



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

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 :

Effet de l'inoculation de bactéries rhizosphériques sur la promotion de la croissance de la lentille (*Lens culinaris*) en culture hydroponique.

Présenté et soutenu par : ARROUDJ Fatima

Le : 08/07/2021

BENMEZDAD Nada

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr.KECHID M

(M.C.B-INATAA-UFM Constantine 1).

Encadrant : Dr. MAOUGAL R.T

(M.C.A-INATAA-UFM Constantine 1).

Examineur : Mr. TEMAGOULT M

(M.A.A-SNV-UFM Constantine1).

Année universitaire
2020 – 2021

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de Mon Père Amar

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie ce frumble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme, Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

A Ma Chère Mère Nadia

Aucun dédicace ne pouvait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables, sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A Mes Chers Frères

Ahmed, Abdou, Younes qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A Ma Grand-mère, Mes Oncles et Mes Tantes, Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

*Tous Les Cousin, Mes Amies, Merci pour leurs amours et leurs encouragements. Sans Oublier mon binôme **Nada** pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

Fatima

Dédicace :

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :
mon cher père **Salah Eddine**.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse: mon adorable mère **Sihem**.*

***A mon adorable petite sœur** Abir et mon ami Taki-Eddine qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

A mon grand-père, mes oncles et mes tantes. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les cousins, les voisins et les amis surtout que j'ai connu jusqu'à maintenant.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

*Sans oublier mon adorable binôme **Fatima** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension et surtout les beaux moments qu'on a passé ensemble tout au long de ce projet*

Nada

Remerciement

Nous remercions notre Dieu tout Puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

*Nous aimerons exprimer nos plus sincères remerciements à notre encadrant, **Dr.MAUGAL Rym Tinhinen** maîtres de conférences classe A à INATAA Constantine I, qui nous a guidées tout au long de la réalisation de ce travail, mais aussi pour la formation scientifique que nous avons acquise.*

*Nous tenons à remercier toute l'équipe des laboratoires de « Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales », en particulier, **Mr. Nadir BELBEKRI** pour son assistance et ses conseils, ainsi que **Mme ZAHRAOUI Chafika** et **Mme Bouldjedj Rima** qui ont été très patientes et bienveillantes avec nous.*

*Merci à la présidente **KECHID Maya** pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils et à L'Examineur **Dr. TEMAGOULT M.** Qui me fera l'honneur d'évaluer Mon travail.*

Nous adressons nos remerciements à tous nos enseignants. Nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience, tout au long de notre cursus universitaire.

Un grand merci à nos collègues de promotion ainsi qu'à toute personne qui a aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé :

Les légumineuses alimentaires sont considérées depuis longtemps comme les plantes à graines les plus cultivées avec les céréales par l'homme. En Algérie la lentille (*Lens culinaris*) est classée 3^{ème} culture légumineuses après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le petit pois (*Pisum sativum*)

Ce travail a pour objectifs de comparer l'effet de l'inoculation de 14 Bactéries rhizosphériques préalablement isolées et caractérisées pour le potentiel de promotion de la croissance (Laadjabi 2019) sur la promotion de la croissance de lentille en culture Hydroponique; et de mettre en évidence l'activité stimulatrice de croissance sur la germination des graines in vitro et la détermination de la longueur des tiges, racines poids frais et sec des plantes de la lentille (*Lens culinaris*).

Notre objectifs secondaire c'est de continuer le travail de **Nekkaa (2020)** de doser le phosphore accumulé dans des plantes de fèves inoculées l'année dernière et que nous n'avons pas pu doser à cause de la pandémie COVID 19.

Les résultats obtenus montrent que l'inoculation avec les souches de *Rhizobium sp* entraîne une augmentation racinaire et aérienne principalement pour les souches 24, 82,46, 100, qui sont des excellents candidats des PGPR de la lentille. Des études complémentaires sont nécessaire afin de déterminer leur efficacité dans l'absorption des éléments nutritifs principalement le phosphore.

Mots clé : Légumineuses, *Vicia faba L.*, *Lens culinaris*, *Rhizobium*, PGPR, inoculation, hydroaéroponie.

Abstract:

Food legumes have long been considered the most widely cultivated seed plants alongside cereals by humans. In Algeria the lens (*Lens culinaris*) is classified 3rd legume crop after beans (*Phaseolus vulgaris*) and peas (*Pisum sativum*)

The objectives of this work are to compare the effect of inoculation of 14 rhizospheric bacteria previously isolated and characterized for the growth promotion potential (Laadjabi 2019) on promoting lens growth in hydroponics; and to demonstrate the growth stimulating activity on seed germination in vitro and the determination of the length of stems, roots, fresh and dry weight of lentil plants (*Lens culinaris*).

Our secondary objective is to continue the work of Nekkaa (2020) to assay the phosphorus accumulated in bean plants inoculated last year that we were unable to assay due to the COVID 19 pandemic.

The results obtained show that inoculation with *Rhizobium sp* strains results in root and aerial increase mainly for strains 24, 82, 46, 100, which are excellent candidates for lentil PGPR. Further studies are needed to determine their effectiveness in absorbing nutrients mainly phosphorus.

Keywords: Legumes, *Vicia faba L.*, *Lens culinaris*, *Rhizobium*, PGPR, inoculation, hydroaeroponie.

ملخص:

لطالما اعتبرت البقوليات الغذائية أكثر نباتات البذور المزروعة على نطاق واسع إلى جانب الحبوب من قبل البشر. في الجزائر، يُصنف العدس (*Lens culinaris*) محصول البقول الثالث بعد الفول (*Phaseolus vulgaris*) والبالاء (*Pisum sativum*) تتمثل أهداف هذا العمل في مقارنة تأثير تلقيح 14 نوعًا من بكتيريا الغلاف الجذور التي تم عزلها سابقًا وتميزت بإمكانية تعزيز النمو (Laadjabi 2019) على تعزيز نمو العدسة في الزراعة المائية ؛ ولإثبات نشاط تحفيز النمو على إنبات البذور في المختبر وتحديد طول السيقان والوزن الطازج والجاف لنبات العدس (*Lens culinaris*). هدفنا الثانوي هو مواصلة عمل (NEKKAA 2020) لفحص الفوسفور المتراكم في نباتات الفول التي تم تلقيحها العام الماضي والتي لم تتمكن من فحصها بسبب جائحة COVID 19. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن التلقيح بسلاسل الرايزوبيوم ينتج عنه نمو جذر وجوي بشكل رئيسي للسلاسل 24 ، 82 ، 46 ، 100 ، والتي تعتبر مرشحة ممتازة للعدس PGPR. هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتحديد فعاليتها في امتصاص العناصر الغذائية بشكل رئيسي الفوسفور. لكلمات الرئيسية: البقوليات، الفول. عدس، ريزوبيوم، PGPR، التلقيح، الزراعة المائية

Liste des abréviations

ANOVA:	Analysis of variance
CaCl₂:	Le chlorure de calcium
Cm:	Centimètre.
CuSO₄ :	Le sulfate de cuivre(II)
DRB :	deleterious rhizobacteria
Fe-EDTA:	Ferric EDTA
GBBV :	Génétique, Biochimie et biotechnologie Végétale
H₃BO₃ :	L'acide borique
ISR :	La résistance systématique induite
K₂SO₄:	Le sulfate de potassium
LSD:	Least Square difference
MgSO₄:	Sulfate de magnésium
Milieu LB:	Milieu Luria-Bertani.
MnCl₂:	Le chlorure de manganèse(II)
N :	Azote
NaMoO₄ :	Le molybdate de sodium
Nc :	Non inoculé.
P :	phosphate
PGPR :	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
pH:	Potentiel hydrique.
PSB :	Bactérie solubilisatrice du phosphate
TG% :	Taux de germination
TMG :	Temps moyen de germination
ZnSO₄ :	L'acide borique

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Représentation schématique des zones de la rhizosphère	3
2	Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère	4
3	Zones d'aptitude de la culture de la lentille (<i>Lens culinaris</i>) en Algérie.	11
4	Différent étapes de la description morphologique de la lentille.	13
5	<i>Lens culinaris</i> subsp. <i>Odemensis</i> (Ladiz.).	14
6	<i>Lens culinaris</i> subsp. <i>Orientalis</i> (Boiss.)	15
7	Quelque variété cultivée de lentille en Algérie	16
8	Broyage et conservation des plantes.	18
9	Quelques étapes du protocole.	19
10	Quelque étapes sur stimulatrices de croissance.	22
11	Lancement de la culture hydroponique dans les bacs	23
12	Matières fraîche et sèche	24
13	Concentration du phosphore dans la partie racinaire et aérienne de la fève (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	25
14	Taux de germination des graines inoculés en comparaison avec le témoin non inoculé.	27
15	Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance des souches isolées, sur la germination des graines de lentille après incubation pendant 7 jours.	28
16	Taux de levée des plantes de la lentille pour les trois semaines	29
17	Taux de survie des plantes de la lentille pour les trois semaines.	30
18	Paramètre de croissance sur la hauteur de la tige pour trois semaines.	31
19	Paramètre de croissance sur la longueur de la tige pour trois semaines.	32
20	Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne.	33
21	Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne.	33

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Position systématique de <i>Lens culinaris</i> .	13
2	Préparation de la gamme	19
3	Taux et le temps de germination	18

Sommaire

INTRODUCTION	01
Partie synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Les PGPRs	
I- PGPRs et leurs modes d'actions.....	03
1-Rhizosphère.....	03
2- Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....	03
3- Différents genres desPGPR.....	04
3-1- Azospirillum.....	04
3-2-Pseudomonas.....	04
3-3-Bacillus.....	05
3-4-Rhizobium.....	05
3-5-Frankia.....	06
4-Modes d'actions des PGPR.....	06
4-1-Modes d'actions directes.....	06
4-1-1-fixation d'azote.....	06
4-1-2-solubilisation du Phosphate.....	06
4-1-3-Production d'hormones de croissance.....	07
4-2-Modes d'actions indirecte.....	07
II-Effet des PGPR sur la croissance végétale.....	07
1-Stimulation de la Germination des graines.....	08
2-Enracinement.....	08
3-Absorption des nutriments.....	09
4-Rendement.....	09

Partie synthèse bibliographique

Chapitre 2: Les légumineuses

1-Généralité sur les légumineuses.....	10
2-L'importance agro-économique et nutritionnelle des légumineuses.....	10
3-Origine et historique de la lentille (<i>Lens culinaris</i>)	10
4-Description de la plante (<i>Lens culinaris</i>)	12
5-Position systématique.....	13
6- Variétés de la lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	14
7- Principales variétés connues en Algérie.....	15
8-Intérêt de la lentille (<i>Lens culinaris</i>)	16
8.1 Intérêt agronomique et nutritionnel de la lentille.....	16
8.2 Intérêt économique et écologique.....	17

Partie Matériel et Méthodes

1-Lieu et durée du travail pratique.....	18
2-Objectif du travail.....	18
3-Dosage du Phosphore accumulé dans la fève inoculé par la méthode au jaune.....	18
4-Difficultés rencontrés.....	20
5-Matériel biologique.....	20
6-Préparation de la germination.....	20
7-Contrôle de la germination.....	21
7.1 Temps et moyen de germination.....	21
7.2 Taux de germination.....	21
8- Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de la lentille.....	22
9-Mise en culture des légumineuses en hydroponie.....	22
10-Parametre morphologique	23
10.1 Taux de levée.....	23
10.2-Taux de survie.....	23
10.3- Hauteur de la tige.....	23
11-Evaluation statistique.....	24
12-Evaluation statistique.....	24

Partie Résultats et discussion

1-Dosage du phosphore accumulé dans la fève inoculé.....	26
2- Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de la lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	26
2-1-Taux de germination.....	27
2-2-Effet de l'inoculation sur la germination.....	27
3-Mise en culture des légumineuses en hydroponie.....	28
3-1-Taux de germination des lentilles.....	28
3-2 Taux de levée.....	29
3-3-Taux de survie.....	30
3-4-Effet de l'inoculation sur la croissance.....	30
3-4-1 Hauteur des tiges des plantes la lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	31
3-4-2 Longueur des racines des plantes la lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	31
4- Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne.....	32
4-1 Poids frais de la partie aérienne des plantes de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	33
4-2 Poids frais de la partie racinaire des plantes de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	33
5- Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne.....	34
5-1 Poids sec de la partie aérienne des plantes de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	34
5-2 Poids sec de la partie racinaire des plantes de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	35
Conclusion.....	37
Références.....	40
Annexes.....	45

Introduction :

Les légumineuses à graines occupent une place privilégiée dans l'alimentation par leur richesse en protéines et leur valeur nutritive. Elles jouent également un rôle essentiel dans la rotation des cultures grâce à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique (**Mylona et al., 1995**).

En Algérie, la lentille (*Lens culinaris*) est classée comme la troisième importante culture légumineuse après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le petit pois (*Pisum sativum*) et joue un rôle important dans l'amélioration de la fertilité des sols lors des rotations de cultures.

L'utilisation de la lentille occupe une ampleur considérable et rentre dans les principales préoccupations du plan de développement des cultures de légumineuse initié par le Ministère d'agriculture et du développement rural, Algérie.

Malgré, la faible superficie exploitée pour les cultures de la lentille, environ 1.5% de la totalité du sol est réservée aux légumineuses, la lentille est cultivée sur de grande surface à l'Est, au centre et à l'Ouest du pays (**Ait Abdellah et al., 2011**).

Les progrès déployés par le gouvernement dans la productivité de la lentille ont permis l'amélioration des cultures de différentes variétés, la fertilisation et une meilleure protection.

La production de légumineuse en Algérie demeure toujours irrégulière et semble être étroitement liée à un certain nombre de facteurs abiotiques tels que l'irrégularité dans les précipitations pluviales, les techniques agricoles, la nature des sols etc...) et abiotique (potentiel génétique, maladie, ravageur etc...) (**Abdelguerfi et al., 2001**).

Les problèmes phytosanitaires occupent une place particulièrement importante et constituent l'un des facteurs limitant le développement et l'amélioration de cette culture. À cet effet, des solutions alternatives permettant la diminution de l'emploi de pesticides sont envisagées telles que la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie ect...) et l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisement sélectifs, insertion de gènes, ect...) et le développement de bio pesticides (**Adam., 2008**).

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 doser le phosphore accumulé dans des plantes de fève inoculées l'année derrière et de tester les capacités de quatorze bactéries et leur effet sur la promotion de la croissance de la lentille (*Lens culinaris*).

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 leurs modes d'action et en fin les différents effets sur la croissance végétale.
 - La lentille (*Lens culinaris*): contient des généralités sur les légumineuses et la plante de la lentille 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

Chapitre 1 : Les PGPRs et leurs modes d'actions

1-La Rhizosphère :

Le terme rhizosphère a été utilisé pour la première fois par Lorenz Hitner en 1904 (Morgan *et al.*, 2005). La rhizosphère est la zone du sol qui est sous l'influence des exsudats racinaires. Dans cette zone se trouve un groupe particulier de bactéries, les rhizobactérie. Ces dernières sont capables de se multiplier et de rivaliser avec les autres microorganismes pour occuper cette zone riche en élément nutritifs (Kloepper *et al.*, 1993).

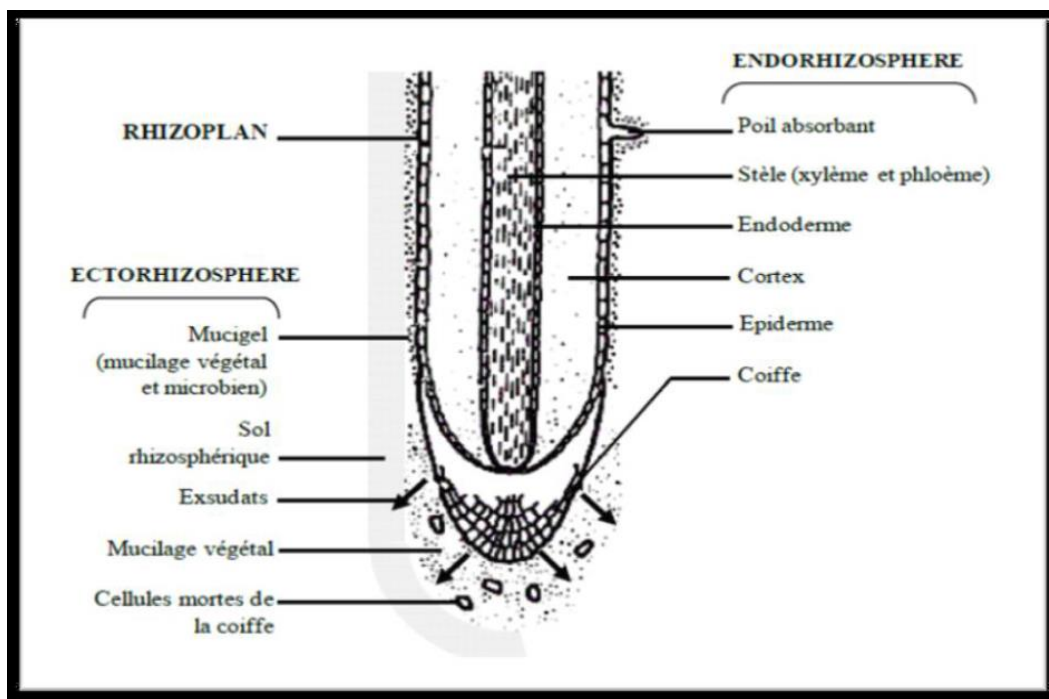


Figure 01 : représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay ; 2015).

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

Le terme PGPR provenant de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes (Abnatura.,2013). Les rhizobactéries sont des bactéries qui présentent l'aptitude à coloniser les racines de façon intense (Schroth et Hancock., 1981., 1982).

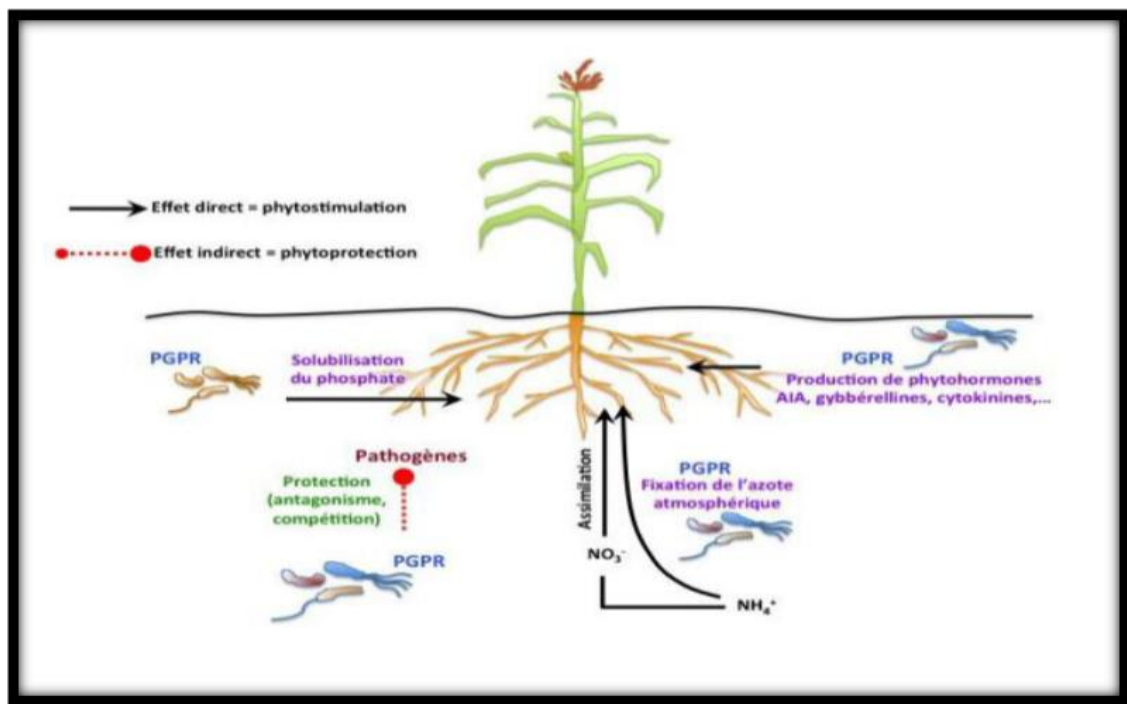


Figure 2 : Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère (Khan *et al.*, 2009).

3-Différents genres des PGPR :

3.1 Azospirillum :

Les espèces d'Azospirillum isolées à partir des rhizosphères de plusieurs céréales à travers le monde principalement dans des régions tropicales et tempérées sont utilisées depuis les années 1970. Cette bactérie initialement sélectionnée par sa capacité fixatrice de l'azote atmosphérique représente un bon candidat PGPR (Antoun et Prevost.,2005).

3.2 Pseudomonas :

Les Pseudomonas et les Pseudomonas fluorescentes sont des bactéries ubiquistes, rencontrées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (Sahran et Nohra.,2011). Les effets bénéfiques de la bactérisation des graines sont observés lors de l'inoculation des graines de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) par *P.fluorescens* et *P.putida* (Bur *et al.*,1978,Albouvette *et al.*.,1993) ont démontré que lors de l'utilisation de *Fusarium oxysporum*, *p. fluorescens* et *P.putida* se manifestent comme principales

candidates de contrôle biologique du flétrissement fusarien, avec une application bénéfique pour la suppression des fusarioses chez plusieurs espèces des plantes (**Chung et al .,2005**).

3.3 Bacillus :

Certaines espèces de genre *Bacillus* sont des diazotrophes, notamment *B. subtilis*, isolée à partir des rhizosphères de diverses plantes à des concentrations supérieures à 10^7 bactéries par gramme de sol rhizosphériques (**Antoun et Prevost., 2005**).

3.4 Rhizobium :

Les rhizobiums sont des bactéries Gram négatif, possédant une forme de bâtonnets de 0,6 à 0.9 μm de largeur et de 1.2 à 3 μm de longueur et non sporulant (**Jordan., 1984**). Phylogénétiquement, ils appartiennent à la subdivision des α_+ (**Zakhia et de Lajudie, 2001 ; Laranjo et al.,2002**)

. Ceux sont des bactéries mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles pétriques (**Werner., 1992**).

Ces bactéries appartenant à la famille des rhizobiaceae (**Elkan, 1992**), sont capables d'induire la formation de nodules sur les racines et parfois les tiges (**Schultze et Albech et al., 1999**) Par une association symbiotique avec la plupart des membres de la famille de légumineuse. Cette symbiose présente un haut niveau de spécificité d'hôte, basée sur une communication moléculaire entre les deux partenaires (**Pelmont ., 1995**).

3.5 Frankia :

L'actinomycète *Frankia* est une bactérie Gram-positif filamenteuse, et non un champignon comme le pensaient les microscopistes du XIX^{ème} siècle. Il s'agit plus précisément d'un actinomycète en raison de ses caractéristiques morphologiques et biochimiques (**Duhoux et Nicole., 2004**).

4-Mode d'action des PGPR :

Le mode d'action des PGPR sont regroupés traditionnellement en directs et indirects. Bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectant directement leur nutrition, leurs métabolisme et leurs développement, tandis que les mécanismes indirects, en général ; sont ceux qui se produisent en dehors des plantes et touchent surtout tout ce qui en relation avec le bio contrôle (**Downie., 2005**).

4.1 Mode directe :

Les PGPRs participent à augmenter la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ceci stimule directement le développement et la croissance de la plante, les mécanismes les plus important sont cité ci-dessous.

4.1.1 Fixation biologique d'azote :

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

4.1.2 La solubilisation du Phosphate :

Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes. En cas de carence, le P devient élément nutritif limitant de la croissance végétale. Même dans les sols riches en phosphate, la plus grande quantité de cet élément n'est pas forcément sous forme assimilable (**Ezawa et al ., 2002**).

En agriculture, le manque du phosphate est généralement compensé par l'ajout d'engrais chimique phosphatés au sol. Cependant, il est rapidement immobilisé et devient donc inutile pour les plantes (**Mara et al ., 2014**). De plus, le cout élevé des engrais, l'accumulation des contaminants phosphatés dans le produit agricole, les sous-produit de l'agroalimentaire et l'atmosphère , mais aussi l'accumulation de métaux lourds en trace (présent dans l'engrais) dans le sol ont obligé à rechercher de meilleurs outils pour réduire l'utilisation de tels engrais chimiques (**Song et al.,2008 ;Sharma et al.,2013**). Parmi ces alternatives, l'utilisation de bactérie solubilisatrice du phosphates (PSB) est l'une des options les plus écologique pour

éviter ou minimiser l'utilisation exagérée des produits chimique en agriculture (Vijayalakshmi *et al.*, 2016).

4.1.3 Production d'hormones de croissance :

Plusieurs étapes de la croissance et du développement des plantes telles que l'élongation et la division cellulaires, la différenciation tissulaire, et la dominance apicale sont régulée par des hormones. De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR. Bien que le rôle de la biosynthèse de ces phytohormones par ces microorganismes ne soit pas entièrement expliquée, il est à noter que les mécanismes directs des PGPR sur la croissance des plantes comprennent la production d'hormones telles les auxines, les cytokinines, les acides gibbérelliques et l'abaissement du taux d'éthylène chez la plante (Costacurta et Vanderleyden 1995 ; Glick, 1995 ; Lucy *et al.*, 2004).

4.2 Modes indirects :

Le principal avantage de l'utilisation des PGPR est la résistance conférée aux plantes contre les maladies causées par les agents pathogènes. Les rhizobactéries jouent un rôle majeur dans la lutte contre ces agents. Où un large spectre des maladies bactériennes, fongique et parasitaire est supprimé via la production d'antibiotique, compétition (pour les éléments nutritifs, l'oxygène et l'espace), l'activation de la résistance systémique induite (ISR) et la production des enzymes (chitine, protéase, lipase), cette protection est nommé bio contrôle. De plus, les PGPR peuvent être utilisées comme un biofertilisant efficace dans l'amélioration du rendement des cultures par la production d'enzymes telles que (cellulases, amylases, etc.) (Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Glick2012 ; Tariq *et al.*, 2004).

II-Effet des PGPR sur la croissance végétale :

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes exercés par les PGPR dont les modes d'action sont directs ou indirects. Bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur métabolisme tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes. Sur la base de leurs activités (Somers *et al.*, 2004).

1-Stimulation de la germination des graines :

Les PGPR ont un effet bénéfique sur la croissance des plantes telle que l'augmentation du taux de germination des graines. Plusieurs études ont prouvé que l'utilisation des PGPR telles que *Azospirillum sp* (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 Parmi les effets bénéfiques des PGPR sur les plantes figurent la stimulation de la germination des graines et du développement végétal ainsi que l'amélioration de l'obtention des éléments minéraux et l'utilisation de l'eau. (Jacoud *et al.*., 1999 ; Dobbelaere *et al.*., 2002 ; Khalid *et al.*, 2004). L'effet bénéfique des PGPR sur la germination des semences est aussi remarquable par leur pouvoir de coloniser la rhizosphère contre d'autres bactéries inhibitrices de la germination appelées rhizobactéries (DRB) qui sont des saprophytes non pathogènes (Alstrom., 1991).

2-Enracinement :

Plusieurs facteurs physiologiques et environnementaux influencent la formation des racines, les traitements exogènes des boutures étant particulièrement important (Couvillon., 1998). Les producteurs ont tenté de stimuler l'enracinement en appliquant diverses substances chimiques comme régulateurs de croissance. Cependant, l'utilisation des 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 (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 qui aide les plantes pour le maintien de leurs besoins nutritifs. Les PGPR ont l'avantage de favoriser l'absorption des nutriments (Yang *et al.*, 2009). Le phosphore et l'azote sont les nutriments -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 et *Bacillus* OSU-142 appliquées sur les feuilles et les fleurs des pommiers ont considérablement amélioré le rendement, 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. 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).

Chapitre 2 : Les légumineuses

1-Généralités sur les légumineuses :

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones appartenant à la famille des Fabacées, qui représentent la troisième famille de plantes par le nombre d'espèces (à savoir 18000 référencées) après les Composés Astéracées et les Orchidées, (Schneider *et al.*,2015).

La particularité biologique des Légumineuses la plus connue est leur aptitude à s'associer à des bactéries du sol (Rhizobiaceae), formant des nodosités ou nodules au sein desquels ces bactéries transforment l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante, (Mylona *et al.*, 1995), ce qui leur permet de faire produire en abondances des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azotée, d'où leur intérêt également dans le cadre d'une agriculture durable (réduction des intrants) (Journet *et al.*, 2001).

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

En Algérie, les légumineuses alimentaires (légumes secs), font partie du paysage agricole depuis des millénaires. Cette culture a un intérêt national car leurs grains constituent une source protéique de qualité et à bas prix pour une large couche de la population. Susceptible de remplacer les protéines animales. Ils sont aussi calorifiques et riches en glucides que le blé Ainsi, l'Etat souhaite développer la production afin de mieux satisfaire les besoins, de réduire les importations et de limiter la dépendance économique vis-à-vis de l'étranger. Parmi les légumineuses les plus consommées au monde, citons la lentille cultivée, qui fait partie de l'alimentation humaine depuis la préhistoire (Saskatchewan, 2000).

3-Origine et historique des lentilles :

Lens est un genre qui comprend six espèces de légumineuses annuelles parmi elles l'espèce des *Lens culinaris* l'une des plus anciennes plante vivrières (Ulmann, 2005).

La lentille est probablement la première légumineuse domestiquée par l'homme; depuis sa domestication elle est cultivée en rotation avec les céréales et utilisée pour la nutrition humaine (Muehlbauer *et Tullu*, 1997).

Dans l'antiquité la lentille faisait régulièrement partie de l'alimentation des Grecs, des Juifs et des Romains et c'était le plat de subsistance des pauvres en Egypte, grâce à la richesse de ses graines en protéines et d'autres micronutriments (**Grusak, 2009**). Les plus anciens restes archéologiques de la lentille étaient retrouvés en Grèce et datent de 11 mille ans avant J.C, ainsi qu'en Syrie, datant de 8500 avant J.C., mais on ne savait pas bien s'il s'agissait de plantes sauvages ou cultivées. Ce n'est qu'à partir du 5ème millénaire avant J.C que l'on trouve des graines identifiées sans conteste comme domestiques (**Yunnus et Jackson, 1991**).

Ses centres d'origine sont le Proche Orient et l'Asie de l'Ouest d'où elle s'étend aux différentes régions dans le monde. Elle est cultivée en Asie (Turquie, Inde et Syrie) et en Afrique (Ethiopie, Maroc). Elle est fortement cultivée en Amérique du Nord (Canada, Etats Unies). L'Australie est devenue un grand producteur depuis 1990 (**Erskine et al., 2009**). Elle est également cultivée dans d'autres pays de la Méditerranée et en Amérique Latine.

La culture des lentilles en Algérie n'occupe que 1.5% de la totalité des terres réservées aux légumineuses alimentaires (**Ait Abdellah et al., 2011**) ; elle s'étale sur une grandes surfaces dans les hautes plaines (Tiaret, Saida, Sétif).

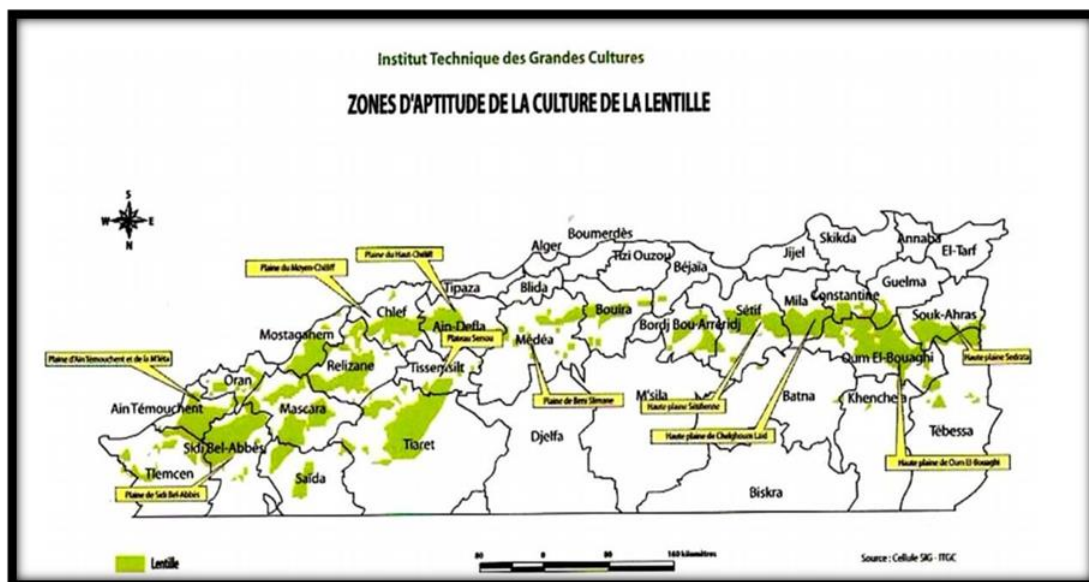


Figure 3 : Zones d'aptitude de la culture de la lentille (*Lens culinaris*) en Algérie. (ITGC, 2013).

4-Description de la plante de lentille (*Lens culinaris*) :

Lorsque les températures sont optimales, les graines de lentilles germent en 5 à 6 jours et la floraison débute entre la 6^{ème} et la 7^{ème} semaine après le semis, le cycle de croissance est de 80 à 110 jours pour les cultivars à cycle court et de 125 à 130 jours pour les cultivars à cycle long (**Begiga, 2006**). Chaque cycle comprend deux phases :

- Phase végétative : Cette phase comprend deux stades : la croissance et la production des feuilles
- Phase reproductive : Elle est représentée par la floraison, la fructification et la production des graines (**Schwartz et Langham, 2012**).

- **Description morphologique de la plante :**

Plante dicotylédone, herbacée annuelle de 20 à 40 cm de hauteur, fait partie des légumes secs (**Duke., 1981 ; Muehlbauer et al., 1985**).

- **Racine:** Pivotante mince (**Sarker et al., 2005**).
- **Tige :** Dressée et très rameuse, carrée mince, atteinte rarement plus de 45 cm de hauteur et a une croissance indéfinie (**Saskatchewan., 2002 ; Saskatchewan Pulse Growers., 2000**).
- Feuilles :** alternes, composés et pennées à 5-16 folioles, généralement terminées par une vrille ou une soie (**Slinkard., 1990**).
- Fleurs et floraison :** à la corolle papilionacée typique de la sous-famille des Fabaceae (**Vandenberg et Slinkard., 1990**), sont de couleur blanche ou bleue pâle et groupées par petites grappes de deux à quatre (**Vandenberg et Slinkard., 1990**).
- **La floraison** estivale intervient entre mai et juillet (**Brink et Belay., 2006**).
- **Fruit :** Gousse rhomboïde aplatie, courte, contenant deux graines aplaties en forme caractéristique de disque faiblement bombé (**Vandenberg et Slinkard., 1990**).
- **La couleur** des graines varie selon les variétés des plus pâtes (vert pâle, blond, rose) au plus foncé (vert foncé, brun, violacé...).



Figure 4 : Différent étapes de la description morphologique de lentille. **Anonyme, 2016.**

5- Position systématique :

L'espèce *Lens culinaris* (lentille cultivée) est une espèce de plantes dicotylédones annuelles appartenant à la l'ordre des Fabales et à la famille des Fabaceae ou légumineuses. Selon **Brink et Belay (2006)**, le plan taxinomique de la lentille se présente comme suit :

Tableau 1 : position systématique de lentille (*Lens culinaris*).

Règne:	Plantea
Sous-règne:	Tracheobionta
Division:	Magnoliopsida
Sous - classe:	Rodidae
Ordre:	Fabales
Famille:	Papilionaceae (Leguminosae - Papilionoideae, Fabaceae)
Genre:	<i>Lens</i>
Espèce:	<i>Lens culinaris</i> Medik

6-Les espèces des lentilles :

Quatre variétés appartenant au genre *Lens* ont été reconnues, sur la base de caractères morphologiques, de la capacité à s'hybrider, et de données cytogénétiques, biochimiques et moléculaires ; il s'agit de *Lens culinaris* (qui comporte des types tant sauvages que cultivés) et de 3 espèces sauvages : *Lens nigricans* (M.Bieb.) Godr, *Lens lamottei* Czefr. Et *Lens ervoides* (Brign.) Grande se trouve en Afrique orientale (Ethiopie et Ouganda). *Lens culinaris* a été divisé en 4 sous-espèces (une cultivée et trois sauvages) :

- Lens culinaris* subsp. *Culinaris*: stipules entières, lancéolées, gousse indéhiscente, glabre, tégument tacheté ; c'est la lentille cultivée.
- Lens culinaris* subsp. *Odemensis* (Ladiz.): stipules légèrement hastées, celles du bas au moins légèrement dentées, gousse déhiscente, glabre, tégument recouvert d'un motif en W, originaire de Libye, d'Israël, de Turquie et de Grèce.



Figure 5 : *Lens culinaris* subsp. *Odemensis* (Ladiz.) (Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew).

- Lens culinaris* subsp. *Orientalis* (Boiss.) Ponert: stipules entières, obliquement lancéolées, gousse déhiscente, glabre, tégument généralement tacheté ; c'est l'ancêtre sauvage de la lentille cultivée, répartie depuis la Grèce jusqu'à l'Ouzbékistan et depuis la péninsule de Crimée jusqu'en Jordanie.



Figure 6 : *Lens culinaris* subsp. *Orientalis* (Boiss.) **Anonyme 2021**

•*Lens culinaris* subsp. *Tomentosus* (Ladiz.): Stipules entières, obliquement lancéolées, gousse déhiscente, tomenteuse, tégument tacheté ; originaire de Syrie et de Turquie (**Brink et Belay 2006**).

7-Principales variétés connues en Algérie :

En Algérie, on distingue les lentilles de culture locales et les lentilles de culture européenne. Les premières, cultivées depuis les temps ancestraux sont des mélanges variables de formes diverses. Beaucoup de variétés anciennement cultivées ont disparu.

Plusieurs variétés ont été introduites, et plusieurs nouvelles d'entre elles ont été sélectionnées en fonction de leur capacité d'adaptation aux différentes conditions agro climatiques rencontrées dans le pays (**FAO., 2006 ; INRA., 2013**).

Les principales variétés actuellement cultivées sont les suivantes (Figure 07) :

- **La large blond Métropole** : isolée en 1942 en France, elle est de couleur verdâtre et de bonne qualité culinaire.
- **La large blond de Chili** : isolée en 1952 au Chili, les graines sont larges de couleur verdâtre et de bonne qualité culinaire.
- **La large vert d'Algérie** : isolée en 1950 à Tiaret, de bonne qualité culinaire.

- **Syrie 229** : issue d'une sélection locale sur population introduite de Syrie, les graines de cette variété sont arrondies de couleur vert-jaune, elle est de très bonne qualité culinaire.
- **Balkan 755** : issue d'une sélection locale sur population introduite dans la région de Sersou, ses graines sont larges de couleur marron, elle est aussi de bonne qualité culinaire.

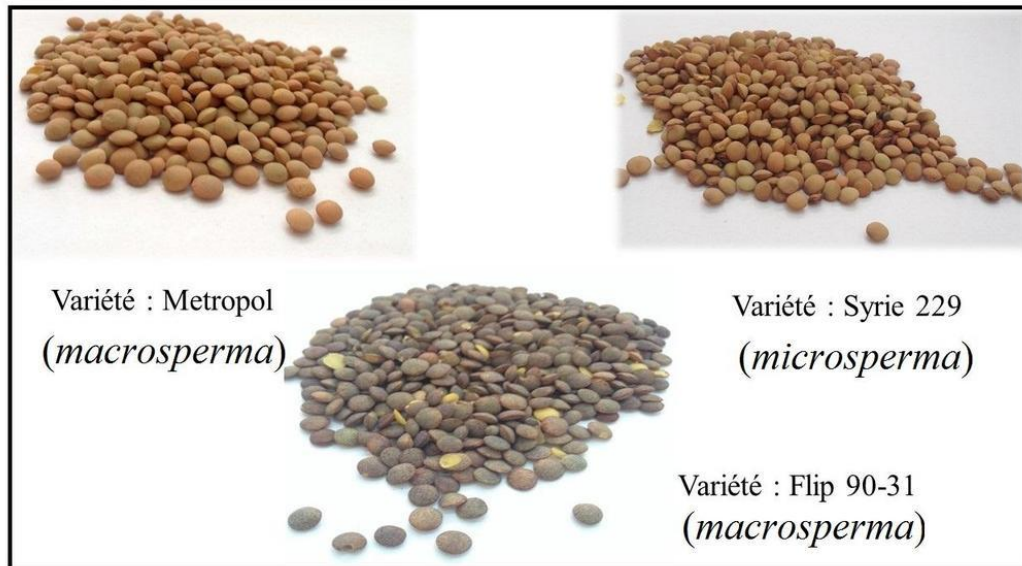


Figure 07 : Quelques variétés cultivées de la lentille en Algérie, (ITGC., 2013).

8-Intérêt de lentille :

8.1 Intérêt agronomique et nutritionnel de la lentille :

La culture de la lentille enrichit le sol en azote, donc elle induit une diminution en apport en engrais azoté et assure un assolement et une rotation (graminées et légumineuses) pour optimiser l'exploitation agricole et la diversification de la production agricole. La plante est surtout cultivée pour ses graines, récoltées et exportées comme aliment, cependant, la paille est aussi utilisée, comme aliment de qualité supérieure pour le bétail ou comme source de matière organique pour l'amélioration des sols (Saskatchewan Pulse Growers, 2000).les graines de lentille peuvent servir de nourriture parfois aux animaux, en particulier les volailles pour leur procurer des protéines. La lentille se cultive parfois pour le fourrage ou comme engrais vert (Brink et Belay, 2006).

8.2 Intérêt économique et écologique :

A travers le monde, la lentille est la plus importante légumineuse à graines. Bénéficiant d'un réel engouement, la lentille a vu ses surfaces tripler depuis 2015, passant de 17000 ha à presque 37550 ha en 2019. Cette année pourtant, les rendements sont globalement inférieurs à ceux de 2018 et particulièrement variables en fonction des bassins, allant de 7,5 q/ha en Haute Loire au cœur de la zone de production AOP Lentille du Puy, à 27 q/ha dans l'Aube, la Marne et l'Yonne (**Terre INOVIA,2019**) .

Les principaux pays producteurs de lentille Canada (3233800t sur 2175200ha), l'Inde (1055536t sur 1548106 ha) et Turquie (365000t sur 246322ha). En Afrique du nord, l'Algérie (45438 t sur 8762 ha) est le principale pays producteur et la Tunisie (2t697 sur 5994ha) (**Atlas Big 2018-2020**).

Matériel
Et
Méthodes

1-Lieu et durée du travail pratique :

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimie et biotechnologie Végétale (GBBV), Université Frères Mentouri (Constantine 1) pendant la période allant de Février à Juin 2021.

2-Objectifs du travail :

Ce travail qui est en partie une continuité du travail de **Nekkaa (2020)** a pour objectifs de doser le phosphore accumulé dans des plantes de fèves inoculées l'année dernière et que nous n'avons pas pu doser à cause de la pandémie COVID 19. Mais également de comparer l'effet de l'inoculation de 14 Bactéries rhizosphériques préalablement isolées et caractérisées pour le potentiel de promotion de la croissance **Laadjabi (2019)** sur la promotion de la croissance de la lentille (Syrie 229 Khroub Constantine) en culture Hydroponique.

Nous avons également comme objectif de mettre en évidence l'activité stimulatrice de croissance sur la germination des graines.

3-Dosage du Phosphore accumulé dans la fève inoculée par la méthode au jaune (M Clairotte 2008) :

-Broyage des plantes de fève (*Vicia faba*) :

La matière sèche (partie racinaire et partie aérienne) des plantes de la fève (*Vicia faba*) inoculées lors du travail réalisé précédemment **Nekkaa (2020)** et conservée au laboratoire a été broyée on nettoyant le broyeur (figure 8) entre chaque plante, ayant 197 plantes en tout pour des raisons de faisabilité les matières sèches ont été organisés en pool en considérant chaque pool comme une moyenne.



Figure 8 : Broyage et conservation des plantes.

-Principe de la méthode :

La quantification du phosphore (P) a été réalisée en solution acide après minéralisation d'échantillons de la fève (14 échantillons). Le dosage se fait par colorimétrie à 450 nm après avoir ajouté à l'échantillon le réactif vanadomolybdique (Annexe 1) entraînant la formation d'un complexe chromophore jaune.



Figure 9 : Quelques étapes du protocole.

- Le tableau ci-dessus pour préparer la gamme d'étalonnage dans les tubes 0 à 5

Tableau 2 : Préparation de la gamme.

Dénomination	0	1	2	3	4	5
[P] en mg/L	0	1	5	10	20	30
V solution fille en ml	0	0,05	0,25	0,5	1	1,5
V H ₂ O démi	5	4,95	4,75	4,5	4	3,5
Volume total	5	5	5	5	5	5

4-Difficultés rencontrés :

Initialement cette étude devait porter sur la fève (*Vicia faba*) nous avons mis en germinations par 3 fois des graines en testant 3 méthodes de germinations (imbibition, scarification, levé de la dormance) et à chaque fois au bout de 10 jours soit les graines ne germaient pas soit elles pourrissaient. Après avoir perdu beaucoup de temps et afin de sauver notre étude nous avons orienté notre travail sur la lentille, légumineuse du prochain projet de l'équipe.

5-Matériel biologique :

Les graines de lentilles utilisées ont été obtenues chez un vendeur de semences, il s'agit de la variété syrie 229 Cultivée à khroub Constantine. Les quatorze bactéries utilisées font partie d'une collection de bactéries isolées et conservées dans du glycérol à une température de -80 °C au laboratoire GBBV par Dr MAOUGAL et ses collaborateurs. Ces 14 bactéries ont été choisis selon leurs aptitudes après les avoir testées pour leurs caractères PGPR (**Laajabi2019**). Ils s'agit des bactéries 100,29,58,46,23,82,06,17,61,35,24,74,49 et cela en présence du *Rhizobium* OL13 qui sera le témoin (**RIACH N**).

6-Préparation de la germination:

Les graines sont désinfectées dans de l'hypochlorite de sodium (32°) diluée à 50% pendant 5min à 7min; puis bien rincer avec l'eau distillée (5 à 10 fois) afin d'éliminer les traces de désinfectant; les graines sont transférées en boîte de pétri sur des disques papier absorbant imbibés d'eau; Stérile et incubées à l'obscurité pendant 2 jours à 28°C.

-Préparation de l'inoculum bactérien :

Les 14 bactéries conservées ont été remise en culture dans 100 ml de milieu LB (Annexe 2) sous hotte et autour d'un bec benzène Ces bactéries sont ensuite placées dans un incubateur entre 24 et 48 h (pour le *Rhizobium*) à la vitesse de 150 rotations par minute à 28°C.

7-Contrôle de la germination :

7.1 Le temps moyen de germination :

Le temps moyen de germination est calculé par la formule donnée par Maziliak, (1982).

$$TMG = \frac{N_1 T_1 + N_2 T_2 + \dots + N_n T_n}{N} \quad \text{Où :}$$

TMG : temps moyen de germination

N₁ : nombre de graine germant au temps T₁

N : nombre total des semences ayant germé à la fin du temps de l'essai

7.2 Le taux de germination :

Le taux de germination est calculé par la formule suivante (**Maziliak, 1982**):

$$TG\% = \frac{\text{Nbre de semences germés}}{\text{Nbre total des semences}}$$

TG% : taux de germination

8-Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de la lentille :

La mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de la lentille est effectuée selon la méthode décrite par (**Dey et al.2001**). Les souches préalablement isolées, sélectionnées stimulatrices de croissance sont mise en suspension dans le milieu LB et incubées à une température de 28°C pendant 48 heures pour l'obtention des inoculums à une concentration de 10⁸ cellules/ml (par contage sur colonie). Les graines pré-germées, imbibées avec un volume de 0,1 ml de l'inoculum, sont réparties dans des boîtes de Pétri à raison de cinq par boîte et comparés a des graines non inoculées.

Les Paramètres de germination : taux de germination, temps moyen de germination, détermination de la longueur des racines, des tiges, sont évalués après sept jours d'incubation.

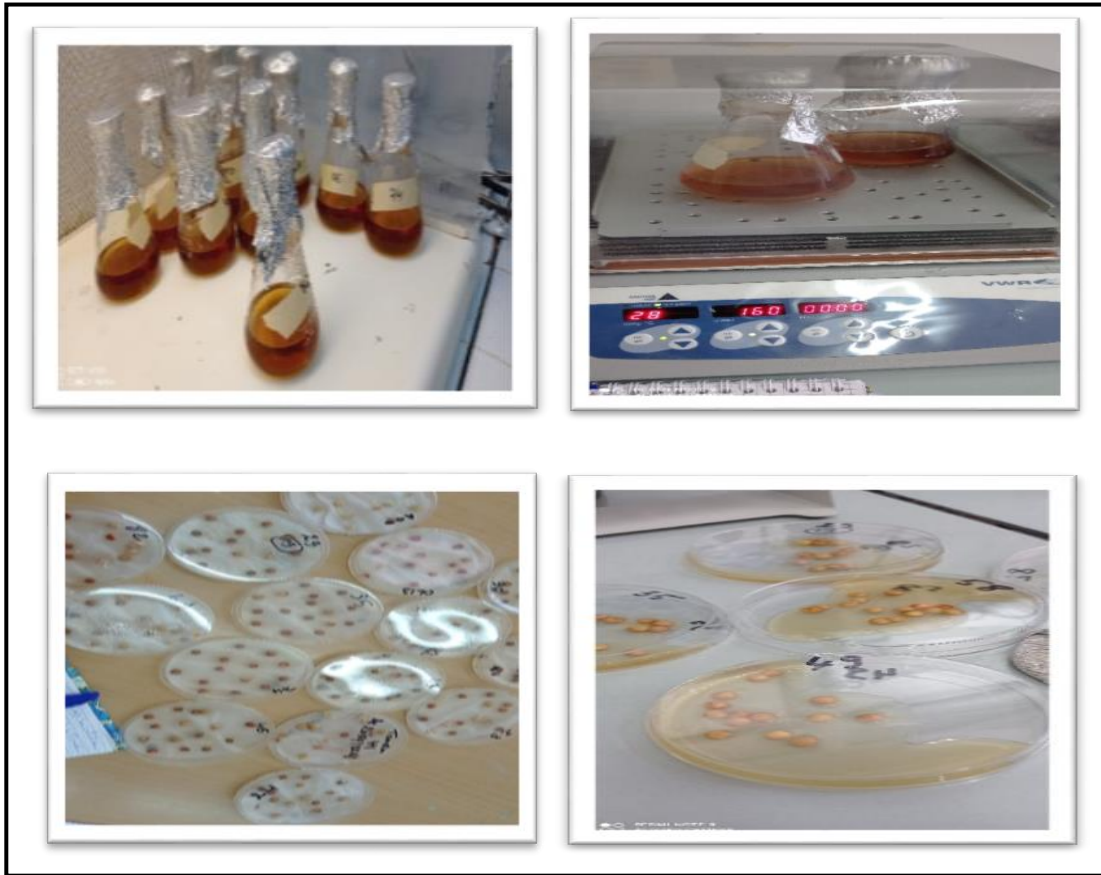


Figure 10 : Quelques étapes sur stimulatrices de croissance.

9-Mise en culture des plantes en hydroponie :

Après germination les graines uniformes avec des plantules obtenues dont la longueur des racelles est de 2 cm 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 un bac en plastique troué et fixées avec du coton et placées dans un bac opaque contenant 5 litres d'eau et de solution nutritive de façon à avoir 9 plantes par bac. Les bacs sont placés dans une chambre de culture semi-contrôlée à une température de 28°C une intensité lumineuse de 250W et une photopériode de 16/8h. Chaque bac de 5 litres d'eau a été supplémenté d'une solution nutritive (Hernandez et Drevon 1991) (Annexe 3) renouvelée après 15 jours chaque semaine.

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



Figure 11: Lancement de la culture hydroponique dans les bacs.

10-Paramètres morphologiques :

10.1. Taux de levée :

Le taux de levée correspond au nombre de graines levées par rapport au nombre total. Le comptage des plants levés est effectué après 15 jours. A partir de cette date aucune levée n'a été observée.

10.2. Le taux de survie :

Le taux de survie correspond au nombre des plants qui ont survécu en fin de l'essai.

10.3. Hauteur de la tige :

On a mesuré la hauteur de la tige depuis les restes du cotylédon jusqu'à l'apex, à l'aide d'une règle graduée. La mesure est faite une fois par semaine depuis la 3^{ème} semaine de croissance (23 mai 2021 jusqu'au 13 juin 2021) ce qui nous donne à la totalité environ trois semaines d'observations.

11-Estimation de la croissance :

Les paramètres de croissance : le taux de levée, taux de survie et l'estimation de la croissance de nos plantes inoculées a été fait par un suivie de la hauteur des parties aériennes à partir de la 3^{ème} semaine de la mise en place de l'essai jusqu'à la récolte. Après 6 semaines de croissances les plantes sont séparées en parties aériennes et parties racinaires, la matière fraîche, est estimée par pesée et les plantes mesurées le poids sec est obtenu après séchage des plantes à 70°C pendant 48h. Cette méthode permet de comparer l'effet des souches inoculées sur la croissance des plantes.



Figure 12 : Matière fraîche et sèche.

12-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 à un seuil d'erreur=0,0001.

Résultats

Et

Discussion

1. Dosage du phosphore accumulé dans la fève inoculée :

Les concentrations du phosphore dans les parties aériennes et racinaires de la fève sont présentées dans la figure 13.

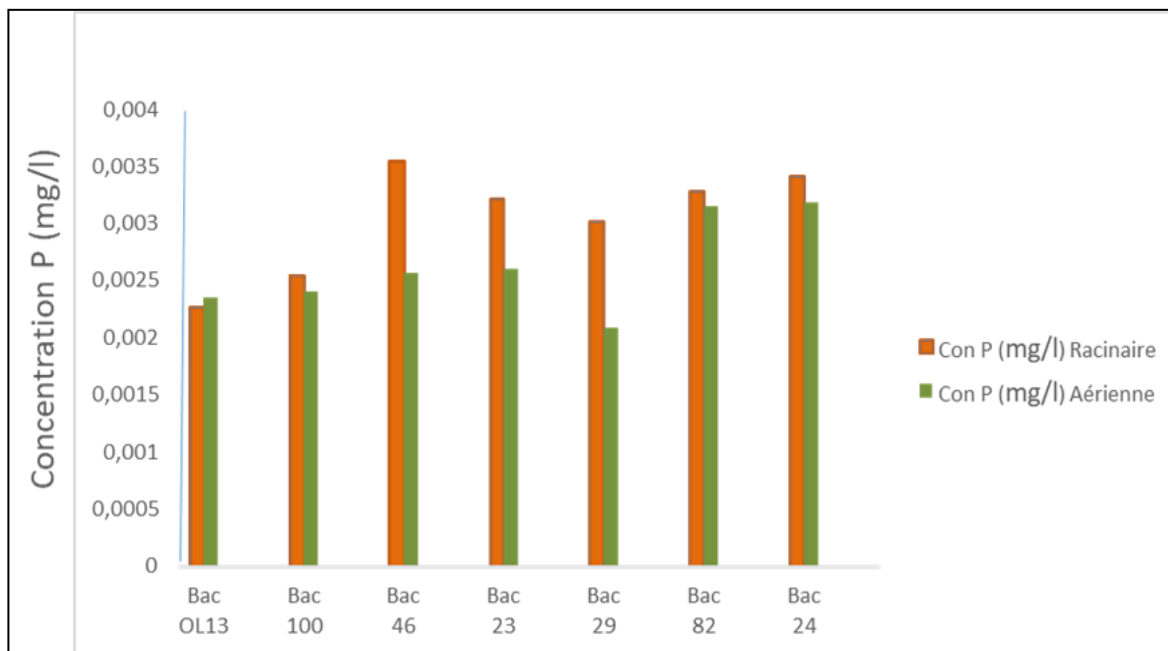


Figure 13 : La concentration du phosphore dans la partie racinaire et aérienne de la fève.

La figure 13 montre que le phosphore s'est accumulé plus dans la partie racinaire que dans la partie aérienne des plantes. Pour la partie racinaire on remarque que la teneur la plus élevée du phosphore est enregistrée chez les plantes inoculées avec la bactérie 46 (0.0035 mg/l) comparativement aux plantes témoins inoculées avec le *Rhizobium OL13*. Alors que pour la partie aérienne la teneur la plus élevée a été observée chez les plantes inoculées par la bactérie 24 (0.003 mg/l) comparativement aux autres plantes inoculées par les différentes PGPR et le *Rhizobium OL13* qui représente la teneur la plus faible (0.002 mg/l) (figure 13).

En comparant nos résultats avec les résultats obtenus par **Martinez et al., (2015)**, Où ils ont trouvé que l'inoculation avec les bactéries n'améliorait pas considérablement l'accumulation du P nous pouvons dire que nos résultats sont différents.

2. Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de lentille :

L'étude de l'activité stimulatrice de croissance des souches isolées, sur la germination des graines de lentille est effectuée par l'évaluation de différents paramètres de croissance : le taux de germination, la longueur des parties racinaire et des parties aériennes après une semaine (7 jours) d'incubation.

2.1 Taux de germination :

Le taux de germination des lentilles inoculées comparé au témoin non inoculé est représenté dans la figure 14. Il s'agit d'une répétition de 2 germinations afin de confirmer les résultats.

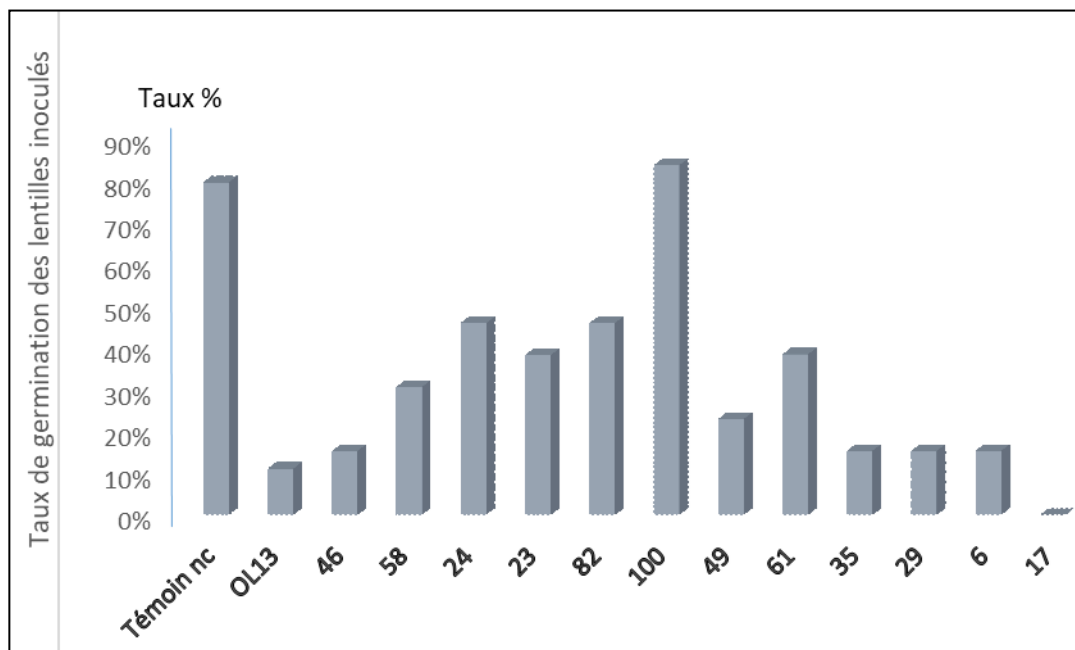


Figure 14: Taux de germination des graines inoculés en comparaison t avec le témoin non inoculé.

Témoin NC : témoin non inoculé.

On peut constater d'après la figure 14, que le taux de germination le plus élevé est enregistré les plantes inoculées par la bactérie 100 (90%) avec le témoin NC, les autres ont enregistrés de faibles taux, 46, 49, 35, 29, 6 (10%) autant que le *Rhizobium* OL13 et on n'a enregistré aucune germination pour les graines inoculées avec la bactérie 17 (0%).

2-2-Effet d'inoculation sur la germination :

La figure 15 représente l'activité stimulatrice de croissance des souches isolées, sur la germination des graines de lentille après incubation pendant 7 jours.

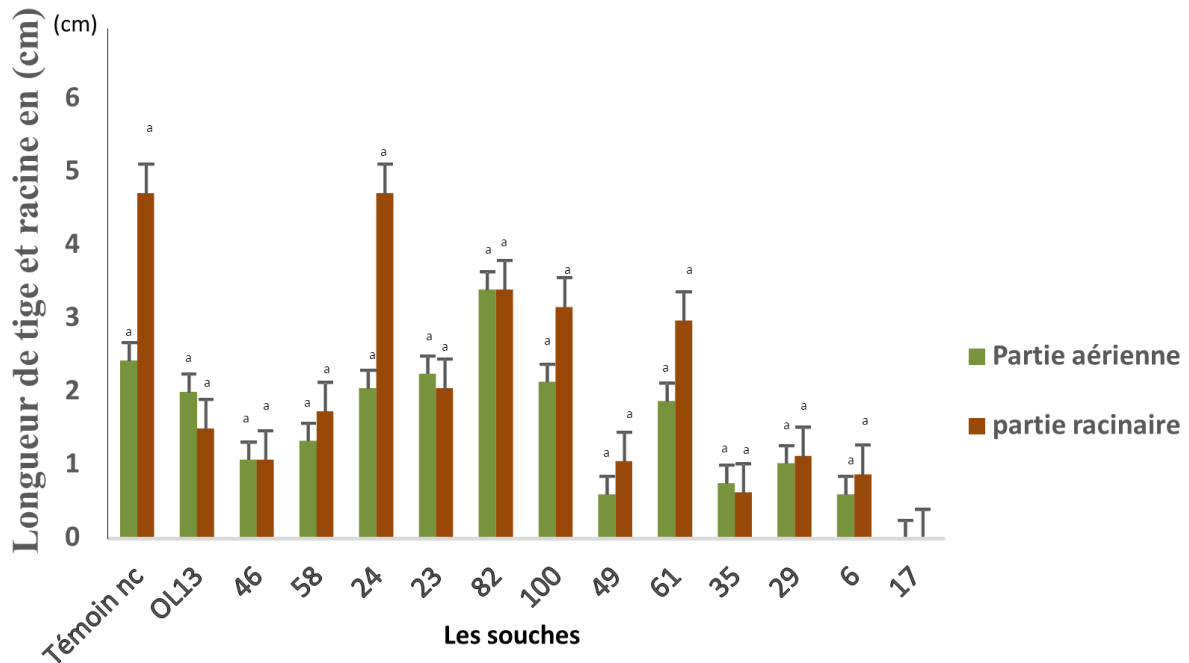


Figure 15 : Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance des souches isolées, sur la germination des graines de lentille après incubation pendant 7 jours.

L'inoculation des différentes bactéries PGPR a montré différence pour la croissance de la partie aérienne une augmentation de la longueur des tiges observées sur les plantes inoculées par les souches 82 suivi par 23 et 100, par rapport au témoin. La croissance maximale de la longueur des racines par rapport au témoin a été induite par les souches 24, 82, 100, 61 ; tandis que la longueur la plus faible a été enregistré chez les plantes inoculées par les souches 49,35, 6. On note aussi que les plantes inoculées par la bactérie 74 il y a une seule germination et aucune pour les plantes inoculées par la bactérie 17 et cela durant les 2 répétitions.

L'analyse de la variance a montré un effet non significatif de l'inoculation sur la germination de lentille. Il est possible que cette inoculation ait un effet inhibiteur de la croissance (Cameron et Rwanda.,1992).

3-Mise en culture de la lentille en hydroponie :

3.1 Taux de germination des lentilles :

Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification du pourcentage optimale de germination. Le poids de lentille et le poids total et le taux et temps de germination sont présentés dans le (tableau 3).

Tableau 3 : le taux et le temps de germination.

Poids lentille	poids totale	taux germination	temps germination
0.04g	11.4 g	54.3%	96h±0.03

Le taux de germination est moyen (54.3%) et le temps est de 4 à 5 jours. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par **Maziliak., (1999)**.

3-2 Taux de levée :

Le taux de levée est réalisé après 20 jours de mise en culture après la levée de la plupart des plants, le pourcentage de levée relatif à chaque bactérie inoculée est consigné dans la figure suivante (fig. 16) :

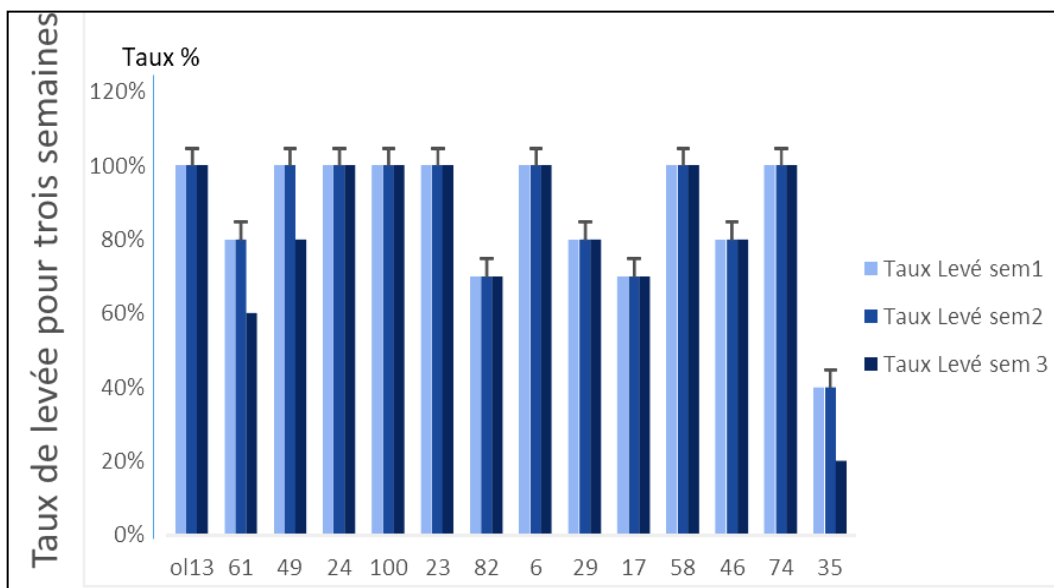


Figure 16 : Taux de levée des plantes de la lentille pour les trois semaines.

On peut constater que le taux de levée des plants le plus important est enregistré chez les lots inoculés par les bactéries 24, 100, 23, 6, 58,74 et le témoin OL13; le taux le plus faible est enregistré pour les plantes inoculées par la bactérie 35.

Hasnaoui (1992), signale que quand le taux de levée est supérieur à 85 %, on considère que la germination est satisfaisante.

Toutes les plantes présentent un taux de levée satisfaisant sauf pour les plantes inoculées par la bactérie 35 ce qui peut être dû à la manipulation. La levée constitue un premier diagnostic de réussite d'une culture, une mauvaise levée peut avoir plusieurs causes liées aux conditions culturales. (**de Jong et al., 2011**).

3-3 Taux de survie :

Afin de déterminer le taux de réussite de la croissance des plants pour les différentes bactéries, on a effectué un comptage des plants qui sont encore en vie après presque un mois après de la date de semis.

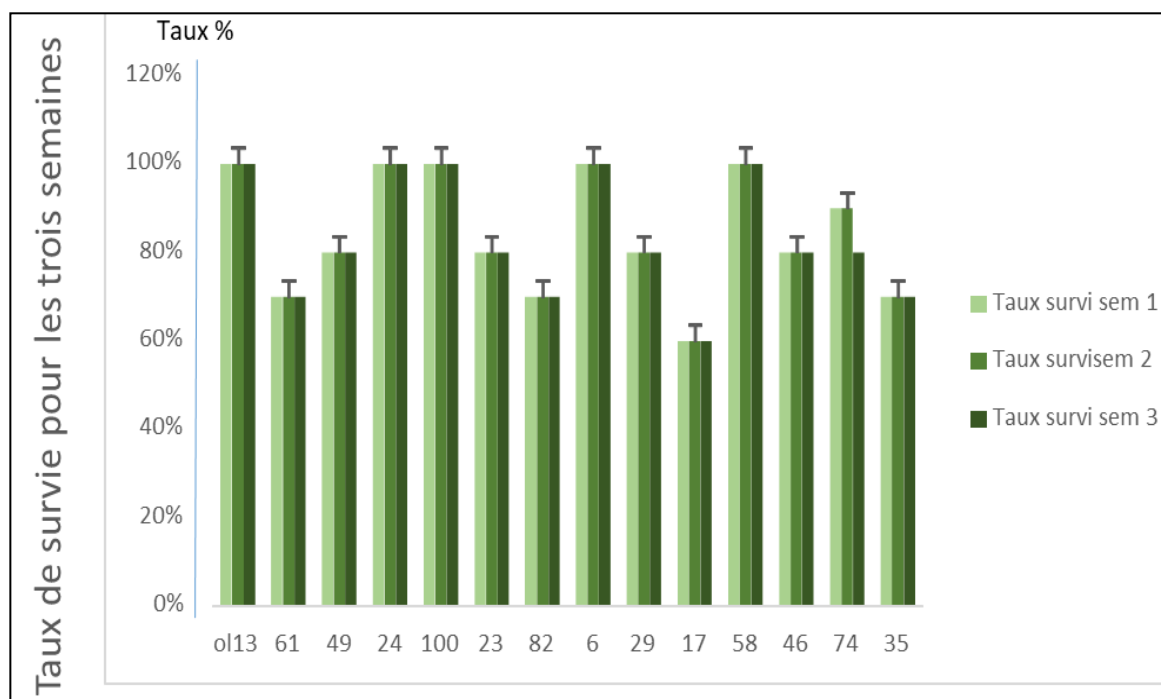


Figure 17 : Taux de survie des plantes de la lentille pour les trois semaines

On peut constater d'après la figure 17, que le taux de survie le plus élevé est enregistré pour les plantes inoculées par les bactéries 24, 100, 6, 58 (100%) avec le témoin OL13 et le taux le plus faible est enregistré chez les plantes inoculées par la bactérie 17 avec 50%. Pour les autres le taux est satisfaisant (**Hasnaoui ;1992**).

3-4 Effet de l'inoculation sur la croissance :

3-4-1 Hauteur de la tige des plantes de la lentille (*Lens culinaris*):

La figure 18 représente l'évolution des paramètres de croissance sur la hauteur de la tige durant 3 semaines.

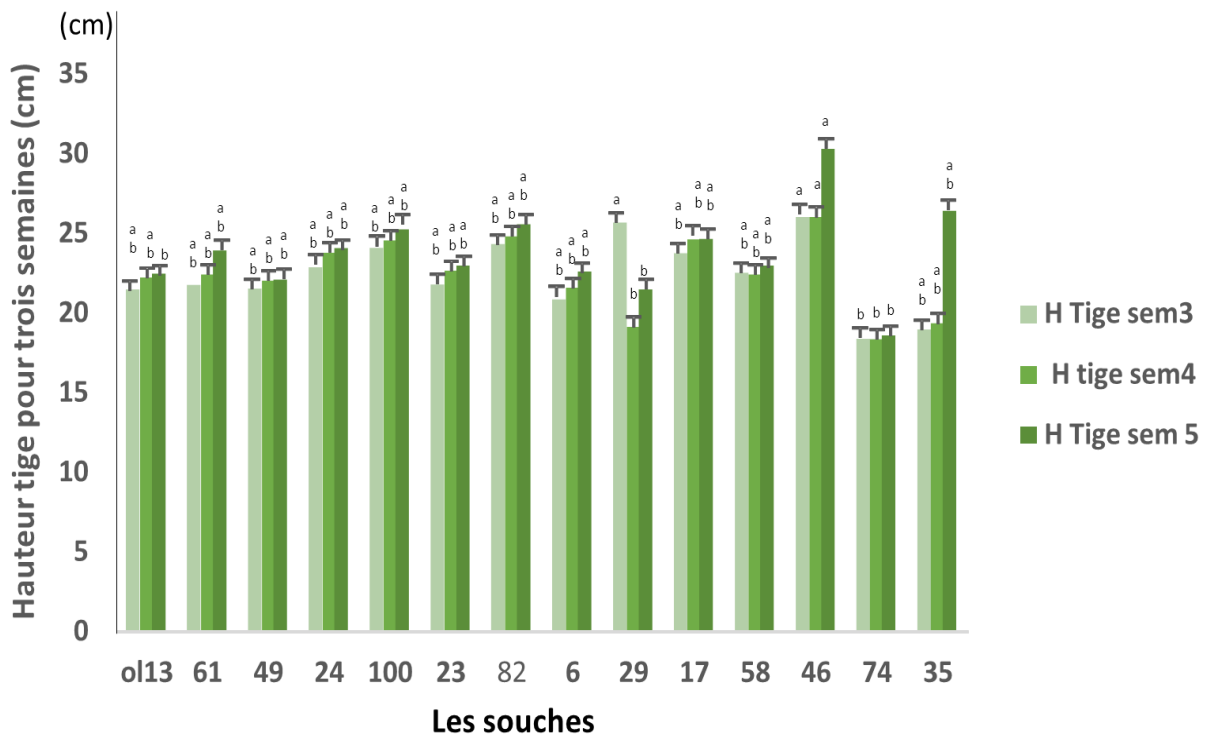


Figure 18 : paramètre de croissance sur la hauteur de la tige pour 3 semaines.

Nous notons que les treize bactéries et le témoin OL13 présentent des résultats significativement différents ($P < 0.05$) (Figure18). Les plantes inoculées par la bactérie 46 a montré le résultat le plus élevé de hauteur de la tige avec 30,5 cm, et la bactérie 74 a présenté la hauteur de tige la plus basse durant les trois semaines par-apport au témoin OL13 avec des moyennes de 22 cm et 26 cm.

Les souches isolées ont montré une activité simulatrice de croissance considérable sur les paramètres mesurés avec une longueur de tige maximale pour les plantes inoculées par les trois souches par rapport au témoin (Bouras., 2018).

3-4-2 Longueur des racines des plantes la lentille (*Lens culinaris*):

La figure 19 représente l'évolution des paramètres de croissance sur la longueur de la racine durant 3 semaines.

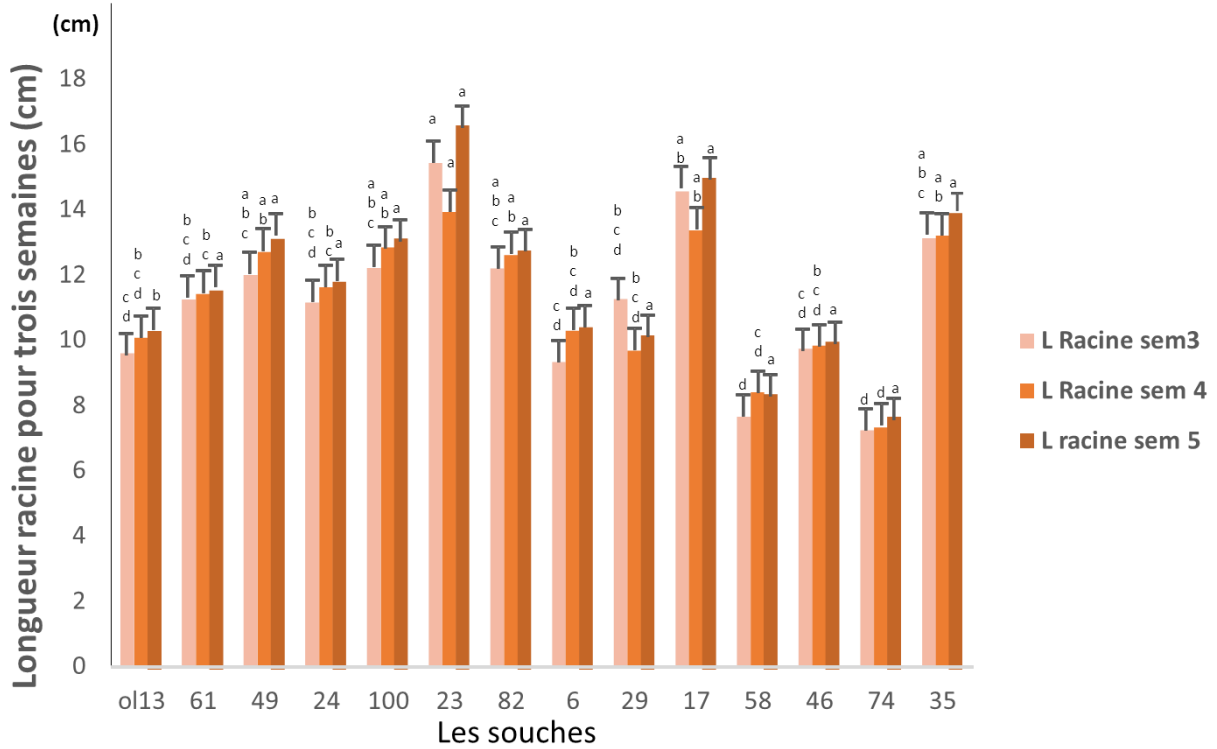


Figure 19 : paramètre de croissance sur la longueur de la racine pour 3 semaines.

Pour la longueur de racine les treize bactéries et le témoin OL13 présentent des résultats significativement différents ($P < 0.05$) (Figure.19). La bactérie 23 a montré le résultat le plus élevé la longueur de racine avec 18,5 cm, et la bactérie 74 a présenté la longueur de racine la plus basse durant les trois semaines par-apport le témoin OL13 avec des moyennes 11 cm et 12,5 cm.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs auteurs (**Smith, 2001**) ;(**López et al., 2003**); (**Bouras., 2018**). A partir de nos résultats on observe que 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)**.

4-Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne :

La figure 20 représente la biomasse aérienne et racinaire fraîche des plantes de la lentille.

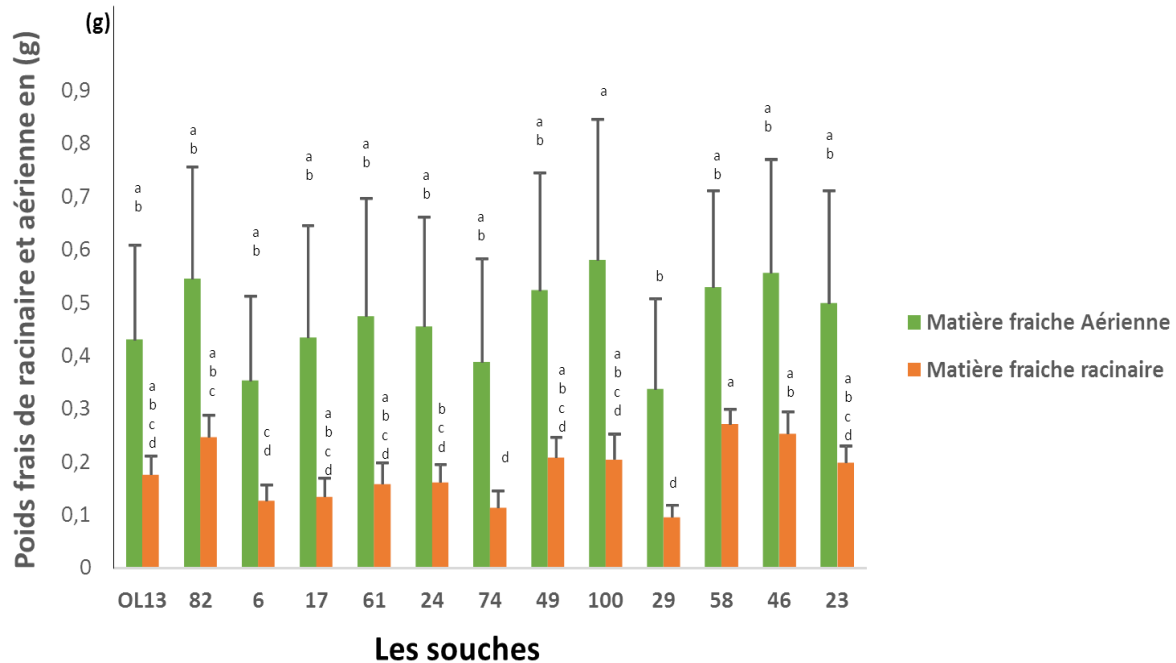


Figure 20 : Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne.

4-1 Poids frais de la partie aérienne des plantes de lentille (*Lens culinaris*) :

L'inoculation des plantes par bactérie 100 à favoriser la croissance de la plante en poids frais de la partie aérienne de 0,8g. Par contre pour les plantes de la bactérie 29 ont montré le poids frais de la partie aérienne le plus bas avec les plantes de la bactérie 06 avec une moyenne de $0,51 \text{ g} \pm 0,24$ et $0,5 \text{ g} \pm 0,23$.

L'analyse de la variance (test Tukey) a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids frais de la partie aérienne entre 100, 29 et non significatif pour les 12 bactéries qui reste.

Nos résultats sont d'accord avec **Bouras., (2018)** qui a montré que l'étude du poids frais a montré une amélioration de la croissance des graines de lentilles inoculées et de l'étude de **Nekkaa., (2020)** et **Ouserir et al.,(2018)**, chez des plantes de (*Vicia faba L.*) 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.

4-2 Poids frais de la partie racinaire des plantes de lentille (*Lens culinaris*) :

La figure 20 représente la biomasse racinaire fraîche des plantes de la lentille Cette biomasse moyenne varie entre 0,3 g et 0,1 g par plante.

Nous notons que présentent des résultats significativement différents ($P < 0.05$) (Figure. 20). Les plantes de la bactérie 58 a montré le résultat le plus élevé avec $0,41g \pm 0,26$, alors que les plantes de la bactérie 29 ont montré le poids frais de la partie racinaire le plus basse avec 74 avec $0,16 g \pm 0,08$ et $0,17 g \pm 0,06$.

L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids frais de la partie racinaire entre : 58 29 74 6 24 46 82 et non significatif pour les autres bactéries.

Nos résultats rejoignent ceux de **Nekkaa., (2020)** et **Yildirim et al., (2015)** chez les plantes de la fève (*Vicia faba L.*) , qui ont retrouvés que les poids frais et secs des racines ont été amélioré par l'inoculations.

5- Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne :

La figure 21 représente la biomasse aérienne et racinaire sec des plantes de la lentille.

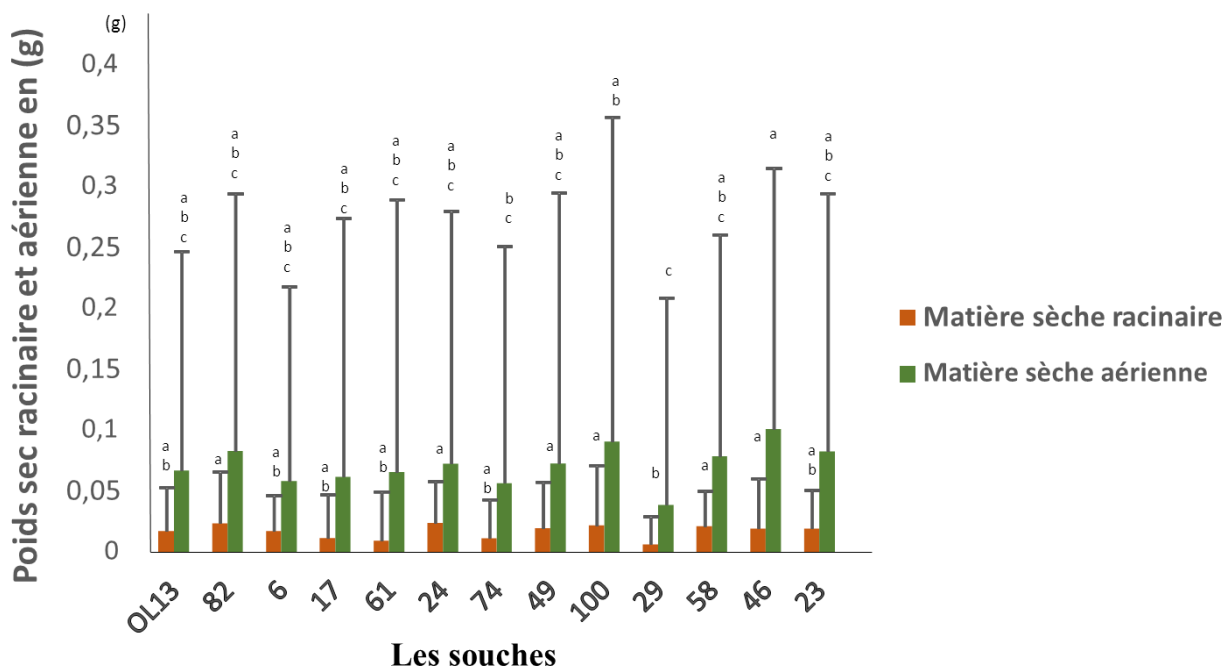


Figure 21 : Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne.

5-1 Poids sec de la partie aérienne des plantes de lentille (*Lens culinaris*) :

La figure 21 représente la biomasse aérienne sec des plantes de la lentille Cette biomasse moyenne varie entre 0 ,05 g et 0,1 g par plante.

Les plantes de la bactérie 46 a montré le résultat le plus élevé avec $0,13 \text{ g} \pm 0,06$, alors que les plantes de la bactérie 29 ont montré le poids sec de la partie aérienne le plus basse avec la bactérie 74 avec $0,06\text{g} \pm 0,02$ et $0,08 \text{ g} \pm 0,02$

L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids sec de la partie aérienne entre : 46, 74,100, 29 et non significatif pour le reste. (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 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).

5-2 Poids sec de la partie racinaire des plantes de lentille (*Lens culinaris*) :

La figure 21 représente la biomasse racinaire sec des plantes de la lentille Cette biomasse moyenne varie entre 0 ,03g et 0,0013 g par plante.

Les plantes de la bactérie 82 a montré le résultat le plus élevé avec $0,0336\text{g} \pm 0,0134$, alors que les plantes de la bactérie 29 ont montré le poids sec de la partie racinaires le plus basse $0,013\text{g} \pm 0,0003$.

L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids sec de la partie racinaire entre : 24, 82, 29, 100, 58, 46, 49.

Nos résultats rejoignent ceux de Nekkaa., (2020) et (El Fakhri *et al.*, 2010) qui ont retrouvés que les résultats relatifs au poids sec des racines et au poids sec de la plante chez la fève 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).

Conclusion

CONCLUSION

Les PGPR sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère, pour lesquelles un effet positif sur la physiologie végétale est reconnu. D'après **Kloepper (1993)**, les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, se multiplier et être compétitif vis-à-vis des autres micro-organismes, tout en stimulant la croissance des plantes.

Dans ce travail, on a effectué une étude sur le dosage de phosphore accumulé dans des plantes de fèves inoculées dans un précédent travail, les résultats ont mis en évidence les 14 Bactéries rhizosphériques testées, 100,29,58,46,23,82,06,17,61,35,24,74,49 et cela en présence du *Rhizobium* OL13 comme témoin. Préalablement isolées et caractérisées pour leur potentiel de promotion de la croissance **Laadjabi (2019)** de la lentille variété Syrie 229 Kheroub Constantine en culture hydroponique et a mis en évidence une stimulation de manière significative de la croissance de la lentille.

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

Il y a eu plus d'accumulation de phosphore dans la partie racinaire chez les fèves inoculées que dans la partie aérienne des plantes et le taux le plus élevé a été trouvé chez les plantes inoculées par la bactérie 46.

L'inoculation a un effet non significatif sur la longueur et la croissance des racines et des tiges avec le résultat le plus élevé enregistré chez les plantes des bactéries 46, 23.

L'inoculation a amélioré également la croissance en augmentant le poids frais aérien principalement avec les bactéries 100 58 et le poids sec aérien des plantes inoculées par les bactéries 100 et 46.

Ces résultats ont suggéré que le rendement de la culture de lentille peut être amélioré à long terme, par l'utilisation des souches isolées sélectionnées 46,23, 100 et 23 qui ont présentés des propriétés intéressantes de promotion de la croissance.

La réponse d'une plante à l'inoculation par des PGPR varie selon la compétence écologique de la bactérie, le stade de croissance de la plante, son interaction avec l'inoculum et les conditions biotiques et abiotiques de l'environnement et afin de mieux comprendre les mécanismes des PGPRs des études complémentaires sont nécessaires nous proposons:

- De mesurer l'effet de ces bactéries sur la nutrition azotée et phosphatée.
- Des études plus prolongées sous serre et en champ sur les isolats nécessaires pour améliorer la productivité des résultats.
- l'identification moléculaire des souches intéressantes stimulatrices de la croissance.
- La caractérisation et expression des gènes impliqués dans la fixation de l'azote et la solubilisation du phosphore.

Référence :

Abdelaguerfi A, Ramdane SA.(2003). Evaluation Des Besoins En Matière De Renforcement Des Capacités Nécessaires A La Conservation Et L'utilisation Durable De La Biodiversité Importante Pour L'agriculture. Bilans des Expertises sur «La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31. P11.

Abnatura RD. (2013). Les Rhizobactéries PGPR. Bulletin Technique. Avril,2013.Issue.<http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin.(Accessed 21.04.18).

Ait Abdellah ,. (2011) .Culture et cout de production des grandes cultures.P84.ISBN :978-9961-88-18-7.

Antoun H. and Prévost D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A.Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. p 1–38.

Basavaraju, O., A.R.M. Rao et T.H. Shankarappa (2002). Effect of Azotobacter inoculation and nitrogen levels on growth and yield of radish (*Raphanussativus L.*). In: Proceedings of Microbial Technology for Sustainable Development and Productivity, (Ed.,Rajak D.C.), Jabalpur, Biotechnology of Microbes and Sustainable Utilization, pp. 155-160.

Bassil, NV., WM. Proebsting, LW. Moore ET DA. Lightfoot (1991). Propagation of hazelnut stem cuttings using Agrobacterium rhizogenes. Hort. Sci. 26:1058–1060.

Bejiga, (2006).Lens culinaris Medik .Fiche de Protabase.Brink, M and Belay G. (Editeurs) .PROTA (plant Resources of Tropical African /Resources Végétales de l'Afrique tropicale),Wageningen Pays Bas.

BRINK M et BELAY G., (2006).Céréales et légumes sec,ressource végétales de l'Afrique tropicale .Fondation Prota,Wageningen,Pays Bas .P :102.

BRINK M et BELAY G., (2006).Céréales et légumes sec,ressource végétales de l'Afrique tropicale .Fondation Prota,Wageningen,Pays Bas .P :102

Couvillon, GA (1998). Rooting Responses to Different Treatments.Acta Hort.227: 187- 196.

- De Freitas, JR (2000).** Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var. Norstar) inoculated with rhizobacteria. *Pedobiologia* 44:97–104.
- Downie, (2005).** Legume Haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules, *Current biologie*, vol,15,6 :196-198.
- Duhoux E. and Nicole M (2004).** Atlas de Biologie végétale : associations et interactions chez les plantes. Paris: Dunod. 166.
- DUKE J.A., (1981).** Handbook of legumes of World Economic Importance. Plenum Press, New York. Pp :52-57.
- Dursun, A., M. Ekinci MF. Donmez (2008).** Effects of inoculation bacteria on chemical content, yield and growth in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*). *Asian J Chem.* 20:3197–3202.
- Elkan, G.H. (1992).** Taxonomy of rhizobia. *Canadian journal of Microbiology*, 38:446-450.
- Ercisli, S., A. Esitken, R. Cangiet F. Sahin (2003).** Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. *Plant Growth Regul.* 41:133–137.
- Ercisli, S., A. Esitkenet F. Sahin (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.
- Erskine, W. Muehlbauer, F. Saker, G. and Sharma, A. (2009).** The lenti: Botany, production and uses. CAB International, Cambridge (USA), 457 p.
- Erturk, Y., S. Ercisli, R. Sekban, A. Haznedaret MF. Donmez (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, S. Ercisli, H. Karlidaget F. Sahin (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.

- 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.
- Grusak, N. (2009).** Golden rice is an effective source of vitamine. *A* 89(6).322
- Hatta, M, CA. Beyl, S. Gartonet AM. Diner (1996).** Induction of roots on jujube softwood cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. *J. Hort. Sci.* 71:881–886.
- Herman, MAB ., BA. Naultet CD. Smart (2008).** Effects of plant growthpromoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop Prot.* 27:996–1002.
- Jacoud, C., Job D., Wadoux, P., Bally, R., (1999).**Initiation of root growth stimulation by *Azospirillum lipoferum* CRT1 during maize seed germination .*Cannadian Journal of Microbiology* 45, 339-342
- Jordan, D, C. (1984).** International comité on systematic bacteriology. Subcomité on the taxonomy of *Agrobacterum* and *Rhizobium*. *Int.J. S yst. Bacteriol.*34, 248.
- Kaymak, HC ., F. Yarali, I. Guvenc et MF. Donmez (2008).** The effect of inoculation with plant growth rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Menthapiperita L.*) cuttings. *Afr. J. Biotechnol.* 7:4479–4483.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., (2009).** Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.
- Kim J. et Rees D.C. (1994).** Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry* 33(2):389-97.
- Kloepper J.W. (1993).**Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents in Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management. Metting, F.B. Jr. (Ed.). Mercel Dekker, New York,pp 255-27.
- Kloepper JW, A. Gutierrez-Estrada et A. McInroy (2007).** Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growthpromoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.*53:159–167.
- Kose, C, M. Guleryuz, F. Sahnet I. Demirtas (2003).** Effects of some plant growth promotingrhizobacteria (PGPR) on rooting of grapevine rootstocks. *ActaAgrobot .*56:47– 52.

- Kumar, V. et N. Narula (1999).** Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacterchroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, 28(3):301-305.
- Laranjo, M ; C ; Branco, R ; (2002).** Comparaison of chickpea rhizobia isolates from diverse Portuguese natural population based.
- Lee, KJ ., S. Kamala-Kannan, HS. Sub, CK. Seonget GW. Lee (2008).** Biological control of *Phytophthora* blight in red pepper (*Capsicum annuum* L) using *Bacillus subtilis*. *World J. Microb. Biot.* 24:1139–1145.
- Lynch J. M., (1990).** The rhizosphere. John Wiley and Sons Inc, Chichester. 458 p.
- Mantelin, S. ET B. Touraine (2004).** Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *J. Exp. Bot.* 55:27–34.
- Martinez O.A, Crowley D.E, Mora M.L, Jorquera M.A., (2015)** Short term study that phytate menera lizing rhizobacteria inoculation affects the biomass, phosphorus(P) uptake and
- Morgan J. A. W., Bending G. D. et White P. J.(2005).** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.* 56: 1729-1739.
- Muehlbauer, F. and Tullu, A. (1997).** New crop fact sheet: chickpea *Cicer arietinum* L. Available at: <http://hort.purdue.edu/newcrop/crops/cropfactsheets/chickpea.html>.
- Muhlbaeur F.J ., Kaiser W.J., Clement S.L. and summer field R.J. (1995).** Production and breeding of lentil .*Advance in agronomy*, 54 :283-332.
- Nekkaa, I., (2020).** Caractérisation biochimique et effet de bactéries rhizosphériques sur la promotion de la croissance de la fève (*Vicia faba l.*) en hydroaéroponie.
- Orhan, E, A. Esitken, S. Ercisli, M. Turan et F. Sahin (2006).** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci Hort* 111:38–43.
- Paul, D., et S. Nair (2008).** Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *J. Basic. Microbiol.* 48(5):378–384.

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

Pelmont, J. (1995). Bactérie et environnement. Adaptation physiologique, 899 p.

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

Reyes, I., L. Alvarez, H. El-Ayoubiet A. Valery (2008). Selection and evaluation of growth promoting rhizobacteria on pepper and maize. *Bioagro*.20:37–48.

rhizosphere properties of cereal plants,15 (2015) 153-166.

Rinallo, C., L. Mittempergher, G. Frugiset D. Mariotti (1999). Clonal propagation in the genus *Ulmus*: improvement of rooting ability by *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 74:502–506.

Rodriguez, MN., RD. Villalonga, RAJ. Castillo, AJL. Marques, LR. Gonzalez, SP. Llaneset FM. Peguero (2001). Influence of application of biofertilizer based on *Azospirillum* on germination of seed and production of vegetable crops. *Centro Agricola* 28:38–41.

Salantur A, A. Ozturk, S. Akten, F. Sahinet F. Donmez (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.

SARKER A., ERSKINE W., SINGH M ;(2005) .Variation in shoot and root characteristic and their association with drought tolerance in lentil landraces .*Genetic resources and Crop Evolution* 52 : pp :87- 95.

Saskatchewan, (2000). Pulse production manual. Saskatchewan Pulse Growers, Saskatoon SK

Saskatchewan, Pulse Growers, (2000). Pulse production manual. Saskatchewan Pulse Growers, Saskatoon SK.

- Saskatchewan. (2000);** Agriculture and Food, and University of Saskatchewan 2000. Shafique, U.R., Ch.Muhammad, Altaf. .Karyotype studies in *Lens culinaris* Medik.
- Schroth MN, Hancock JG, (1981).** Selected topics in biological control. *Annu Rev Microbiol* 34, 453-476 Schroth MN, Hancock JG, 1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216, 1376-1381.
- Shrivastava, P. et Kumar, R. (2015).** Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22: 123-131.
- SLINKARD AE., (1990).**Genetic of seed coats and color and pattern in lentil.*Journal of heredity.*81:484-488.
- Somers E., Vanderleyden J., Srinivasan M. (2004).** Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol*, 304:205-240.
- Sundara, B., V. Natarajan, K. Hari (2002).** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane yields. *Field Crops Res.* 77:43–49.
- Vandenberg ET slinkard, (1990).**Genetic of seed coats and color and pattern in lentil.*Journal of heredity.*81:484-488.
- Vargas, DP, R. Ferrera-Cerrato, JJ.Almaraz-Suarez, AG.Gonzalez (2001).**Inoculation of plant growth-promoting bacteria in lettuce. *Terra* 19:327–335.
- Wall, L. (2000).** The actinorhizal symbiosis. *J. Plant Growth Regul., Journal of Plant Growth Regulation* 19(2):167-182.
- Werner, D (1992).** Symbiosis of plants and cell protiens analysis from *Rhizbium ferdii*.*Acad Sin:* 39.
- Yunnus, A. G. and Jackson, M.T. (1991).** Thé gène pools of thé Grasspea. *Plant Breeding* 106 (4): 319-328.
- Zaidi, SFA (2003).** Biocontrol of *Fusarium oxysporium* by plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) in soybean. *Ann. Agr. Res.* 24:676–678.
- Zakhia, F; et de Lajudie, P. (2001).** Taxonomy of rhizobia. *Agronomie.*21 :569-576.

Annexes

Annexe 1

•Préparation du réactif vanadomolybdique :

1. Peser 2G d'heptamolybdate d'ammonium dans un bécher de 250 ml.
2. Ajouter 20 ML d'eau déminéralisée puis 2 ml d'ammoniaque et un gros barreau aimanté.
3. Agité jusqu' à dissolution complète solution de molybdate d'ammonium à 20%.
4. Peser 0,047 g de méta vanadate d'ammonium dans une coupelle en plastique.
- 5-Porter à ébullition environ 8 ml d'eau déminéralisée dans une bécher de 250ml.
6. Retirer le bécher de la plaque chauffante, et le transférer sur un agitateur magnétique.
7. Introduire le méta vanadate d'ammonium dans le bécher ainsi qu'un barreau aimanté.
8. Dissoudre le méta vanadate.
9. Verser goutte à goutte 0,1ml d'acide nitrique concentré à l'aide d'une micropipette 200-1000 µl tout en agitant.
10. Ajouter environ 10 ml d'eau déminéralisée dans le bécher (solution de vanadate d'ammonium)
11. Une fois la solution de vanadate d'ammonium et de vanadate d'ammonium préalablement préparées.
12. A l'aide d'une éprouvette, ajouter 90 ml d'acide nitrique concentré dans la fiole, et compléter à 1l avec l'eau déminéralisée.
13. Agiter la fiole et transférer son contenu dans un flacon en plastique de 1l (Réactif vanadomolybdate).

Le réactif vanadomolybdique sera conservé 3 mois au frigo dans un flacon à verre brun.

-Pour la préparation de la solution mère de phosphore, le dihydrogénophosphate de potassium doit être séché une nuit à 105 °C.

- Préparation de la courbe étalon

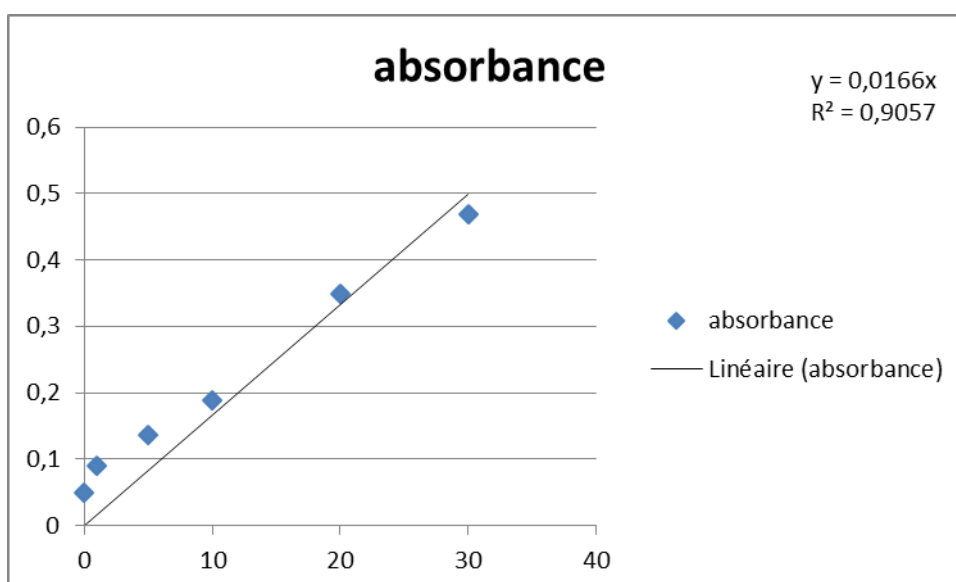
- 1- Peser précisément 0,439 g de dihydrogénophosphate de potassium préalablement séché dans une coupelle en plastique
- 2- Introduire la poudre dans un bécher de 50 ml et ajouter 30 ml d'eau déminéralisée.

- 3- Insérer un barreau aimanté et agiter jusqu'à dissolution complète.
- 4- Verser le contenu du bécher dans une fiole de 100 ml, et rincer plusieurs fois le bécher avec de l'eau déminéralisée, récupérer les eaux de rinçage dans la fiole.
- 5- Compléter la fiole à 100mL avec de l'eau déminéralisée et agiter Solution mère à 1g/L en P.
 - ❖ **La solution mère peut être congelée par aliquotes de 600µL, par contre, la solution fille de P doit impérativement être préparée le jour de l'analyse.**
- 6- Diluer 10 fois la solution mère avec de l'eau déminéralisée : 500µL de solution mère à la micropipette 20-1000µL dans un tube en PP de 6mL, et 4.5mL d'eau déminéralisée à la pipette 1.00-5.00mL.
- 7- Boucher et homogénéiser Solution fille à 100 mg/L en P.

Dosage du phosphore :

- 1- A l'aide d'un marqueur, identifier 6 tubes en PP de 6 ml comme mentionné dans le tableau 2.
- 2- On a pris 500µl de ces tubes et le met dans 6 tubes d'ependorf et on les met pendant 20 min à l'obscurité.
- 3- Ensuite on a fait un spectrophotométrie pour obtenu une courbe Etalon.

La courbe d'Etalon :



- 4- pesée 0,04 g d'échantillons et on rajoute 1000 μ l de solution préparé (30%HCl+ 10% HNO₃°).
- 5- On fait une centrifugation pendant 12 min.
- 6- Récupérer le surnageant 140 μ l dans des tubes à essais.
- 7- Diluer 50 fois (140 μ l surnageant + 6860 eau distillée).
- 8- Pour 6 ml solution final on met 3 ml solution dosage vanadomolybdique + 2,25 ml eau + 750 μ l extrait d'échantillons dilué.16.
- 9- Réaliser le dosage au spectrophotomètre.

Annexe 2

Milieu LB :

Composant	Quantité g/l
Tryptone	10g
Extrait de levure	5g
Chlorure de sodium (NaCl)	10g
PH	7

Solutions hydroponiques (M Clairotte 2008) :

Solution stock

nom	concentration	1 LITRE	A préparer
MgSO ₄	1 M	120,37 g/l	250 ml
K ₂ SO ₄	1 M	174,25g/l	1250 ml
CaCl ₂	1 M	110,98 g/l	3000 ml
Fe-EDTA	100 mM	34,81 g/l	500 ml
MnCl ₂	100 mM	12,58 g/l	100 ml
H ₃ BO ₃	100 mM	6,2 g/l	500 ml
ZnSO ₄	10 mM	1,62 g/l	100 ml
NaMoO ₄	10 mM	1,83 g/l	25 ml
CuSO ₄	10 mM	1,6 g/l	500 ml
Urée CH ₄ N ₂ O	1M	60.06 g/l	100 ml

Annexe 3

Dans un bac de 5 litres :

nom	Concentration solution stock	Concentration Finale	Volume à prélever (ml) POUR 5 L
MgSO ₄	1 M	100 µM	0.5 ml
K ₂ SO ₄	1 M	700 µM	3.5 ml
CaCl ₂	1 M	1650 µM	8.25 ml
Fe-EDTA	100 mM	16 µM	0.8 ml
MnCl ₂	100 mM	4 µM	0.2 ml
H ₃ BO ₃	100 mM	22 µM	1.1 ml
ZnSO ₄	10 mM	0,4 µM	0.2 ml
NaMoO ₄	10 mM	0,05 µM	0.025 ml
CuSO ₄	10 mM	1,6 µM	0.8 ml

- Changer la solution chaque semaine.
- Les 15 premier jours rajouter 0.25 Mm Urée (5ml SOLUTION STOCK).

Année universitaire : 2020/2021

Présenté par :ARROUDJ FTIMA

BENMEZDAD Nada

Effet de l'inoculation de bactéries rhizosphériques sur la promotion de la croissance de la lentille (*Lens culinaris*) en culture hydroaéroponique.

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. En Algérie la lentille (*Lens culinaris*) est classée 3^{ème} culture légumineuses après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le petit pois (*Pisum sativum*)

Ce travail a pour objectifs de comparer l'effet de l'inoculation de 14 Bactéries rhizosphériques préalablement isolées et caractérisées pour le potentiel de promotion de la croissance (Laadjabi 2019) sur la promotion de la croissance de lentille en culture Hydroponique; et de mettre en évidence l'activité stimulatrice de croissance sur la germination des graines in vitro et la détermination de la longueur des tiges, racines poids frais et sec des plantes de la lentille (*Lens culinaris*).

Notre objectifs secondaire c'est de continue le travail de **Nekkaa (2020)** de doser le phosphore accumulé dans des plantes de fèves inoculées l'année dernière et que nous n'avons pas pu doser à cause de la pandémie COVID 19.

Les résultats obtenus montrent que l'inoculation avec les souches de *Rhizobium sp* entraîne une augmentation racinaire et aérienne principalement pour les souches 24, 82,46, 100, qui sont des excellents candidats des PGPR de la lentille. Des études complémentaires sont nécessaire afin de déterminer leur efficacité dans l'absorption des éléments nutritifs principalement le phosphore.

Mots clés : légumineuses, *Vicia faba L.*, *Lens culinaris*, *Rhizobium*, PGPR, inoculation, Hydroaéroponie.

Laboratoire de recherche : Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale (GBBV)

Jury d'évaluation :

Président : KECHID M	(M.C.B-INATAA-UFM Constantine1),
Encadrant : Dr. MAUGAL R.T	(M.C.A-INATAA-UFM Constantine 1).
Examinateur : Mr. TEMAGOULT M	(M.A.A-SNV- UFMConstantine1).

Date de soutenance : 08/07/2021