

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie et écologie végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا النبات وعلم البيئة

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

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

**Filière :** Biologie et physiologie végétale

**Spécialité :** Biotechnologie et génomique végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Effet de l'inoculation de trois souches de *Rhizobium leguminosarum*  
(SL16, OL6 et SP4) sur la réponse physiologique du blé dur**

**Présenté par :** BENLABIOD Larbi Zakaria  
BELHADEF Charaf Eddine

**Le 27/06/2022**

**Jury d'évaluation :**

**Encadrant :** KECHID M (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** MAOUGAL R.T. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** TEMAGOULT M. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire 2021 - 2022**

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la*

*foi et d'avoir guidé nos pas vers le chemin de la science. De nous avoir fait comme nous sommes.*

*Un profond et sincère remerciement à notre encadrante **Mme KECHID MAYA** de L'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires, qu'elle trouve ici le témoignage de notre gratitude et notre reconnaissance pour son implication, sa disponibilité, ses conseils, ainsi que pour son aide précieuse pour l'élaboration de ce mémoire. Ces quelques mois sous son aile ont été plus enrichissants qu'aucune des 5 années à l'université n'a pu l'être.*

*Nous remercions les membres du jury **M. TAMAGOULT M.** de l'Université des Frères Mentouri Constantine1, ainsi que **Mme MAUGAL R.T.** de l'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions également tous nos enseignants qui ont participé à notre formation pendant notre parcours universitaire.*

## *Dédicace*

*J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A mes très chers parents*

*qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de  
persévérance.*

*Rien au monde ne vaut leurs efforts fournis jour et nuit,*

*leurs sacrifices*

*pour mon éducation et mon bien être.*

*J'espère qu'ils trouveront à travers ce travail l'expression de*

*toute ma reconnaissance et mon amour.*

*A mes frères Fakhr Eddine et Mohammed lamine, Ma sœur Imene et  
ma belle sœur Sabrina pour leur immense soutien moral.*

*A mon binôme Charaf Eddine et tous mes camarades qui m'ont  
aidé et qui étaient toujours à mes côtés durant mon parcours et qui  
ont fait que ces années resteront les plus belles de toute mon  
existence.*

*Zakaria*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A la mémoire de mon défunt père*

*A ma chère Mère, qu'elle trouve ici toute ma gratitude pour  
pour son soutien, son sacrifice, son affection, sa présence  
Irremplaçable et son amour sans faille tout au long de mes  
études, sans elle ce travail n'aurait jamais vu le jour.*

*A mon frère ainsi qu'à ma sœur pour leur soutien moral*

*A mon binôme Zakaria et tout mes camarades qui m'ont aidé  
et qui étaient toujours à mes côtés durant mon parcours.*

*A toute personne heureuse de notre réussite.*

*Charaf Eddine*

# Table de matière

## Liste des Abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## **INTRODUCTION** **1**

---

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE** **3**

---

<b>1-BLE DUR</b>	<b>3</b>
1-1-CULTURE DU BLE DUR	3
1-1-1- Période végétative	4
1-1-1-1- Germination	4
1-1-1-2-Levée	4
1-1-1-3-Tallage	4
1-1-2-Période reproductrice	5
1-1-2-1-Phase de montaison - gonflement	5
1-1-2-2-Phase d'épiaison - floraison	5
1-2- BOTANIQUE	6
1-3-PRODUCTION DE BLE DUR DANS LE MONDE	6
1-4-PRODUCTION DE BLE DUR EN ALGERIE	6
1-5-PROBLEMES DE PRODUCTION	7
1-5-1-Contraintes climatiques	7
1-5-2-Contraintes techniques	8
1-6-IMPORTATION DU BLE DUR	8
1-7-SOLUTIONS POUR AMELIORER LA PRODUCTION DU BLE	8
<b>2-RHIZOSPHERE</b>	<b>10</b>
<b>3-RHIZOBACTERIES</b>	<b>11</b>
3-1-PGPR (PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA)	12
3-2-MODES D'ACTION DES PGPR	12
3-2-1-Mécanismes directs	13
3-2-1-1-Fixation biologique de l'azote	13
3-2-1-2-Solubilisation du phosphate	14
3-2-1-3-Solubilisation du potassium	15
3-2-1-4-Production des sidérophores	16
3-2-1-5-Production des phytohormones	16
3-2-2-Mécanismes indirects	17
3-2-2-1-Compétition pour l'espace et les nutriments	17

3-2-2-2-Antibiose	18
3-2-2-3-Parasitisme	18
3-2-2-4-Résistance systémique induite ISR ( <i>Induced Systemic Resistance</i> )	18
3-3-DIFFERENTS GENRES DE PGPR	19
3-3-1- Azospirillum	19
3-3-2-Pseudomonas	19
3-3-3- Bacillus	20
3-3-4- Rhizobium	20
3-3-4-1- Caractères des <i>Rhizobium</i>	21
<b>4- SYMBIOSE RHIZOBIUM-LEGUMINEUSES</b>	<b>22</b>
4-1-GENERALITES SUR LE PROCESSUS DE LA SYMBIOSE	22
4-2-SPECIFICITE DE LA SYMBIOSE	22
4-3-EFFETS DES FACTEURS BIOTIQUES ET ABIOTIQUES SUR LA SYMBIOSE	23
4-3-1-Facteurs biotiques	23
4-3-2-Facteurs abiotiques	23
<b>5-REPONSE DE LA PLANTE A L'INOCULATION PAR DES PGPR</b>	<b>23</b>
5-1-INTERET DES PGPR POUR L'AGRICULTURE	24
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>25</b>
<hr/>	
<b>1- MATERIEL BIOLOGIQUE</b>	<b>25</b>
<b>2- CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DES SOUCHES UTILISEES</b>	<b>25</b>
2-1- UTILISATION DES SUCRES COMME SOURCE DE CARBONE	25
2-2- UTILISATION DE LA GALERIE BIOCHIMIQUE	26
2-3- MISE EN EVIDENCE DE LA PRESENCE DES ENZYMES DIGESTIVES	27
<b>3- CARACTERISATION DES MODES D'ACTION DES PGPR</b>	<b>28</b>
3-1- SOLUBILISATION DU PHYTATE	28
3-2- PRODUCTION D'AUXINE	29
<b>4-PRE GERMINATION DU BLE DUR</b>	<b>30</b>
<b>5- PREPARATION DE L'INOCULUM</b>	<b>31</b>
<b>6-INOCULATION DES BACTERIES AVEC LES PLANTES</b>	<b>31</b>
<b>7-ETUDE DE LA REPONSE DE LA PLANTE A L'INOCULATION</b>	<b>32</b>
7-1- MESURE DE LA CHLOROPHYLLE A, B ET LES CAROTENOÏDES	33
7-2- POIDS FRAIS	34
7-3- POIDS SEC	34
7-4- TENEUR EN EAU	34
7-5- NOMBRE DE FEUILLES	34
7-6- POURCENTAGE DE MATIERE ORGANIQUE ET DES ELEMENTS MINERAUX	34
<b>8- ETUDE STATISTIQUE</b>	<b>35</b>
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	<b>36</b>
<hr/>	
<b>1-CARACTERISATION BACTERIENNE</b>	<b>36</b>

1-1-UTILISATION DES DIFFERENTS SUCRES COMME SOURCE DE CARBONE	36
1-2-PRESENCE D'ENZYMES	36
1-3-GALERIE BIOCHIMIQUE	37
<b>2-CARACTERISATION DES MODES D'ACTIONS DES PGPR</b>	<b>37</b>
2-1-SOLUBILISATION DU PHYTATE	37
2-2-PRODUCTION D'AUXINE	39
<b>3-REPONSE DE LA PLANTE A L'INOCULATION BACTERIENNE</b>	<b>40</b>
3-1-POIDS FRAIS	40
3-2-POIDS SEC	42
3-3-TENEUR EN EAU	43
3-4-NOMBRE DE FEUILLE PAR PLANTE	44
3-5-POURCENTAGE DES SELS MINERAUX ET DE LA MATIERE ORGANIQUE	46
3-6-TAUX DE LA CHLOROPHYLLE	46
3-7-TAUX DE CAROTENOÏDES	48
<b><u>CONCLUSION</u></b>	<b>50</b>
<b><u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u></b>	<b>52</b>

## **ANNEXES**

## **RESUME**

## Liste des abréviations

<b>µg :</b>	Microgramme
<b>AIA :</b>	Acide indole acétique
<b>C :</b>	Caroténoïdes
<b>Chl a :</b>	Chlorophylle a
<b>Chl b :</b>	Chlorophylle b
<b>CMC :</b>	Carboxyméthylcellulose
<b>COV :</b>	Composés organiques volatils
<b>DAPG :</b>	2,4-diacétylphloroglucinol
<b>Do :</b>	Densité optique
<b>FAO :</b>	<i>Food and Agriculture Organization</i>
<b>Kda :</b>	Kilodalton
<b>L :</b>	Litre
<b>LB :</b>	Lysogeny broth
<b>MF :</b>	Matière fraîche
<b>mL :</b>	Millilitre
<b>MS :</b>	Matière sèche
<b>NBRIP :</b>	<i>National Botanical Research Institute's Phosphate</i>
<b>Nm :</b>	Nanomètre
<b>OAIC :</b>	Office Algérien Interprofessionnel des Céréales
<b>PGPR :</b>	<i>Plant Growth-Promoting Rhizobacteria</i>
<b>pH:</b>	Potentiel hydrogène
<b>RPM :</b>	<i>Round per minute</i>
<b>TE :</b>	Teneur en eau
<b>USDA :</b>	<i>United States Department of Agriculture</i>
<b>UV :</b>	Ultraviolet
<b>YMA :</b>	<i>Yeast mannitol agar</i>
<b>YMB :</b>	<i>Yeast Mannitol Broth</i>

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1 :</b>	Culture du blé	<b>5</b>
<b>Figure 2 :</b>	Représentation schématique des zones de la rhizosphère	<b>11</b>
<b>Figure 3 :</b>	Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère	<b>13</b>
<b>Figure 4 :</b>	Mécanisme de solubilisation du phosphate par les PGPR	<b>15</b>
<b>Figure 5 :</b>	Mécanisme de solubilisation du potassium par les bactéries	<b>16</b>
<b>Figure 6 :</b>	Sucres utilisés comme sources de carbone	<b>27</b>
<b>Figure 7 :</b>	Milieux utilisés pour la caractérisation biochimique	<b>28</b>
<b>Figure 8 :</b>	Mise en évidence de la présence des enzymes digestives	<b>29</b>
<b>Figure 9 :</b>	Solubilisation du phytate	<b>30</b>
<b>Figure 10 :</b>	Mesure de l'absorbance dans le spectrophotomètre	<b>31</b>
<b>Figure 11 :</b>	Germination des grains de blé dur	<b>32</b>
<b>Figure 12 :</b>	Semi des grains de blé dur dans les pots	<b>33</b>
<b>Figure 13 :</b>	Croissance des grains de blé dur	<b>34</b>
<b>Figure 14 :</b>	Cendres du poids sec des feuilles et des racines dans des creusés	<b>36</b>
<b>Figure 15 :</b>	Taux de production d'auxines chez les 3 souches bactériennes en présence ou en absence du tryptophane.	<b>40</b>
<b>Figure 16 :</b>	Poids frais des feuilles et des racines.	<b>42</b>
<b>Figure 17 :</b>	Poids sec des feuilles et des racines.	<b>43</b>
<b>Figure 18 :</b>	Teneur en eau dans les feuilles et les racines.	<b>45</b>
<b>Figure 19 :</b>	Pourcentage du nombre des feuilles par traitement.	<b>46</b>
<b>Figure 20 :</b>	Variation de la chlorophylle A, la chlorophylle B et la chlorophylle totale.	<b>48</b>

**Figure 21 :** Variation de la teneur en caroténoïdes des feuilles des variétés étudiées

**49**

## **Liste des tableaux**

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1 :</b>	Classification botanique du blé dur	<b>6</b>
<b>Tableau 2 :</b>	Croissance des souches en présence de différents sucres	<b>37</b>
<b>Tableau 3 :</b>	Mise en évidence de la présence des enzymes digestives	<b>37</b>
<b>Tableau 4 :</b>	Résultats de quelques caractéristiques de la galerie biochimique	<b>38</b>
<b>Tableau 5 :</b>	Solubilisation du phytate par les souches bactériennes	<b>39</b>
<b>Tableau 6 :</b>	Pourcentage des éléments minéraux et de la matière organique dans les feuilles et dans les racines	<b>47</b>

# *Introduction*

### Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale. Parmi ces céréales, le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines (**Bajji, 1999**).

L'Algérie est un grand importateur de blé et se trouve dépendante du marché international. Cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (**Chellali, 2007**).

Les faibles rendements sont dus essentiellement à la dégradation du sol qui représente une menace pour la survie à long terme de la production agricole. En effet, le sol est le support principal de la plupart des produits issus de l'agriculture. Il constitue également le support de vie d'une très grande variété d'organismes vivants en interactions continues (plantes, vers de terre, nématodes, acariens, protozoaires, algues, champignons, eubactéries, etc.) (**Drenovsky, 2004**). De plus, la culture de blé nécessite des apports importants en engrais azotés, ce qui augmente le risque de contamination des nappes souterraines et la réduction de l'activité microbienne dans la rhizosphère.

Ces dernières années, plusieurs études ont montré que la voie biologique peut constituer une alternative efficace, plus écologique et moins coûteuse que la voie chimique par l'intervention des microorganismes du sol. Ces microorganismes sont surtout ceux isolés de la rhizosphère ce qui les classe parmi les rhizobactéries, certaines de ces souches bactériennes peuvent stimuler le développement du système racinaire et aérien ainsi la nodulation, favoriser la nutrition minérale de la plante comme le cas de la solubilisation du phosphore et la fixation d'azote (**Dilfusa et Gisela, 2002**), ainsi que la production de phytohormones et d'autres propriétés bénéfiques pour la croissance de la plante. Ces rhizobactéries dites PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) peuvent diminuer les doses d'engrais, d'où l'importance de comprendre l'aptitude des variétés de blé à interagir avec les PGPR et à bénéficier de leurs effets (**Niranjan et al., 2005**).

De ce fait, l'objectif de notre travail de fin d'étude consiste à étudier l'effet de l'inoculation de trois souches de *Rhizobium leguminosarum* (SL16, OL6 et SP4) sur la réponse physiologique du blé dur.

Notre étude a été portée d'abord sur la caractérisation biochimique de ces souches bactériennes, ensuite, sur l'étude de la réponse physiologique de la variété CIRTA du blé dur cultivée en présence de ces différentes souches bactériennes, en observant l'effet de leur inoculation sur le poids frais et le poids sec des feuilles et des racines, la teneur en eau, le nombre des feuilles, le pourcentage des sels minéraux et de la matière organique, et enfin le taux de chlorophylle et de caroténoïdes.

*Synthèse*

*bibliographique*

### 1-Blé dur

De nos jours, les céréales en général, le blé, constituent la principale base du régime alimentaire pour les consommateurs algériens. Il présente, un rôle social, économique et politique dans la plupart des pays dans le monde (**Hamdani et al., 2018**).

C'est la troisième espèce par importance mondialement, et la plus consommée par l'homme (**Nedjah, 2015**).

Le blé est la céréale la plus cultivée et la plus consommée aujourd'hui dans le monde. Elle a été domestiquée au Proche-Orient à partir d'une graminée sauvage il y a environ 10.000 ans, il compte actuellement quelque 30 000 formes cultivées. La production mondiale, en progression constante, et les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'une des principaux acteurs de l'économie mondiale. Le mot blé a longtemps désigné toute une série de céréales, dont le seigle, le sorgho et le mil. En latin, plus précis, le blé est identifié sous le genre *Triticum* (**Nedjah, 2015**).

#### 1-1-Culture du blé dur

Les blés cultivés en Algérie se rapportent à deux espèces principales : blé dur (*Triticum durum* Desf.), qui sert à la fabrication des semoules destinées à la fabrication du couscous, des plats traditionnels et des pâtes alimentaires, quant aux blé tendre (*Triticum aestivum* L.), son grain est utilisé pour la fabrication de la farine blanche destinée à la fabrication du pain, des pâtes et des gâteaux.

En fonction des systèmes de cultures, on distingue divers types de blé :

- Le blé d'hiver semé à l'automne, est caractéristique des régions méditerranéennes et tempérées;
- Le blé de printemps semé au printemps est cultivé dans les pays à hiver plus rude comme le Canada et la Russie.

La principale différence avec le blé d'hiver est que le blé de printemps supporte assez difficilement les températures basses et surtout qu'il n'a pas besoin de vernaliser pour épier. C'est grâce à lui que la Sibérie occidentale et le Canada sont devenus de gros producteurs.

Le cycle de développement du blé est constitué d'une série d'étapes séparées par des stades repérés, permettant de diviser en deux périodes la vie des céréales.

Une période végétative durant laquelle, la plante ne se différencie que des feuilles et des racines et une période reproductrice dominée par l'apparition de l'épi et la formation du grain (Abdi, 2015).

### 1-1-1- Période végétative

#### 1-1-1-1- Germination

La germination commence quand le grain absorbe de 20 à 25 % de son poids en eau, et que le sol peut lui fournir l'humidité, la chaleur et l'oxygène nécessaire. Le blé germe dès que la température dépasse le zéro de végétation (0°C), avec un optimum thermique entre 20 à 22°C. En conditions normales, la durée de cette phase est de 73 à 75 jour avec une somme de température qui est de 125° C.

#### 1-1-1-2-Levée

La levée commence quand une première feuille paraît au sommet de la coléoptile. L'axe portant le bourgeon terminal se développe en un rhizome dont la croissance s'arrête à 2 cm en dessous de la surface du sol (figure 1). Le rythme d'émission des feuilles est réglé par des facteurs externes comme la durée du jour et la température. La somme de température séparant l'apparition de deux feuilles successives est estimée à 100°C et varie entre 80°C pour le semis tardif et à 110°C pour le semis précoce (Bebba, 2011).

#### 1-1-1-3-Tallage

Cette phase s'amorce à partir de la quatrième feuille (figure 1). Le début du tallage est marqué par l'apparition de l'extrémité de la première feuille de la talle latérale primaire puis d'autres talles naissent successivement à l'aisselle de la 2ème et la 3ème feuille de la tige centrale, l'ensemble restant court noué, formant un plateau de tallage situé juste au niveau du sol. Ces talles primaires peuvent ensuite émettre des talles secondaires, lesquelles à leur tour émettent des talles tertiaires. La fin du tallage est celle de la fin de la période végétative, elle marque le début de la phase reproductrice, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entre-nœuds (Oudjani, 2009).

### 1-1-2-Période reproductrice

#### 1-1-2-1-Phase de montaison - gonflement

La montaison débute à la fin du tallage, elle est caractérisée par l'allongement des entrenœuds et la différenciation des pièces florales. A cette phase, un certain nombre de talles herbacées commence à régresser alors que, d'autres se trouvent couronnées par des épis (figure 1).

Pendant cette phase de croissance active, les besoins en éléments nutritifs notamment en azote sont accrus. La montaison s'achève à la fin de l'émission de la dernière feuille et des manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la gaine.

#### 1-1-2-2-Phase d'épiaison - floraison

Elle est marquée par la méiose pollinique et l'éclatement de la gaine avec l'émergence de l'épi. C'est au cours de cette phase que s'achève la formation des organes floraux (l'anthèse) et s'effectue la fécondation. Cette phase est atteinte quand 50 % des épis sont à moitié sortis de la gaine de la dernière feuille (figure 1). Elle correspond au maximum de la croissance de la plante qui aura élaboré les trois quarts de la matière sèche totale et dépend étroitement de la nutrition minérale et de la transpiration qui influencent le nombre final de grains par épi (Nadjem, 2012).

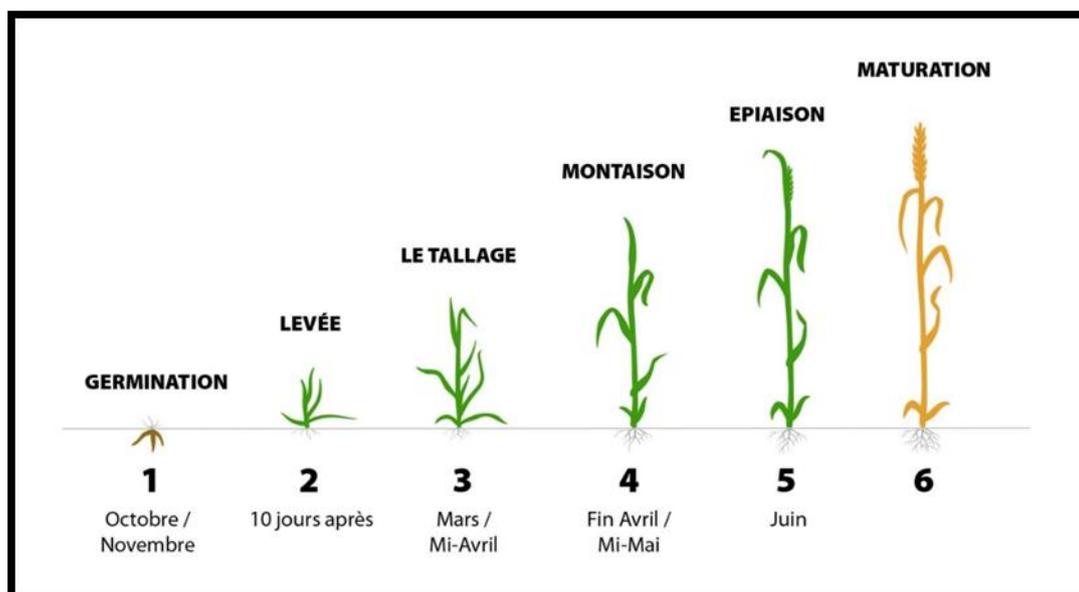


Figure 1: Culture du blé.

## 1-2- Botanique

Selon **Feillet, (2000)**, le blé dur est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille, qui sont caractérisées par des critères morphologiques particuliers.

Le blé dur est une monocotylédone qui obéit à la classification mentionné dans le tableau 1 :

**Tableau 1** : Classification botanique du blé dur.

Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Super Ordre	Commeliniflorales
Ordre	Poales
Famille	Graminacée
Tribu	Triticeae
Sous tribu	Triticinae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

## 1-3-Production de blé dur dans le monde

Selon les prévisions de la **FAO (2021)**, la production mondiale de blé en 2021 s'élèverait à 770,4 millions de tonnes, soit un recul de 0,8% par rapport au niveau record de 2020, en raison principalement de récoltes réduites prévues au Canada, en Fédération de Russie et aux États-Unis d'Amérique (États Unis), ainsi que dans plusieurs pays du Proche-Orient.

## 1-4-Production de blé dur en Algérie

La production céréalière en Algérie présente une caractéristique fondamentale depuis l'indépendance à travers l'extrême variabilité du volume des récoltes. Cette particularité témoigne d'une maîtrise insuffisante de cette culture et de l'indice des aléas climatiques. Cette production est conduite en extensif, elle constitue la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides.

La campagne agricole du blé dur 2017/2018 a été marquée par une importante production évaluée à 31,8 millions de quintaux, contre 19,9 millions de quintaux marqués

durant la campagne précédente, soit une hausse de 60 %, et le blé tendre avec 8 millions de quintaux contre 4,4 millions de quintaux lors de la campagne agricole antérieure, soit une augmentation de 80%.

Cependant, la saison 2020-2021 a enregistré une production de blé dur et tendre qui s'élève à 13 millions de quintaux au niveau de l'OAIC, soit une grande baisse par rapport à la saison précédente, déjà pas extraordinaire si l'on prend en compte les besoins du pays.

Il faudrait rappeler que l'Algérie avait enregistré une récolte de blé tendre et de blé dur de près de 40 millions de quintaux durant la saison 2019-2020, malgré une météo toujours aussi peu généreuse (Anonyme, 2020).

### 1-5-Problèmes de production

L'agriculture algérienne est inapte à satisfaire une demande en blé dur de plus en plus importante, cette incapacité s'explique par la faiblesse du rendement qui est principalement due à des contraintes climatiques et techniques.

#### 1-5-1-Contraintes climatiques

Sous les conditions de production des principales zones céréalières algériennes, notamment celles des hauts plateaux, les performances de rendement de la culture de blé dur sont essentiellement limitées par l'action des stress aussi bien de nature biotiques qu'abiotiques.

La variation des rendements, d'une année à l'autre, et d'un lieu à l'autre, a pour origine la sensibilité du matériel végétal aux effets combinés des basses températures hivernales, du gel printanier, du stress hydrique et des hautes températures de fin de cycle de la culture (Benmahammed *et al.*, 2010).

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides. (Chenaffi *et al.*, 2006). Ce stress se traduit par une série de modification qui touchent les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, à partir du moment où les besoins en eau de la plante sont supérieurs aux quantités disponibles (Mefti *et al.*, 2000). Ceci se répercute sur le rendement économique de la culture, qui peut baisser de plus de 80% (Chenaffi *et al.*, 2006).

Les hautes températures sont parmi les facteurs importants intervenant dans la limitation des rendements. En effet, les températures supérieures à 30°C réduisent le poids final de grain. Elles affectent aussi les organes floraux ainsi que le fonctionnement de l'appareil photosynthétique (Mazouz, 2006).

### **1-5-2-Contraintes techniques**

Les problèmes techniques sont une conséquence d'une mauvaise préparation du sol avec des outils inadaptés qui ont pour effet de diluer la matière organique et les éléments minéraux. Un autre problème qui est aussi important que le premier c'est la pauvreté du sol (Carence en azote N, en phosphore P et en potassium K), ce qui nécessite l'utilisation des engrais. Cette situation a obligé l'Algérie à se tourner vers les importations afin de combler la faible production.

### **1-6-Importation du blé dur**

La forte baisse de collecte de céréales, du blé notamment, aura comme conséquence pas surprenante de voir l'OAIC se tourner de nouveau vers le marché international où il est attendu que l'Algérie importe 8 millions de tonnes de blé en 2021-2022. En effet, selon le dernier rapport du Département Américain de l'Agriculture (USDA), les importations de l'Algérie devraient atteindre pas moins de 8 millions de tonnes pour combler son déficit en 2021-2022. Selon des données de Trade Data Monitor, reprises par l'USDA dans son rapport, l'Algérie a reçu 7,5 millions de tonnes de blé durant l'année commerciale 2020-2021 (Maktour, 2022).

### **1-7-Solutions pour améliorer la production du blé**

L'engrais est une composante essentielle de l'agriculture moderne. Mais, si les engrais chimiques sont le principal moyen pour avoir une production suffisante pour la population mondiale, leur utilisation excessive apporte des graves conséquences sur l'environnement (l'air pollué, l'eau, le sol, les terres dégradées, les sols appauvris et une augmentation des émissions de gaz à effet de serre). Ces engrais synthétiques ne sont pas seulement de plus en plus dangereux pour notre environnement, mais aussi sur la santé des humains et des animaux.

La production de blé dur en Algérie ne parvient pas à satisfaire la demande des consommateurs en forte augmentation ce qui conduit à des importations régulières. Il devient donc important de développer différentes méthodes biologiques par l'utilisation des

organismes naturels pour améliorer les performances de blé en termes de rendements et de qualité qu'elle soit industrielle ou au niveau de leur valeur nutritionnelle.

Parmi les solutions utilisées pour améliorer le rendement d'une façon biologique, l'utilisation des souches bactériennes qui sont capables d'augmenter le rendement et d'améliorer la qualité des cultures. On les appelle « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* » ou PGPR. Leurs caractères interviennent à plusieurs niveaux du développement végétal (au niveau racinaire et aérien).

L'utilisation des PGPR en agriculture peut permettre de stimuler la croissance des plantes et de contourner leurs pathogènes. De plus, en formant des symbioses, les PGPR augmentent la capacité des plantes à se nourrir en développant leur système racinaire **(Beauchamp, 1993)**.

### 2-Rhizosphère

Le terme « rhizosphère » dérive d'un mot grec « Rhizo » =racine et « Sphère » = champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). La rhizosphère est l'un des écosystèmes les plus complexes. C'est une niche écologique entre des différents micro-organismes et diverses racines à proximité. Deux éléments essentiels existent pour la croissance des plantes : la présence de lumière et la disponibilité en eau et en nutriments dans le sol. Son volume est variable selon le développement racinaire : il représente entre 0,1 et 1 % du sol global des écosystèmes forestiers et près de 100 % des premiers centimètres des sols cultivés (**Bazot, 2005**).

La rhizosphère est la zone de sol qui entoure les racines et qui est sous l'influence des exsudats racinaires. La richesse de cette zone la rend favorable à la colonisation par des microorganismes dont leur activité, modifie sa composition et son activité chimique (**Hiltner, 1904**).

La rhizosphère (figure 2) a été subdivisée en trois zones; l'endorhizosphère (la partie de l'endoderme, le cortex radiculaire et l'espace apoplastique entre les cellules); rhizoplan (la surface de la racine); et ectorhizosphère (la zone s'étendant du rhizoplan au sol en vrac) (**Mcneer, 2013**). On conclue en général que le rhizoplan qui est la liaison racine/sol et le sol rhizosphérique situé au voisinage direct de la racine est soumis à son influence. La plante y utilise l'eau et les éléments minéraux nécessaires à son développement et à sa croissance, conduisant aussi des modifications importantes du potentiel de l'eau et des concentrations ioniques du sol rhizosphérique (**Selami, 2015**).

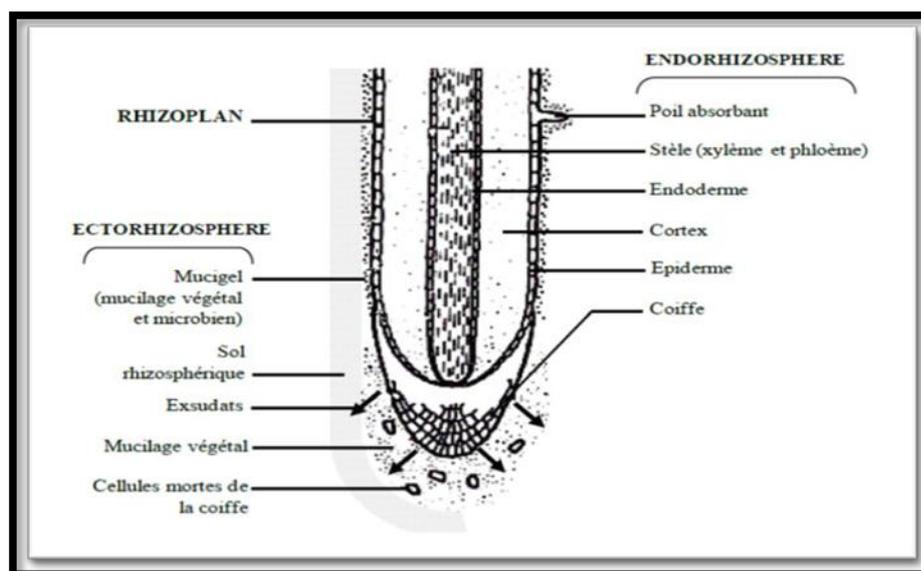


Figure 2 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay, 2015).

### 3-Rhizobactéries

Les rhizobactéries sont des bactéries qui se retrouvent dans la rhizosphère et qui présentent l'aptitude à interagir avec les racines de façon intense (Schroth et Hancock, 1981, 1982).

Elles semblent promouvoir la croissance des cultures par plusieurs mécanismes qui sont comme suit : suppression des maladies des plantes (par des bio-protecteurs), l'amélioration de l'acquisition des éléments nutritifs (biofertilisants), ou la production de phytohormones (appelées biostimulants) (Agritech, 2014)

Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp* (Lemanceau, 1992).

Des espèces comme *Pseudomonas* et *Bacillus* élaborent des substances qui ne sont pas encore bien définies soit comme des phytohormones soit comme des régulateurs de croissance permettant aux cultures d'avoir plus de racines fines, augmentant ainsi la surface d'absorption chez les plantes. Ces rhizobactéries sont désignées comme des bio-stimulants et les phytohormones qu'ils produisent comprennent : l'acide indole-acétique, les cytokinines, les gibbérellines et les inhibiteurs de la production d'éthylène (ACC désaminase) (Agritech, 2014).

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine. En effet, le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant (**Curl, 1982**). Ces échanges sont réciproques.

### **3-1-PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)**

Le terme PGPR provenant de l'anglais « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* » désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens (**Ahmad et Kibret, 2013**).

Plusieurs chercheurs ont identifié des bactéries du sol possédant des propriétés bénéfiques pour les plantes tant pour leur croissance que pour leur santé. Ils ont regroupé ces bactéries sous le nom de PGPR. Ces rhizobactéries se retrouvent dans la rhizosphère, à la surface des racines ou encore en association avec les racines (**Ahmed et al., 2008**).

### **3-2-Modes d'action des PGPR**

Plusieurs interactions, bénéfiques ou non, voire délétères (pathogénie) sont observées entre plantes, bactéries et champignons du sol fleuriront l'activité biologique de ce sol (**Emily, 2015**).

Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes, de manière directe ou indirecte (figure 3). Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (**Haas et Defago, 2005**).

Les modes directs incluent la fixation d'azote atmosphérique, l'apport de nutriments non disponibles, (phosphore et autres nutriments minéraux), la production de régulateurs de croissance végétale (auxines, cytokinines et gibbérellines) et la répression de la synthèse d'éthylène. Les mécanismes indirects sont les éliminations des agents phytopathogènes à travers la compétition pour l'espace et les nutriments, la synthèse d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des enzymes ou des toxines produites par les pathogènes, et l'induction des mécanismes de résistance de la plante (**Antoun et Prévost, 2005**).

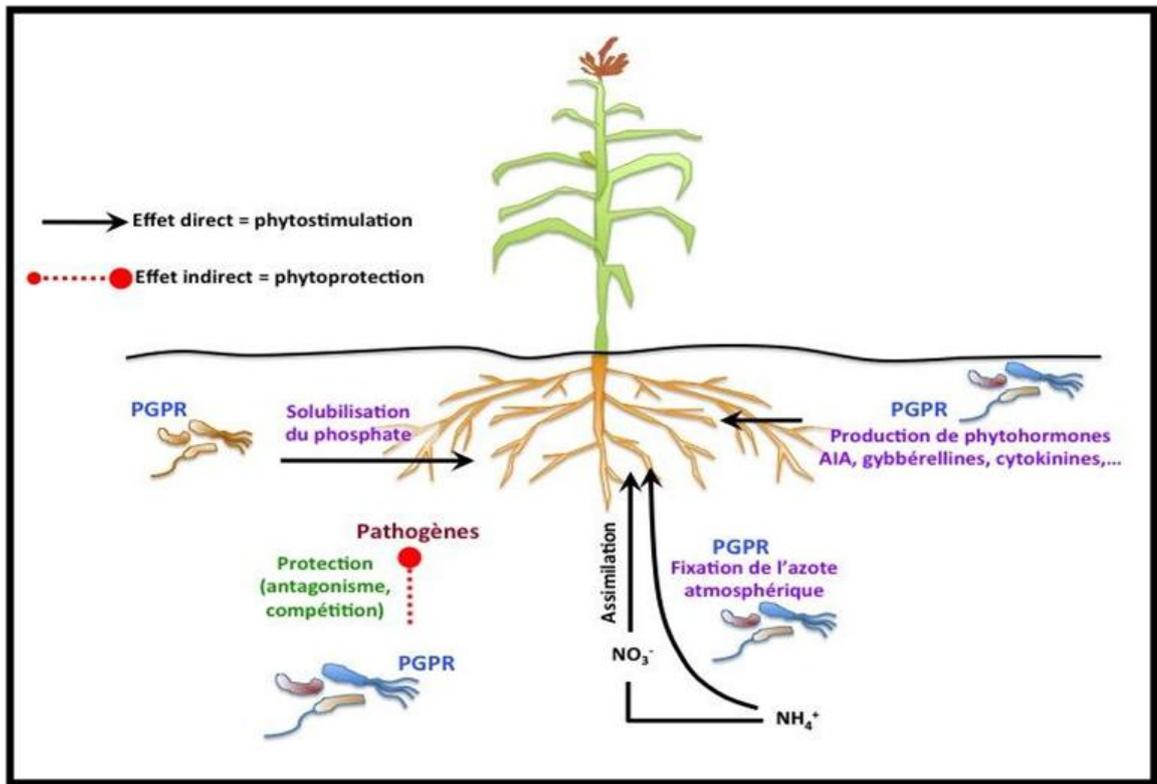


Figure 3 : Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère (Khan *et al.*, 2009)

### 3-2-1-Mécanismes directs

L'effet direct de la croissance des plantes peut se produire par plusieurs processus :

#### 3-2-1-1-Fixation biologique de l'azote

L'azote se trouve fréquemment sous forme gazeuse ( $\text{N}_2$ ), inaccessible aux animaux et aux plantes où aucune espèce végétale n'est capable de fixer l'azote atmosphérique et de l'utiliser directement pour sa croissance, sauf certaines bactéries symbiotiques qui entre en interaction avec les racines de groupe de plantes bien spécifiques comme l'exemple du genre *Rhizobium* avec les légumineuses et le genre *Frankia*, ou elles forment dans les racines des structures portant le nom de nodosités (ARORA *et al.*, 2012). Les PGPRs (non symbiotiques) les plus connus pour leur rôle de stimulation des plantes grâce à leur capacité de fixer l'azote atmosphérique sans former de nodosités sont : *Azoarcus* sp., *Burkholderia* sp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum*; *Azotobacter*, *Paenibacillus* et *Azospirillum brasilens*, qui transforment l'azote atmosphérique en ammoniac en utilisant un système enzymatique complexe connu sous le nom de la nitrogénase (WEYENS *et al.*, 2010).

### 3-2-1-2-Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est un élément largement distribué dans la nature. Il est considéré, avec l'azote (N) et le potassium (K), comme un constituant fondamental de la vie des plantes et des animaux.

Le phosphore a un rôle important dans le métabolisme de la plante, et il est l'un des éléments nutritifs essentiels pour la croissance et le développement des végétaux. Cependant, le phosphore existe sous forme inaccessible pour la plante, il reste donc de le mobilisé dans le sol (**Qureshi et al., 2012**).

Contrairement à l'azote, il n'existe pas de source biologique disponible. Même dans les sols riches, la plupart du phosphore n'est pas disponible pour les plantes, une grande quantité se trouve sous forme insoluble. Les bactéries solubilisant le phosphate, PSB (*Phosphate Solubilizing Bacteria*) sont fréquentes dans la rhizosphère (figure 4) et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (**Vessey, 2003**).

Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétale et, par la suite, la majeure partie du phosphore absorbée est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction. Toutefois, les plantes déficientes en phosphore montrent un retard de croissance (réduction de la croissance des cellules et des feuilles, perturbation de la respiration et de la photosynthèse) (**FAO., 2004**).

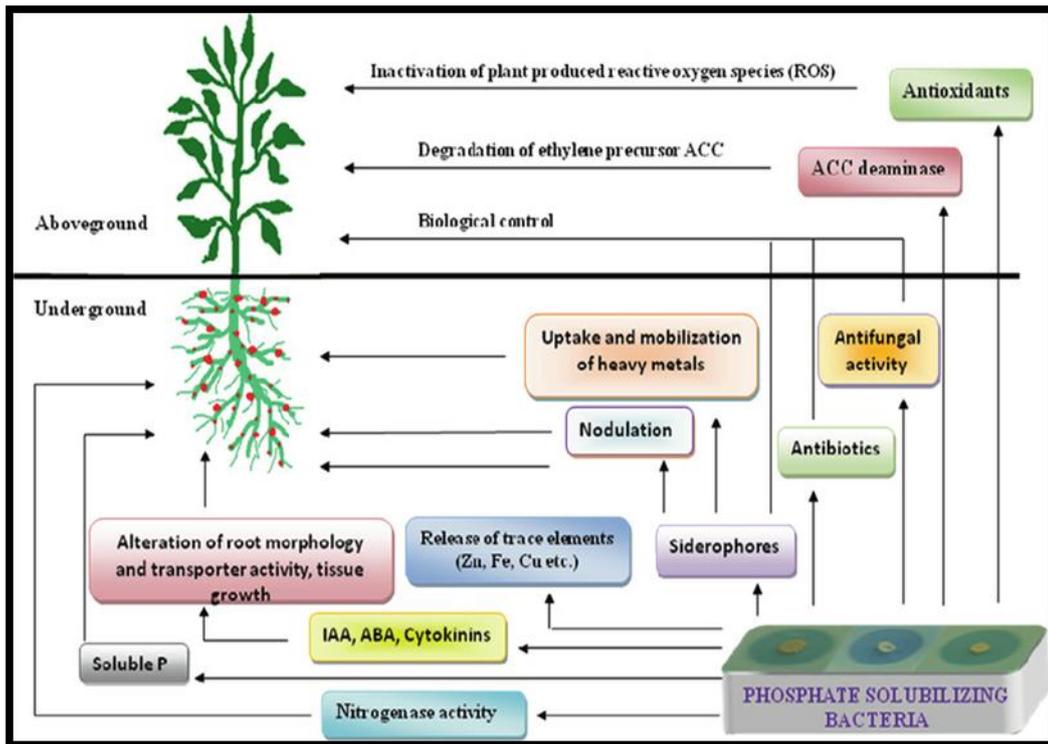
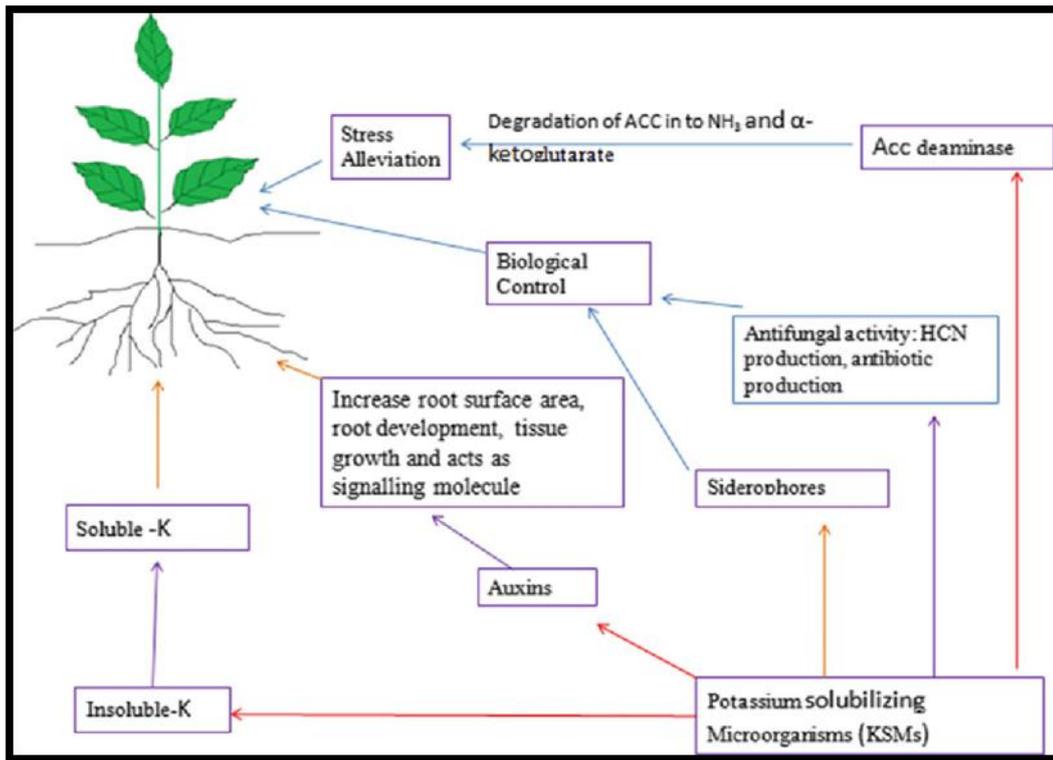


Figure 4: Mécanisme de solubilisation du phosphate par les PGPR (Busman *et al.*, 2002).

### 3-2-1-3-Solubilisation du potassium

Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013). En raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles (Kumar et Dubey, 2012). Les microorganismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle du potassium naturel. Les microorganismes solubilisant le potassium (figure 5) présent dans le sol pourraient fournir une solution alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers *et al.*, 1998).



**Figure 5:** Mécanisme de solubilisation du potassium par les bactéries.

### 3-2-1-4-Production des sidérophores

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Neilands, 1995). Certains PGPR produisent des sidérophores, composés de faibles poids moléculaire, généralement inférieurs à 1 KDa contenant des groupements fonctionnels capables de capter le fer en le rendant assimilable par les plantes (Kirdi et Zermane, 2010).

Les sidérophores (sidéros = fer ; phoros = transport) (Rossum *et al.*, 1994) sont des composés organiques qui ont une affinité très élevée et spécifique pour chélater le fer. Les sidérophores augmentent aussi la disponibilité du fer par la complexations forte de  $Fe_3^+$ . Ces complexes restent en solution et augmentent de ce fait la diffusion du fer sur la surface de cellules. Presque 500 structures de sidérophore sont connues jusqu'ici, qui sont produites par des bactéries, des mycètes et des plantes (Boukhalfa et Crumbliss, 2002).

### 3-2-1-5-Production des phytohormones

Il existe deux sources de phytohormones naturellement disponibles pour les plantes : production endogène par les tissus de la plante et exogène par des micro-organismes associés.

Les PGPRs produisent différentes phytohormones comme : l'AIA (Acide indole acétique qui fait partie des auxines), l'acide gibbérellique et les cytokinines. Ce sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (**Martinez- viveros et al., 2010**).

### 3-2-2-Mécanismes 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, fongiques et parasitaires est supprimé via la production d'antibiotiques, compétition (pour les éléments nutritifs, l'oxygène et l'espace), l'activation de la résistance systématique induite (ISR) et la production des enzymes (chitinase, protéase, lipase), cette protection est nommée biocontrôle. 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.) (**Tariq et al., 2014**).

#### 3-2-2-1-Compétition pour l'espace et les nutriments

La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme biologique utilisé par les PGPR pour éliminer les phytopathogènes. Cette compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance (**Shameer et Prasad, 2017**).

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et, par conséquent, leur croissance (**Piano et al., 1997**). Mais, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est, dans certains cas, pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle générale (**Reyes et al., 2004**).

L'idée qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie fut beaucoup discutée. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (**Haas et**

**Defago, 2005**). Toute fois, la compétition pour les nutriments et les différentes sources nécessaires pour la vie se produit généralement entre les microorganismes du sol. Ces PGPR fixateur du fer et du phosphore, inhiberont la croissance des pathogènes d'une part, et favoriseront celle des plantes, d'une autre part (**Pal et al., 2006**).

### 3-2-2-2-Antibiose

La production et la libération des molécules qui tuent ou réduisent la croissance des pathogènes cibles est le mécanisme le plus efficace par lequel les microorganismes peuvent contrôler les maladies des plantes, (**Harman et Shores, 2007**). Il consiste à produire des antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène par l'agent antagoniste. Ces molécules bioactives sont des métabolites secondaires à faible poids moléculaire tels que les antibiotiques comme l'amphicine, le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène (HCN) et la phénazine qui agissent comme des facteurs contre l'attaque des pathogènes. (**Shameer et Prasad, 2017**).

### 3-2-2-3-Parasitisme

Ce mécanisme consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (**Helluy et Holme, 2005**). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste. L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques telles que les glucanases, les chitinases et les lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène (**Corbaz, 1990**).

### 3-2-2-4-Résistance systémique induite ISR (*Induced Systemic Resistance*)

L'expression de mécanismes de défense systémique chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes lors d'un phénomène appelé ISR, ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelle attaque des agents pathogènes (virus, bactéries et champignons).

De nombreux composants bactériens tels que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (**Shameer et Prasad, 2017**).

### 3-3-Différents genres de PGPR

#### 3-3-1- *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, et sont donc qualifiées de *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR). 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'accomplit 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**).

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

Les *Pseudomonas* appartiennent au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, 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 grâce à une ciliature polaire monotriche, lophotriche ou multitriche, 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 microorganismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (Reyes *et al.*, 2004)

### 3-3-3- Bacillus

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (Bacillaceae), l'ordre des bacillales (Bacillales), la classe des bacilles (*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. Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique et capables de solubiliser le phosphate, produire de l'AIA, séderophore et antifongique. Ces bactéries sont fréquemment retrouvées au voisinage des racines des plantes ou certaines espèces ont un rôle dans la fixation d'azote (Nagórska *et al.*, 2007)

### 3-3-4- Rhizobium

Les *Rhizobium* 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 *Rhizobium* peuvent améliorer la nutrition des plantes non légumineuses par la mobilisation du phosphate organique et inorganique.

### 3-3-4-1- Caractères des *Rhizobium*

#### a -Caractères morphologiques

Les *Rhizobium* sont des bactéries du sol, en forme de bâtonnet à Gram négatif, mobiles et non sporulantes (Jordan, 1984).

On distingue deux formes (Somasegaran et Hoben, 1994) :

- La forme végétative : Les rhizobia sont des bâtonnets réguliers de 1,2 à 3 µm de longueur sur 0,5 à 0,9 µm de large, pourvus d'un flagelle polaire, ou de plusieurs flagelles péritriches. Les rhizobia pourvus de 2 à 6 flagelles sont caractérisés par une croissance rapide, tandis que les rhizobia à un seul flagelle polaire ou subpolaire ont une croissance lente.
- La forme bactéroïde : les rhizobia à l'intérieur des nodules se transforment en bactéroïdes de forme régulière ou irrégulière. Chez les groupes *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium meliloti* et *Rhizobium leguminosarum*, les individus sont irréguliers et ont une taille à peu près dix fois plus grande que celle de la forme végétative.

#### b- Caractères biochimiques

Les *Rhizobium* sont des bactéries hétérotrophes, utilisent des carbohydrates simples tels que le glucose, le saccharose, le mannitol et des composés aminés. Certaines espèces exigent des vitamines (Somasegaran et Hoben, 1994).

#### c-Caractères physiologiques

Les rhizobia sont des bactéries aérobies ou microaérophiles et peuvent se contenter d'une faible tension en oxygène (pression de 0,01 atmosphérique), dont la température optimale de croissance est de 28°C et le pH optimal est de 6 à 7 plus précisément 6,8, mais certaines souches tolèrent les environnements acides (pH = 4) tel que *Rhizobium japonicum* (Somasegaran et Hoben, 1994).

#### d-Caractères cultureux

Les rhizobia à croissance rapide, produisent une turbidité dans le milieu liquide en 2/3 jours. Les *Bradyrhizobium* à croissance lente, produisent une turbidité dans le milieu liquide dans 3/5 jours. Les *Rhizobium* cultivés nécessitent un milieu de culture, qui contient une source de carbone, une source d'azote et des sels minéraux. Le *yeast mannitol agar* (YMA) est un milieu solide favorable pour la culture de *Rhizobium*, sur lequel, la

colonie apparaît ronde, blanche, opaque ou blanche laiteuse, humide, translucide, et elle peut être lisse et brillante ou rugueuse. Les colonies jaunes sont pâles, en particulier dans les cultures plus anciennes (**Somasegaran et Hoben, 1994**)

### 4- Symbiose *Rhizobium*-légumineuses

#### 4-1-Généralités sur le processus de la symbiose

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse est un processus bénéfique et réciproque qui permet aux légumineuses (macrosymbiontes) de fixer l'azote atmosphérique par l'intermédiaire des bactéries appelées *Rhizobium* (microsymbiontes).

Les légumineuses sécrètent des composés phénoliques qui attirent ces bactéries. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange bénéfique pour les deux partenaires (**Gibson et al., 2008**).

#### 4-2-Spécificité de la symbiose

La spécificité de l'hôte est l'une des principales caractéristiques de la symbiose entre les deux partenaires. Chaque espèce de *Rhizobium* a un spectre d'hôte étroit, elle ne peut affecter qu'un nombre bien défini d'espèce d'hôte (légumineuses) (**Wang et al., 2012**).

De même, chaque plante hôte (légumineuse) ne peut être affectée qu'avec un nombre d'espèces bactériennes (*Rhizobium*) limité. En contrepartie, certains symbiotes sont capables de noduler un large spectre d'hôte. Ainsi, certaines légumineuses dites à large spectre d'hôte acceptent plusieurs espèces de rhizobia (**Doyle et Luckow, 2003**).

La notion de symbiovar (sv) a été introduite pour différencier les bactéries d'une même espèce mais qui possèdent une gamme d'hôte différente. L'espèce *R. leguminosarum* est un des exemples les mieux décrits dans la littérature. Les symbiotes *phaseoli*, *trifolii* et *viciae* nodulent réciproquement les espèces des genres *Phaseolus*, *Trifolium* et *Vicia/Pisum*. Cette distinction en biovars repose sur le spectre d'hôte qui est lui-même lié au type de gènes symbiotiques hébergés par la souche (**Jordan, 1984 ; Rogel et al., 2011**).

### 4-3-Effets des facteurs biotiques et abiotiques sur la symbiose

#### 4-3-1-Facteurs biotiques

L'optimisation de la symbiose *Rhizobium*-légumineuses peut être influencée par les facteurs biotiques comme la présence des souches bactériennes rhizosphériques compatibles, compétitives et effectives, ainsi que les génotypes des plantes hôtes (Laguerre *et al.*, 2003). Les maladies bactériennes provoquées par les agents pathogènes (virus, bactéries et mycoses), les insectes et les nématodes qui sont des vecteurs des virus. Les nématodes s'attaquent aux nodosités et perturbent l'établissement de la symbiose (Corre-Hellou et Crozat, 2006).

#### 4-3-2-Facteurs abiotiques

La croissance, la survie des *Rhizobium* et l'établissement de la symbiose *Rhizobium* légumineuse peuvent être influencés par plusieurs conditions environnementales comme le pH du sol, la salinité, le stress osmotique et la température (Graham et Vance, 2000). L'augmentation des sols acides causée par le réchauffement climatique et les pratiques agricoles a un effet nuisible sur la productivité des légumineuses. La plupart des terres agricoles sont alcalines, ce qui provoque une faible disponibilité des nutriments complexés au calcium, un retard de croissance chez les bactéries fixatrices d'azote, et une viabilité symbiotique limitée. La température a un impact nuisible sur la structure chimique des enzymes ce qui conduit à l'inhibition ou l'inactivation de la nitrogénase. Elle affecte également la survie et la nodulation par les *Rhizobium* (Graham et Vance, 2003).

### 5-Réponse de la plante à l'inoculation par des PGPR

La réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde aux champs et sous serres. Sur la base des données obtenues, il est évident que l'inoculation a entraîné des augmentations significatives des rendements de différentes cultures, sous différentes conditions. Elles peuvent affecter la croissance et le rendement d'une large gamme de cultures telles que les céréales ou les légumes. Les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruits et des graines (Van Loon *et al.*, 1998).

Suite à l'apparition des exsudats racinaires produits par les plantes, les PGPRs commencent à se multiplier et par conséquent affectent positivement les plantes. Plusieurs compagnies développent actuellement des inoculants contenant des PGPRs, surtout afin de réduire l'utilisation des pesticides et des engrais chimiques pour les utiliser en agriculture (**Beauchamp, 1993**).

L'inoculation des semences avec ces rhizobactéries se traduit généralement par des accroissements de rendement d'environ 10 à 30% (**Suslow, 1982**).

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 (**Bendjida et Aouadi, 2019**).

### **5-1-Intérêt des PGPR pour l'agriculture**

L'amélioration de l'agriculture est devenue d'une grande nécessité. Parmi les stratégies qui ont été employées pour améliorer l'agriculture et sa production durable et saine. Nous citons l'utilisation des biofertilisants, des biopesticides ainsi que la sélection de matériel génétique le plus adapté.

L'utilisation des rhizobactéries (PGPR) pour améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes tels que la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores, la fixation biologique de l'azote, l'ingénierie de la rhizosphère, la production de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase (ACC) , l'interférence du signal de détection de quorum (QS), l'inhibition de la formation de biofilm, la production de phytohormone, la production de composés organiques volatils (COV), l'induction d'une résistance systémique et la promotion de symbioses végétales-microbes bénéfiques, constitue un moyen miracle pour remplacer l'utilisation d'engrais chimiques, de pesticides et d'autres suppléments. Les substances favorisant la croissance sont susceptibles d'être produites en grandes quantités par ces micro-organismes de la rhizosphère qui influencent indirectement la morphologie globale des plantes. Les progrès récents dans notre compréhension de la diversité des PGPR dans la rhizosphère ainsi que de leur capacité de colonisation et de leur mécanisme d'action devraient faciliter leur application en tant que composant fiable dans la gestion d'un système agricole durable.

*Matériel et  
méthodes*

## Matériel et Méthodes

Le travail réalisé s'est déroulé au sein du laboratoire GBBV (*Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales*) à l'Université Frères Mentouri Constantine 1, dans une période de 3 mois à peu près, du début du mois de mars jusqu'à la fin du mois de mai 2022. Au cours de ce travail, nous avons pu connaître et décrire les effets de l'inoculation de 3 souches de l'espèce *Rhizobium leguminosarum* sur la réponse de la variété CIRTA du blé dur.

### 1- Matériel biologique

En ce qui concerne le matériel végétal, nous avons travaillé sur la variété Cirta du blé dur (*Triticum durum*), obtenu de l'ITGC de Constantine (Institut Technologique des Grandes Cultures).

Quant au matériel bactérien, nous avons travaillé sur trois souches de *Rhizobium leguminosarum* de la collection madame RIAH Nassira (**Riah et al., 2021**), les souches choisies ont été isolées soit du petit pois soit de la lentille, ces souches sont SL9, OL6 et SP4. Les souches bactériennes ont été prélevées à partir des solutions bactériennes conservées dans des tubes eppendorff à -80°C, le repiquage est effectué par ensemencement en surface sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture YMA (*Yeast Mannitol Agar*) (Annexe 1). L'incubation est assurée dans une étuve réglée à 28°C pendant 24h à 72h, les souches sont ensuite caractérisées par une étude biochimique.

### 2- Caractérisation biochimique des souches utilisées

#### 2-1- Utilisation des sucres comme source de carbone

Le milieu YMA sans mannitol a été préparé en remplaçant le mannitol par l'un des sucres suivants : D-Galactose, D-Glucose, D-Lactose, D-Saccharose, D-Xylose, D-Fructose, D-Maltose (figure 6). Les différents milieux contenant les différents sucres ont été coulés sur des boîtes de Pétri, ensuite, les boîtes sont ensemencées par les trois souches puis incubés durant 72h. Une croissance des colonies indique l'utilisation du sucre ajouté, la non croissance indique l'incapacité de la bactérie à utiliser le sucre ajouté comme source.



**Figure 6 :** Sucres utilisés comme sources de carbone

## 2-2- Utilisation de la galerie biochimique

Pour déterminer quelques caractéristiques biochimiques des souches en question, nous avons effectué des ensemencements sur 6 milieux de la galerie biochimique : 3 milieux solides et 3 milieux liquides, il s'agit de mannitol mobilité, TSI (*Tri Sugar Iron*), citrate de Simmons, Clarc et Lubs, urée-indole et bouillon nitrate (figure 7), nous avons suivi le mode opératoire suivant : l'équivalent d'une anse de platine a été prélevée des boîtes de pétri de chaque souche bactérienne préalablement étiquetées et numérotées. Chaque ose de culture prélevée de chaque souche, est ensemencé sur chacun de 6 milieux. L'ensemencement est effectué en strie pour les milieux TSI et le milieu citrate de Simmons et en pique centrale pour les milieux TSI et le milieu mannitol mobilité, cependant un ose de la bactérie est inoculé dans les trois milieux liquides Clarc et Lubs, urée-indole et bouillon nitrate. L'ensemencement a été effectué devant un bec de benzène pour assurer une asepsie totale et éviter d'éventuelles contaminations. Les tubes ensemencés sont placés dans une étuve réglée à 28°C pendant 48h après cette période une lecture de résultats est effectuée (Annexe 2).



**Figure 7 :** Milieux utilisés pour la caractérisation biochimique

### **2-3- Mise en évidence de la présence des enzymes digestives**

Nous avons préparé trois types de milieu YMA (Annexe 1) à 10% de sa composition principale, l'un contenant la caséine, l'autre contenant l'amidon, et le dernier contenant le CMC (Carboxyméthylcellulose) (figure 8), chacun de ces trois composants est présent à 0,1% dans le milieu. Pour mettre en évidence respectivement la présence des enzymes protéase, amylase et cellulase. Puis nous avons procédé à une stérilisation de ces derniers, ensuite nous avons versé le contenu des milieux dans des boites de pétries, une fois le milieu est solidifié, nous avons ensemencé les 3 souches dans chacun des milieux, les boites sont ensuite incubées dans une étuve à 30°C. Après la croissance des bactéries, nous avons procédé à la mise en évidence de la production de ces enzymes. En ce qui concerne la cellulase nous avons rincé la boite de Pétri à l'eau de robinet, puis la boite a été remplie avec la solution du rouge de Congo (10%) et laissé dans l'étuve à 30°C pendant 30 min , après cette durée, nous avons coulé le rouge de Congo et il a été remplacé par une solution de NaCl, les boites sont incubées à une température ambiante pendant 30 min, les boites qui ont présenté un alentour claire autour des colonies sont considérées positives pour la cellulase. Pour ce qui est de l'amylase, nous avons rajouté du ligol dans les boites de pétri et nous avons observé la zone au tour de la colonie, la zone claire indique que c'est positif pour l'amylase. Concernant la protéase nous avons directement effectué de la zone claire autour des colonies qui indique aussi que c'est positif pour la protéase.



**Figure 8 :** Mise en évidence de la présence des enzymes digestives.

### 3- Caractérisation des modes d'action des PGPR

#### 3-1- Solubilisation du phytate

Afin de voir la capacité des 3 souches de *Rhizobium leguminosarum* à solubiliser l'une des formes insolubles de phosphore présente dans le sol qui le phytate, les souches bactériennes ont été testées en utilisant le milieu (NBRIP) (Annexe 1) qui contient le phytate comme seule source de phosphore (Nautiyal, 1999). Le phytate est une forme de phosphore non assimilée par les plantes. Chacune des trois souches est ensemencée par touche sur le milieu NBRIP, les boîtes sont ensuite incubées pendant 8 jours à 28°C. La présence d'un halo autour des colonies après la période d'incubation indique la capacité des souches à solubiliser cette forme de phosphore complexe, ce qui indique aussi la présence de la phytase chez ces souches (figure 9). Les bactéries capables de dégrader le phytate, représentent un moyen important pour solubiliser le phytate présent dans le sol et le rendre accessible à la plante.



**Figure 9** : Solubilisation du phytate.

### 3-2- Production d'auxine

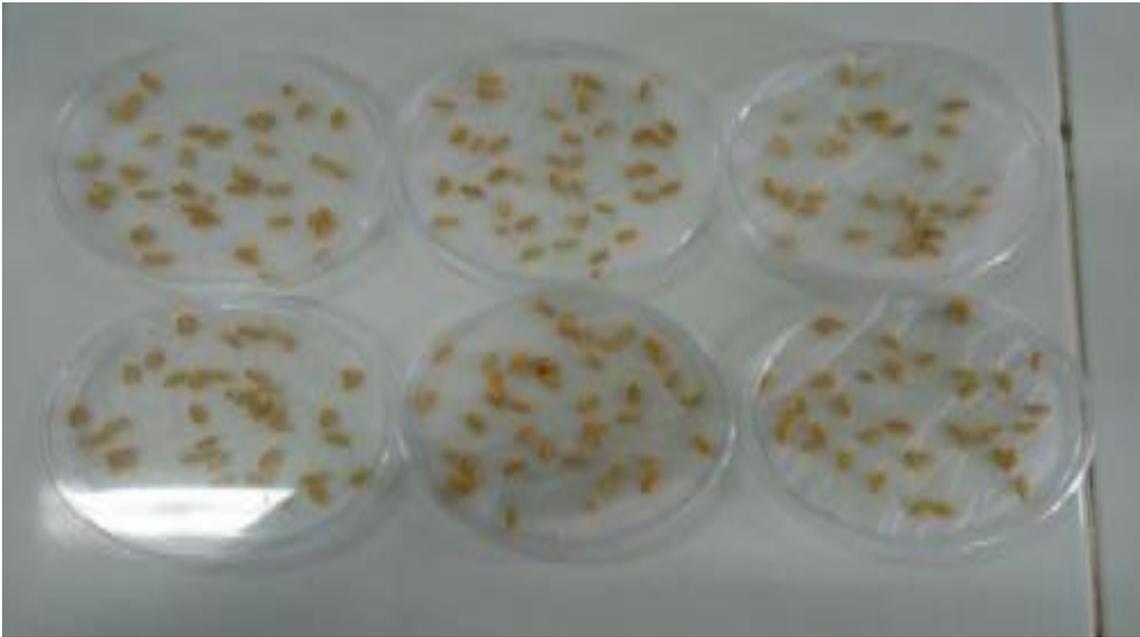
Afin de doser la production d'auxine, nous avons préparé le milieu LB liquide (Annexe 1) avec et sans tryptophane, le milieu avec tryptophane est additionné de 0,5g/L, ensuite, nous avons versé les deux types de milieu dans des tubes à essai (10 ml du milieu par tube). Après stérilisation, nous avons procédé à l'ensemencement de nos trois souches sur les deux types de milieu de culture, ainsi que deux souches de références connues pour leur production d'auxine il s'agit d'*Azospirillum brasilens* et *Azospirillum lipoferum*. Puis nous avons placé tous les tubes dans un incubateur agitateur à une température de 28°C pendant 24h. Après la croissance, nous avons mesuré la concentration bactérienne au niveau du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm, ensuite nous avons mis 1500 µl de chaque solution bactérienne dans des tubes ependorff, après nous avons mis ces derniers dans une centrifugeuse à 13000 rpm pendant 10 min. Après la centrifugation, nous avons récupéré le surnageant qui ne contient pas de bactérie, un volume de surnageant est mis dans des tubes à essai couverts de papier aluminium et nous avons rajouté un autre volume du réactif de SALKOWSKI (2% de FeCl<sub>3</sub> à 0,5M dans 35% d'acide sulfurique) (Pilet et Chollet, 1970). Les tubes sont incubés à l'obscurité totale pendant 20 min, ensuite l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 530 (figure 10). Le développement d'une couleur rose indique la production d'auxine.



**Figure 10 :** Mesure de l'absorbance dans le spectrophotomètre.

#### **4-Pré germination du blé dur**

Pour commencer, les grains de blé dur doivent être stérilisés, et pour cela, les grains de blé sont trempés dans l'éthanol à 70% pendant 2 min, puis trempés une seconde fois dans de l'eau de javel à 4% pendant 10 min, puis rincés cinq fois avec de l'eau stérile, 5 min pour chaque rinçage. Ensuite, nous avons prélevé avec une pince stérile les grains de blé dur et nous les avons déposés dans des boîtes de Pétri contenant du papier absorbant imbibé par de l'eau de robinet (figure 11), les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et mises au réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures pour la vernalisation, c'est le temps nécessaire pour déclencher la germination des grains, après cette période, nous avons retiré les boîtes de Pétri du réfrigérateur, et nous les avons mis à une température ambiante à l'obscurité totale pendant 2 jours.



**Figure 11 :** Germination des grains de blé dur

### **5-Préparation de l'inoculum**

Nous avons préparé des cultures de chaque bactérie en inoculant chaque bactérie dans un flacon Contenant 150 ml du milieu YMB (*Yeast Mannitol Broth*) (Annexe 1) (03 flacons pour chaque bactérie). Nous avons mis les flacons dans un incubateur à 28°C pendant 48 heures. Après l'apparition du trouble dans les flacons (croissance bactérienne), nous avons récupéré le culot de chaque bactérie, ceci est assuré par la centrifugation à 4500 tr/min de chaque culture bactérienne pendant 30 min. Après récupération du culot bactérien de chaque souche, nous l'avons mélangé avec de l'eau physiologique stérile et nous l'avons bien agité. Nous avons mesuré ensuite l'absorbance de chaque solution à une longueur d'onde de 620 nm. L'absorbance de chaque solution nous a permis de déterminer le volume nécessaire pour avoir une absorbance finale de 0,1/g de sol.

### **6-Inoculation des bactéries avec les plantes**

Pour cette partie nous avons réalisé deux essais, le premier essai concerne les plantes qui ont été cultivées à une intensité lumineuse basse de et le deuxième essai concerne les plantes qui ont été cultivées à une intensité lumineuse élevée.

Afin de réaliser cette partie nous avons procédé à la démarche suivante :

Pour le premier essai, après 2 jours de pré germination des grains, nous avons commencé d'abord par transférer les grains germés dans des pots contenant 40g de terreau stérile, chaque pot est semé par 1 seul grain, ensuite, nous avons inoculé chaque souche bactérienne dans 10 à 15 pots dont la concentration correspond à une absorbance de 0,1/g de terreau mesurée à une longueur d'onde de 620nm, les autres pots témoins représentent les plantes non inocuées. Les pots sont ensuite placés dans une chambre de culture, pendant 4 semaines à une température de 25°C et une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité.

Pour le deuxième essai, nous avons suivi la même démarche sauf que nous avons semé les grains dans des pots contenant 180 g de terreau stérile (figure 12), et chaque pot est semé par 5 grains.



**Figure 12 :** Semi des grains de blé dur dans les pots.

## **7-Etude de la réponse de la plante à l'inoculation**

Après 04 semaines de croissance dans la chambre de culture (figure 13), les grains de blé se sont développés, et afin de déterminer l'effet de l'inoculation des 3 souches bactériennes sur la croissance des plantes, nous avons étudié certains paramètres physiologiques qui sont: La mesure du taux de la chlorophylle totale, la chlorophylle a, la chlorophylle b, les caroténoïdes, la mesure du poids frais et du poids sec des parties

racinaires et aériennes de chaque plante, la teneur en eau, le nombre de feuilles et le pourcentage des éléments minéraux.



**Figure 13** : Croissance des grains de blé dur.

#### **7-1- Mesure de la chlorophylle a, b et les caroténoïdes**

Les pigments sont des substances qui absorbent la lumière visible, ils sont solubles dans l'alcool et les solvants des lipides. La teneur en chlorophylle a (Chl a), chlorophylle b (Chl b) et les caroténoïdes (C) sont déterminés selon la méthode de Lichtenthaler (1987) et Shabala *et al.* (1998). Les échantillons frais de la partie foliaire (100mg) sont coupés en petits fragments et sont trempés par la suite dans des tubes à essai contenant 10 mL d'acétone à 95 %, l'ensemble est conservé à l'obscurité à 4°C pendant 48 heures en fermant bien les tubes. L'absorbance des échantillons est déterminée à 644, 662 et 470 nm au spectrophotomètre UV-visible. Les teneurs en pigments (en  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) sont calculées par les formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9,784 * \text{Do (662)} - 0,99 * \text{Do (644)}$$

$$\text{Chl b} = 21,42 * \text{Do (644)} - 4,65 * \text{Do (662)}$$

$$\text{C} = (1000 \text{ Do (470)} - 1.90 \text{ chl a} - 63.14 \text{ chl b}) / 214$$

### **7-2- Poids frais**

Après 4 semaines de croissance, chaque plante est retirée du terreau, puis bien nettoyée la partie racinaire avec de l'eau de robinet, afin d'enlever toutes les traces du sol pour que ce dernier n'affecte pas la pesée, ensuite chacune des parties racinaires et aériennes de chaque plante est séparée lune de l'autre, pour être ensuite pesée avec la balance de précision.

### **7-3- Poids sec**

Après les pesées de la matière fraîche (MF) des feuilles et des racines, les tubes contenant ces derniers sont mis dans une étuve à une température de 70°C pendant 48 heures à 72 heures, afin de mesurer le poids de la matière sèche (MS) de la partie racinaire et aérienne.

### **7-4- Teneur en eau**

La teneur en eau de chaque plante est calculée selon la formule suivante:

$$TE = (MF - MS)/MF$$

### **7-5- Nombre de feuilles**

Le nombre de feuilles de chaque plante a été compté pour déterminer l'évolution de la croissance selon chaque inoculation, ensuite le pourcentage de chaque nombre de feuille par condition a été calculé.

### **7-6- Pourcentage de matière organique et des éléments minéraux**

Après avoir broyé les feuilles et les racines de la matière sèche, nous avons mis une quantité du poids sec dans les creusés et nous les avons mis dans un four à moufle à 550°C pendant 3 h (figure 14). Cette démarche pour déterminer le pourcentage de la matière organique et des éléments minéraux, sachant que le poids sec représente le taux de la matière organique et des éléments minéraux, le passage au four à moufle représente une minéralisation donc le taux de cendre obtenu représente le pourcentage des éléments minéraux.



**Figure 14 :** Cendres du poids sec des feuilles et des racines dans des creusés.

### **8- Etude statistique**

Tous les résultats obtenus sont traités par Excel afin de calculer la moyenne et l'écartype de chaque traitement d'inoculation par les trois souches de *Rhizobium leguminosarum*, en comparaison avec le témoin non inoculé. Les résultats sont ensuite traités avec l'analyse de variance en utilisant le test Fisher réalisé avec le logiciel statistique MINITAB pour déterminer les souches qui ont donné un résultat significatif par rapport au témoin non inoculé.

*Résultats et  
discussion*

## Résultats et discussion

### 1- Caractérisation bactérienne

#### 1-1- Utilisation des différents sucres comme source de carbone

Pour tester la capacité nutritionnelle de nos isolats à utiliser différentes sources de carbone, sept types de sucre ont été utilisés. Le tableau 2 montre que les différentes sources de carbone présentent une similitude entre les trois souches de *Rhizobium leguminosarum* : OL6, SL16 et SP4. Les résultats sont tous positifs ce qui signifie qu'il y'a croissance des colonies pour les trois souches bactériennes sur les 7 types de milieu, donc il y a une utilisation des sucres par toutes les souches bactériennes.

**Tableau 2:** Croissance des souches en présence de différents sucres.

	Maltose	Saccharose	Galactose	Xylose	Lactose	Fructose	Glucose
<b>OL6</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>SL16</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>SP4</b>	+	+	+	+	+	+	+

(+) : Croissance, (-) : Absence de croissance

#### 1-2-Présence d'enzymes

Les résultats des tests de présence d'enzyme réalisés sur les 3 souches bactériennes (tableau 3), nous montre déjà que les résultats pour ce qui est de la protéase sont négatifs chez toutes les souches, cela signifie qu'aucune souche ne possède ou n'est capable de produire de la protéase. Quant à l'amylase, les résultats sont positifs chez toutes les souches, cela signifie qu'il y'a production de l'enzyme amylase. Concernant la cellulase, les résultats sont positifs seulement chez les deux souches SP4 et SL16, cela signifie qu'il y'a production de cellulase chez seulement SP4 et SL16 mais pas chez OL6 qui présente un résultat négatif.

**Tableau 3:** Mise en évidence de la présence des enzymes digestives.

	Protéase	Amylase	Cellulase
<b>OL6</b>	-	+	-
<b>SP4</b>	-	+	+
<b>SL16</b>	-	+	+

### **1-3-Galerie biochimique**

Afin d'étudier certaines caractéristiques biochimiques de la galerie biochimique, le tableau 4 montre une similitude entre les différentes souches utilisées pour ce qui est de la production de gaz, la formation de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et le Citrate, ou le résultat était toujours négatif pour ces trois caractéristiques biochimiques. Le tableau 4 montre aussi que les 3 souches bactériennes possèdent l'enzyme de Tryptophane désaminase, donc il y'a eu une désamination du tryptophane par la bactérie, et elles possèdent aussi l'enzyme de nitrate réductase, donc il y'a eu transformation de nitrate en nitrite par la bactérie. Une variabilité est remarquée pour les autres caractères. Pour ce qui est de l'indole, il y'a une apparition d'un anneau rouge seulement pour la souche bactérienne OL6, cela signifie que cette bactérie a produit de l'indole, et il y'a eu donc une hydrolyse du tryptophane par l'enzyme de tryptophanase, mais pas pour les deux autres souches bactériennes, donc le test est négatif pour ces dernières. Concernant le rouge de méthyle, une coloration rouge orange est apparue seulement chez la souche bactérienne SP4, il y'a eu donc production des acides forts par cette bactérie. Le test a été négatif pour les deux autres souches, donc aucune production. A propos du VP (VOGES-PROSKAUER), une coloration brune est apparue chez les deux souches bactériennes SL16 et SP4, il a donc eu une production d'acétoïne de dyacétyle et de butane-diol, le résultat est négatif chez OL6.

**Tableau 4:** Résultats de quelques caractéristiques de la galerie biochimique.

	<b>VP</b>	<b>NR</b>	<b>RM</b>	<b>Gaz</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>Citrate</b>	<b>Indole</b>	<b>TDA</b>
<b>SL16</b>	+	+	-	-	-	-	-	+
<b>OL6</b>	-	+	-	-	-	-	+	+
<b>SP4</b>	+	+	+	-	-	-	-	+

**Gaz** : Production de gaz, **TDA** : Tryptophane désaminase; **RM** : Rouge de Méthyle; **VP** : VOGES-PROSKAUER; **NR**: Nitrate réductase, **H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène.

## **2-Characterisation des modes d'actions des PGPR**

### **2-1-Solubilisation du phytate**

Tout d'abord, un micro-organisme ne pourra pousser sur un milieu ne contenant que les phytate comme seule source de phosphore, que s'il a une capacité à libérer une

phytase extracellulaire ou par l'absorption du phytate à travers la membrane externe et sa déphosphorylation ultérieure dans le cytoplasme (**Hill et Richardson, 2007**).

Pour connaître les bactéries capables de dégrader le phytate, un test a été réalisé sur un milieu contenant le phytate comme seule source de phosphore (NBRIP). La présence d'un halo transparent autour de la colonie bactérienne indique leur capacité à solubiliser le phytate. Nous avons mesuré aussi le diamètre du halo transparent autour des colonies bactériennes qui l'ont développé (tableau 5).

L'étude de la solubilisation du phytate réalisée sur les 3 souches bactériennes (tableau 5), nous montre que SL16 est la première souche à développé un halo transparent autour de la colonie après 4 jours d'incubation. Cependant, la souche OL6 n'a certes pas présenté un résultat dans la première lecture, mais elle a présenté un résultat à partir du 5<sup>ème</sup> jour d'incubation. Cela signifie que les deux souches bactériennes SL16 et OL6 sont capables de solubiliser ou dégrader le phytate, donc elles sont capables de produire une enzyme capable de le dégrader qui est la phytase. De même, nous pouvons conclure que SL16 présente une activité enzymatique du phytase plus élevée que celle d'OL6, car elle a donné un diamètre de l'halo plus large que celui d'OL6. Quant à la souche SP4, elle n'est pas capable de solubiliser ou même de dégrader le phytate car elle a présenté un résultat négatif dans toutes les lectures. Par conséquent, la souche SP4 ne possède pas l'enzyme phytase et n'est pas capable de la produire.

**Tableau 5 :** Solubilisation du phytate par les souches bactériennes.

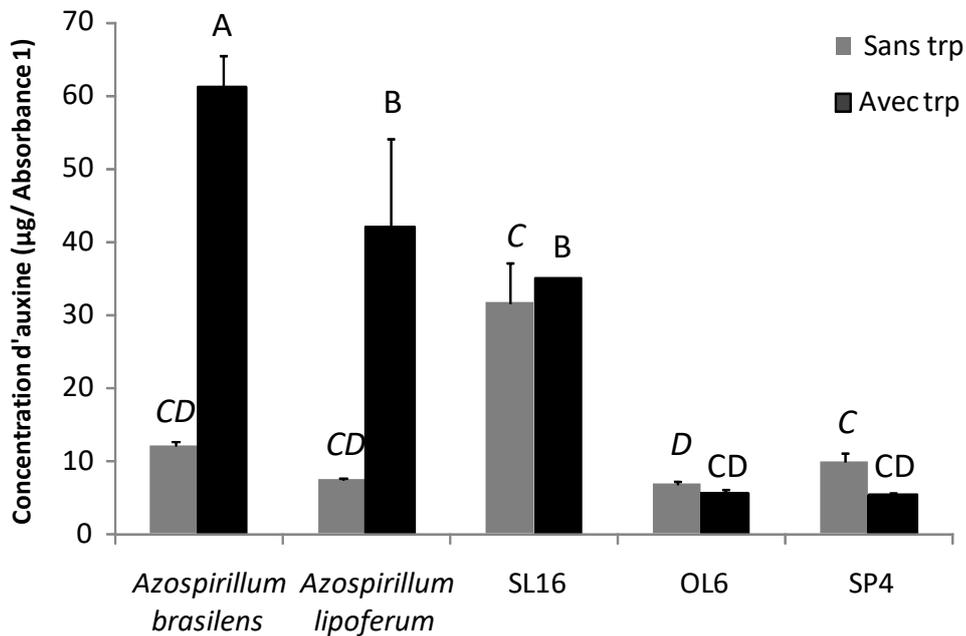
<b>Date</b> <b>Bactérie</b>	Après 4 jours de d'incubation	Après 5 jours de d'incubation	Après 8 jours de d'incubation
<b>SP4</b>	–	–	–
<b>SL16</b>	10 mm de diamètre	15 mm de diamètre	19 mm de diamètre
<b>OL6</b>	–	12,5 mm de diamètre	13 mm de diamètre

La phytase est une enzyme qui permet de libérer des ions phosphates à partir de phytates, et seront ainsi disponibles pour les racines des plantes. Au vue de leurs propriétés, les bactéries qui solubilisent et minéralisent le phosphore ont un intérêt majeur dans le cadre d'une fertilisation agricole. Car, une fois introduites dans le sol, elles peuvent tirer parti des réserves en phosphore présentes dans le milieu, en grande parties

indisponibles, pour les rendre disponible aux plantes. Pour cela, elles solubilisent et minéralisent le phosphore inorganique et organique, et permettent ainsi de libérer des phosphates solubles aux racines.

**2-2-Production d'auxine**

Un test a été réalisé sur les trois souches bactériennes pour connaître leur capacité à produire l'auxine. Cette dernière est une hormone de croissance et de développement des plantes. Elle joue un rôle dans la croissance des plantes. Nous avons mesuré le taux de la production d'auxine dans le milieu LB additionné ou non avec le tryptophane, la production d'auxine conduit à une coloration rose après avoir ajouté le réactif Salkowski. Une mesure a donc été effectuée sur le taux d'auxine produit à une longueur d'onde de 530nm pour les 3 souches bactériennes, en plus des deux souches de références *Azospirillum brasilens* et *Azospirillum lipoferum* connues comme bactéries de références pour la production d'auxine (figure 15).



**Figure 15:** Taux de production d'auxines chez les 3 souches bactériennes en présence ou en absence du tryptophane.

Toutes les 3 souches bactériennes ont produit de l'auxine avec des taux variables d'une souche à l'autre (figure 15), nous remarquons qu'en présence de tryptophane, c'est la souche SL16 qui a présenté le taux d'auxine le plus élevé par rapport aux deux autres

souches (OL6 et SP4), et qui a présenté un résultat significatif, similaire à celui de la souche de référence *Azospirillum lipoferum*. Et plus bas que celui de la souche de référence *Azospirillum brasilens* qui présente le taux le plus élevé. Cependant, il est à noter que le taux de production de la souche SL16 est aussi élevé en absence de tryptophane par rapport aux 2 autres souches en présence ou en absence du tryptophane et plus élevé même des deux souches de référence d'*Azospirillum* en absence du tryptophane. Le taux élevé de la production d'auxine en absence du tryptophane indique que la souche SL16 produit aussi l'auxine via une voie interne de biosynthèse de tryptophane. On peut donc dire que SL16 a un effet significatif sur la production d'auxine en absence de tryptophane par rapport aux deux souches de référence *Azospirillum lipoferum* et *Azospirillum brasilens*, mais qu'elle n'a aucun effet significatif sur la production d'auxine en présence de tryptophane par rapport aux deux souches de référence.

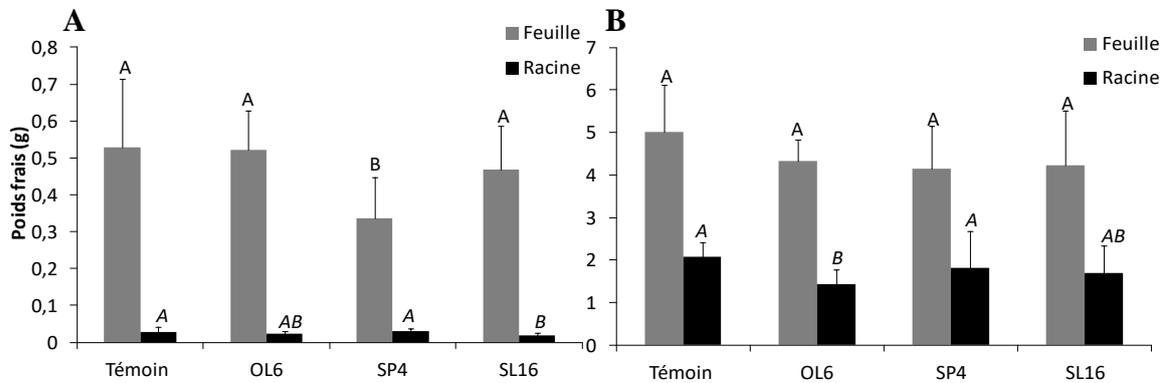
Quant aux souches OL6 et SP4, elles présentent des taux de production d'auxine largement plus bas que ceux des autres souches que se soit en présence ou en absence de tryptophane, donc une très faible production d'auxine. Et par conséquent elles n'ont aucun effet significatif sur la production d'auxine par rapport aux deux souches de référence *Azospirillum lipoferum* et *Azospirillum brasilens*.

### **3-Réponse de la plante à l'inoculation bactérienne**

#### **3-1-Poids frais**

Concernant le premier essai (figure 16A), nous constatons que les souches OL6 et SL16 ainsi que le témoin ont donné presque le même effet sur la croissance des feuilles (figure 16A). Quant à la souche SP4, elle a montré une légère diminution de la croissance des feuilles par rapport aux trois autres. Donc aucune des 3 souches n'a eu d'effet significatif sur la croissance des feuilles. La stimulation de la croissance des plantes par les PGPR est observé sur le développement racinaire ou/et la croissance aérienne. Des expérimentations menées aux champs ont permis de mettre en évidence une amélioration du rendement ainsi qu'une augmentation de la biomasse des parties aériennes et racinaires (Reyndes and Vlassak, 1982; Hernandez *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 1984). Le riz est l'une des céréales les plus cultivées dans le monde. Des essais d'inoculation du riz avec des batteries PGPR ont entraîné une augmentation significative de la longueur des plantes, des

biomasses racinaires et aériennes et du rendement en grains (Tran Van *et al.*, 1994; Achouak *et al.*, 1999; Picard *et al.*, 2008).



**Figure 16:** Poids frais des feuilles et des racines. **A:** Premier essai. **B:** Deuxième essai.

Quant à l'effet des bactéries sur la partie racinaire. Nous constatons que toutes les souches ont eu presque toutes le même effet (figure 16A). On remarque que les différents poids des trois souches bactériennes sont égaux ou inférieurs à celui du témoin. On peut donc dire que toutes les souches bactériennes n'ont pas eu d'effet significative sur la croissance des racines. La stimulation de la croissance des racines par les PGPR a été montrée par plusieurs travaux, par exemple chez les graminées, l'inoculation avec les PGPR, induit une augmentation du volume du système racinaire par une augmentation du nombre et de la longueur des racines latérale (Barbieri *et al.*, 1986; Bashan & de-Bashan, 2005; Shi *et al.*, 2010). On retrouve ces phénomènes chez les dicotylédones telles que le coin, la laitue et la tomate (Hall *et al.*, 1990). De même, Bashan et Levanony (1990), ont rapporté que l'inoculation des plantes peut amener à des changements significatifs de plusieurs paramètres morphologiques des plantes.

Concernant le deuxième essai (figure 16B), nous constatons que toutes les souches OL6, SL16, SP4 ainsi que le témoin présentent à peu près le même poids (figure 16B). Il est donc évident que les 3 souches bactériennes n'ont eu aucun effet significatif sur la croissance des feuilles par rapport au témoin. Cependant, on peut voir que par rapport au premier essai, les poids présentés dans le deuxième essai sont nettement plus élevés et ceci à cause de l'intensité de la lumière qui était supérieure dans cet essai par rapport au premier.

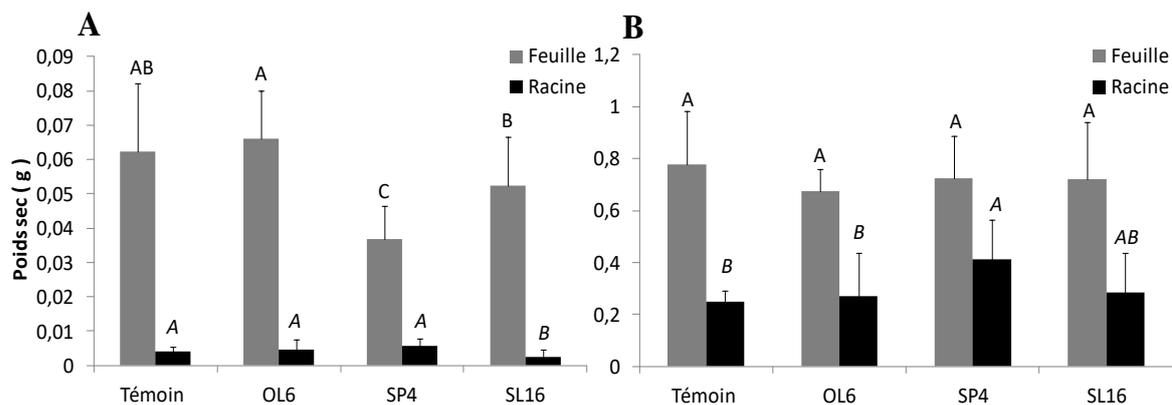
Pareil en ce qui concerne l'effet des souches bactériennes sur la partie racinaire. Les poids sont plus élevés par rapport au premier essai (figure 16B). Cependant on remarque

que les différents poids racinaires inoculées par les souches bactériennes sont soit similaires soit inférieurs à celui des témoins. On peut donc dire qu'il n'y a aucun effet significatif de la part des 3 souches sur le poids frais.

### 3-2-Poids sec

Concernant le premier essai (figure 17A), nous constatons que la souche OL6 représente le poids sec le plus élevé sur les feuilles (figure 17A), ce qui signifie que cette dernière a eu un effet significatif sur le poids sec des feuilles, des effets comparables ont été observés lors de l'inoculation des non légumineuses avec des bactéries PGPR, l'augmentation de la matière sèche des parties aériennes (**ltzigsohn *et al.*, 1993 ; Burdman *et al.*, 1996a; Rodelas *et al.*, 1996**) et des parties racinaires (**Rodelas *et al.*, 1996**). De même, Rodelas *et al.* (1996) ont observé une augmentation significative du poids de la matière sèche des parties aériennes de 12% à 55%, chez le maïs après inoculation avec *Azospirillum brasilens*.

En ce qui concerne les souches SP4 et SL16, elles ont présenté des poids à peu près similaires ou inférieurs à celui du témoin, c'est à dire que ces deux souches n'ont eu aucun effet significatif sur le poids sec des feuilles par rapport au témoin. Il est à noter que dans le premier essai, la souche SP4 a diminué le poids sec et le poids frais des feuilles des plantes avec lesquelles elle a été inoculée.



**Figure 17:** Poids sec des feuilles et des racines. **A:** Premier essai. **B:** Deuxième essai.

Quant au poids sec de la partie racinaire. Nous constatons que toutes les souches ont présenté presque le même poids sauf la souche SL16 qui a présenté une légère diminution du poids sec par rapport au témoin. Cependant, toutes les souches bactériennes présentent des poids similaires ou inférieurs à celui du témoin, on peut donc conclure que c'est la souche OL6 qui a plus d'effet sur le poids sec des feuilles, les 2 autres

souches n'ont aucun effet significatif sur le poids sec des feuilles ou des racines. Il est à noter aussi que dans le premier essai, la souche SL16 a diminué le poids sec des feuilles et des racines des plantes avec lesquelles elle a été inoculée.

Concernant le deuxième essai (figure 17B), nous constatons que toutes les souches OL6, SL16, SP4 ainsi que le témoin représentent un poids élevé de la matière sèche des feuilles en comparaison avec le premier essai. Mais on remarque aussi que toutes les souches représentent des poids à peu près pareils ou inférieurs à ceux du témoin, c'est à dire qu'elles n'ont aucun effet significatif sur le poids sec des feuilles.

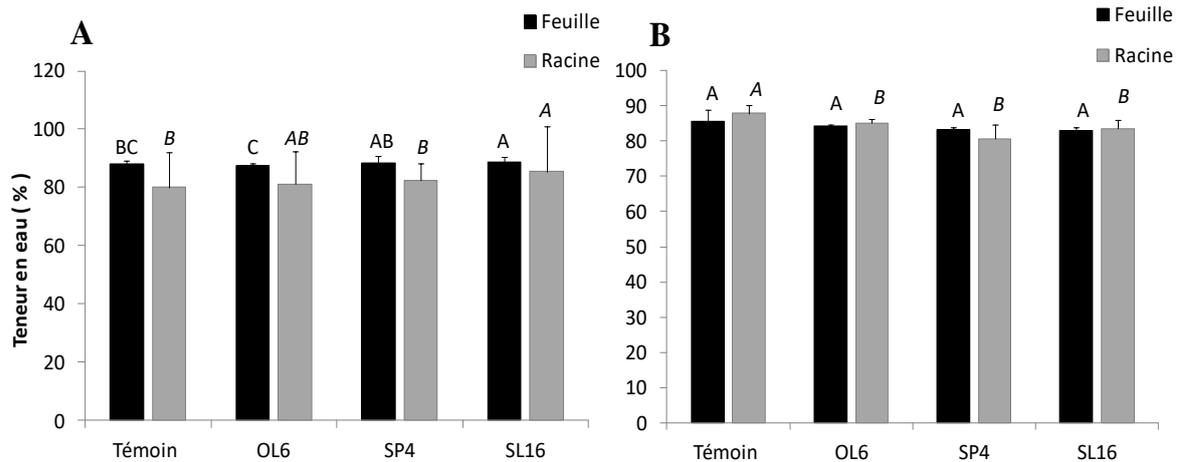
Pour ce qui est de la partie racinaire, les résultats sont plus satisfaisants par rapport au premier essai (figure 17B). On remarque non seulement que la souche SP4 représente le poids le plus élevé pour ce qui est de la matière sèche des racines, mais aussi on remarque que la souche SL16 représente un poids légèrement supérieur à celui du témoin. Ce qui signifie que l'on a un effet significatif sur le poids sec des racines de la part de SP4 et SL16 par rapport au témoin. Quant à la souche OL6, elle n'a aucun effet significatif car elle représente un poids similaire à celui du témoin.

Il est à noter que dans les deux essais effectués, les plantes n'ont pas eu la même luminosité ni la même durée d'éclairement.

### **3-3-Teneur en eau**

En ce qui concerne le premier essai, la teneur en eau dans les feuilles a été affectée par l'inoculation de nos bactéries (figure 18A), on remarque que les taux de la teneur en eau chez les plantes inoculées par les souches bactériennes SL16 et SP4 sont légèrement plus élevés par rapport à ceux du témoin, cela signifie que SL16 et SP4 ont eu un effet significatif sur la teneur en eau des feuilles. Quant à la souche OL6, elle présente un taux inférieur à celui du témoin, cela signifie qu'OL6 a eu un effet négatif sur la teneur en eau des feuilles par rapport au témoin.

Concernant la teneur en eau dans les racines (figure 18A), on remarque que les taux de la teneur en eau sont presque semblables à ceux qui représentent la teneur en eau des feuilles. SL16 est toujours la souche qui présente le taux le plus élevé, cependant on remarque qu'OL6 a un taux presque similaire à celui du témoin. Pour ce qui est de la souche SP4, on remarque un même taux que celui du témoin, cela signifie que SP4 a eu un effet négatif sur la teneur en eau des racines par rapport au témoin.



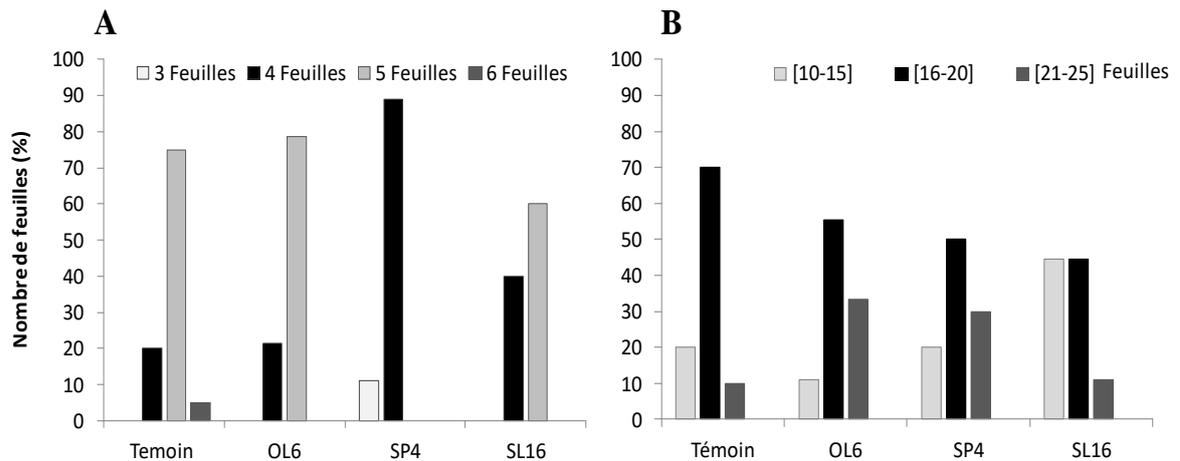
**Figure 18:** Teneur en eau dans les feuilles et les racines. A : premier essai, B : deuxième essai.

En ce qui concerne le deuxième essai, la teneur en eau dans les feuilles dans cette figure (figure 18B), nous montre des taux presque similaires à ceux du témoin. Les 3 souches n'ont donc eu aucun effet significatif sur la teneur en eau des feuilles. Par conséquent les résultats du premier essai sont plus concluants que ceux du deuxième essai.

Concernant la teneur en eau dans les racines (figure 18B), on remarque une diminution dans leur teneur en eau chez les racines des plantes inoculées par les trois souches par rapport au témoin, qui présente le taux le plus élevé de la teneur en eau des racines. L'effet de l'inoculation des ces trois souches est donc négatif par rapport au témoin non inoculé. Donc on peut aussi dire que les résultats du premier essai sont plus concluants que ceux du deuxième essai pour la teneur en eau des racines.

### 3-4-Nombre de feuille par plante

Pour le premier essai, la croissance des plantes du blé durant 4 semaines a donné un nombre de feuilles entre 3 et 6 feuilles par plante (figure 19A). D'après les résultats obtenus, nous remarquons déjà que toutes les souches présentent un nombre de développement des feuilles entre le stade 3 et 5 feuilles. Le témoin et les plantes inoculées par OL6 et SL16 sont arrivées au stade 5 feuilles sauf les plantes inoculées par SP4 qui sont arrivées qu'au stade 4 feuilles. Donc, la souche SP4 avait un effet négatif sur le développement de la plante. Il est à noter aussi que seul le témoin présente des plantes à nombre de feuille égale à 6.



**Figure 19:** Pourcentage du nombre des feuilles par traitement. A : premier essai, B : deuxième essai.

Concernent le deuxième essai, le nombre de feuilles par plante obtenue varie entre 10 et 25 (figure 19B), ces nombres sont largement plus élevés que ceux du premier essai et ceci à cause de la nature de lumière dont le deuxième essai des plantes en était exposée, ce qui montre l'importance de la lumière sur la qualité du produit. D'après les résultats obtenus, nous remarquons déjà que toutes les plantes inoculées présentent un nombre de feuilles qui varie entre 10 et 25, on voit aussi que la classe qui était dominante pour les témoins et les plantes inoculées était la classe des plantes qui avaient entre 16 et 20 feuilles. Pour la classe de [10-15] feuilles, les témoins et les plantes inoculées avec SP4 ont donné le même pourcentage du nombre de feuilles, par contre SL16 a donné le pourcentage le plus élevé pour cette catégorie et un pourcentage inférieur était observé pour les plantes inoculées avec OL6. Quant à la classe de [15-20] feuilles, le pourcentage le plus élevé était observé chez le témoin par rapport aux plantes inoculées. Cependant, le témoin a présenté le pourcentage le plus bas pour la catégorie de [20-25] feuilles, ou il avait un pourcentage inférieur à 10%, de même, SL16 a montré un pourcentage presque similaire que celui du témoin. Par contre, les plantes inoculées par OL16 et SP4 ont eu un pourcentage supérieur à 30% pour les plantes qui ont atteint la classe de [20-25] feuilles. D'après nos observations, nous pouvons conclure que les plantes inoculées par la souche OL6 présentent non seulement le pourcentage le plus bas du nombre de feuilles qui varie entre 10 et 15, mais elles présentent aussi le pourcentage le plus élevé du nombre de feuilles qui varie entre 20 et 25. Donc, OL6 est la souche qui a induit l'effet le plus fort sur l'accélération du développement de la plante.

**3-5-Pourcentage des sels minéraux et de la matière organique**

Les résultats du pourcentage des éléments minéraux et de la matière organique dans les feuilles et les racines (tableau 6), montrent que pour ce qui est des feuilles, les deux souches OL6 et SP4 ont augmenté le pourcentage en éléments minéraux. Cela veut dire que ces deux dernières ont eu un effet significatif par rapport au témoin. Quant à la souche SL16, elle représente un pourcentage presque similaire que celui du témoin, cela signifie que cette souche n'a eu aucun effet significatif par rapport au témoin.

**Tableau 6:** Pourcentage des éléments minéraux et de la matière organique dans les feuilles et dans les racines.

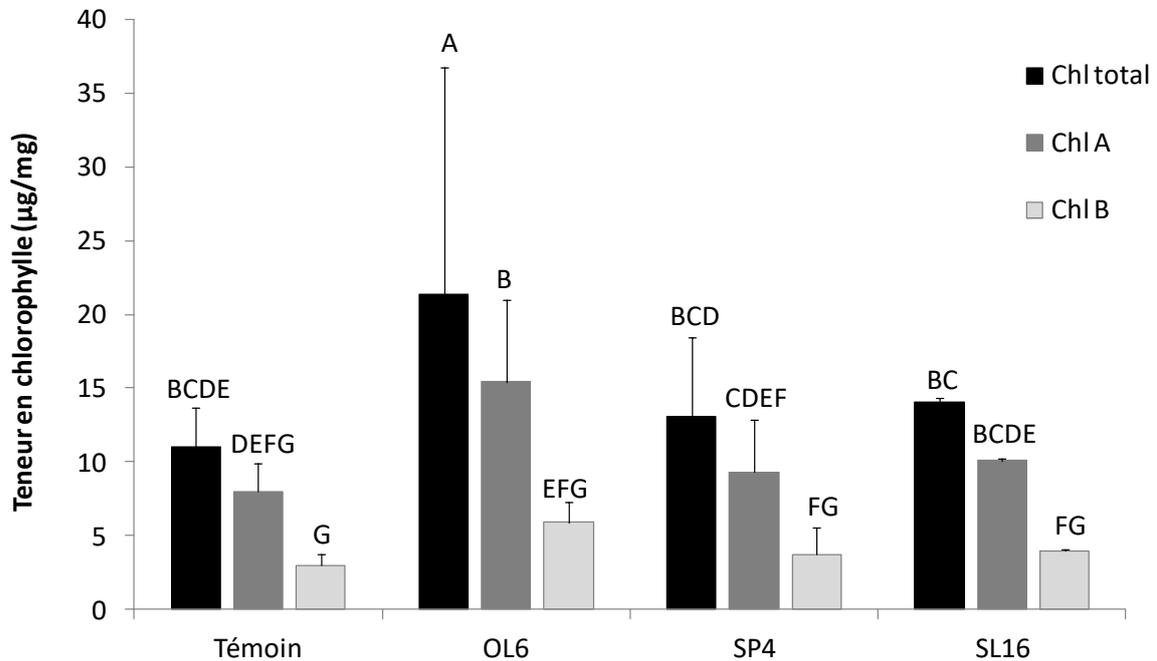
	Feuille		Racine	
	Pourcentage d'éléments minéraux (%)	Pourcentage de matière organique (%)	Pourcentage d'éléments minéraux (%)	Pourcentage de matière organique (%)
<b>Témoin</b>	9,77	90,23	4,82	95,18
<b>OL6</b>	11,65	88,35	6,62	93,38
<b>SP4</b>	10,59	89,41	4,86	95,14
<b>SL16</b>	9,55	90,45	7,87	92,13

Cependant, en ce qui concerne les racines, on remarque que c'est la souche SL16 qui représente le taux le plus élevé en éléments minéraux. La souche OL6 présente aussi un taux plus élevé que celui du témoin, cela signifie que ces deux souches ont un effet significatif sur le pourcentage en matière organique dans les racines par rapport au témoin. Quant à la souche SP4, elle présente un pourcentage assez similaire à celui du témoin, par conséquent il est évident de dire que cette souche n'a aucun effet significatif sur le pourcentage de la matière organique dans les racines.

**3-6-Taux de la chlorophylle**

La chlorophylle est un pigment végétal responsable de la coloration verte des plantes. Ce pigment, que l'on retrouve dans les cellules des végétaux, est utilisé avec d'autres pigments par les plantes pour effectuer la photosynthèse. Ce processus permet à la plante d'utiliser l'énergie du soleil pour convertir le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et l'eau en oxygène et en matière organique. La teneur en chlorophylle est considérée comme

paramètre de tolérance au stress abiotique (salinité et sécheresse) chez plusieurs espèces (Srivastava *et al.*, 1988).



**Figure 20:** Variation de la chlorophylle A, la chlorophylle B et la chlorophylle totale.

D'après notre étude sur la variation de la teneur en chlorophylle A; B et totale (figure 20). Pour ce qui est de la chlorophylle A, on remarque que la souche OL6 a induit une augmentation dans le taux de chlorophylle A par rapport au témoin et l'effet de SP4 et SL16. La souche OL6 a un effet significatif sur la teneur en chlorophylle A par rapport au témoin. Quant à la souche SP4 et SL16, nous remarquons qu'elles ont induit une légère augmentation par rapport au témoin

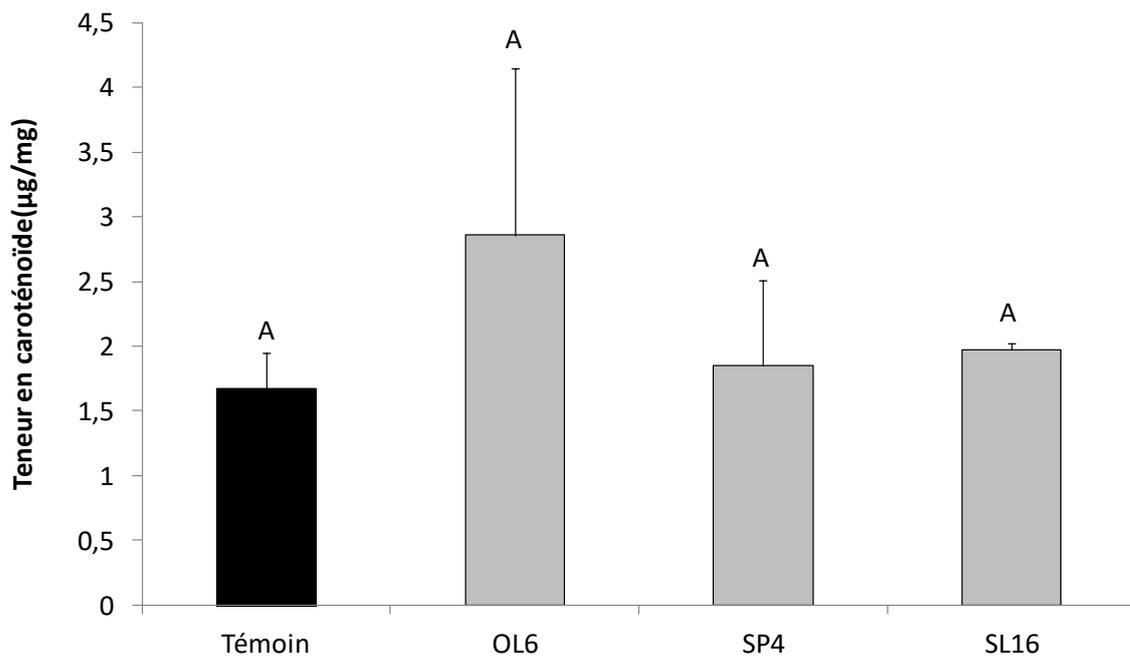
Concernant la chlorophylle B, on remarque que toujours la souche OL6 qui donne le taux de chlorophylle B le plus élevé, suivie de SL16 et SP4 qui présentent des taux presque similaires et qui sont légèrement supérieurs au témoin. Les 3 souches présentent un taux de chlorophylle B plus élevé que celui du témoin (figure 20). Le résultat est semblable à celui de la chlorophylle A, par conséquent on va dire que les 3 souches ont eu un effet significatif sur la teneur en chlorophylle B par rapport au témoin, donc elles ont augmenté aussi ce taux de chlorophylle.

Quant à la chlorophylle totale, il est normal de remarquer une similitude avec les deux résultats précédant (figure 20) pour ce qui est des souches qui représentent les taux

les plus élevés de la teneur en chlorophylle, Car on remarque que c'est OL6 qui présente la teneur en chlorophylle totale la plus élevée. Les souches SL16 et SP4 induisent aussi des taux supérieurs à celui du témoin. On peut donc dire que concernant la chlorophylle totale, toutes les souches ont donné un effet significatif par rapport au témoin, donc une augmentation de la chlorophylle.

### **3-7-Taux de caroténoïdes**

L'étude statistique de la variation de la teneur en caroténoïdes des feuilles (figure 21), nous montre que les taux de caroténoïdes de toutes les souches bactériennes est presque similaire à celui du témoin. Par conséquent, il est évident que les 3 souches n'ont eu aucun effet significatif sur la teneur en caroténoïdes par rapport au témoin, car il n'y a aucune augmentation de la teneur en caroténoïdes pour les 3 souches.



**Figure 21:** Variation de la teneur en caroténoïdes des feuilles des variétés étudiées.

Au cours la photosynthèse la chlorophylle A est responsables de la réaction photochimique, au cours de laquelle la molécule de chlorophylle passe d'un état stable à un état excité, et entraîne une réaction d'oxydoréduction, car elle absorbe principalement la lumière à la longueur d'onde de 700 nm, les caroténoïdes et la chlorophylle B sont appelés pigments accessoires car ils réalisent un transfert de l'énergie lumineuse par résonance, et la chlorophylle B transfère la quasi-totalité de l'énergie absorbée à la chlorophylle A. Les

caroténoïdes transfèrent jusqu'à 90% de l'énergie absorbée aux chlorophylles A et B **(Dutton, 1997)**.

Lorsque la feuille arrive à la maturité, elle commence à fournir les éléments nécessaires à la croissance de la plante, l'appareil pigmentaire contrôle ses propriétés optiques dans le domaine visible en raison de la forte concentration en chlorophylle et caroténoïdes. Il concentre aussi la plus grande partie des protéines dans la feuille. Une fois cette phase de maturité passe, la feuille débute la sénescence et une partie des éléments de la feuille est mobilisée vers les organes de stockage ce qui explique la couleur jaune des feuilles sénescence **(Matile., 2000 ; Hörtensteiner et Feller, 2002)**.

# *Conclusion*

## Conclusion

Le blé est la céréale la plus consommée par l'homme, sa production et son rendement sont fortement liés aux types d'amendements apportés aux sols. Le problème majeur rencontré pour les céréales en général et le blé dur en particulier est l'instabilité des rendements. Différents facteurs sont les causes de cette instabilité à savoir : La sécheresse, la précipitation pluviale irrégulière, les différentes maladies, les insectes nuisibles ainsi que le suivi inefficace appliqué sur le terrain notamment sur le plan fertilisation.

En Algérie, afin d'atteindre une rentabilité économique, les producteurs céréaliers utilisent surtout les fertilisants chimiques. Cependant, ces derniers présentent à long terme, plus d'effets négatifs que positifs, que ça soit sur l'environnement ou sur la santé du consommateur. Ces contraintes, ont poussé les recherches vers un autre moyen plus sécurisé, celui de l'utilisation des bio fertilisants qui sont des souches bactériennes bénéfiques pour la croissance des plantes : les PGPR.

La caractérisation biochimique des bactéries a montré que nos 3 souches utilisent une large gamme de source de carbone, tous les sucres utilisés dans notre étude ont été dégradés par SL16, OL6 et SP4. De même, les trois souches possèdent l'enzyme de la nitrate réductase et celle de la tryptophane désaminase. Quant aux enzymes digestives, aucune de ces trois souches ne possède la protéase mais elles possèdent toutes les trois l'amylase.

La caractérisation de deux paramètres des PGPR qui sont la solubilisation du phosphore et la production d'auxine a révélé la haute production d'auxine par la souche SL16, celle-ci a aussi été la souche qui a présenté une vitesse de solubilisation de phosphore par rapport à OL6.

D'après nos résultats, on constate que l'effet de ces bactéries sur la réponse physiologique du blé dur, n'a montré aucun effet significatif sur la croissance des feuilles par rapport au témoin. En ce qui concerne le développement racinaire, SP4 et SL16 ont montré un effet significatif sur le poids par rapport au témoin, mais aucun effet n'a été remarqué de la part d'OL6.

Les deux souches SL16 et OL6 ont eu un effet significatif sur la teneur en eau des racines par rapport au témoin. Par contre, la souche SP4 a eu un effet négatif par rapport au témoin.

Pour ce qui est du pourcentage de nombre de feuilles, seule la souche OL6 qui a montré un effet positif sur l'accélération du développement de la plante.

Les 3 souches ont augmenté le taux de la chlorophylle, et c'est surtout la souche OL6 qui présente le taux de chlorophylle le plus élevé. Cependant, aucune augmentation de la teneur en caroténoïdes n'a été observée pour les 3 souches.

Les résultats obtenus mettent en évidence un effet perceptible des *Rhizobium* sur la physiologie du blé dur. Cependant, il serait souhaitable de :

- Etudier le système racinaire qui a présenté un effet positif.
- Réaliser l'expérimentation dans les conditions réelles en plein champs pour étudier les stades avancés de la plante.
- Etudier le mécanisme par lequel la bactérie affecte la plante.
- Etudier l'effet d'autres souches *Rhizobium* afin de détecter celles qui stimulent positivement la croissance de la plante afin de les utiliser comme des biofertilisants pour la plante.

*Références*

*bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Acevedo, E., Conesa, A. P., Monneveux, P., & Srivastava, J. P. (1989).** Physiology breeding of winter cereals for stressed mediterranean environments, INRA Stat. Bioclimatologie, 50-66.
- Ahmad, M., & Kibret, M. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J King Saud Univer-Scien 26(01): 1-20.
- Akhtar, MS., Siddiqui, ZA. (2009).** Use of Plant Growth promoting rhizobacteria for the biocontrôle of root-rot disease complex chickpea. Australian Plant Pathology.38: 44-50.
- Anonyme. (2020).** Agriculture: hausse de production Durant la campagne 2017-2018. <https://www.aps.dz/economie/100602-agriculture-hausse-de-production-durant-la-campagne-2017-2018>. Consulté le : 12/04/2022.
- Antoun, H., and Prévost, D. (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A.Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. p 1–38.
- Arora, NK., Tewari, S., Singh, S., Lal, N., Maheshwari, DK .(2012).** PGPR for protection of plant health under saline conditions. In: Maheshwari DK (ed.) Bacteria in agrobiologie: Stress management, pp.239-258.
- Bajji, M. (1999).** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants soma clonaux sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.
- Barbieri, P., Galli, E. (1993).** Effect on wheat rootdevelopment of inoculation with an Azospirillum brasilense mutant with altered indole-3-acetic acid production. Research in Microbiology 144 : 69-75.
- Barbieri, P., Zanelli, T., Galli, E., Zanetti, G. (1986).** Wheat inoculation with Azospirillum brasilense Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. FEMS Microbiology Letters 36: 87-90.
- Bashan, Y., de –Bashan, LE.(2005).** Fresh-sleight measurements of roots provide intiOcurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: &critical examination. Soil Biology and Biochemistry 37: 1795-1804.
- Bashan, Y., Holguin, G., and de-Bashan, L., E. (2004).** Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Can J Microbiol. 50:521-577.

- 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.). Thèse de doctorat en science, Institut National Polytechnique de Lorraine. 201 p.
- Beauchamp, C.,J. (1993).** Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent. *PHYTOPROTECTION* 74: 19-27.
- Bendjida, Habiba., Aouadi, Salma. (2019).** Effet promoteur des bactéries PGPR sur la croissance de la fève (*vicia faba* L). Conclusion. Université Echahid Hamma LakhdarElOued.<http://dspace.univeloued.dz/bitstream/123456789/4307/1/574.01.057.pdf>
- Benmahammed, A., H, Nouar., L, Haddad., Z, Laala., A, Oulmi., H, Bouzerzour., (2010)** .Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14: 177-186.
- Boukhalfa, H., and Crumbliss, AL. (2002).** Chemical aspects of siderophore mediated ., *BioMetals* 15: 325–339.
- Burdman, S., Volpin, B., Kigel, J., Kalpulnik, Y., and Okon, Y. (1996).** Promotion of nod gene inducers and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) roots inoculated with *Azospirillum brasilense* Cd. *Appt. Envir. Microbiol.* 62 : 3030-3033.
- Busman, L., Lamb, J., Randall, G., Rehm, G., M . (2002).** The nature of phosphorus in soils. University of Minnesota Extension Service
- Chauhan, J., Tomar, Y., Indrakumar, S., Seema, A., Debarati, A. (2009).** Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *J Am Sci* 5, 79–84.
- Chenaffi, H., A, Aïdaoui., H, Bouzerzour., A, Saci. (2006).** Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences* 5 : 854-860.
- Corbaz, R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presse polytechniques et universitaires romandes.
- Corre-Hellou, G., Fustec, J., Crozat, Y. (2006).** Interspecific competition for soil N and its interactions with N<sub>2</sub> fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant and Soil.* 282: 195–208.
- De Vleeschauwer, D., Cornelis, P., and Höfte, M. (2006).** Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe oryzae* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. *Mol. Plant Microbe Interact.* 19:1406- 1419.

- Dilfusa, Egamberdiyeva and Gisela Höflich (2002).** Root colonization and growth promotion of winter wheat and pea by *Cellulomonas* spp. at different temperatures.
- Downie, JA. (2005)** Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Curr Biol.* 15: 6.
- Doyle, JJ., Luckow, MA. (2003).** The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol.* 14: 334–342.
- Drenovsky, R.E., Vo, D., Graham, K.J., Scow, K.M. (2004).** Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition. *Microb. Ecol.* 48: 424-430.
- Dutton, H.J. (1997).** Carotenoid-sensitized photosynthesis: Quantum efficiency, fluorescence and energy transfer”, *Photosynthesis Research*, 52(2):175-185.
- Emily claudia ricci, (2015).** Investigating the role of *pseudomonas* sp. and *bacillus* sp biofilms as plant growth promoting inoculants. McGill University, Montreal, Quebec, Canada.
- FAO. (2004).** Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable.
- Feillet, P. (2000).** Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.
- Fischer Sonia ,E., Edgardo, C., Jofre´ , Paula, V., Cordero , Francisco, J., Gutie´rrez Manero ,Gladys Hill, J.E., Richardson, A.E. (2007).** Isolation and assessment of microorganisms that utilize phytate. Chap. 5. In *Inositol phosphates: linking agriculture and the environment*. Edited by B.L. Turner, A.E. Richardson, and E.J. Mullaney.
- Gibson, KE., Kobayashi, H., Walker, GC. (2008).** Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics.* 42: 413–441.
- Gouasmi, R., et al., (2017).** Etude biochimique de l’influence du séchage sur la valeur nutritionnelle de deux variétés de blé dur Algériennes (Bousseleme et Siméto). Thèse de maîtrise. Univ de Khemis-Miliana. 61p.
- Graham, PH., and Vance, CP. (2003).** Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiol.* 131: 872–877.
- Graham, PH., Vance, CP. (2000).** Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research.* 65: 93–106.
- Haas, D., Défago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *pseudomonads*. *Natra. Rev. Microb.* 1129.

- Hall, J.A., peirson, D., Gosh, S., and Glick, B .R. (1995).** Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobavterium pseudomonas putida Israel. Journal of plant science. 44 : 37-42.
- Hamdani, H. (2018).** Effet insecticide de l’huile essentielle de Pittosporum tobira(Pittosporaceae) sur l’insecte ravageur du blé en post-récolte « Tribolium castaneum » (Herbst). Thèse de mastère. Univ de KhemisMiliana.49p.
- Harman, G. E., and Shores, M. (2007).** The Mechanisms and Applications of Symbiotic Opportunistic Plant Symbionts.P.131-155. In Vurro M. In addition, Gressel J. (eds.), Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management.
- Helluy, S., & Holmes, J.C. (2005).** Parasitic manipulation: further considerations. Behavioural processes, 68(3), 205-210.
- Hiltner, L. (1904).** Über neuere erfahrungen und probleme auf dem gebiete der bodenbakteriologie unter besonderer berücksichtigung der gründung und brache. Arb DLG 98, 59–78
- Hörtensteiner, S., et Feller, U. (2002).** “Nitrogen metabolism and remobilization during senescence”, Journal of Experimental Botany, 53(370):927-937.
- Jordan, DC. (1984).** Family III. Rhizobiaceae. In: Krieg NR, Holt JG (eds) Bergey’s manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore. P: 234–242.
- 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. D.C. (1994).** Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation Biochemistry, 33, pp. 389–397.
- Kirdi, B., Zermane, N. (2010).** Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: Orobanche crenata Forsk. And Cuscuta campestris Yunckerl.
- Kumar, P., Dubey, R.C. (2012).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of Phaseolus vulgaris L. J. Curr. Perspect. Appl. Microbiol. 1, 6–38.
- Laguerre, G., Louvrier, P., Amarger, N. (2003).** Compatibility of rhizobial genotypes within natural populations of Rhizobium leguminosarum biovar viciae for nodulation of host legumes. Applied and Environmental Microbiology. 69: 2276–2283.

- Lemanceau, L. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents 413–437, 414.
- Lepinay, C. (2015).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, 2013, 263p.
- Levanony, B., et Basban, Y. (1989).** Enhancement of cell division in wheat root tips and growth of root elongation zone induced by *Azospirillum brasilense* Cd. Canadian Journal of Botany. 67 : 2213-2216.
- Lichtenthaler, h. k. (1987).** Chlorophylls and carotenoids : pigments of photosynthetic biomembranes. Edit. Methods enzymol. Vol. 148, 350-380.
- Maktour, A. (2022).** Seulement 13 millions de qx de blé récoltés en 2021 : vers un large recours à l'importation. <https://www.lesoirdalgerie.com/actualites/vers-un-large-recours-a-limportation-73746>. Consulté le : 12/04/2022.
- Martínez-Viveros, 1. O., M.A, Jorquera., D.E, Crowley., G, Gajardo., and M.L, Mora.(2010).** Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. J. Soil Sci. Plant Nutr. 10: 293 – 319.
- Matile, P. (2000).** “Biochemistry of Indian summer: physiology of autumnal leaf coloration”, Experimental Gerontology, 35:145-158.
- Mazouz, L. (2006).** Etude de la contribution des paramètres phéno-morphologiques dans l’adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans l’étage bioclimatique semi-aride. Thèse de magister. Institut d’Agronomie, Université Colonel El Hadj Lakhdar, Batna, 65 pages
- Mcneer, DH Jr. (2013).** La rhizosphère-racines, le sol et tout le reste. Nat. Educ. Knowl. 4:1. Disponible en ligne à: <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-rhizosphereroots-soil-and-67500617> Google Scholar
- Mefti, A., A, Abdelguerfi., A, Chebouti. (2000).** Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.). Field Crops Research 66: 165-174.
- Morgan, J. A. W., Bending, G. D., and White, P. J. (2005).** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany. 56 : 1729- 1739.
- 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.

- Nautiyal, C.S., (1999).** An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. Federation of European Microbiological Societies (FEMS), 170, 265-270. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nedjah, I. (2015).** Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb). Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba.98p.
- Neilands, J.B. (1995).** Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Biol. Chem.* 270, 26723–26726.
- Niranjan, S., Raj, H., S, Shetty., and M. S, Redd. (2005).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Potential Green Alternative For Plant Productivity. Printed in the Netherlands.Z. A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 197–216.
- Pal ,K. K., and Gardener, B. M. (2006).** Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*: 1-25.
- Palleroni, N.J. (1984).** Family 1. *Pseudomonas*. In *Bergey`s manual of systematic bacteriology*. Volume 1. *Biol. Technol.* 33: 193-203.
- Parmar, P., Sindhu, S.S. (2013).** Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J. Microbiol. Res.* 3, 25–31.
- Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q.; Gullino, M.L. (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3) :131-140.
- Pilet, P. E., et Chollet, R. (1970).** *C. r. Acad. Sci., Paris*271, 1675.
- Qureshi, M. A., Ahmad, Z. A., Akhtar, N., Iqbal, A., Mujeeb, F., and Shakir M. A. (2012).** Role of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1): 204-210.
- Reyes, M.E.Q., Rohrbach, K.G., Paull, R.E. (2004).** Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 33(2):193-203.
- 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)
- Riah, N., de Lajudie, P., Béna, G., Heulin, K., Djekoun, A. (2021).** Variability in symbiotic efficiency with respect to the growth of pea and lentil inoculated with various rhizobial genotypes originating from sub-humid and semi-arid regions of

- eastern Algeria. *Symbiosis* 85, 371–384. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00821-0>.
- Rodelas, B., Gonzales-lopez, J., Salmeron, V., pozo, C., and Martinez-Toledo, M.V. (1996).** Enhancement of nodulation, N:fixation and growth offaba bean (*Vicia faba* L.) by combined inoculation with rhizobium *leguminosarum viciae* and *Azospirillum brasillense*. *Symbiosis*. 21 : 175-186
- Rogers, J.R., Bennett, P.C., Choi, W.J. (1998).** Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *Am. Mineral.* 83, 15321540.
- Sahgal. M., Johrin B.N. (2006).** Taxonomy of Rhizobia: current status. *Current science* .90: 488
- Selami, N. (2015).** Etude des Associations Symbiotiques de *Retama monosperma*: Approches Morphologique, Anatomique et Ultrastructurale, Caractérisation moléculaire des Isolats. Thèse de doctorat en Biotechnologie Végétale, University of sciences and technology in Oran. 150 p.
- Sergey, N., Shabala, Svetlana, I., Shabala, Alexey, I., Martynenko, Olga Babourina., and Ian, A., Newman. (1998).** Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na<sup>+</sup> accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: a comparative survey and prospects for screening. *Australian Journal of Plant Physiology* 25(5) 609 - 616
- Smith, S.E., Smith, F.A., Jakobsen, I. (2003).** Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 133: 16-20.
- Somasegaran, P., Hoben, HJ. (1994).** Handbook for Rhizobia. Springer-Verlag. Berlin. Spaink HP. 2000. Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. *Annual Review of Microbiology*. 54: 257–288.
- Sundara, B., Natarajan, V., Hall, K. (2002).** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field crops research*, 77(1), 43-49.
- Suslow, T.V. (1982).** Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-222 in M.S. Mount et G.H. Lacy. (réds.), *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 1. Académie Press, New York.
- Syed Shameer, T. N. V. K. V Prasad. (2017).** Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses.
- Tariq, M., Hameed, S., Yasmeen, T., Zahid, M., et al. (2014)** Molecular characterization and identification of plant growth promoting endophytic bacteria

isolated from the root nodules of pea (*Pisum sativum* L.) *World J Microbiol Biotechnol* 30: 719-725.

**Van Loon, L.C., Bakker, P.A., Pieterse, C.M. (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.

**Wang, D., Yang, S., Tang, F., Zhu, H. (2012).** Symbiosis specificity in the legume – rhizobialmutualism. *Cell. Microbiol.* 14: 334–342

**Weyens, N., Monchy, S., Vangronsveld, J., Taghari, and Lelie, D. V. (2010).** Plant-Microbe Partnerships (ed.), *Hand booh of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* p. 547-257.

# *Annexes*

**Annexe 1**

**Composition du milieu YMB (Yeast Manitol Broth) en g/L (Vincent, 1970)**

Mannitol	10
Extrait de levure	0,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2
NaCl	0,1
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,2
Eau distillée	1000
pH	7
Autoclavage	120°C pendant 20 minutes

**Composition du milieu YMA (Yeast Mannitol Agar) en g/L (Vincent,1970)**

YMB	1000
Agar	15
PH	7
Autoclavage	120°C pendant 20 minutes

**Composition du Milieu NBRIP en g/L (National Botanical Research Institute's phosphate)**

Glucose	10
Mgcl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	5
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,25
Kcl	0,2
(NH <sub>4</sub> ) SO <sub>4</sub>	1
Phytate	5
H <sub>2</sub> O	1000
Agar	15
pH	7
Autoclavege	120°C pendant 20 min

**Composition du Milieu LB en g/L (Bertani, 1951)**

Tryptone	10
Extrait de levure	5
Chlorure de sodium	0,25
Agar	0,2
Eau distillée	1
pH	5
Autoclavage	1000

**Annexe 2 :** Tableau de lecture et interprétation de la galerie biochimique classique.

Citrate de simmon	Gaz	H <sub>2</sub> S	Indole (Réactif de kovax)	TDA (Test de FeCl <sub>2</sub> )	RM (Rouge de méthyl)	Bouillon nitrate	VP
<p>Si le teste (+) pas de coloration.</p> <p>Si le teste (-) pas de coloration.</p>	<p>Si le teste (+) aucun noircissement.</p> <p>Si le teste (-) noircissement du colut.</p>	<p>Si le teste (+) absence de poche de gaz.</p> <p>Si le teste (-) formation de poches de gaz.</p>	<p>Si le teste (+) apparition d'un anneau rouge.</p> <p>Si le teste (-) pas de coloration.</p>	<p>Si le teste (+) une coloration marron.</p> <p>Si le teste (-) pas de coloration.</p>	<p>Si le teste (+) une coloration orange a rouge.</p> <p>Si le teste (-) pas de coloration</p>	<p>Si le teste (+) une coloration rose. Si le teste (-) pas de coloration (Ajout de Zn pour confirmer).</p>	<p>Si le teste (+) une coloration rouge. Si le teste (-) pas de coloration.</p>

# *Résumés*

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENLABIOD Zakaria Larbi  
BELHADEF Charaf Eddine

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biotechnologie et génomique végétale**

**Title : Effect of the inoculation of three strains of *Rhizobium leguminosarum* (SL16, OL6 and SP4) on the physiological response of durum wheat**

Several researches have shown that PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) can be a promising tool for the improvement of plant production. PGPRs are distinguished by their ability to colonize the root surface, survive, and multiply, while stimulating plant growth. The objective of our study is to first biochemically characterize 3 strains of *Rhizobium leguminosarum* isolated from either pea or lentil and reveal their ability to solubilize phosphorus and produce auxin. Then to know the effect of the latter on the physiological response of the CIRTA variety of durum wheat. The grains of durum wheat are thus cultivated in pots containing potting soil, then they are inoculated with these 3 different strains, the pots are thereafter put in a culture chamber under controlled conditions of temperature and light. After 4 weeks of growth, we studied some parameters, which are the measurement of the fresh and dry weight of the leaves and roots, the water content, the number of leaves, the percentage of mineral salts and organic matter, the rate of chlorophyll as well as the rate of carotenoids. Some strains showed their ability to stimulate the growth of the leaves and the roots, to increase the water content, the percentage of mineral salts, the rate of chlorophyll as well as the rate of carotenoids in the plants. Strain SL16 showed a high ability to be an efficient PGPR such as its abilities to produce auxin and solubilize phosphorus, but it was strain OL6 that gave a good physiological response from the plant.

**Mots-clefs :** PGPR *Rhizobium*, durum wheat, inoculation, weight, mineral salts, auxin, chlorophyll.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (Université Frères Mentouri Constantine 1).

**Encadrant :** KECHID M. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** MAOUGAL R.T. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** TEMAGOULT M. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENLABIOD Zakaria Larbi  
BELHADEF Charaf Eddine

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biotechnologie et génomique végétale**

**العنوان: تأثير تلقيح ثلاث سلالات من *Rhizobium leguminosarum* (OL6 ,SL16, SP4) على الاستجابة الفسيولوجية للقمح الصلب**

أظهرت العديد من الأبحاث والدراسات أن PGPR (البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات) يمكن أن تكون أداة واعدة لتحسين الإنتاج النباتي. تتميز البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات بقدرتها على استغلال سطح الجذر والبقاء والتكاثر مع تحفيز نمو النبات. و يعود الهدف من دراستنا الى: اظهار كفاءة و دور 3 سلالات كيميائية حيوية من *Rhizobium leguminosarum* المعزولة إما من البازلاء أو العدس والكشف عن قدرتها على إذابة الفوسفور وإنتاج الأوكسين. ثم تعرف على تأثير ذلك على الاستجابة الفسيولوجية لمجموعة (CIRTA) سيرتا للقمح الصلب. لذلك تُزرع حبات القمح القاسي في أواني تحتوي على تربة ، ثم يتم تحصينها بهذه السلالات الثلاثة المختلفة ، ثم توضع الأواني في غرفة الزرع و الإنتاج تحت درجة حرارة مضبوطة وظروف إضاءة. بعد 4 أسابيع من النمو ، قمنا بدراسة معايير معينة وهي: قياس الوزن في الحالة الطبيعية والوزن الجاف للأوراق والجذور ، محتوى الماء ، عدد الأوراق ، نسبة الأملاح المعدنية والمواد العضوية ، معدل الكلوروفيل وكذلك معدل الكاروتينات. أظهرت سلالات معينة قدرتها على تحفيز نمو الأوراق والجذور ، وزيادة المحتوى المائي ، ونسبة الأملاح المعدنية ، ومعدل الكلوروفيل وكذلك معدل الكاروتينات في النباتات. أظهرت سلالة SL16 قدرة عالية على أن تكون PGPR فعالة مثل قدرتها إنتاج الأوكسين وذوبان الفوسفور ، لكن سلالة OL6 هي التي أعطت استجابة فسيولوجية جيدة للنبات.

**Mots-clefs :** PGPR, *Rhizobium*, القمح الصلب, تحصيل, الوزن, الأملاح المعدنية, الأوكسين, الكلوروفيل, ذوبان الفوسفور.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (Université Frères Mentouri Constantine 1).

**Encadrant :** KECHID M. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** MAOUGAL R.T. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** TEMAGOULT M. (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENLABIOD Zakaria Larbi  
BELHADEF Charaf Eddine

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biotechnologie et génomique végétale**

**Intitulé : Effet de l'inoculation de trois souches de *Rhizobium leguminosarum* (SL16, OL6 et SP4) sur la réponse physiologique du blé dur**

Plusieurs recherches ont montré que les PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) peuvent être un outil prometteur pour l'amélioration de la production végétale. Les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, et se multiplier, tout en stimulant la croissance des plantes. L'objectif de notre étude est de caractériser d'abord biochimiquement 3 souches de *Rhizobium leguminosarum* isolées soit du petit pois soit de la lentille et de révéler leur capacité à solubiliser le phosphore et à produire l'auxine. Puis connaître l'effet de ces dernières sur la réponse physiologique de la variété CIRTA du blé dur. Les grains du blé dur sont donc cultivés dans des pots contenant du terreau, ensuite elles sont inoculées avec ces 3 différentes souches, les pots sont par la suite mis dans une chambre de culture sous des conditions de température et de lumière contrôlées. Après 4 semaines de croissance, nous avons étudié certains paramètres qui sont : la mesure du poids frais et du poids sec des feuilles et des racines, la teneur en eau, le nombre des feuilles, le pourcentage des sels minéraux et de la matière organique, le taux de chlorophylle ainsi que le taux de caroténoïdes. Certaines souches ont montré leur aptitude à stimuler la croissance des feuilles et les racines, à augmenter la teneur en eau, le pourcentage des sels minéraux, le taux de chlorophylle ainsi que le taux de caroténoïdes dans les plantes. La souche SL16 a montré une aptitude élevée pour être une PGPR efficace comme ses capacités à produire l'auxine et à solubiliser le phosphore, mais c'est la souche OL6 qui a donné une bonne réponse physiologique de la plante.

**Mots-clefs :** PGPR *Rhizobium*, blé dur, inoculation, poids, sels minéraux, auxine, chlorophylle.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (Université Frères Mentouri Constantine 1).

<b>Encadrant :</b>	KECHID M.	(MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
<b>Examineur 1 :</b>	MAOUGAL R.T.	(MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
<b>Examineur 2 :</b>	TEMAGOULT M.	(MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

