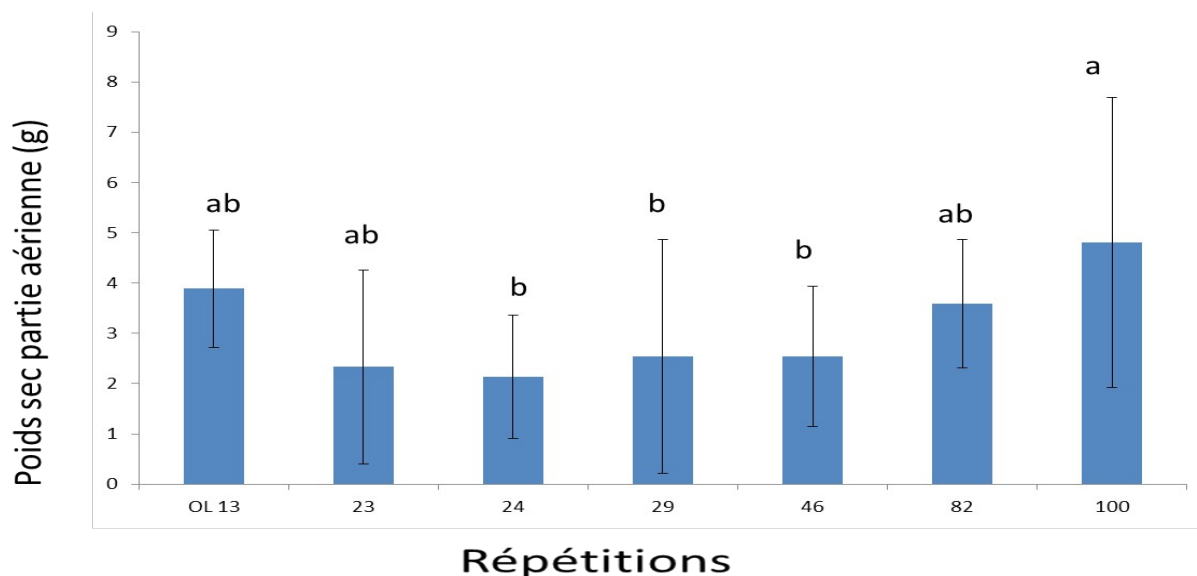
Nos résultats rejoignent ceux de (Yildirim et al., 2015), qui ont retrouvés que les poids frais et secs des racines ont été améliorés.

### 4. Le poids sec de la partie aérienne des plantes de fève (*Vicia faba L.*):

La figure 2 représente la biomasse aérienne sèche des plantes de la fève Cette biomasse moyenne varie entre 4,81 g et 2,13 g par plante.

Les plantes de la bactérie 100 a montré le résultat le plus élevé avec  $4,81 \text{ g} \pm 2,88$ , alors que les plantes de la bactérie 24 ont montré le poids sec de la partie aérienne le plus basse avec le témoin OL13 avec  $2,13 \text{ g} \pm 1,23$  et  $3,89 \text{ g} \pm 1,17$

On observe d'après le test statistique (test Tukey) qu'il y a une différence significative ( $P < 0.05$ ) (Figure. 4) entre les différentes bactéries testées comparativement au témoin OL13



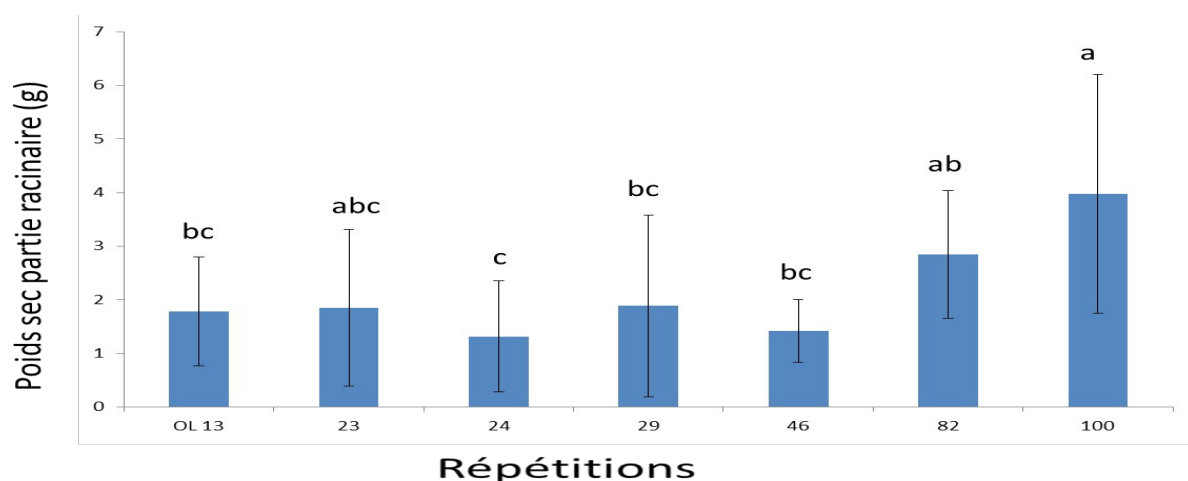
**Figure 11: La variation du poids sec de la partie aérienne des plantes de fève (*Vicia faba L.*)**

Höflich et al., (1994), ont observé une augmentation significative du rendement de la matière sèche de la partie aérienne des plantes variant de 7 à 8 %, ce qui est confirmé par nos résultats. D'après nos résultats on conclure que le rendement en matière sèche des parties aériennes par plante a augmenté en fonction des répétitions, les mêmes conclusions ont été aussi signalées par (Boughribil et al., 2018).

### 5. Le poids sec de la partie racinaire des plantes de fève (*Vicia faba L.*):

La figure 5 représente la biomasse racinaire sèche des plantes de la fève Cette biomasse moyenne varie entre 3,98 g et 1,31 g par plante.

Nous notons que les six bactéries et le témoin OL13 présentent des résultats significativement différents ( $P < 0.05$ ) (Figure. 5). Les plantes de la bactérie 100 a montré le résultat le plus élevé avec 3,98 g  $\pm$  2,23, alors que les plantes de la bactérie 24 ont montré le poids frais de la partie racinaire le plus basse avec le témoin OL13 avec 1,31 g  $\pm$  1,03 et 1,78 g  $\pm$  1,02.



**Figure 12: La variation du poids sec de la partie racinaire des plantes de fève (*Vicia faba L.*)**

Nos résultats rejoignent ceux de (El Fakhri et al., 2010). qui ont retrouvés que les résultats relatifs au poids sec des racines et au poids sec de la plante montrent que la production de la matière sèche a été améliorée par l'inoculation. Cette matière sèche sert à la production de nouvelles racines, à leur prolifération (volume racinaire), à leur allongement (accroissement en longueur) et à leur entretien.

Abbasi et al., (2011), ont conclu que la rhizosphère de différentes plantes et cultures est le port d'origine de bactéries importantes et bénéfiques. Ces bactéries favorisant la croissance peuvent être isolées du sol de différentes zones racinaires des cultures et utilisées pour améliorer la croissance / le rendement des cultures et améliorer la fertilité du sol.

## 6. Nombre des nodules

D'après les résultats de l'inoculation on observe que la formation des nodules est remarquée uniquement sur les plantes inoculées avec le rhizobium OL13, et les plantes co-inoculées avec la bactérie PGPR et le rhizobium OL13 n'ont pas nodulées.

Cette absence de nodulation peut être attribuée à la capacité des PGPRs à produire de l'AIA, car son rôle consiste à réguler la formation des nodules dans les légumineuses, en raison de la suppression des agents pathogènes (Mahmoud et Abd- Alla, 2001) ou de la mobilisation d'éléments nutritifs (Ahemad et Khan, 2011). Plusieurs études ont observé l'inhibition du processus de nodulation ou de diminution du nombre de nodules par l'éthylène sur plusieurs légumineuses (Xie et al., 1996; Okazaki et al., 2004).

Ceci peut être également expliquée par un phénomène de compétitions entre les bactéries et que la prolifération de la bactérie PGPR tout le long de la racine a fait barrage au rhizobium (moins combatif) pour l'infection et la formation des nodules (Maougal et al., 2014)

# **Conclusion**

### Conclusion

Les pressions sociales en vue de diminuer l'emploi des pesticides en agriculture accentuent la demande pour des produits biologiques aptes à contrer les pathogènes des plantes. Il devient donc important de développer différentes méthodes de lutte biologique, afin de réduire les effets d'un organisme néfaste et de favoriser les organismes utiles tels les cultures, les arbres, les animaux et les insectes et micro-organismes bénéfiques.

Les PGPRs occupent progressivement une place importante en agriculture moderne. Et l'étude relative au rôle des rhizobactéries dans la croissance et l'amélioration des espèces végétales onstitue à l'heure actuelle un enjeu majeur.

Dans ce travail, on a effectué une étude sur les caractères biochimiques des bactéries, l'utilisation des sucres comme source de carbone. On a essayé de caractériser biochimiquement une série des bactéries préalablement isolées. On a procédé à un isolement et une caractérisation biochimique, et on a examiné l'effet des bactéries rhizosphériques sur la promotion de la croissance de la fève (*Vicia faba L.*).

On a testé par une inoculation de la variété Aquadulce de la fève (*Vicia faba L.*) par six des 40 bactéries testées et ayant obtenu de bon paramètres PGPR (**Laajabi, 2019**). Il s'agit des bactéries 23, 24, 29, 46, 82, 100 et cela en présence du rhizobium OL13 qui sera le témoin. Ce travail a été effectué dans le but d'étudier l'effet de l'inoculation par les souches bactérienne sur la croissance et le rendement de la fève (*Vicia faba L.*) et de sélectionner les meilleurs couples symbiotiques.

Au terme de cette étude et en se basant sur les résultats obtenus dans les deux volets de cette étude, nous pouvons conclure que:

- Les résultats obtenus pour l'analyse biochimiques (galerie biochimique classique) montrent que la plupart de ces bactéries n'utilisent pas le mannitol comme source de carbone et d'énergie, ces dernières sont mobiles. Une gamme d'elles utilisent des substrats carbonés comme source de carbone, avec l'utilisation de trois sucres dont : glucose, lactose et saccharose; mais cette variabilité d'assimilation diffère d'une bactérie à l'autre et d'un sucre à un autre. Une gamme importante de ces bactéries possèdent l'uréase et produit l'indole, des isolats montrent la capacité à dégrader le nitrate par le biais de la Nitrate Réductase.

L'inoculation avec les différentes souches en comparant avec la souche de référence (rhizobium OL13) a pu stimuler de manière significative la croissance en augmentant le poids sec aérien et racinaire et en allongeant la taille des racines.

L'absence de nodulation chez les plantes co-inoculées (PGPR et rhizobium) pourrait être surmontée par la sélection et la multiplication des variétés tolérantes



## ***Conclusion***

- Une bonne infectivité et une bonne efficacité des PGPR sont les premiers critères à retenir pour préparer des inoculums efficaces. Pour cela, la croissance des plantes, le traitement d'inoculation qui donne une longueur et une croissance des racines la plus améliorée est enregistré chez les plantes des bactéries 23 (moyenne de 91,25 cm). Le poids frais le plus élevé est observé chez les plantes de la bactérie 100 avec une moyenne de 30,00 g/plante. Les plantes qui donnent la plus grande masse sèche sont celles de la bactérie 100 avec une moyenne de 4,81 g/plante.

Cette étude reste préliminaire et pour confirmer les performances de croissance il est important de mesurer l'effet de ces bactéries sur la nutrition (azotée et phosphatée), il serait intéressant également d'inoculer les plantes de fève avec ses micro-organismes, fixateurs d'azote atmosphérique, qui solubilise le phosphate inorganique permettrait à la fois d'assurer une nutrition azotée et phosphatée convenables pour les plantes de légumineuses

Il serait bien de vérifier si la capacité de promouvoir la croissance des plantes est plus grande lorsque les bactéries sont employées seules ou en consortium.

De plus il serait bien de faire différents tests de formulations (solution aqueuse, enrobage des graines, etc.) afin de déterminer le meilleur moyen d'utiliser les souches comme biofertilisant. Ceci représente les prochaines étapes à faire pour une possible commercialisation du fertilisant à base des souches isolées dans le cadre de cette étude.

- Abdallah, A., Courtillot, V., Kasser, M., Le Dain, A. Y., Lépine, J.C., Robineau, B., ... & Tarantola, A. (1979). Pertinence de la sismicité et du volcanisme Afar pour la mécanique des limites d'accrétion des plaques. *Nature*, 282 (5734), 17-23.
- Abdelly, C., Lachaâl, M., Grignon, C., Soltani, A., & Hajji, M. (1995). Association épisodique d'halophytes stricts et de glycophytes dans un écosystème hydromorphe salé en zone semi-aride *Agronomie* 15:557-568.
- Adesemoye, A.O., Torbert, H.A., Kloepper, J.W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb. Eco.* 58: 921-92.
- Adesemoye, A.O., Kloepper, J.W. (2009). Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol Biotechnol* 85: 1-12.
- Akhtar, M.S., Siddiqui, Z.A. (2009). Use of Plant Growth promoting rhizobacteria for the biocontrôle of root-rot disease complex chickpea. *Australian Plant Pathology*.38: 44-50.
- Alkama, R., Kageyama, M., Ramstein, G., Marti, O., Ribstein, P., et Swingedouw, D. (2008). Impact d'un tracé fluvial réaliste dans les simulations couplées océan-atmosphère du dernier climat glaciaire maximal. *Dynamique climatique*, 30 (7-8), 855-869.
- Alves, M.S., Rubens, C.S.D., De Castro, A.C.D., Riley, L.W., Moreira, B.M. (2006). Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *Journal of clinical microbiology*. 44 (10) : 3640-3646.
- Araujo, F.F. (2008). Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha d'ostradesenvolvimento de milho, soja e algodão. *Ciênc.Agrotec*.32:456-462.
- Araújo, R. A., Guedes, R. N. C., Oliveira, M. G. A., & Ferreira, G. H. (2008). Enhanced proteolytic and cellulolytic activity in insecticide-resistant strains of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, 44(4), 354-359.
- Baldani, J. I. and Baldani, V. L. D. (2005). History on the biological nitrogen fixation research graminaceous plants: spezial emphasis on the Brazilian experience. *An. Acad. Brass. Sci.* 77: 549-579.
- Bank, W. O. R. D. (2008). Indicateurs de développement dans le monde.
- Bannasseur, A. (2005). Référentiel pour la conduite technique de la fève (*Vicia faba L.*).
- Barak, P., Jobe, B. O., Krueger, A. R., Petersen, L.A, Laird, D.A. (1997). Effects of long-term soil acidification due to nitrogen fertilizer inputs in Wisconsin. *Plant Soil*97: 61-69.
- Basavaraju, O., Rao, A. R. M., Shankarappa, T. H., & Rajak, R. (2002). Effect of *Azotobacter* inoculation and nitrogen levels on growth and yield of radish (*Raphanus sativus L.*). *Proceedings of Microbial Technology for Sustainable Development and Productivity*,(Ed., Rajak DC), Jabalpur, *Biotechnology of Microbes and Sustainable Utilization*, 155-160.

- Bashan, Y., Holguin, G., and De-Bashan LE (2004).** Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can J Microbiol.* 50:521-577.
- Bassil, N. V., Proebsting, W. M., Moore, L. W., & Lightfoot, D. A. (1991).** Propagation of hazelnut stem cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. *HortScience*, 26(8), 1058-1060.
- Bazot, S. (2005).** Contribution à l'étude de l'allocation des photoassimilats récents dans la plante et la rhizosphère chez une graminée pérenne (*Lolium perenne L.*) (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine) agronomie Environnement Nancy Colmar.176: 25-26.
- Beauchamp, C. J. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74 (1), 19–27. <https://doi.org/10.7202/706033ar>.
- Beck, DP, Materon, LA et Afandi, F. (1993).** Manuel pratique sur la technologie des légumineuses à rhizobium. *Manuel pratique sur la technologie des légumineuses à rhizobium.* , (19).
- Begum, M., RAI, V. R., & Lokesh, S. (2003).** Effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed borne fungal pathogens in okra. *Indian phytopathology*, 56(2), 156-158.
- Benachour, K., Louadi, K., et Terzo, M. (2007, janvier).** Rôle des abeilles sauvages et domestiques (Hymenoptera: Apoidea) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba L. var. Major*) (Fabaceae) en région de Constantine (Algérie). *J. Plant Physiol.* 152(1) : 213-219.
- Benguedouar, A., (2000).** Etude de la symbiose : *Rhizobium –Hedysarum coronarium*. Essai de la caractérisation de l'espèce *Rhizobium hedysary*.Thèse de doctorat de l'université de Constantine. Algérie.
- Khaled, L. B., Gómez, A., Honrubia, M., & Oihabi, A. (2003).** Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le *Rhizobium*.
- Bentama, N., Boursas, S. (2016).**étude de la variation chromosomique chez l'espèce (*Vicia faba L.*)
- Beraud. (2007).** Etude des effets écotoxiques et de l'induction des phytochélatines chez *Vicia faba L.* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application de test *Vicia – micronoyaux* à des matrices. Thèse de doctorat. Université de Mets, p 107.
- Berche, P., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1988).** *Bactériologie: bactéries des infections humaines*. Flammarion médecine-sciences. p. 100-545.
- Boddey, RM et Dobereiner, J. (1988).** Fixation de l'azote associée aux graminées et aux céréales: résultats récents et perspectives pour de futures recherches. *Plante et sol*, 108 (1), 53-65.

- Bond, MH et Hwang, KK (1986).** *La psychologie sociale du peuple chinois*. Oxford University Press. pp. 213-266.
- Boughribil, S., Abumsimir, B., Montassir, L., Tarek, F., Ennaji, M. M., & Bessi, H. (2018).** Effect of Competitiveness on Nodulation and Nitrogen Fixation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Mater. Environ. Sci*, 9, 828-833.
- Brown, M.E. (1974).** Seed and root bacterization. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 181-197
- Caratini, R. (1984).** Les plantes. Bordas, Paris.
- Carvalho, G.R. (1993).** Aspects évolutifs de la distribution des poissons: variabilité génétique et adaptation. *Journal of Fish Biology*, 43, 53-73.
- Catherine, A.M., Robert, B. (1999).** Genomic rearrangements in the flagellin genes of *Proteus mirabilis*. *Molecular Microbiology*. 31 (2) : 679–690.
- Chafi Mohammed Elhabib. (2011):** (*Vicia faba* L.) engrais pour la réhabilitation des zones marginalisées (zones et semis arides) algériennes, thèse de doctorat, université d’Oran, p72- 76.
- Charest, M. H., Beauchamp, C. J., & Antoun, H. (2005).** Effects of the humic substances of deinking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 52(2), 219-227.
- Chaux, C., and Foury, C.L. (1994).** Production légumière : légumineuses potagères, légumes fruits. Ed. TEC et DOC. Lavoisier, 5&3pp.
- Chaux, C.L., et Foury, C.L. (1994).** Productions légumières secs. Légumineuses potagères légumes et fruits. Tom 3. Technique et documentation Lavoisier. Pp 7-13.
- Clark, W., et Lubs, H. (1915).** The identification of bacteria of the colony aerogenes family by use of indicators. *Journal of Infectious Diseases.*, 17, 160-173.
- Cregut, M. (2009).** Caractérisation de la communauté bactérienne impliquée dans la minéralisation du soufre organique dans les rhizosphères de colza et d'orge, Ecole Doctorale RP2E UMR INPL(ENSAIA)-INRA 1121 Agronomie et Environnement, 293p.
- Creus, C.M., Graziano, M., Casanovas, E.M., Pereyra, M.A., Simontacchi, M., Puntarulo, S. (2005).** Nitric oxide is involved in the *Azospirillum brasilense*-induced lateral root formation in tomato. *Planta*.221: 297–303.
- Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P., Duc, G. (2010).** Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research*, 115: 329 -339.
- Couplen, A., and Marm, C. (2009).** Jardinez au naturel. Le jardin plus bio facile, 249 pp.
- Couvillon, G.A. (1998).** Rooting Responses to Different Treatments. *Acta Hort.* 227: 187196.

- Daines, M.E.A. (2018).** Effet de l'uranium sur le comportement physiologique et chimique de la féverole (*Vicia faba L. minor*). Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. P 40-46..
- De Freitas, JR. (2000).** Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum L., var. Norstar*) inoculated with rhizobacteria. *Pedobiologia* 44:97–104.
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea L.*) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbio.Res.* 159: 371-394.
- Démange, P., Wendenbaum, S., Bateman, A., Dell, A., et Abdallah, M.A. (1987).** Bacterial siderophores: Structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds. Pages 167-187 in G. Winkleman, D. van der Helm et J.B. Neilands (réds.), *Iron transport in microbes, plants and animals*. VCH Chemie, Weinheim, FRG
- Dénarié, J. (8 janvier 2000)** Texte de la 8ème conférence de l'Université de tous les savoirs .
- Dhayanithi, N.B., Ajith Kumar, T.T., Kathiresan, K. (2010).** Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. *Journal of Environmental Biology.* 31 : 409-412.
- Djeghar, Hadjer., Djeghar, Ihsene. (2004)** . comparaison de quatre milieux pour la culture des bactéries minéralisant le phytate.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., van de Broek, A., Vanderleyden, J. (1999).** Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil* .212:155–164.
- Downie, J.A. (2005).** Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Curr Biol.* 15: 6.
- Duhoux, E., and Nicole, M. (2004).** Atlas de Biologie végétale : associations et interactions chez les plantes. Paris : Dunod. 166.
- Dursun, A., Ekinciet, M., Donmez, M.F. (2008).** Effects of inoculation bacteria on chemical content, yield and growth in rocket (*Erucavesicariasubsp sativa*). *Asian J Chem.* 20:3197–3202.
- El Fakhkhri, M., Mahboub, S., BENCHEKROUN, M., Nasrellah, N. (2010).** Effet du stress hydrique sur la caractéristiques d'enracinement du blé dur (*Triticum Durum.Desf*).*Nature et Technologie* 03, pp 6-12.
- Ercisli, S., Esitken, A., Cangiet, R., Sahin, F. (2003).** Adventitious root formation of kiwi fruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. *Plant Growth Regul.*41:133–137.
- Ercisli, S., Esitkenet, A., Sahin, F. (2004).** Exogenous IBA and inoculation with *Agrobacterium rubi* stimulate adventitious root formation on hardwood stem cuttings of two rose genotypes. *Hort.*

Sci. 39:533–534.

-**Erturk, Y., Ercisli, S., Sekban, R., Haznedaret, A., Donmez, M.F. (2008)**. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of tea (*Camellia sinensis* var. *Sinensis*) cuttings. *Roum. Biotechnol. Lett.* 13:3747–3756.

-**Esitken, A., Ercisli, S., Karlidaget, H., Sahin, F. (2005)**. Potential use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in organic apricot production. In: Libek A., Kaufmane E., Sasnauskas A. (eds) International conference on environmentally friendly fruit growing. Tartu, Estonia, pp 90–97.

-**Fachman and Kraut. (1995)**. « Composition des aliments d'après le répertoire général des aliments ». Regal. Ed. Log Access. APRIFEL. 243

-**Feillet, P. (2000)**. Le grain de blé: composition et utilisation. INRAA Paris 308 pp .

-**Flaishman, M., Eyal, Z., Voisard, C., et Hass, D. (1990)**. Suppression of *Septoria tritici* by phenazine- or siderophores-deficient mutants of *Pseudomonas*. *Curr. Microbiol.* 20: 121-124.

-**Fougère, F., Le Rudulier, D., Streeter, J.G. (1991)**. Effet of Salt Stress on Amino Acid, Organic Acid, and Carbohydrate Composition of Roots, Bacteroids, and Cytosol of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology* 96:1228-1236.

-**Foy, C.D., Scott, B.J., et Fisher, J.A. (1988)**. Différences génétiques dans la tolérance des plantes à la toxicité du manganèse. Dans le *manganèse dans les sols et les plantes* (pp. 293-307). Springer, Dordrecht.

-**Frankenberger, Jr.W.T., et Arshad, M. (1991)**. Microbial production of plant growth regulating substances in soil. Pages 162-171 in C. Keel, B. Koller et G. Défago (réds.), *Plant growth-promoting rhizobacteria— progress and prospects*. IOBC/WPRS Bull. XIV/8.

-**Gaskins, M.H., Albrecht, S.L., et Hubbell, D.H. (1985)**. Rhizosphere bacteria and their use to increase plant productivity: a review. *Agric. Ecosyst. Environ.* 12: 99-116.

-**Gerhardt, P., Murray, R. G. E. (1994)**. Wood W.A. and Krieg N.R. *Methods for General and Molecular Bacteriology*. Washington DC, ASM, USA.

-**Gharzouli, R., Benguedouar, A. (2006)**. Influence d'agent mutagènes, les rayons Ultra-violet, sur la nodulation et les caractères phénotypiques de quelques espèces de *Rhizobium sp.*

-**Giroux, L. (2015)**. Caractérisation de rhizobactéries du groupe des *Bacillus* bénéfiques à la croissance de la tomate (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

-**Glick, B.R. (1995)**. L'amélioration de la croissance des plantes par des bactéries vivant en liberté. *Revue canadienne de microbiologie* , 41 (2), 109-117.

-**Graham, P.H., et Parker, C.A. (1964)**. Diagnostic features in the characterization of the root-nodule bacteria of legumes. *Plant Soil*, 20: 383-396.

- Grimes, H.D., et Mount, M.S. (1987). Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biol. Biochem.* 15: 127-132
- Guignard, J. L., & Dupont, F. (2005). *Botanique*. 13ème Edition Masson.
- Guinoolhet, M., and De Vilmorin, R. (1984). *Flore de France*, Editions du CNRS. Paris. 1879 pp.
- Hadas, R., Okon, Y. (1987). Effect of *Azospirillum brasilense*. inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biol Fertil Soils* .5: 241-247.
- Hajna, A.A. (1945). Triple Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal groups of Bacteria. *J. Bact.* 49 : 516-517.
- Hamadache, A., Boulafa, H., & Aknine, M. (1997). Mise en évidence de la période de sensibilité maximale du pois-chiche d'hivers envers les mauvaises herbes annuelles dans la zone littorale. *Revue Technique et Scientifique*.
- Hartmann, A., Baldani, I.I. (2006) The genus *Azospirillum*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (eds) *The prokaryotes*, vol 5: Proteobacteria: alpha and beta subclasses (chap. 3.1.5). Springer, New York, pp 115-140
- Hatta, M., Beyl, C.A., Gartonet, S., Diner, A.M. (1996). Induction of roots on jujube softwood cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. *J. Hort. Sci.* 71:881–886
- Herman, M.A.B., Nault, B.A., Smart, C.D. (2008). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.* 27: 996-1002.
- Hernandez, G., et Drevon, J.J. (1991). Influence de l'oxygène et de l'acétylène lors d'essais in situ à flux ouvert de l'activité de la nitrogénase (réduction de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) dans les nodules racinaires de *Phaseolus vulgaris*. *Journal of plant physiology* , 138 (5), 587-590.
- Höflich, G., Wiehe, W., et Kühn, G. (1994). Stimulation de la croissance des plantes par inoculation avec des micro-organismes symbiotiques et associatifs de la rhizosphère. *Experientia* , 50 (10), 897-905.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., et al. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams & Wilkins. Baltimore. 787 p.
- Howell, C.R., et Stipanovic, R.D. (1979). Suppression of *Pythium* ly/f/mum-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 69: 480-482.
- Howell, C.R., Beier, R.C., et Stipanovic, R.D. (1988). Production of ammonia by *Enterobacter cloacae* and its possible rôle in the biological control of *Pythium* preemergence damping-off by the bacterium. *Phytopathology* 78: 1075-1078.

- Howie, W.J., et Suslow, T.V. (1991).** Rôle of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4: 393-399.
- Inbar, J., et Chet, I. (1991).** Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soilborne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biol. Biochem.* 23: 973-978.
- Jagnow. (1987).** Inoculation of cereal crops and forage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: Possible causes of success and failure with regard to yield response - a review. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 150, 361-368.
- Jain, D. K., and Patriaui, D. G. (1985).** Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Canadian Journal of microbiology* 31: 206-210.
- Jordan, D.C. (1984).** Family III. Rhizobiaceae Conn 1938. In: N.R. Kreig and J.H. Holt (Ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol.1 the Williams & Wlkins Co. Baltimore.* p. 234-254.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Jules Bouharmont., Kellogg, E.A., Stevens, P. (2001).** *Botanique systématique : une perspective phylogénétique.* Edition de boeck.
- Kang, H.F., Zong, X.X., Guang, J.P., Youg, T., sun, X.L., Ma, Y., Redden, R. (2012).** Genetic diversity and relationship of global fababean (*vicia faba L.*) germ plasmreveled by.ISSR markers. *Theor APPL Genet.*124 :789-797.
- Kaymak, H.C., Yarali, F., Guvenc, I., et Donmez, M.F. (2008).** The effect of inoculation with plant growth rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Menthapiperita L.*) cuttings. *Afr. J. Biotechnol.* 7:4479-4483
- Kaymak, H.C., Guvenc, I. Yarali, F. et Donmez, M.F. (2009).** The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanussativus L.*) seeds under saline conditions. *Turk J Agric Forest,* 33:173-179.
- Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U ., Wirthner, P., Haas, D., et Défago, G. (1992).** Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5: 413.
- Kirdi, B., (2011).** Role des PGPR (plant growth promoting rhizobacteria dans la croissance végétale et la lutte contre les phanerogames parasites, Ecole national superieur agronomique, 83p.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, R., et Zablotowicz, R.M. (1989).** Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7: 39-44.



- Kloepper, J.W., Gutierrez-Estrada, A., et McInroy, A. (2007). Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.*53:159–167.
- Kose, C., Guleryuz, M., Sahnet, F., Demirtas, I. (2003). Effects of some plant growth promotingrhizobacteria (PGPR) on rooting of grapevine rootstocks. *ActaAgrobot .*56:47– 52.
- Kùc, J. (1987). Plant immunization and its applicability for disease control. Pages 255274 in I. Chet (réd.), Innovative approaches to plant disease control. John Wiley and Sons, New York.
- Kumar, V. et Narula, N. (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacterchroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, 28(3):301-305
- Labat, J.N. (1996). Biogéographie, endémisme et origine des légumineuses papilionacées .
- Laumonier, R. (1979). Cultures légumières et maraîchères, Tome 3. ED.J.B. BAILLIERE, 276 p.
- Lawes, D.A., Bond, D.A., et Poulsen, M.H. (1983). Classification, origine, méthodes d'élevage et objectifs. *La fève faba* , 23-76.
- Lazali, M. (2014). Etude des mécanismes agrophysiologiques et moléculaires d'adaptation à la déficience en phosphore chez la symbiose rhizobienne du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) Thèse de doctorat en science agronomique, Ecole nationale supérieure d'agronomie, 152pp.
- Leaungvutiviroj, C., Ruangphisarn, P., Hansanimitkul, P., Shinkawa, H., Sasaki, K. (2010) Development of a New Biofertilizer with high Capacity for N<sub>2</sub>-fixation, Phosphate and Potassium Solubilization and Auxin Production. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 1098-1101.
- Lebreton, J.C., Legraet, S., Guibert, S., Masson, F., Rigaud, J.P. and Roction, L. (2009). La fèverole d'hiver, chambre d'agriculture de l'Ome, 10p.
- Lee, KJ., Kamala-Kannan, S. Sub, H.S., Seonget, CK., Lee, G.W. (2008). Biological control of *Phytophthora* blight in red pepper (*Capsicum annuum* L) using *Bacillus subtilis*.*World J. Microb.Biot.*24:1139–1145.
- Leong, J. (1986). Siderophores: their biochemistry and possible rôle in the biocontrol of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 187-209.
- Lévêque, C., Mounoulou, J.C., (2001). Biodiversité, Dynamique biologique et conservation. Edition Dunod, Paris.
- Lifshitz, R., Kloepper, J.W., Kozłowski, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E.M., et Zaleska, I. (1987). Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can. J. Microbiol.* 33: 390-395.
- Lifshitz, R., Kloepper, J.M., Kozłowski, M., Simonson, C., Carlso, J., Tipping, E.M., Zaleska, I. (1987). Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can J Microbiol* 33: 390–397.

- Loper, J. E. et Buyer, J. S. (1991)**. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4: 5-13.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., & Herrera-Estrella, L. (2003)**. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current opinion in plant biology*, 6(3), 280-287.
- Maatallah, J., Berraho, E., Sanjuan, J., Lluch, C. (2002)**. Phenotypic characterization of Rhizobia isolated from Chickpea (*Cicer arietinum*) growing in Moroccan soils. *Agronomie*, 22: 321-329.
- Macking, H. (2007)**. Phytoremediation of contaminated soil on plant efficiency, rhizosphere bacteria and the physical effects of chemical agents. *Korea society for Applied Microbiology and Biotechnology*. 35: 26-271.
- Manoharachary, C., Mukerj, K. J. (2006)** Rhizosphere Biology-an Overview. (Eds), *Microbial Activity in the Rhizosphere*,, 7p.
- Mantelin, S., et Touraine, B. (2004)**. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *J. Exp. Bot.* 55:27–34
- Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, C.L. (1991)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Paris.
- Maougal, R. T., Brauman, A., Plassard, C., Abadie, J., Djekoun, A., & Drevon, J. J. (2014)**. Bacterial capacities to mineralize phytate increase in the rhizosphere of nodulated common bean (*Phaseolus vulgaris*) under P deficiency. *European journal of soil biology*, 62, 8-14.
- Molina-Favero, C., Creus, C.M., Simontacchi, M., Puntarulo, S., and Lamattina, L. (2008)**. Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* Sp245 and its influence on root architecture in tomato. *Mol. Plant Microbe Interact.* 21: 1001–1009.
- Mouafek, A. (2006)**. l'effet de la salinité sur la nodulation chez la fève (*Vicia faba L.*). Mémoire d'Ingénieur. Université Biskra. 40pp.
- Mouafek, A. (2010)**. La symbiose à Rhizobia chez la fève (*Vicia faba L.*) et La luzerne (*Medicago sativa L.*) dans la région de Biskra.Mémoire de magister. P 08.
- Mezani, S. (2011)**. Bioécologie de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* Boh. (Coleoptera: Bruchidae) dans des parcelles de variétés de fèves différentes et de féverole dans la région de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou) (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri).
- Microrsky, P.V. (2008)**. On the inside. *Plant. Physiol.* 146: 323-324.
- Mohammed Anwar, A., et Weifeng Liu. (2012)**. "Emballage et méthode empilés thermiquement améliorés." Demande de brevet américain n ° 13 / 446.874.
- Nagorska, K., Bikowski, M., Obuchowski, M. (2007)**. Multicellular behavior and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrôle agent.

Acta Biochimica Polonica, 54: 495-508.

-Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., Thonart, P. (2010). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health, p 15.

-Nkang, A.O., Okonko, O.I., Fowotade, A., Udeze, A.O., Ogunnusi, T.A., Fajobi, E.A., et al. (2009). Antibiotics susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. J. Bacteriol. Res. 1 (8) : 89-96.

-Nouri. (2012). La réponse de la fève Vici faba L. au stress salin. Cas d'un sol sableux amendé en bentonite. Thèse de magister. Universités .Souk-Ahras. P 89.

-Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M, et Sahin, F. (2006). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Sci Hortic 111:38–43.

-Ouserir, S., Chennaoui, N., & Benchabane, M. (2018). Bacterisation effects by *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium fabae* on nodulation stimulation and growth of bean (*Vicia faba L.* var. Hystal). *AgroBiologia*, 8(1), 775-785.

-Palleroni, N.J. (1984). Family 1. *Pseudomonas*. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume 1. Biol. Technol. 33: 193-203.

-Pawlowski, K. and Sprent, J.I. (2008). Comparison between actinorhizal and legume symbiosis. In : Pawlowski, K., Newton, W.E. Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses, Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress. Springer. 6: 261-288.

-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.

-Peron, J.Y. (2006). Références. Production légumières. 2eme Ed, 613pp.

-Pirlak, L., Turan, M., Sahin, F., et Esitken, A. (2007). L'application florale et foliaire de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sur les pommes augmente le rendement, la croissance et le contenu en éléments nutritifs des feuilles. *Journal of Sustainable Agriculture*, 30 (4), 145-155.

-Plaxton, W.C. (2004). Plant responses to stress: biochemical adaptation to phosphorus deficiency. In: Goodman RM, ed. Encyclopedia of Plant and Crop Science. Marcel Dekker, New York.

-Podile, A.R. et Kishore, G.K. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam SS (ed) Plant-associated bacteria: rhizosphere bacteria. Springer, Netherlands, pp 195–230

-Probanza, A., Lucas Garcia, J.A. et al. (2002). Pinus pineal seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus*. *Applied Soil Ecology*, 20: 75-84.

- Rajamamohan Rao, V., Jena, PK., Adhya, T.K. (1987). Inoculation of rice with nitrogen-fixing bacteria- problems and perspectives. *Biol Fertil Soils* 4, 21-26.
- Raupach, G. S, and Kloepper, J. W. (1998). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88: 1158-1164.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichlorn, S. E. (2000). *Biologie végétale*. 6ème Edition de boeck ,Paris.
- Reyes, M. E. Q., Rohrbach, K. G. and Paull, R. E. (2004). Microbial antagonists control. postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 33, 193–203 Books (Author and Editor) .
- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubiet, H., Valery, A. (2008). Selection and evaluation of growth promoting rhizobacteria on pepper and maize. *Bioagro*.20:37–48.
- Rinallo, C., Mittempergher, L., Frugiset, G., Mariotti, D. (1999). Clonal propagation in the genus *Ulmus*: improvement of rooting ability by *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 74:502–506.
- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J. C., Chambon, P., Champsau, H., Rodi, L. (1996), *L'analyse de l'eau*. 8 ème édition, Dunod, Paris, 1383 pp.
- Rodino-Klapac, LR., Haidet, A. M., Kota, J., Handy, C., Kaspar, B. K., et Mendell, J.R. (2009). Inhibition de la myostatine en mettant l'accent sur la follistatine en tant que thérapie pour les maladies musculaires. *Muscle & Nerve: Journal officiel de l'Association américaine de médecine électrodiagnostique* , 39 (3), 283-296.
- Rodriguez, M. N., Villalonga, R. D., Castillo, R. A. J., Marques, A. J. L., Gonzalez, L. R. Llaneset, S. P., Peguero, F. M. (2001). Influence of application of a biofertilizer based on *Azospirillum* on germination of seed and production of vegetable crops. *Centro Agricola* 28:38–41.
- Saadallah, K., Drevon, J. J., Abdelly, C. (2001). Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. *Agronomie*. 21: 627-634.
- Sadiki, M. et Rabih, K. (2003). Sélection du pois chiche pour la tolérance de la fixation symbiotique de l'azote au sel. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): *Fixation Symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA. Paris. Colloques, n°100. pp 233-244.
- Sahgal, M., Johri, B. N. (2006). Taxonomy of Rhizobia: current status. *Current science* .90: 488.
- Salantur, A., Ozturk, A., Akten, S., Sahinet, F., Donmez, F. (2005). Effect of inoculation with nonindigenous and indigenous Rhizobacteria of Erzurum (Turkey) origin on growth and yield of spring barley. *Plant Soil*, 275:147–156.
- Salantur, A., Ozturk, A. & Akten, S. (2006). Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. *Plant Soil Environ*, 52 : 111- 118.

- Sawada Young, J. M., Kuykendall, L. D., Martínez-Romero, E., Kerr, A. (2003). Classification and nomenclature of Agrobacterium and Rhizobium.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. & Chun, W. (2001). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press. Third edition 373p. St Paul, Minnesota (US).
- Schippers, B., Bakker, A. W., Bakker, P. A. H. M. et van Peer, R. (1991). Bénéficia! and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. Pages 211-219 in D.L Keister et P.B. Cregan (réds.), The rhizosphere and plant growth. Kluwer Académie Publishers, Netherlands.
- Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G., Mittler, R. (2008) .Metabolomics for plant stress responses.
- Siddiqui, H. (2007). Effect of phosphorus on growth and nodule formation of indigo plant under old himalyan piedmont field condition 2(6):21-24.
- Slack, P. T. (1987), Analytical methods manual. 2nd edition, British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead.
- Smith, F.W. (2001). Sulphur and phosphorus transport systems in plants. Plant Soil 232, 109-118.
- Sneh, B. (1981). Use of rhizosphere chitinolytic bacteria for biological control of Fusarium oxysporum f. sp. dianthi in carnation. Phytopathol. Z. 100: 251-256.
- Sobhanian, H., Motamed, N., Rastgar, J. F., Nakamura, T., et Komatsu, S. (2010) Salt stress induced differential proteome and metabolome response in the shoots of Aeluropus lagopoides (Poaceae), a Halophyte C4 Plant. Journal of Proteomic Research, 9, 2882-2897.
- Solomon Legesse and Fassil Assefa. (2014). Symbiotic and phenotypic characteristics of rhizobia nodulating faba bean (*Vicia faba L.*) from tahtay koraro, northwestern zone of Tigray Regional State, Ethiopia. IJTEEE: 2347-4289.
- Somasegaran, P., Hoben, H. J. (1994). Handbook for Rhizobia. Springer verlage New York. Inc .pp 450.
- Somasegaran, P. et Hoben, HJ (1994). Quantifier la croissance des rhizobiums. Dans *Handbook for rhizobia* (pp. 47-57). Springer, New York, NY.
- Soomro, A. H., Arain, M. A., Khaskheli, M., Bhutto, B. (2002). Isolation of Escherichia Coli from raw milk and milk products in relation to public health sold under market conditions at Tandojam. Journal of Nutrition. 1 (3) : 151-152.
- Sprent, J.I. (1995). Legume trees and shrubs in the tropics: N<sub>2</sub> fixation in perspective. Soil Biol. Biochem 27(4/5): 401-407.
- Sprent, J.I. (1999). Nitrogen fixation and growth of non-crop legume species in diverse environments. Perspective in Plant Ecology, Evolution and Systematics 2/2: 149-162.
- Stowers, M.D. (1985). Carbon metabolism in Rhizobium species .Ann. Rev Microbial, 39: 89-108

- Struffi, P., Corich, V., Giacomini, A., Benguedouar, A., Squartini, A., Casella, S., Nuti, M. P. (1998)** –Metabolic properties, stress tolerance and macromolècular profiles of rhizobia nodulating *Hedysarum coronarium*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 81-89.
- Sulieman, S.A. and Hago, T.E.M. (2009)**. The effects of phosphorus and farmyard manure on nodulation
- Sulieman, S.A., (2002)**. The Response of Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to Phosphorus as Influenced by Farmyard manure. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Shambat, University of Khartoum, Sudan.
- Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K. (2002)**. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane yields. *Field Crops Res.* 77:43–49.
- Sylla, M. B. (2005)**. Infections invasives à *Escherichia coli* dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré Bamako. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 58 p.
- Tang, C., Hinsinger, P., Drevon, J.J., Jaillard, B. (2001)**. Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago truncatula* L. *Annals Bot.*, 88.
- Thomas, F. (2008)**. La féverole confirme son intérêt. *Technique culturales simplifiées N°48*. 4ème édition. 102 p.
- Thomashow, L. S. et Weller. D. M. (1990)**. Application of fluorescent pseudomonads to control root diseases of wheat and some mechanisms of disease suppression. Pages 109-122 in D. Hornby (éd.), *Biological control of soil-borne plant pathogens*. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Tiso, M., & Schechter, A. N. (2013)**. P59: Enteric bacterial nitrate/nitrite/nitric oxide/ammonia metabolism. *Nitric Oxide*, 31, S38.
- Togay, Y., Togay, N., Dogan, Y. (2008)**. recherches sur les effets du phosphore et de molybdène applications sur le rendement et les paramètres de rendement pour les lentilles (*Lens culinaris* Medic.)
- van Peer, R., Niemann, G. J. et Schippers, B. (1991)**. Induced résistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81: 728-734.
- Vandamme, P. B., Grillis, P. D. V., Kersters, K. and Swing, J. (1996)**. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacteria systematic. *Microbiol. Rev.* 60: 407- 438.
- Vance, CP., Uhde-Stone, C., Allan, D. L. (2003)**. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157: 423–447.
- Vargas, D. P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suarez, J. J., Gonzalez, A. G. (2001)**. Inoculation of plant growth-promoting bacteria in lettuce. *Terra* 19:327–335.

- Vessey, J.K. (2003). Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, pp, 571–586.
- Vikram, A. (2007). Efficacy of phosphate solubilizing bacteria isolated from vertisols on growth and yield parameters of sorghum. *Res J Microbiol*, 2 : 550-559.
- Vittorio, V., Christoph, K. (2016.01.05). Signaling in the Rhizosphere. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants>. trends in plant science.
- Wajciechowski, M. F., Lavin, M., Sanderson, M. I. (2004). Aphytogeny of legumes
- Wall, L. G. (2000). The Actinorhizal Symbiosis. *J.Plant Growth Regul.*19: 167-182.
- Wang, H.F., Zong, X.X., Guan, J.P., Yang, T., Sun, X.L., Ma, Y., Redden, R. (2012). Genetic diversity and relationship of global Faba bean (*Vicia faba L.*) germplasm revealed by ISSR markers. *Theor Appl Genet*, 124: 789-797.
- Watt, J. R. (1972). *Le magistrat de district de la fin de la Chine impériale* . Columbia University Press.
- Wattiaux, M. A., Howard, T. M. (2001). Technical Dairy Guide: Nutrition and Feeding. University of Wisconsin. wheat, barley, and rye in three seeding ratios. *Crop Sci* 50:2148-2158.
- Wei, G., Kloepper, J.W. et Tuzum, S. (1991). Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant-growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-1512.
- Werner D., (1992). *Symbioses of plants and microbes*. Philipps-University Marburg Germany. Edition Chapman & Hall
- Xian G., Lixia Z., Ganzhen D., Chang L., Chengye L., Changwei Q., et al. (2011). Aerobes and Levels of Estradiol and Progesterone in Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex Bitches. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. ; 10 (8) : 965- 971.
- Xiong, L., and Zhu, J. K. (2002). Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell Environ*. 25, 131–
- Yang, J., Kloepper, J. W. Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci*. 14:1–4.
- Yildirim, E., Turan, M., Ekinci, M., Dursun, A., Gunes, A. & Donmez, M. (2015). Growth and mineral content of cabbage seedlings in response to nitrogen fixing rhizobacteria treatment. *Rom Biotechnol Lett*, 20(6): 10929–10935.
- Ying, T. C., Tsai, L. L., Keh-Ming, W., Jing-Jou, Y., I Wen, H., Min-Chi, L. et al. (2009). Genomic diversity of citrate fermentation in *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Microbiology*. 168 : 1-9.
- Zaghouane. (1991). The situation of Faba bean (*Vicia faba L.*) in Algérie. *Options méditerranéennes*. Present statut and future perspects of faba bean production, I.C.A.R.D.A. Serie

A, N010. 123-125p.

**-Zahran, H. H., Sprent, J.I. (1986).** Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*, *Planta* 167:303-309.

**-Zaidi, S. F. A. (2003).** Biocontrol of *Fusarium oxysporium* by plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) in soybean. *Ann. Agr. Res.* 24:676–678.

**-Zarei, M., Aminzadeh, S., Zolgharnein, H., Safahieh, A., Ghoroghi, A., Daliri, M., et al. (2010).** *Serratia marcescens* B4A chitinase product optimization using Taguchi approach. *Journal of biotechnology.* 8 (4) : 252-262.

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

**-Zhou, H., Wu, S., Joo, J.Y., Zhu, S., Han, D. W., Lin, T., & Siuzdak, G. (2009).** Génération de cellules souches pluripotentes induites à l'aide de protéines recombinantes. *Cellule souche cellulaire* , 4 (5), 381-384.



## Annexe:

### 1- Milieux de cultures:

#### 1- Milieu LB:

Composant	Quantité G/L
Peptone	10
Extrait de levures	5
Chlorure de sodium (NaCl)	10

### 2- Milieux de galerie biochimique:

#### 1- Mannitol mobilité:

Composant	Quantité G/L
Peptone de caséine	10
Mannitol	7.5
Nitrate de potassium	1
Rouge de phénol	0.04
Agar	3.50
pH final à 25°C	7,6 ± 0,2

#### 2- Citrate de Simmons:

Composant	Quantité G/L
Ammonium Dihydrogen Phosphate	1
Phosphate dipotassique	1
Chlorure de sodium	5
Citrate de sodium	2
Sulfate de magnésium	0.2
Gélose	15
Bleu de bromothymol	0,08

#### 3- Urée-Indole:

Composant	Quantité G/L
Urée	2
Tryptophane	0.3
Chlorure de sodium	0.5
Dihydrogénophosphate de potassium	0.1
Hydrogénophosphate de potassium	0.1
Rouge de phénol	0.0025
PH	7

**4- Clarck et Lubs:**

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
peptone	5
glucose	5
k <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5
pH	7.5

**5- Bouillon Nitrate:**

Bouillon nutritif additionné de nitrate de sodium (1%)

**6- Triple Sugar Iron (TSI):**

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Peptone de caséine	15
Peptone de viande	5
Extrais de viande	3
Peptone de levure	3
Chlorure de sodium	5
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	1
Citrate ammoniacal de fer	0.5
Thiosulfate de sodium	0.5
Rouge de phénol	0.024
Agar	12

# Caractérisation biochimique et effet de bactéries rhizosphériques sur la promotion de la croissance de la fève (*Vicia faba* L.) en hydroaéroponie

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

## Résumé :

Les légumineuses alimentaires sont considérées depuis longtemps comme les plantes à graines les plus cultivées avec les céréales par l'homme. La fève (*Vicia faba* L.) est parmi les légumineuses alimentaires les plus cultivées pour l'alimentation humaine et joue aussi un rôle dans la fertilisation des sols. Des recherches récentes ont prouvé que l'utilisation des PGPR comme inoculant constitue une alternative biologique soutenable pour la production végétale. Dans le but de caractériser une série des bactéries et inoculer des graines pour leur effet sur la croissance de la fève (*Vicia faba* L.), nous avons entrepris une expérimentation qui consiste à travailler sur des isolats bactériens préalablement isolés de la rhizosphère de la fève (*Vicia faba* L.) dans la région d'Ibn badis Constantine. Les résultats obtenus montrent que l'inoculation avec les souches de *rhizium* sp entraîne une augmentation racinaire et aérienne principalement pour les souches 23, et 100, des études complémentaires sont nécessaire afin de déterminer leur efficacité dans l'absorption des éléments nutritifs principalement le phosphore et l'azote.

**Mots clés :** légumineuses, *Vicia faba* L., *Rhizium*, *PGPR*, inoculation, hydroaéroponie.

**Laboratoire de recherche :** Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), Université Frères Mentouri (Constantine 1).

Jury d'évaluation :

**Président :** Pr.DJEKOUN A. (Grade - UFM Constantine 1),  
**Encadrant :** Dr. MAUGAL R.T (M.C.B-INATAA-UFM Constantine 1).  
**Examineur :** Dr. TEMAGOULT M. (M.A.A-SNV-UFM Constantine 1).

**Date de soutenance :** 09/07/2020