

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Ecologie Végétal

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم: البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Biotechnologie**  
**Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétal**

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

***Les PGPRS associés à la lentille et leur effet sur la promotion de la croissance en hydroponie.***

---

Présenté par : ABADI Manel.

Le 19/06/2022

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** Dr. MAOUGAL. R.T (M.C.A –INATAA- U.F.M, Constantine 1).

**Examineur 1 :** Dr. KECHID.M (M.C.A –INATAA- U.F.M, Constantine 1).

**Examineur 2 :** Mr. TEMAGOULT.M (M.A.A –SNV- U. F.M, Constantine 1).

**Année universitaire**  
**2021- 2022**

# *Remerciement*

*Au terme de ce travail, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté d'entamer ce projet et de le finir.*

*Je tiens à remercier tout particulièrement mon encadrante DR, MAOUGAL. RYM.T pour le temps et l'attention qu'elle m'a consacrée pour le bon déroulement de ce travail.*

*Mes sincères remerciements vont également aux membres de jury Dr. KECHID. Met MR, TEMAGOULT.M pour avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Mes remerciements vont à tous les enseignants du département de biologie et les ingénieurs de laboratoire de biochimie et microbiologie de l'université de Constantine qui ont contribué à notre formation.*

*Grand Merci A tous*

# *Dédicace*

*A mes chers parents BELGACEM et Soria, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A mes chers frères MOUAD, MOHAMED ABDERRAOUF et OUSSAMA pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A ma belle sœur AHLEM pour son soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,*

*Merci d'être toujours là pour moi*

## **Résumé :**

Les PGPR sont des bactéries du sol qui peuvent stimuler la croissance des plantes de façon directe ou indirecte en fournissant des substances qui sont habituellement en quantité limitée dans le sol ou de ralentir la croissance des agents pathogène. Les légumineuses alimentaires sont considérées depuis longtemps comme les plantes à graines les plus cultivées avec les céréales par l'homme. En Algérie, la lentille (*lens culinaris*) occupe une place importante en alimentation humaine et animale, elle est classé 3ème culture légumineuse après l'haricot et le petit pois.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'inoculation par des bactéries PGPRs sur la croissance et l'accumulation du phosphore chez des plants de lentilles cultivée en hydroponie, et mettre en évidence l'activité qui favorise la croissance sur la germination des graines *in vitro* et la mesure de la longueur des tiges, des racines, du poids frais et sec des plants de lentilles (*Lens culinaris*).

Les résultats obtenus montrent que l'inoculation des bactéries rhizosphériques à un effet bénéfique sur la stimulation racinaire et aérienne qui à été principalement obtenus pour les souches 79, 103, 02,28, qui sont les meilleurs candidats des PGPR de la lentille. Par ailleurs, L'étude de la solubilisation de phosphore accumulé dans la lentille montre que l'efficacité de solubilisation la plus élevée a été observée dans la partie aérienne chez les bactéries inoculées par la bactérie 31

**Mots clés :** légumineuse, PGPR, La lentille (*lens culinaris*), Inoculation, hydroponique.

## ملخص:

PGPR هي بكتيريا التربة التي يمكن أن تحفز بشكل مباشر أو غير مباشر نمو النبات من خلال توفير المواد التي عادة

ما تكون بكميات محدودة في التربة أو إبطاء نمو مسببات الأمراض. لطالما اعتبرت البقوليات الغذائية أكثر نباتات البذور زراعة مع الحبوب من قبل البشر. في الجزائر، يحتل العدس (عدسة كولينارييس) مكانة مهمة في غذاء الإنسان ويصنف محصول البقوليات الثالث بعد الفاصوليا والبالاء والحيوان

الهدف من هذا العمل هو تحديد تراكم الفوسفور في نباتات العدس الملقحة بـ 14 بكتيريا جذرية ومقارنة تأثيرها على إمكانية تعزيز نمو العدس في الزراعة المائية، وتسهيل الضوء على النشاط الذي يعزز النمو فيما يتعلق بإنبات البذور في المختبر وقياس طول السيقان، الجذور والوزن الطازج والجاف لنباتات العدس (عدسة كولينارييس)

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن تلقيح البكتيريا الجذعية له تأثير مفيد على تحفيز الجذر والجو، والذي تم عليه بشكل أساسي للسلاطات 79، 103، 02، 28، وهي أفضل المرشحين للعدس PGPR الحصول

علاوة على ذلك، تظهر دراسة ذوبان الفوسفور المتراكم في العدسة أن أعلى كفاءة ذوبان قد لوحظت في الجزء المحمول جواً في البكتيريا الملقحة بالبكتيريا 31

الكلمات الرئيسية: البقولية، PGPR، العدس (عدسة كولينارييس)، التلقيح، الزراعة المائية

## **Abstract:**

PGPRs are soil bacteria that can stimulate plant growth directly or indirectly by providing substances that are usually in limited supply in the soil or slow down the growth of pathogens. In Algeria, lentil (*lens culinaris*) occupies an important place in human and animal nutrition; it is classified as the third most important leguminous crop after bean and pea.

The objective of this work is to determine the accumulation of phosphorus in lentil plants inoculated with 14 rhizospheric bacteria and to compare their effect on the growth promotion potential of lentil in hydroponic culture, and to highlight the activity that promotes growth on the germination of seeds in vitro and the measurement of the length of stems, roots, fresh and dry weight of lentil plants (*Lens culinaris*).

The results obtained show that the inoculation of rhizospheric bacteria has a beneficial effect on the root and aerial stimulation which was mainly obtained for the strains 79, 103, 02, and 28, which are the best candidates of PGPR of lentil. Moreover, the study of the solubilization of accumulated phosphorus in lentil showed that the highest solubilization efficiency was observed in the aerial part in bacteria inoculated with 31.

**Keywords:** legume, PGPR, Lentil (*lens culinaris*), Inoculation, hydroponics.

## Liste des abréviations

**ANOVA** : Analysis of variance.

**CaCl<sub>2</sub>**:Le chlorure de calcium.

**Cm**: Centimètre.

**CuSO<sub>4</sub>**:Le sulfate de cuivre(II).

**DRB**: Deleterious rhizobacteria

**Fe-EDTA**: FerricEDTA

**GBBV** : Génétique, Biochimie et biotechnologie Végétale

**H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>**: L'acide borique.

**ISR** : La résistance systématique induite.

**K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Le sulfate de potassium.

**LSD**: Least Square difference.

**MgSO<sub>4</sub>**: Sulfate de magnésium.

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

**MnCl<sub>2</sub>**:Le chlorure de manganèse(II).

**N** : Azote.

**NaMoO<sub>4</sub>** : Le molybdate de sodium.

**Nc**: Non inoculé.

**P**:phosphate.

**PGPR**:Plant Growth PromotingRhizobacteria.

**PH**: Potentiel hydrique.

**PSB**:Bactérie solubilisatrice du phosphate.

**TG%**:Taux de germination.

**TMG**:Temps moyen de germination.

**ZnSO<sub>4</sub>**:L'acide borique.

## Liste de figures

N°	Titre	page
<b>01</b>	Représentation schématique des zones de la rhizosphère ( <b>Lepinay. ,2015</b> ).	<b>3</b>
<b>02</b>	Diagramme des principaux mécanismes d'actions des rhizobactéries du groupe PGPR ( <b>Matter.,1993</b> )	<b>9</b>
<b>03</b>	Le système racinaire de la lentille ( <i>Lens culinaris Medik</i> ) ( <b>Matter.,1993</b> )	<b>15</b>
<b>04</b>	Tige et feuilles de la lentille ( <i>Lens culinaris Medik</i> ) ( <b>Matter.,1993</b> )	<b>16</b>
<b>05</b>	Fleurs de la lentille ( <i>Lens culinaris Medik</i> ) ( <b>Matter.,1993</b> )	<b>17</b>
<b>06</b>	Fruits (les gousses) de la lentille ( <i>Lens culinaris Medik</i> ). ( <b>Matter.,1993</b> )	<b>17</b>
<b>07</b>	Cycle biologique de la lentille : (1) Graine, (2) Germination, (3) Croissance, (4) Floraison, (5) Fructification ( <b>Begige., 2006</b> )	<b>19</b>
<b>08</b>	Les différentes variétés de lentille.	<b>20</b>
<b>09</b>	Zones d'aptitude de la culture de la lentille en Algérie ( <b>ITGC, 2013</b> ).	<b>21</b>
<b>10</b>	Préparation du milieu de culture	<b>25</b>
<b>11</b>	La préparation de la germination.	<b>26</b>
<b>12</b>	Préparation d'inoculum.	<b>27</b>
<b>13</b>	Lancement de la culture hydroponique dans les bacs.	<b>28</b>
<b>14</b>	Parties racinaires et aériennes de lentilles	<b>30</b>
<b>15</b>	Les étapes de broyage	<b>30</b>
<b>16</b>	Préparation des creusets.	<b>31</b>
<b>17</b>	La préparation de réactif vanadomolybdique.	<b>31</b>
<b>18</b>	Quelque étape de dosage de phosphore.	<b>32</b>
<b>19</b>	Taux de servie de la lentille en %.	<b>35</b>

<b>20</b>	Hauteur de la tige pendant 3 dernière semaines de croissance.	<b>35</b>
<b>21</b>	Longueur de la racinaires de la lentille inoculées	<b>36</b>
<b>22</b>	Matière fraîche aérienne des lentilles inoculées.	<b>37</b>
<b>23</b>	Matière fraîche racinaire des lentilles inoculées.	<b>38</b>
<b>24</b>	Matière sèche aérienne des lentilles inoculées.	<b>39</b>
<b>25</b>	Matière sèche racinaire des lentilles inoculées.	<b>40</b>
<b>25</b>	La concentration du phosphore dans la partie racinaire et aérienne.	<b>41</b>

## Liste de tableau

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Classification systématique de la lentille ( <i>lens culinaris</i> )	<b>18</b>
<b>02</b>	Situation de la culture en Algérie. (MADR.2017)	<b>21</b>
<b>03</b>	Préparation de la gamme Etalon.	<b>32</b>
<b>04</b>	Présente le taux de germination sur 50 graines de lentille	<b>34</b>

# *Table des matières*

Résumé

Liste des abréviations

Liste de figures

Liste de tableau

Introduction .....1

## **Partie Synthèse bibliographique :**

### **Chapitre I : Les bactéries promotrices de la croissance PGPR**

1. La rhizosphère .....3

2. Les PGPRS .....4

2.1. Caractéristique des PGPR .....4

2. 2.Les différents genres de PGPRS .....5

2.2.1. Betaproteobacteria .....5

2.2.1.1. Alphaproteobacteria .....5

2.2.1.2. Betaproteobacteria .....5

2.2.1.3. Gammaproteobacteria .....5

2.2.2. Actinobacteria .....5

2.2.1.Firmicutes .....6

3. Modes d'action des PGPRS .....6

3.1. Les modes d'action directes .....6

3.1.1. Fixation d'azote .....6

3.1.2. Solubilisation du phosphate .....6

3.1.3. Production d'hormones de croissance.....7

3.2. Les modes d'action indirectes .....	7
3.2.1. La compétition .....	8
3.2.2. La production d'antibiotiques .....	8
3.2.3. Détoxification du milieu.....	8
4. Les effets de l'inoculation des PGPRS sur les plantes .....	10
5. Les effets des PGPRS sur la croissance végétale.....	10
5.1. Stimulation de la Germination des graines .....	10
5.2. Enracinement .....	11
5.3. Absorption des nutriments.....	11
5.4. Rendement .....	12

## Chapitre II : Les légumineuses

1. Généralités sur les légumineuses .....	13
2. Importance agro- économique et nutritionnelle des légumineuses.....	13
2.1. Agronomique .....	13
2.2. Nutritionnelle .....	14
3. Plante d'intérêt ( <i>Lens Culinaris</i> ) .....	14
3.1. Origine et historique des lentilles .....	14
3.2. La description morphologique et classification de la plante ( <i>Lens Culinaris</i> ) .....	15
3.2.1. Description morphologique .....	15
3.2.1.1. Le système racinaire.....	15
3.2.1.2. Tiges et feuilles .....	16
3.2.1.3 Fleurs et fruits .....	16
3.3. Classification .....	17
4. Cycle biologique .....	18

<b>5. Les variétés de la lentille en Algérie</b> .....	19
<b>6. Intérêts des lentilles</b> .....	22
<b>6.1. Agronomique</b> .....	22
<b>6.2. Nutritionnel</b> .....	22
<b>6.3. Économique</b> .....	23

### **Partie Matériel et Méthodes**

<b>1. Matériel végétal</b> .....	24
<b>2. Bactéries utilisées</b> .....	24
<b>2.1. Préparation de milieu de culture bactérien</b> .....	24
<b>3. Contrôle de germination</b> .....	25
<b>4. Préparation de la germination</b> .....	26
<b>5. Préparation de milieu de culture bactérien</b> .....	26
<b>6. Ensemencement</b> .....	27
<b>7. Préparation des solutions stocks</b> .....	27
<b>8. Mise en culture des plantes en hydroponie</b> .....	27
<b>9. Paramètres morphologique</b> .....	29
<b>9.1. Le taux de servie</b> .....	29
<b>9.2. Mesures de la croissance</b> .....	29
<b>9.2.1. La longueur de la partie aérienne</b> .....	29
<b>9.2.2. Longueur des racines</b> .....	29
<b>10. La récolte</b> .....	29
<b>10.1. Le poids frais des plantes</b> .....	29
<b>10.2. Le poids sec des plantes</b> .....	29
<b>11. Dosage de phosphore</b> .....	30

<b>11.1. Le broyage de lentilles</b> .....	30
<b>11.2. Minéralisation</b> .....	31
<b>11.3. Préparation du réactif</b> .....	32
<b>12. Principe de la méthode</b> .....	33
<b>13. Evaluation statistique</b> .....	33

### **Partie Résultats et Discussion**

<b>1. Mise en évidence de l'activité stimulatrice de croissance sur la germination de lentilles</b> .....	34
<b>1.1. Taux de germination</b> .....	34
<b>1.2. Taux de servie</b> .....	35
<b>2. Effet de l'inoculation sur la croissance</b> .....	35
<b>2.1. Hauteur de la tige des plantes de la lentille (<i>lens culinaris</i>)</b> .....	35
<b>2.2. Taille des racines de lentilles (<i>lens culinaris</i>)</b> .....	36
<b>3. Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne</b> .....	37
<b>3.1. Partie aérienne</b> .....	37
<b>3.2. Partie racinaires</b> .....	38
<b>4. Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne</b> .....	39
<b>4.1. Partie racinaires</b> .....	39
<b>4.2. Partie aérienne</b> .....	40
<b>5. Dosage de phosphore accumulé dans la lentille inoculée</b> .....	41
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références</b> .....	45
<b>Annexes</b> .....	50



*INTRODUCTION*

### Introduction

La famille des légumineuses est vaste. Elle est constituée de nombreuses espèces dont le pois, les haricots, les lentilles...etc. Cette diversité apporte une adaptabilité génétique remarquable. C'est pourquoi chaque région, avec ses caractéristiques de sols et de climat particulières, peut cultiver avec succès un ou plusieurs types de légumineuses. Ces dernières constituent une composante essentielle du régime alimentaire des algériens en étant une source de protéine de qualité pour l'alimentation humaine (haricot, lentille, pois, pois chiche, fève) ou pour l'alimentation animale sous forme de graines (pois, féverole, soja, lupin) ou sous forme de fourrages (luzerne, trèfle). Parce qu'elles possèdent la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique, grâce à une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote, les légumineuses ne nécessitent pas l'utilisation d'engrais azotés.

La lentille est une plante annuelle, largement cultivée pour ses graines comestibles riches en protéines et en féculents. Les fruits sont des gousses renfermant deux graines rondes aplaties.

La lentille (*Lens culinaris*) a toujours été un produit important de l'agriculture algérienne, elle est classée comme la troisième importante légumineuse après le haricot et le petit pois et joue un rôle important dans l'amélioration de la fertilité des sols lors des rotations des cultures.

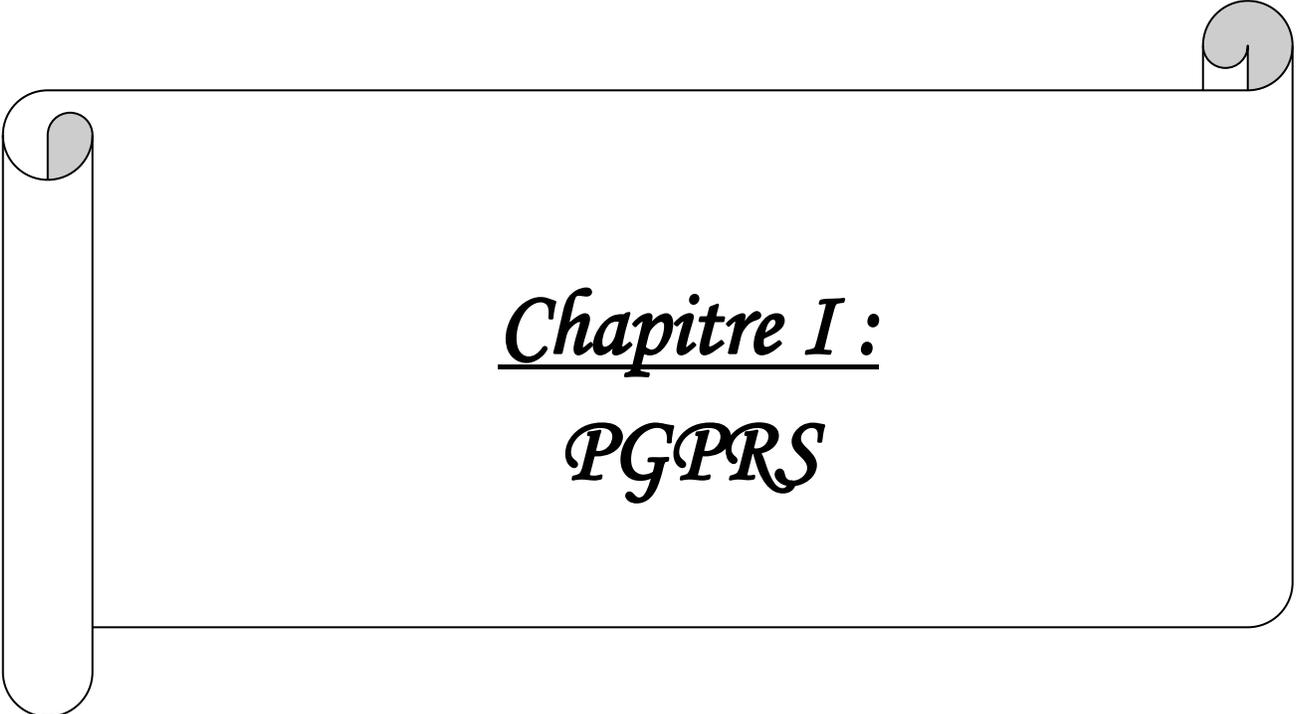
La production de cette légumineuse en Algérie demeure toujours irrégulière et semble être étroitement liée à un certain nombre de facteurs abiotiques tels que techniques agricoles, nature des sols...etc et biotiques comme potentiel génétique, maladies et ravageurs. Ces facteurs limitent le développement et l'amélioration de cette culture.

Dans ce contexte, il est nécessaire de recourir aux microorganismes établissant une symbiose associative avec la plante, parmi ces microorganismes, se trouve un ensemble de bactéries qualifiées de PGPR (*Rhizobactéries* promotrices de la croissance des plantes) pour leurs effets stimulateurs de la croissance des plantes qu'elles colonisent. Ces rhizobactéries sont présentes dans une zone d'interface entre la plante et le sol, appelée rhizosphère. Ces bactéries intéressantes sont libres ou liées, colonisent les racines, stimulent la croissance des

plantes et augmentent le rendement. Ces PGPR sont aussi connus pour leur capacité à induire une résistance contre divers microorganismes phytopathogènes.

Dans ce cadre s'inscrit notre travail qui vise à est étudier le comportement de 14 bactéries (1,2,20,28,31,56,77,70,73,79, 83,101,103)PGPR et leur influence sur la lentille. Cela, nous a permis de suivre la croissance et le développement de cette plante avec l'effet de phosphore sur l'accumulation dans la plante.

Notre mémoire s'articule autour de trois chapitres. Dans le premier chapitre, nous proposons de présenter la rhizosphère et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPRS). Au cours du deuxième chapitre, nous présenterons des généralités sur les légumineuses ce qui nous conduira à aborder l'origine, la description des lentilles et ses variétés en Algérie. Ensuite, le troisième chapitre sera consacré aux matériels et méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude. Enfin, nous présenterons dans le dernier chapitre la présentation des résultats obtenus au cours de la réalisation pratique, sous forme de graphiques et de tableaux ainsi que leurs discussions globales et une conclusion qui clôture notre travail.

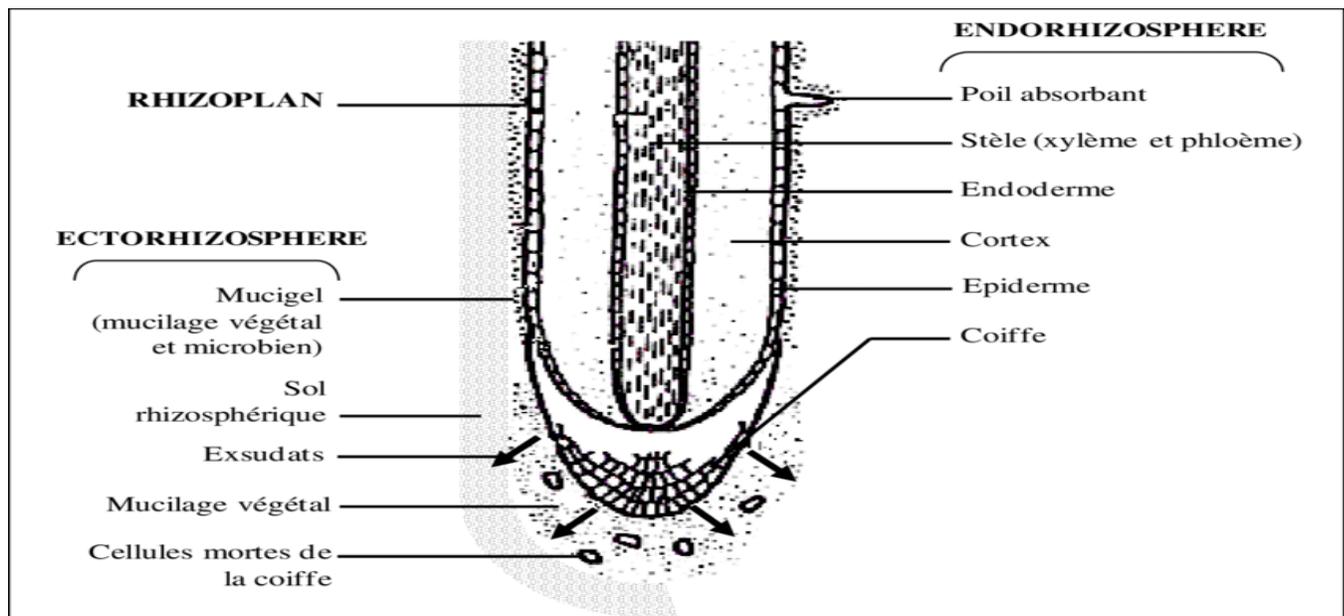


*Chapitre I :*  
*PGPRS*

## 1. La rhizosphère :

En 1904, Lorenz Hiltner bactériologiste du sol et professeur d'agronomie au Collège technique de Munich, a montré le rôle critique des activités microbiennes dans « la rhizosphère » dans la nutrition et la santé générale des plantes. Le terme rhizosphère semble se définir lui-même, mais il n'y a pas d'harmonie totale entre les microbiologistes du sol et les spécialistes des plantes quant à la signification spécifique précise ; Rhizo, ou rhiza (du mot grec) égalant racine est assez simple, mais sphère à de nombreuses expressions, du corps rond à l'environnement social. Cette première utilisation du terme était en référence à la région d'activité bactérienne la plus intense autour des racines des légumineuses. Hiltner a affirmé : «la nutrition des plantes en général dépend certainement de la composition de la flore du sol dans la rhizosphère» (Curl et Truelove, 2012).

La rhizosphère est le volume de sol influencé par les racines (Figure 01). On distingue en général le rhizoplan qui est l'interface racine/ sol rhisosphérique situé au voisinage immédiat de la racine et soumis à son influence. Elle est le lieu des échanges entre sol, racine, microorganismes et faune associés. Ces échanges, intenses, se traduisent par des flux bidirectionnels d'eau et de nutriments (Lynch, 1990)



*Figure01 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay. ,2015).*

## 2. Les PGPR :

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

### 2.1. Caractéristique des PGPR :

Les PGPR sont généralement des bactéries Gram-négatives. Les plus fréquemment identifiées sont des *Pseudomonades* fluorescentes. On trouve dans ce groupes, les *P.fluorescens* et *P.putida* qui sont les espèces les plus abondantes avec une capacité de promouvoir la croissance des plantes et augmenter le rendement des cultures (**Vivas et al., 2003**). on compte aussi des *Bacillus*, des *Azospirillum*, des *Azotobacter*, des *Klebseilla*, des *Enterobacter*, des *Rhizobium* et des *Serratia spp* (**Beauchamp et al.,1993**).

Les PGPR peuvent agir positivement sur les plantes par des mécanismes d'action directe ou indirecte. Sur la base de leurs activités et elles peuvent être classés comme suit (**Martinez-Viversos et al.,2010**)

- Bio fertilisants (amélioration de la biodisponibilité des nutriments)
- Phytostimulateurs (promotion de la croissance des plantes, généralement par la synthèse des phytohormones).
- Rhizoremédiateurs (dégradation des polluants organiques).
- Biopesticides (biocontrôles des agents phythogènes, principalement par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques).

## 2.2. Les différents genres de PGPRS :

### 2.2.1. Betaproteobacteria :

#### 2.2.1.1. Alphaproteobacteria :

Les PGPR appartenant à cette classe sont les *Rhizobia* d'abord classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Ces souches peuvent se comporter comme PGPR quand elles colonisent les racines des plantes non légumineuses dans une relation non spécifique.

En effet, le genre *Rhizobium* contient également des souches PGPR qui plus tard ont été considérées comme de nouveaux genres : *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizpbium* (Sawada et al., 2003).

#### 2.2.1.2 Betaproteobacteria :

Dans la famille *Burkholderiaceae*, le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées, elles sont isolées à partir des sols et des plantes. Quelques souches ont la capacité de fixer de façon symbiotique l'azote (Moulin et al. 2001).

#### 2.2.1.3. Gammaproteobacteria :

Dans la famille des *Pseudomonadaceae*, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer l'azote et ne pas noduler les plantes (Sturz et Christie, 2003).

### 2.2.2. Actinobacteria :

Le genre *Frankia* est fixateur symbiotique d'azote. Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont associées à des plantes actinorhiziennes pionnières de la colonisation des sols pauvres ou perturbés. D'autres actinobacteria sont également des promoteurs de croissance des plantes mais ne participent pas à la symbiose. Ils appartiennent aux genres : *Arthrobacter*, *Micrococcus* (Gray et Smith, 2005), *Curtobacterium* (Barriuso et al, 2005 et *Streptomyces*) (Siddiqui et Mahmood, 1999)

### 2.2.3. Firmicutes :

Parmi les bactéries telluriques à Gram positif, les *Bacillus* sont les types les plus communs et les plus prédominants, ils représentent 95% de la flore isolée.

## 3. Modes d'actions des PGPRS :

### 3.1. Les modes d'action directes :

Ce mécanisme comprend la stimulation bactérienne des phytohormones (auxine ou cytokinine). Cela permet à la plante de développer un système racinaire abondant lui permettant notamment de coloniser une plus grande surface de sol, et améliorer l'état nutritionnel des plantes (**Beauchamp ;1993; Kloepper, 1993, Ramos et al., 2009**)

#### 3.1.1. Fixation d'azote

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N<sub>2</sub> dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N<sub>2</sub> atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N<sub>2</sub> par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (**Kim et Rees, 1994**). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote.

La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racines dans le végétale, dans le quelle l'azote est fixé à L'ammoniaque et le rendre disponible pour l'hôte (**Munees et Mulugeta, 2014**)

#### 3.1.2. Solubilisation du phosphate :

Le phosphore et le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, il est largement disponible dans le sol sous deux forme organique et inorganique (**khan et al., 2009**).Il joue un rôle pratiquement important dans tous les

processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (**Khan et al., 2010**). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles: les ions monobasique ( $H_2PO_4$ ) et basique ( $HPO_4^{2-}$ ) (**Govind et al., 2015**). La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Ces microorganismes bénéficient directement du P bio disponible nécessaire pour leur croissance. De même d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures. Les microorganismes produisent également des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (**Salma, 2015**).

### **3.1.3. Production d'hormones de croissance :**

La production des phytohormones par les PGPR est considérée comme l'un des mécanismes les plus importants pour améliorer la croissance des plantes. Ce sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration, elles agissent comme des messagers chimiques influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes. Il existe cinq principaux groupes d'hormones : les auxines, les gibbérellines, l'éthylène, les cytokinines et l'acide abscissique. L'acide indole-3-acétique (AIA) est le plus important du groupe des auxines, il joue un rôle très important dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants (**Martinez-V et al., 2010**).

### **3.2. Les modes d'action indirectes :**

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.) (Lugtenberg et Kamilova ,2009 ; Glick, 2012 ; Tariq et al., 2014).

### **3.2.1. La compétition :**

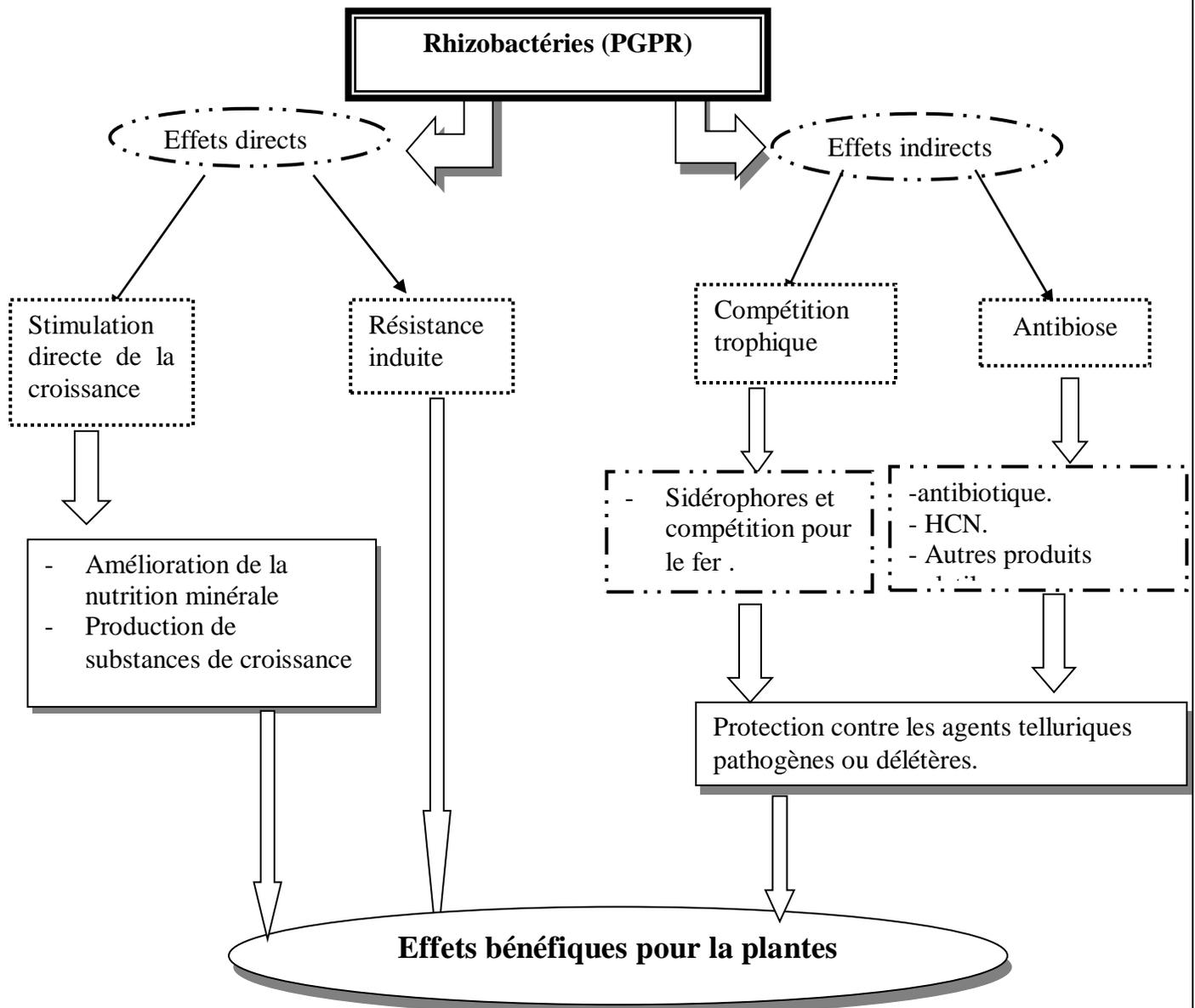
La présence des PGPR dans la rhizosphère génère dans certains cas une relation de compétition trophique à l'avantage des bactéries bénéfiques. Cette compétition s'exprime surtout par rapport au fer, élément indispensable au métabolisme des organismes aérobies. Des stratégies multiples de captage ont été développées par les microorganismes. Citons des sidérophores des *Pseudomonas* qui sont des captures externes de fer et dont l'efficacité est supérieure à celle des pathogènes. Ainsi ces derniers sont mal alimentés et ont de grandes difficultés à ce multiplié, ce qui se traduit par la diminution des nuisances causées à la plante hôte (Kirdi, 2011).

### **3.2.2. La production d'antibiotiques :**

Certaines souches de PGPR ont la capacité d'excréter des métabolites actifs contre différents bactéries et champignons. Certaines de ces molécules sont de véritables antibiotiques, qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines (Benmati, 2014).

### **3.2.3. Détoxification du milieu :**

Les phytotoxines sont produits par des microorganismes saprophytes et parasites du sol et inhibent à des faibles concentrations la croissance et le développement des plantes. Dans le sol, ces toxines s'accumulent en quantité plus appréciable lors de monoculture. Certaines souches du genre *Pseudomonas* éliminent ces phytotoxines (Beauchamp, 1993).



*Figure 02: Diagramme des principaux mécanismes d'actions des rhizobactéries du groupe PGPR (Matter.,1993).*

#### 4. Les effets de l'inoculation des PGPRS sur les plantes:

Depuis les dernières décennies, la réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde dans les 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; Ramamoorthy *et al.*, 2001**).

#### 5. Effets des PGPR sur la croissance végétale :

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

##### 5.1. Stimulation de la Germination des graines :

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

## 5.2. Enracinement :

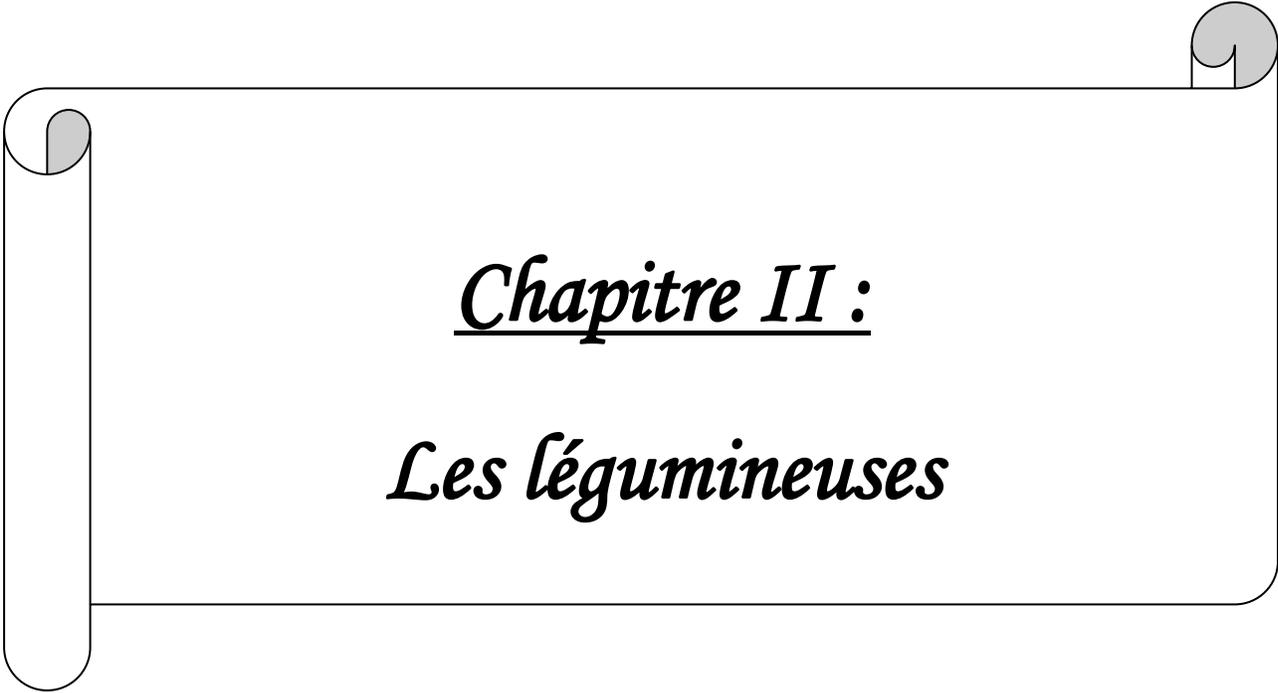
Plusieurs facteurs physiologiques et environnementaux influencent la formation des racines, les traitements exogènes des boutures étant particulièrement importants (**Couvillon, 1998**). Les producteurs ont tenté de stimuler l'enracinement en appliquant diverses substances chimiques comme régulateurs de croissance. Cependant, l'utilisation de produits chimiques peut causer des problèmes environnementaux et augmenter les coûts de la production. Les problèmes écologiques ont suscité l'intérêt des pratiques agricoles durables respectant l'environnement (**Salantur et al., 2005**). Par conséquent, l'utilisation de PGPR peut palier à ces problèmes liés à l'environnement (Kaymak *et al.*, 2008). Elles appartiennent à plusieurs genres (*Agrobacterium*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* et *Alcaligenes*) et induisent la formation de racines et la croissance des boutures (**Bassil et al., 1991; Hatta et al., 1996; Rinallo et al., 1999**).

## 5.3. Absorption des nutriments :

Les plantes vivantes nécessitent 16 éléments essentiels pour survivre. Trois d'entre eux (carbone, hydrogène, et oxygène) proviennent essentiellement de l'air et de l'eau. Le reste est normalement absorbé par les racines des plantes. Chacun de ces éléments essentiels a au moins un rôle spécifiquement défini dans la croissance des plantes (**Swaidar et al., 1992; Decateau, 2000**). Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles (Yang *et al.*, 2009). Le phosphore et l'azote sont les nutriments majeur-clé limitant la croissance des plantes. (**Kumar et Narula, 1999; Sundara et al., 2002; Podile et Kishore, 2006**). En outre, certaines PGPR améliorent l'absorption de ces éléments nutritifs en favorisant le développement des racines (**Mantelin et Touraine, 2004**) par la production de phytohormones (**Kloepper et al., 2007**). Un autre processus par lequel les PGPR facilitent l'absorption des ions minéraux est la stimulation de l'ATPase, la pompe à protons (**Mantelin et Touraine, 2004**).

#### 5.4. Rendement :

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



*Chapitre II :*  
*Les légumineuses*

### 1. Généralités sur les légumineuses :

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones cultivées principalement comme source de protéines pour la consommation humaine (haricot, pois, fève...) ou l'alimentation animale (soja, luzerne...) appartenant à la famille botanique des Fabacées qui est la troisième des plus grandes familles de plantes à fleurs (après les orchidées et les astéracées), avec environ 650 genres et près de 20000 espèces importantes sur le plan économiques dont les légumineuses à graines, les oléagineuses, les plantes fourragères, les arbustes, ainsi que les arbres tropicaux ou subtropicaux. **(Gepts et al., 2005)**. Ces espèces sont réparties en trois sous-familles : Mimosoideae, Caesalpinioideae et Papilionoideae, elles constituent de loin le groupe le plus important de plantes participant à la fixation de l'azote avec des bactéries symbiotiques **(Doyle et Luckow, 2003)**.

Les légumineuses entretiennent une relation très privilégiée avec la rhizosphère qui entoure leurs racines. « L'effet rhizosphérique des légumineuses est 20 à 30 fois supérieur à celui d'une betterave ou d'un colza ». **(Waligora et al, 2008)**. Elles sont principalement cultivées pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et pour rompre les successions céréalières préjudiciables aux rendements et aux productions à travers les assolements **(Hamadache Et al. 1997)**

### 2. Importance des légumineuses

#### 2.1. Agronomique :

La principale caractéristique des légumineuses est leur capacité à fixer l'azote de l'air. En effet, elles sont capables de développer une symbiose avec des bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique, les Rhizobiums. Cette propriété, originale dans le monde végétal, leur confère des avantages agronomiques qui prennent un relief particulier dans un contexte d'agriculture durable : économie d'engrais azotés, économie d'énergie fossile nécessaire pour produire, transporter et épandre ces engrais azotés. Et aussi une diminution des émissions de gaz à effet de serre, car la fertilisation azotée est à l'origine d'émissions dans l'atmosphère de protoxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), un gaz ayant un pouvoir de réchauffement climatique environ 300 fois plus élevé que le gaz carbonique **(Mollier, 2014)**.

## 2.2. Nutritionnelle :

Les graines des légumineuses alimentaires sont petites mais riches en protéines, deux fois plus que dans le blé et trois fois plus que dans le riz. Contrairement aux sources alimentaires de protéines d'origine animale, les graines sèches des légumineuses ne contiennent pas de résidus d'hormones ou d'antibiotiques utilisés dans la production animale. Les légumineuses sont une excellente source de protéines de bonne qualité (20-45%) et sont riches en acides aminés essentiels notamment la lysine (**Maphosa et Jideani, 2017**). Elles sont, également, riches en glucides complexes, acide folique, fer, zinc, calcium, magnésium, potassium, vitamines B et d'autres oligo-éléments. Les graines de légumineuses alimentaires en particulier le pois chiche, la lentille et les fèves contiennent une faible teneur en matières grasses mais sont riches en fibres.

## 3. Plante d'intérêt (*Lens Culinaris*) :

### 3.1. Origine et historique des lentilles :

*Lens culinaris* est l'une des plus anciennes plantes vivrières (**Ulmann, 2005**). Elle est probablement la première légumineuse domestiquée par l'homme et utilisée pour la nutrition humaine (**Muehlbauer et Tullu, 1997**). Dans l'antiquité la lentille faisait régulièrement partie de l'alimentation des Grecs, des Juifs et des Romains et c'était le plat de subsistance des pauvres en Egypte, grâce à la richesse de ses graines en protéines et d'autres micronutriments ( **Grusak, 2009**)

Le nom scientifique de la lentille lui a été attribué en 1787 par le botaniste Allemand Medikus (**Cubero ,1981**). Les plus anciens restes archéologiques de la lentille étaient retrouvés en Grèce et datées de 11 mille ans avant J.C, ainsi qu'en Syrie, datées de 8500 avant JC., mais on ne savait pas bien s'il s'agissait de plantes sauvages ou cultivées. Ce n'est qu'à partir du 5ème millénaire avant J.C que l'on trouve des graines identifiées sans conteste comme domestiques (**Yunnus et Jackson, 1991**). Ses centres d'origine sont le Proche Orient et l'Asie de l'Ouest d'où elle s'étend aux différentes régions dans le monde. Elle est cultivée en Asie (Turquie, Inde et Syrie) et en Afrique (Ethiopie, Maroc). Elle est fortement cultivée en Amérique du Nord (Canada, Etats Unies). L'Australie est devenue un grand

producteur depuis 1990 (Erskine et al., 2009). Elle est également cultivée dans d'autres pays de la Méditerranée et en Amérique Latine.

### 3.2. La description morphologique et classification de la plante (*Lens Culinaris*) :

La lentille cultivée (*Lens culinaris*) est une espèce des plantes dicotylédones annuelles appartenant à la famille des fabaceae ou légumineuses. Elle est l'une des plus importantes plantes cultivées par l'homme. Cette plante est également la plus riche en protéines après le soja, (Sheriff et Bouziane, 2018) avec un nombre de chromosomes  $2n = 2x = 14$  (Hammouda et Khalfallah, 2015).

#### 3.2.1. Description morphologique :

##### 3.2.1.1. Le système racinaire :

Ce système est composé d'une racine principale de type pivotant et de racines latérales (Fig. 03) portant les nodosités formées par les bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique, les caractéristiques des racines comme la longueur de la racine principale et le nombre des racines latérales sont des traits de tolérance à la sécheresse. Le système racinaire pivotant de la lentille contribue à une meilleure exploitation de l'humidité du sol et à une bonne acquisition des éléments nutritifs dans les sols secs et pauvres (Gahoonia et al., 2005).



**Figure 03:** Le système racinaire de la lentille (*Lens culinaris Medik*)(Chevalier, 1933)..

### 3.2.1.2. Tiges et feuilles :

La tige de la lentille est mince, atteints rarement plus de 45 cm de hauteur et à une croissance indéfinie, les deux premiers nœuds de la tige sont vestigiaux et se situent aux niveaux du sol ou sur la surface (**Saskatchewan, 2000**). Les feuilles sont composées pennées et comportent jusqu'à 10 paires de folioles très étroites terminées en vrilles (**Fig. 04**). La première fleur de la tige principale est située à l'aisselle du 11e, 12e ou 13e noeud non vestigial et sont de couleurs blanchâtre veinées de violet (**Vendenberg et Slinkard, 1990**).



**Figure 04:** Tige et feuilles de la lentille (*Lens culinaris Medik*)(**Chevalier, 1933**).

### 3.2.1.3 Fleurs et fruits

Les fleurs sont petites généralement émises par paire, elles sont de couleur blanche ou vert pâle, parfois teintée de pourpre (**Fig. 05**). L'apparition des premières fleurs dépend de plusieurs facteurs tels que la précocité de la variété, la date et la densité du semis et des techniques culturales (**Chevalier, 1933**). Les fruits sont des gousses, aplaties, sont isolées ou disposées en paire et apparaissent à l'aisselle du 11e, 12 e ou 13e nœud et des nœuds suivants. Chaque gousse possède un court pédicelle et renferme une ou deux petites graines en forme de loupes (**Fig. 06**). La couleur du tégument séminal est variable, allant du blanc (absence de tannins) au vert pâle, au gris, au brune et au noire, et porte souvent des mouchetures violacées de grandeur variable (**Venderberg et Slinkard, 1990**).



*Figure 05: Fleurs de la lentille (Lens culinaris Medik)*



*Figure 06: Fruits (les gousses) de la lentille (Lens culinaris Medik)(Chevalier, 1933)..*

### 3.3. Classification :

*Lens culinaris* a été divisé en 4 sous-espèces (une cultivée et trois sauvages) :

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

sauvage de la lentille cultivée, répartie depuis la Grèce jusqu'à l'Ouzbékistan et depuis la péninsule de Crimée jusqu'en Jordanie ;

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

Selon Brink et Belay (2006), le plan taxinomique de la lentille se présente comme suit :

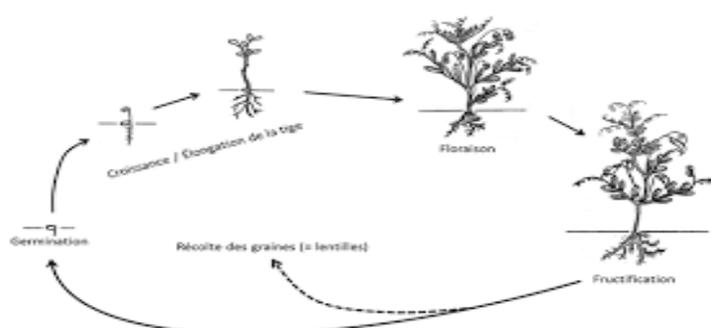
**Tableau 01: Classification systématique de la lentille (*lens culinaris*).**

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

#### 4. Cycle biologique de *Lens culinaris Medik*.

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

- ✓ **Phase végétative** : cette phase comprend deux stades : la croissance et la production des feuilles.
- ✓ **Phase reproductive** : elle est représentée par la floraison, la fructification et la production des graines (Fig. 07) (Schwartz et Langham, 2012).



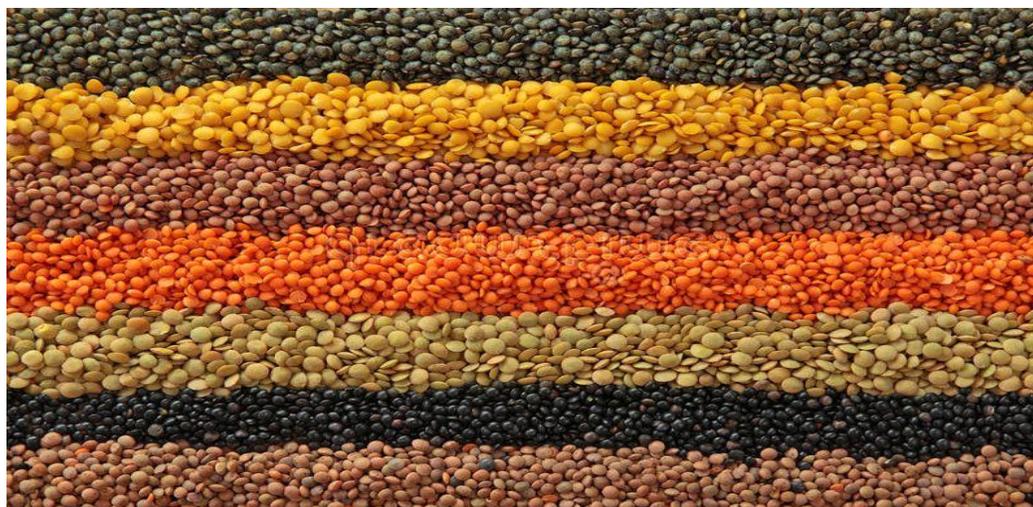
**Figure 07:** Cycle biologique de la lentille : (1) Graine, (2) Germination, (3) Croissance, (4) Floraison, (5) Fructification (Begiga, 2006).

### 5. Les variétés de la lentille en Algérie :

En Algérie, la lentille a été cultivée en 1830 dans les jardins des fellahs (surtout en Kabylie) jusqu'à 1940. On distingue les lentilles de culture locales et les lentilles de culture européenne. Les premières, cultivées depuis les temps ancestraux sont des mélanges variables de formes diverses. Beaucoup de variétés anciennement cultivées ont disparu. Plusieurs variétés ont été introduites, et plusieurs nouvelles d'entre elles ont été sélectionnées en fonction de leur capacité d'adaptation aux différentes conditions agro climatiques rencontrées dans le pays (FAO., 2006 ; INRA., 2013). Les principales variétés actuellement cultivées sont les suivantes :

- **La large blond Métropole** : isolée en 1942 en France, elle est de couleur verdâtre et de bonne qualité culinaire.
- **La large blond de Chili** : isolée en 1952 au Chili, les graines sont larges de couleur verdâtre et de bonne qualité culinaire.
- **La large vert d'Algérie** : isolée en 1950 à Tiaret, de bonne qualité culinaire.
- **Syrie 229** : issue d'une sélection locale sur population introduite de Syrie, les graines de cette variété sont arrondies de couleur vert-jaune, elle est de très bonne qualité culinaire.
- **Balkan 755** : issue d'une sélection locale sur population introduite dans la région de Sers ou, ses graines sont larges de couleur marron, elle est aussi de bonne qualité culinaire.

La culture des lentilles en Algérie n'occupe que 1.5% de la totalité des terres réservées aux légumineuses alimentaires (Ait Abdellah et Al, 2011), elle s'étale sur une grande surface dans les hautes plaines (Tiaret, Saida, Sétif) et les plaines intérieures (Bouira, Médéa, Mila). Ainsi dans la région de Constantine, les productions de lentilles ont progressivement évoluées entre 2006 et 2011. Cette évolution est liée à l'élargissement des superficies destinées à cette culture ainsi qu'au nombre d'agriculteurs s'y intéressant.



*Figure 08 : Les différentes variétés de lentille.*

Tableau 02 : Situation de la culture en Algérie.(MADR.2017)

Wilaya	Superficie (ha)	Production (gr)	Rendement (qx/ha)
Chlef	1147	13764	12.0
Tiaret	9650	10500	10.9
Guelma	901	7634	8.5
Constantine	1236	10146	8.2
Souk-ahras	882	4361	4.9
Mila	2338	26155	11.7
Relizane	632	10933	17.3

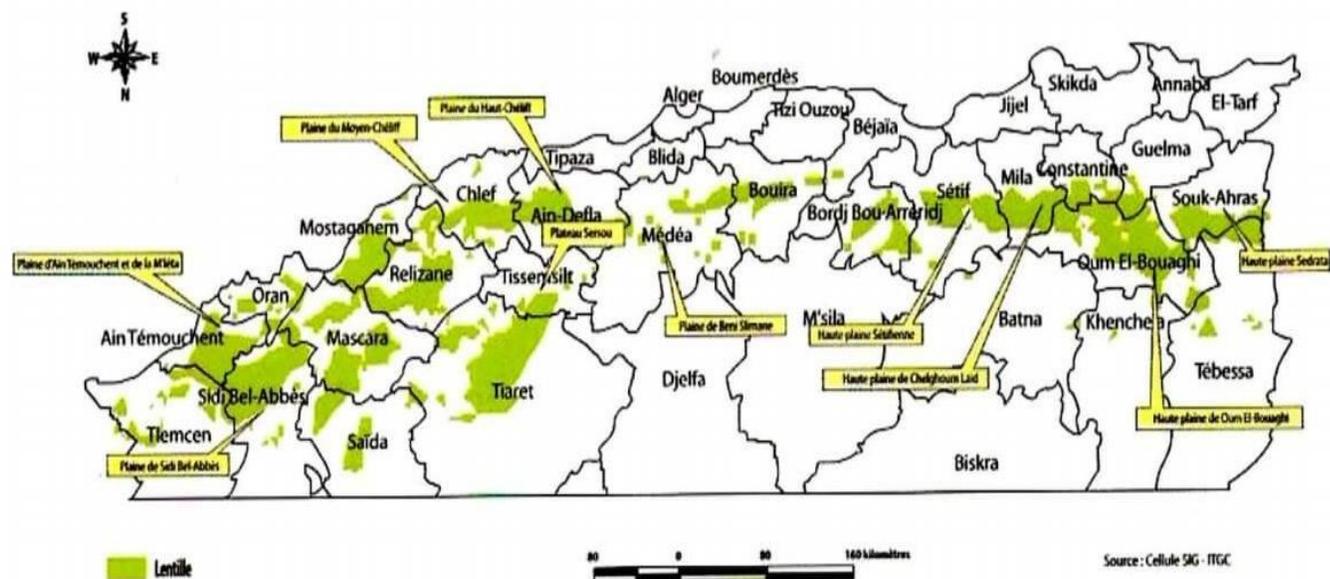


Figure 09: Zones d'aptitude de la culture de la lentille en Algérie (ITGC, 2013).

## 6. Intérêts des lentilles :

### 6.1. Agronomique :

Leur intérêt agronomique provient en premier lieu de leur aptitude à la fixation symbiotique de l'azote, qui leur permet l'enrichissement des sols en azote, la réduction des intrants, et préservation (**Journet et al., 2001**). Cependant la lentille entre en rotation avec les céréales dans la plupart des zones de production céréalières leur permettent de contribuer à la fertilisation azotée en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique dans le système (**Babo, 2002**), Cela représente le meilleur moyen de produire des protéines végétales dans le cadre d'une agriculture respectueuse de l'environnement (**Baudoin, 2001**). De telles rotations permettent le contrôle des mauvaises herbes et la rupture des cycles biologiques de plusieurs maladies et insectes (**Rizk, 1966**).

### 6.2. Nutritionnel :

La lentille est surtout cultivée pour ses graines mûres, qui sont consommées principalement en sauces et en soupes. De nombreux autres plats à base de lentilles sont préparés dans différents pays. Les graines sont réduites en une farine qui sert à fabriquer des galettes et des pains, ou à préparer des aliments spéciaux destinés par exemple aux nourrissons ou aux invalides. Les jeunes gousses, les graines germées et les feuilles se consomment comme légume (**Yunnus et Jackson, 1991**). De même, les animaux en particulier les volailles sont nourrit parfois avec des graines de lentille pour leur procurer des protéines. Elles sont parfois employées comme source d'amidon dans l'industrie textile et dans l'imprimerie. Les cosses, les téguments et les tiges feuillées fraîches ou sèches fournissent du fourrage pour le bétail (**Yunnus et Jackson, 1991 ; 1**).

### 6.3. Economique :

La production mondiale de lentilles en 2011 a été estimée auprès de 4,4 millions tonnes sur une aire totale de 4,2 millions d'hectares (**Faostat-Agriculture, 2011**). Les principaux pays producteurs sont le Canada (1531900 tonnes sur 998400 ha) et l'Inde (943800 tonnes sur 1597400ha) En Afrique du nord, le principal pays producteur est le Maroc (45438 t sur 57980d'ha). La culture des légumineuses alimentaires a fait l'objet de

beaucoup d'attention de la part des services agricoles pour augmenter les superficies et améliorer les niveaux de rendements, mais les résultats n'ont pas été à la hauteur des efforts consentis (**Abdelguerfi, 2003**). C'est pourquoi, la production locale de la lentille (3800 tonnes sur 3700 ha) reste très faible au regard des importations qui s'élèvent à 93432 tonnes (**Faostat-Agriculture, 2011**).



**Chapitre III :**  
***Matériel et méthodes***

L'essai a été mené au niveau du laboratoire Génétique, Biochimique et biotechnologie Végétales (GBBV) chaabet EL Rasses, de l'université Frères Mentouri Constantine1 Algérie du mois de février au mois de Mai 2022.

### 1. Matériel biologique:

Le matériel expérimental utilisé dans notre travail est la lentille. Elle a été acquise chez un vendeur de semences et il s'agit de variété Syrie 229 cultivée dans la région d'Oued Seguen Mila.

### 2. Bactéries utilisées :

Les 14 isolats (1,2,20,28,31,56,77 ,70,73,79, 83,101,103) utilisées ont été fournies par Dr. MAOUGAL. Le témoinOL13 (*Rhizobium*) fourni par Dr. RIAH. Ces bactéries font partie d'une collection de bactéries isolées et conservées dans du glycérol à une température de -80 °C au laboratoire GBBV. Elles ont été choisies selon leurs aptitudes après les avoir testées pour leurs caractères PGPR (**Laadjabi, 2019**).

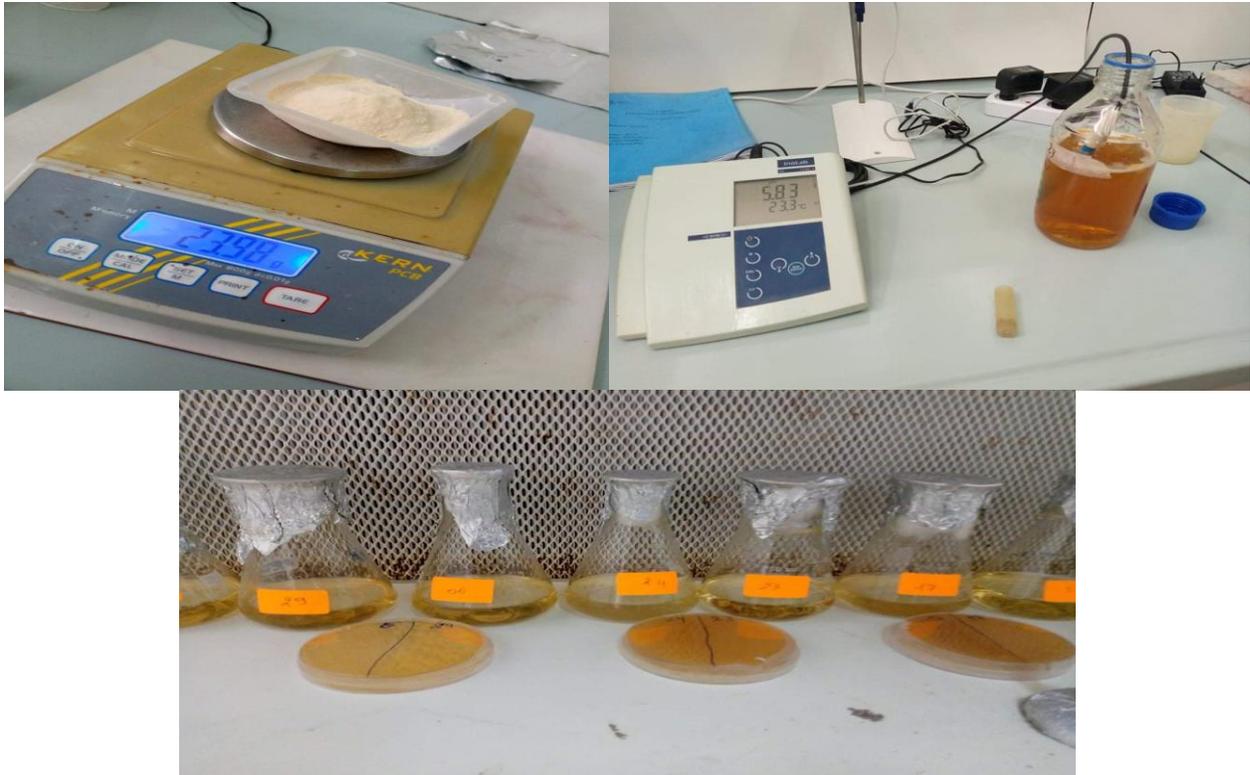
#### 2.1. Préparation de milieu de culture des bactéries :

On a utilisé le milieu « LB » solidifiée à 14 % (**l'annexe N1°**) comme milieu de culture des bactéries.

Ce milieu âpre ajout de 14g d'agar avec agitation sur une plaque chauffante pendant 10mn, a été stérilisé par autoclavage 120°C pendant 15 minutes.

Le milieu stérilisé est laissé à refroidir à 45 °C puis coulé dans des boites de Pétri stériles en conditions d'asepsie. (**Fig. 10**)

Le repiquage des bactéries a été fait sur ce milieu en les laissant pousser pendant 2 jours à 28°C.



*Figure 10: Préparation du milieu de culture.*

### 3. Contrôle de la germination:

Pour tester la germination nous avons pris un échantillon 50 graines de lentilles. La stérilisation des graines s'est faite avec l'eau de javel diluée 50% pendant 4 à 5min; puis rincé avec l'eau distillée 5 à 10 fois, après on met les graines bien arrangées dans des boîtes de pétri qui contiennent du papier absorbant tout en ajoutant l'eau distillée à chaque fois qu'il se dessèche. Les graines sont mises à germer à l'obscurité pendant 2j à une température de 28°.

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

$$\text{TG\%} = \frac{\text{Nbre de semences germées}}{\text{Nbre totale des semences}}$$

**TG%** : taux de germinations

#### 4. Préparation de la germination :

Dans un bécher, on stérilise 200 graines de lentille en utilisant 50 ml de Javel pendant 5 à 10 min, puis bien rincer avec l'eau distillée après on met les graines bien arrangées dans des bacs couvert par le papier absorbant en ajoutant l'eau distillée à chaque fois qu'il se dessèche. Ces graines sont mises à germer à l'obscurité pendant 15 jours à une température de 28°. (Fig. 11)



*Figure 11 : La préparation de la germination.*

#### 5. Préparation du milieu de culture bactérien :

La préparation de l'inoculum, a été fait dans du milieu LB (**annexe 1**) on l'a séparé dans des Erlenmeyers de 100 ml et couvert pour le fermer hermétiquement avec du coton et du papier aluminium, puis stérilisé à l'autoclave à 115° pendant 20 min. (Fig. 12)



*Figure 12 : Préparation d'inoculum.*

#### **6. Ensemencement :**

Des bactéries préalablement revivifiées ont été mise en culture dans 100 ml de milieu LB (**Annexe 1**) sous hotte et autour d'un bec benzène Ces bactéries sont ensuite placées dans un incubateur entre 24 et 48 h (pour le rhizobium) à la vitesse de 150 rotations par minute à 28°C. Les inoculums sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

**7. Préparation des solutions stocks :** Présenté dans l'annexe N2°.

#### **8. Mise en culture des plantes en hydroponie :**

Après germination les graines uniformes avec des plantules obtenues dont la longueur des racelles est de 2 cm ont été sélectionnées et inoculées 30 minutes avec 100 ml de milieu contenant  $10^8$  de cellule par ml ; les racines inoculées sont passées délicatement dans une pièce en plastique trouée et fixées avec du coton et placées dans un bac opaque contenant 5 litres de façon à avoir 11 plantes par bac. Les bacs sont placés dans une chambre de culture semi-contrôlée à une température de 28°C une intensité lumineuse de 250W et une photopériode de 16h. Chaque bac de 5 litres d'eau a été supplémenté d'une

solution nutritive (**Hernandez and Drevon 1991**) (**Annexe 3**) renouvelée après 15 jours chaque semaine.

**Remarque :**

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



**Figure 13 :** *Lancement de la culture hydroponique dans les bacs.*

## 9. Paramètres morphologiques :

### 9.1. Le taux de survie :

Le taux de survie correspond au nombre des plantes qui ont survécu en fin de l'essai. Il est calculé par la formule suivante (Maziliak, 1982)

$$\text{TG\%} = \frac{\text{Nombre de plante qui on a survécu}}{\text{Nombre de semences testées}} \times 100$$

### 9.2. Mesures de la croissance :

#### 9.2.1. La longueur de la partie aérienne :

La longueur de la partie aérienne est mesurée à partir du col jusqu'à l'extrémité de la plante par une règle graduée.

#### 9.2.2. Longueur des racines :

On mesure la longueur à partir du col jusqu'à l'extrémité de la racine.

## 10. La récolte :

### 10.1. Le poids frais des plantes :

Après la 5<sup>ème</sup> semaine de croissance, les plantes sont séparées (partie aérienne et partie racinaire). Les pesées sont faites à l'aide d'une balance de précision et représente le poids frais.

### 10.2. Le poids sec des plantes

Le poids sec est obtenu après séchage des plantes à 70°C pendant 48h. Cette méthode permet de comparer l'effet des souches inoculées sur la croissance des plantes.



*Figure14 : Parties racinaires et aériennes de lentilles.*

## 11. Dosage de phosphore :

### 11.1. Le broyage de lentilles :

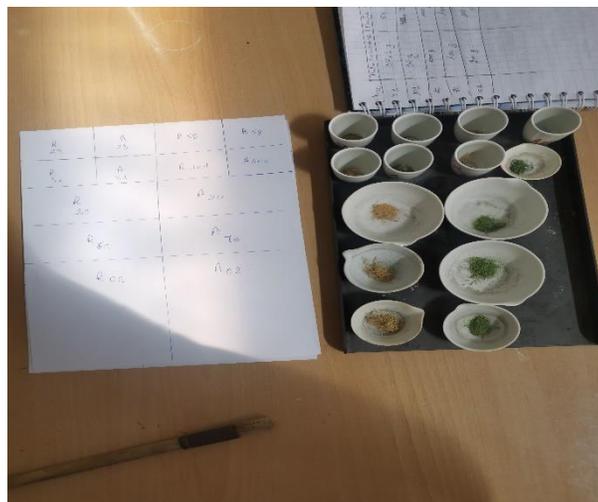
On met dans un mortier la matière sèche (partie racinaire et partie aérienne) des plantes de lentilles, le broyage se fait à l'aide du pilon tout en nettoyant le mortier entre chaque opération .Les matières broyées sont conservées dans les tubes d'essai.



*Figure 15 : Les étapes de broyage.*

### 11.2. Minéralisation :

Après l'étape de broyage, on a séparé la matière broyée dans des creusets et on met dans un four à moufle pendant 4h à 450°C. REFERENCE.



*Figure 16 : Préparation des creusets.*

### 11.3. Préparation du réactif :

Les solutions de molybdate d'ammonium et solution de vanadate d'ammonium (**Annexe 03**) sont préparées), le mélange des deux dernières solutions c'est le réactif vanadomolybdique utilisé pour le dosage.



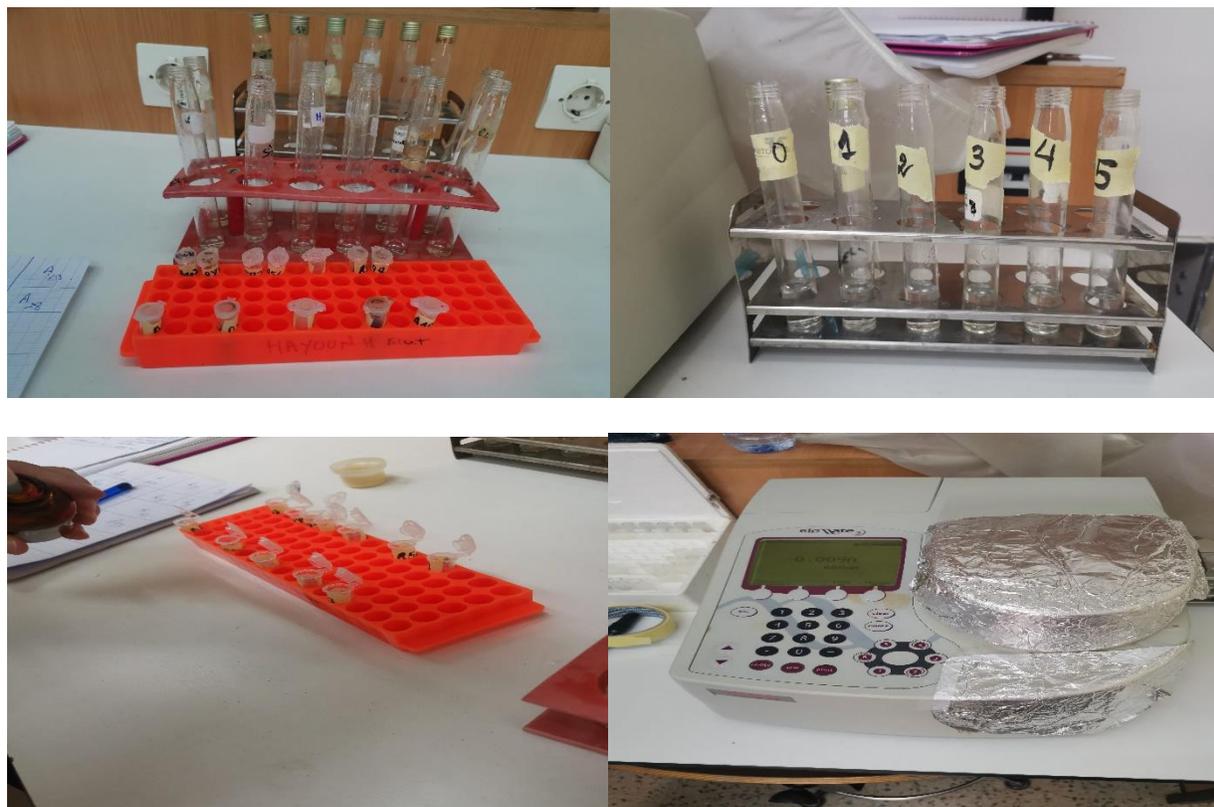
*Figure 17 : La préparation de réactif vanadomolybdique.*

Pour des raisons de faisabilité les matières sèches ont été organisées en pool en considérant chaque pool comme une moyenne.

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

**Tableau 03** : Préparation de la gamme Etalon.

<b>Dénomination</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>(P) en mg/L</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>
<b>V Solution fille en ml</b>	<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,25</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>V H<sub>2</sub>O démi</b>	<b>5</b>	<b>4,95</b>	<b>4,75</b>	<b>4,5</b>	<b>4</b>	<b>3,5</b>
<b>Volume total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>



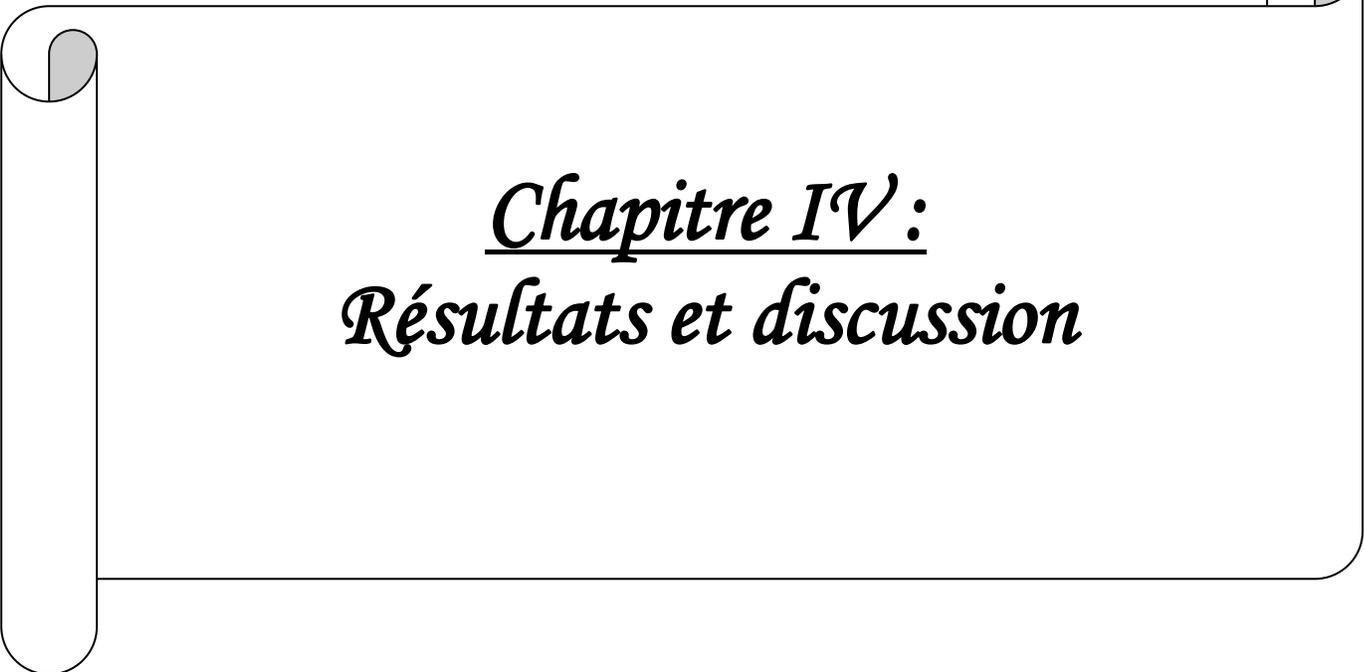
*Figure 18* : Quelques étapes de dosage de phosphore.

## **12. Principe de la méthode :**

La quantification du phosphore (P) a été réalisée en solution acide après minéralisation des échantillons. Le dosage se fait par colorimétrie à 450 nm après avoir ajouté à l'échantillon le réactif vanadomolybdique (**Annexe3**) entraînant la formation d'un complexe chromophore jaune.

## **13. Evaluation statistique :**

Une analyse de la variance (ANOVA) des résultats obtenus, on utilisant l'Excel Stat version 2009. Les groupes homogènes sont donnés en utilisant les tests de Tukey, Fisher et Newman-Keuls.

A decorative graphic of a scroll with a vertical strip on the left and a horizontal strip on the right, both with rounded ends and a grey shadow effect.

*Chapitre IV :*  
*Résultats et discussion*

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

**1.1. Taux de germination :**

**Tableau 04 :** présente le taux de germination sur 50 graines de lentilles.

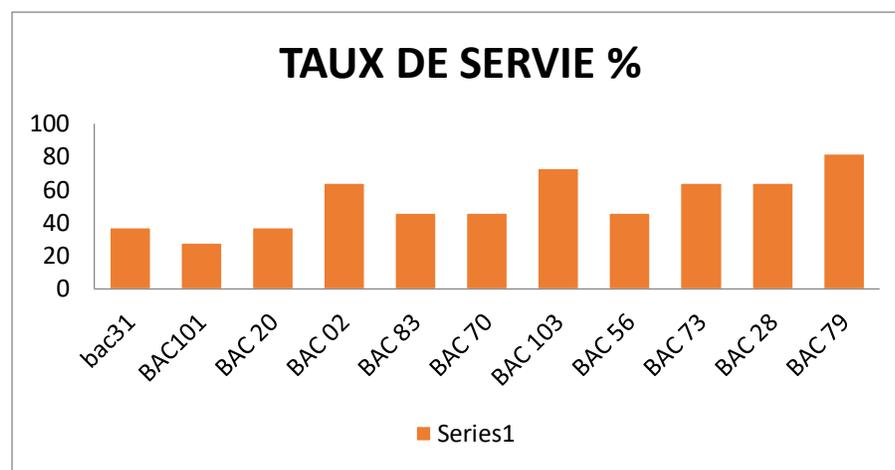
<b>Jour</b>	<b>Nombre des graines germé</b>	<b>Taux de germination %</b>
<b>0</b>	0	0%
<b>01</b>	0	0%
<b>02</b>	13	26%
<b>03</b>	36	72%
<b>04</b>	40	80%
<b>05</b>	50	100%

Le tableau 04 a montre clairement que le taux de germination des plantes de lentilles est développé jour après jour. Après 3<sup>ème</sup> jour la germination commence avec 13 graines et dans 5eme jour toute les plantes sont germées.

Le taux de germination est moyen (80%) et le temps est de 4 à 5 jours. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par **Maziliak., (1999)**.

## 1.2. Taux de servie :

La figure 19 montre le taux de servie de lentille inoculer avec 11 bactéries.



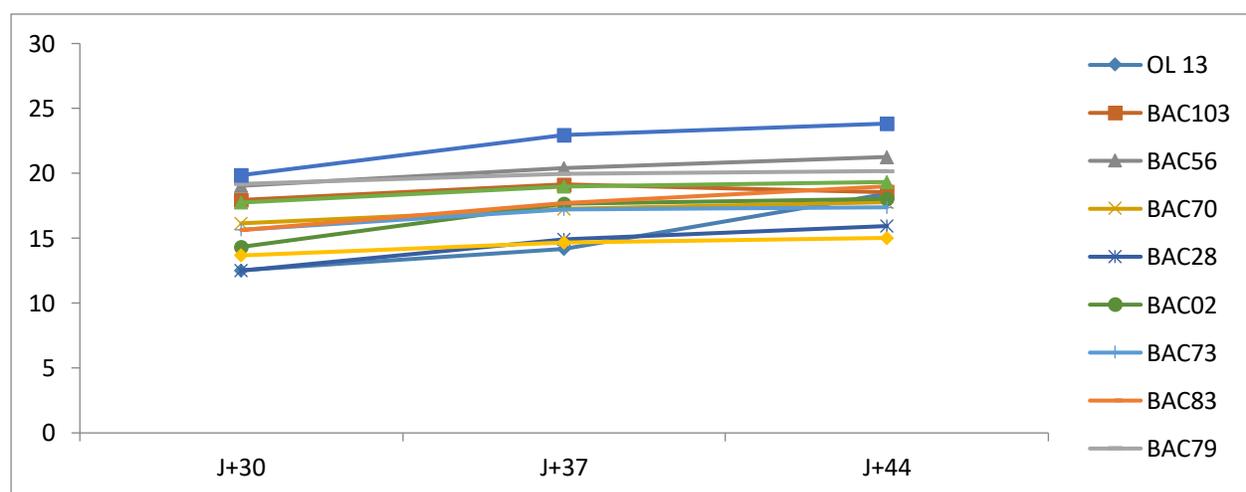
**Figure 19 :** Taux de servie de la lentille en %.

La figure19 montre clairement que le taux de germination le plus élevé est enregistré chez les plantes inoculées par les bactéries 79 (80%), 103 (70%) et 02, 73 et 28 avec (60%), les autres ont enregistrés de faibles taux, 101, 31, 20, 82, 70 environ (10% à 30%).

## 2. Effet de l'inoculation sur la croissance :

### 2.1. Hauteur de la tige des plantes de la lentille (*Lens culinaris*):

La figure 20 représente l'évolution des paramètres de croissance sur la hauteur de la tige durant trois semaines.



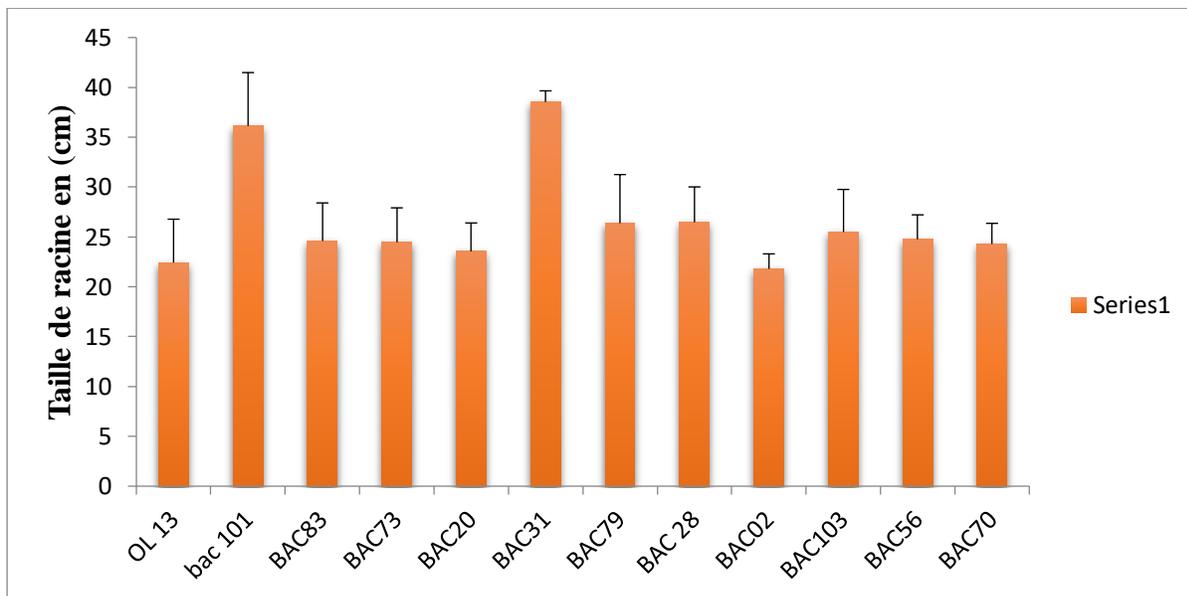
**Figure 20 :** Hauteur de la tige pendant 3 dernière semaines de croissance.

Nous observons que les 11 bactéries et le témoin OL 13 affichent des résultats significativement différents ( $P < 0.05$ ) (**figure 20**). Les plantes inoculées par la bactérie 20 ont donné le résultat le plus élevé avec une hauteur de la tige de 25 cm. La bactérie 31 a présenté le résultat le plus bas avec une hauteur de la tige de 14,8 cm au cours des trois semaines d'incorporation au contrôle OL13 avec des moyennes de 15 cm et 18 cm.

Les souches isolées ont montré une activité simulatrice de croissance de la tige considérable pour les plantes inoculées par rapport au témoin ce résultat est en concordance avec celui trouvé par (**Bouras., 2018**).

## 2.2. Taille des racines de lentilles (*Lens culinaris*):

Les résultats obtenus sur l'effet des isolats de rhizobactériens sur la longueur des racines de lentilles sont présentés dans la figure 21.



**Figure 21** : Longueur de la racinaires de la lentille inoculées.

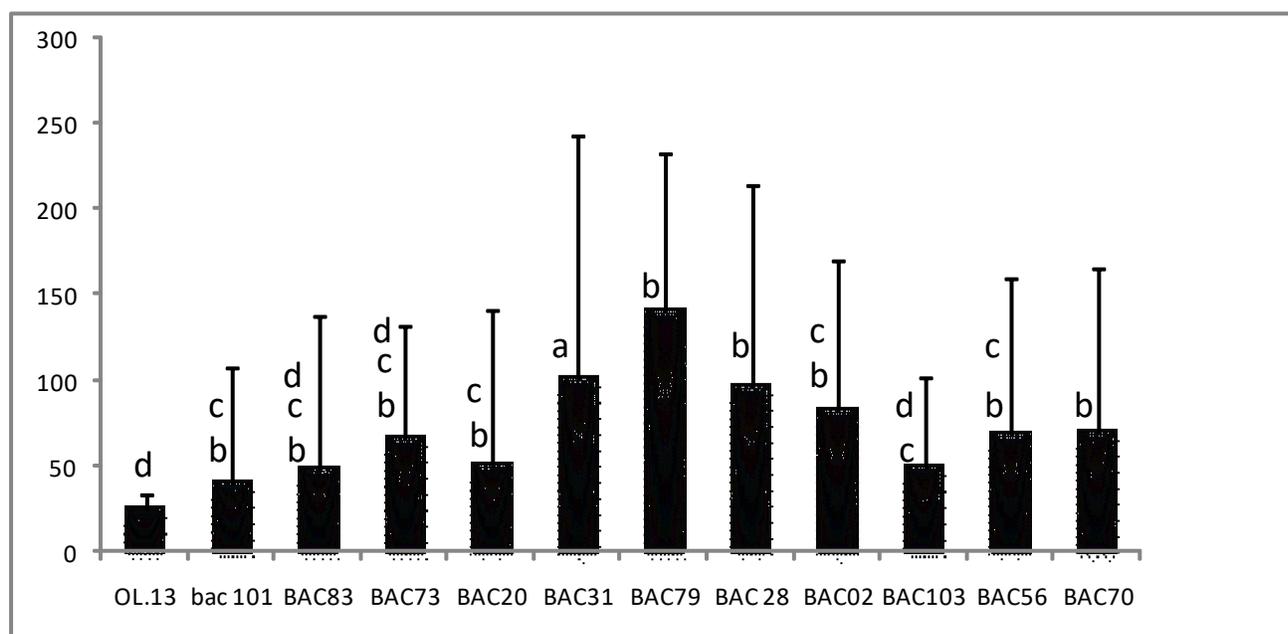
En ce qui concerne la longueur des racines, les 11 bactéries et le témoin OL13 montrent des résultats significativement différents ( $P < 0,05$ ) (**Figure 21**). La bactérie 31 a affiché la longueur des racines la plus élevée avec 39 cm et la bactérie 02 a montré la plus faible longueur de racine au cours de la prise de trois semaines du témoin OL13 avec des moyennes de 23 cm.

Nos résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Smith, 2001) ;(López et al., 2003) et(Bouras., 2018) qui stipulent que cette augmentation de longueur racinaires s'accompagne d'une meilleure absorption des nutriments. L'absorption des nutriments par les plantes inoculées avec des souches efficaces a été attribuée à la production de régulateurs de croissance des plantes par les bactéries à l'interface des racines, ce qui a stimulé le développement des racines et a entraîné une meilleure absorption de l'eau et des nutriments du sol, comme indiqué par (Lifshitz et al., (1987).

### 3. Estimation de la matière fraîche racinaire et aérienne :

#### 3.1. Partie aérienne :

La figure 22 montre la biomasse aérienne fraîche des plants de lentilles.



**Figure 22** : Matière fraîche aérienne des lentilles inoculées.

En ce qui concerne la matière fraîche de la partie aérienne, les 11 bactéries et le témoin OL13 montrent des résultats significativement différents ( $P < 0,05$ ) (**figure 22**) avec un moyen de 10 mg à 100 mg.

L'inoculation des plantes par la bactérie 79 a favorisé la croissance de la partie aérienne de la plante avec une matière fraîche de 140 mg. Néanmoins la bactérie 101 a

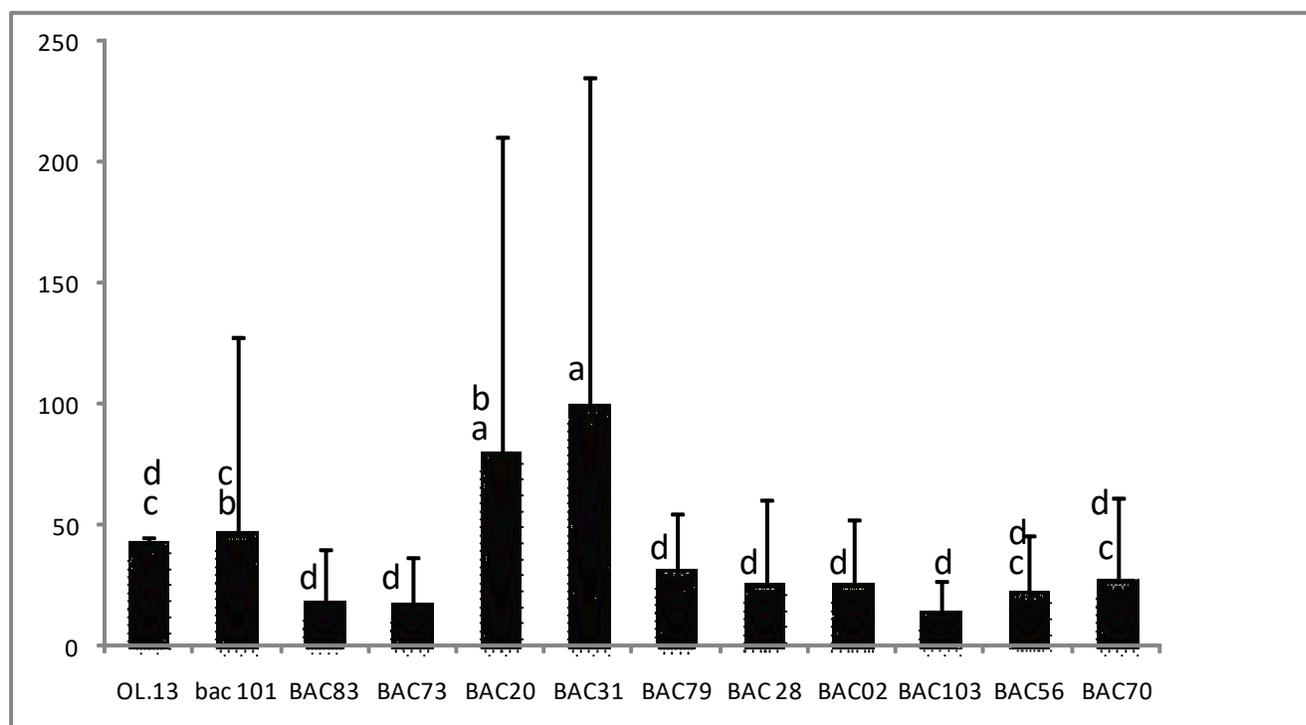
montré le poids frais de la partie aérienne le plus bas avec 40mgpar a rapport au témoin OL13.

L'analyse de variance a montré un effet hautement significatif selon le test Fisher sur la croissance de la plante en poids frais de la partie aérienne entre : 31, 79, 28,70 et non significatif avec les autres bactéries.

Nos résultats sont d'accord avec ceux de **Bouras., (2018)** qui a montré que l'étude du poids frais a montré une amélioration de la croissance des graines de lentilles inoculées et de l'étude de **Nekkaa., (2020)** et **Ouserir et al.,(2018)**, chez des plantes de (*Vicia faba L.*) qui ont montré que dans les expériences, sous serre et en plein champ, les poids frais et secs des biomasses aérienne et racinaire sont nettement améliorés avec les inoculations par rapport aux témoins.

### 3.2. Partie racinaire :

La figure 23 représente la biomasse racinaire fraîche des plantes de lentilles.



**Figure 23:** Matière fraîche racinaire des lentilles inoculées.

Concernant la croissance de partie racinaire fraîche. Les 11 bactéries et le témoin OL13 montrent des résultats significativement différents ( $P < 0,05$ ) (**figure 23**) avec des moyennes de matière fraîche racinaire allant de 10mg à 100mg.

L'inoculation des plantes par la bactérie 31 a favorisé la croissance de la plante avec un poids frais de la partie racinaire de 110mg. Néanmoins la bactérie 103 a montré le poids frais de la partie aérienne le plus bas avec 10 mg par rapport au témoin OL13.

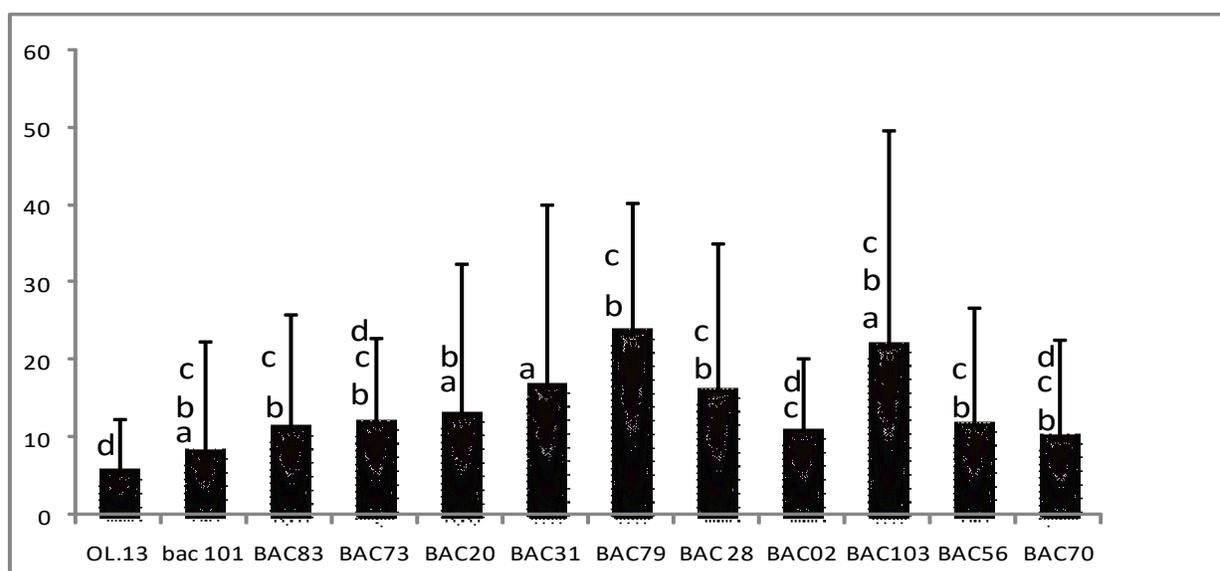
L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids frais de la partie racinaire (selon Newman-Keuls) entre : 79, 28, 02, 103, 73, 83 et 31 et non significatif avec les autres bactéries.

L'effet positif de l'inoculation observé sur les facteurs de croissance est expliqué par une meilleure nutrition des plants (**Asghar et al., 2003. Aliasgharzad et al., 2006 ; Khushi et al., 2008 ; Afzalet al., 2010**), qui ont retrouvés que les poids frais et secs des racines chez les plantes de la fève (*Vicia faba* L) ont été amélioré par l'inoculations (**Nekkaa., (2020) et Yildirim et al., (2015)**).

#### 4. Estimation de la matière sèche racinaire et aérienne :

##### 4.1. Partie racinaires :

La figure 24 représente la biomasse racinaire sèche des plantes de lentilles.



**Figure 24:** Matière sèche racinaire des lentilles inoculées.

La figure représente la biomasse racinaire sèche des plantes de lentilles. Les 11 bactéries et le témoin OL13 montrent des résultats significativement différents ( $P < 0,05$ ) (figure 23). Cette biomasse moyenne varie entre 5mg et 25mg par plante.

Les plantes de la bactérie 79 ont affichés le résultat le plus élevé avec 28 mg, tandis que les plantes de la bactérie 101 ont montré le poids sec de la partie la plus faible de racine avec 9mg par rapport au témoin OL13.

L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids sec de la partie racinaire (test Fisher) entre : 31, 28, 83,79 et 103 et des résultats non significatifs pour les autres bactéries.

Nos résultats rejoignent ceux de Nekkaa., (2020) et (El Fakhri *et al.*, 2010) qui ont retrouvés que les résultats relatifs au poids sec des racines et au poids sec de la plante chez le fève montrent que la production de la matière sèche a été améliorée par l'inoculation. Cette matière sèche sert à la production de nouvelles racines, à leur prolifération (volume racinaire), à leur allongement (accroissement en longueur) et à leur entretien. (Abbasi *et al.*, 2011).

#### 4.2. Partie aérienne :

La figure 25 représente la biomasse aérienne sèche des plantes de lentilles

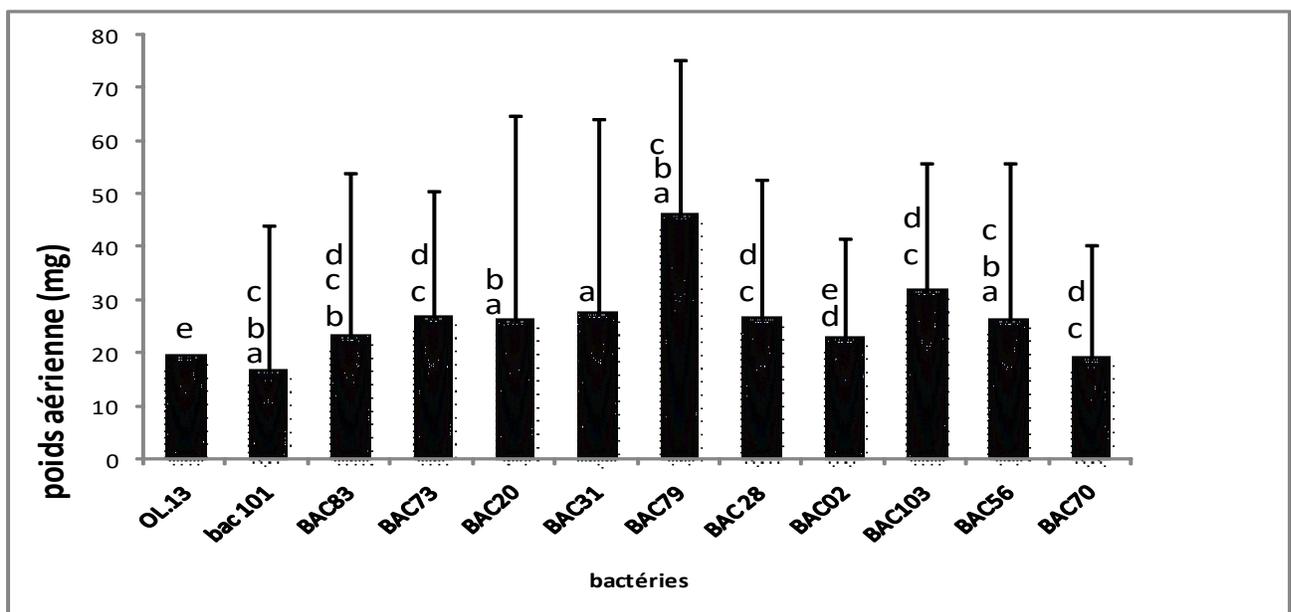


Figure 25: Matière sèche aérienne des lentilles inoculées.

La figure représente la biomasse sèche aérienne des plantes de lentilles inoculées. Les 11 bactéries et le témoin OL13 montrent des résultats significativement différents ( $P < 0,05$ ) (**figure 25**). Cette biomasse moyenne varie entre 15 mg et 50 mg par plante.

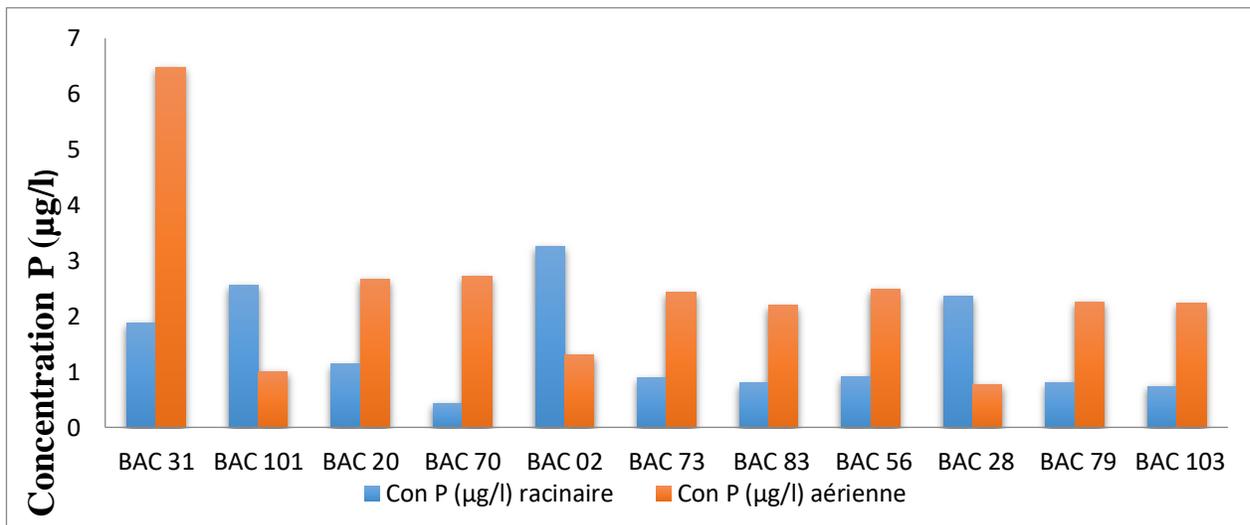
Les plantes de la bactérie 79 ont affichés le résultat le plus élevé avec 49 mg, tandis que les plantes de la bactérie 101 ont montré le poids sec de la partie racinaire le plus bas avec 17 mg par rapport au témoin OL13.

L'analyse de la variance a montré un effet significatif sur la croissance de la plante en poids sec de la partie aérienne (test Fisher) entre : 73, 28, 83,70 et 103 et des résultats non significatif pour les autres bactéries.

D'après nos résultats le rendement en matière sèche des parties aériennes par plante a augmenté en fonction des répétitions, les mêmes conclusions ont été aussi signalées par (**Boughribil et al., 2018**)

### 5. Dosage du phosphore accumulé dans la lentille inoculée :

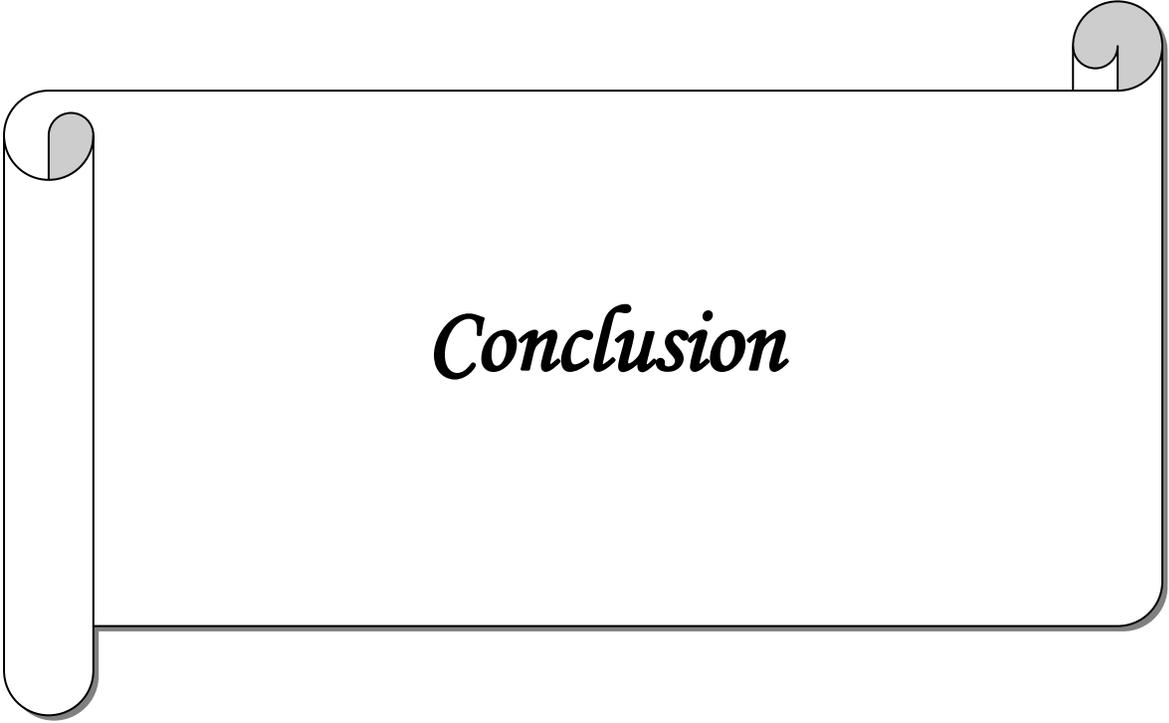
La figure 26 représente la variation de la concentration en P dans la partie aérienne et racinaire chez la lentille inoculée.



**Figure 26 :** La concentration du phosphore dans la partie racinaire et aérienne.

D'après cette figure, sur l'ensemble des couples symbiotiques étudiés la concentration de phosphore s'est accumulée plus dans la partie aérienne que dans la partie racinaire des plantes. Pour la partie racinaire on remarque que la teneur la plus élevée du phosphore est

enregistrée chez les plantes inoculées avec la bactérie 02 ( $4 \mu\text{g/l}$ ) par rapport aux autres bactéries qui avaient des moyennes plus basses ( $0,5\mu\text{g/l}$  à  $2,5\mu\text{g/l}$ ), Alors que pour la partie aérienne la teneur la plus élevée a été observée chez les plantes inoculées par la bactérie 31 ( $6,5 \mu\text{g/l}$ ) par rapport aux autres plantes.



*Conclusion*

## Conclusion

Les PGPR ou «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, Ces bactéries favorisant la croissance des plantes et qui jouent un rôle majeur dans la nutrition des plantes. Les PGPR peuvent aussi solubiliser le phosphore qui aide à la croissance des plantes.

Dans le cadre de nos travaux, on a étudié l'effet d'inoculations de 14 bactéries rhizosphériques (1,2,20,28,31,56,77,70,73,79, 83,101,103), et ceci en présence du Rhizobium OL13 en tant que témoin , ainsi que la détermination du phosphore accumulé dans les plants de lentilles inoculés en culture hydroponique.

Les résultats de notre étude nous conduisent à émettre les conclusions suivantes :

Cette étude a montré que l'inoculation bactérienne a amélioré la croissance et le développement des plantes de lentilles ; ce qui s'est traduit par une hauteur plus élevée (bactérie 20) des plants inoculés par rapport à celle du témoin OL13.

L'inoculation a eu également un effet sur la longueur et la croissance des racines des plantes de lentilles.

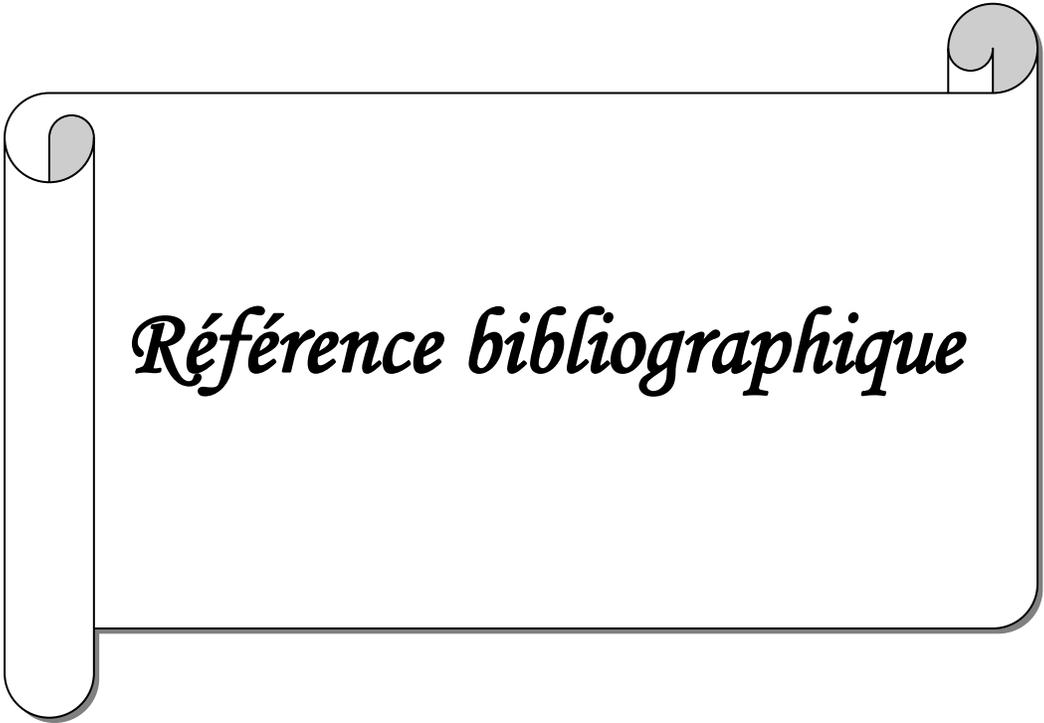
L'inoculation des plantes par les bactéries a favorisé la croissance en augmentant le poids frais aérien principalement les bactéries 79, 28 et 02 et le poids sec aérien pour les bactéries 79, 103, 28 et 56.

Les concentrations de phosphore étaient plus élevées sur la partie aérienne chez la lentille inoculée que la partie racinaire des plantes et le taux le plus élevé a été trouvé chez les plantes inoculées par la bactérie 31.

Ces résultats donnent à penser qu'il est possible d'améliorer la performance de la culture de la lentille à long terme par l'utilisation des souches isolées sélectionnées (20, 79, 28,02 et 103) qui ont présentés des propriétés intéressantes de promotion de la croissance.

Afin de mieux comprendre les mécanismes des PGPRs des études complémentaires sont nécessaires nous proposons de:

- Caractériser et connaître l'expression des gènes impliqués dans la solubilisation des phosphates.
- Caractériser et connaître l'expression des gènes impliqués dans la fixation de l'azote.
- Mesurer l'effet de ces bactéries sur la nutrition azotée et phosphatée.
- Identifier les souches intéressantes stimulatrices de la croissance.



*Référence bibliographique*

## Référence bibliographique:

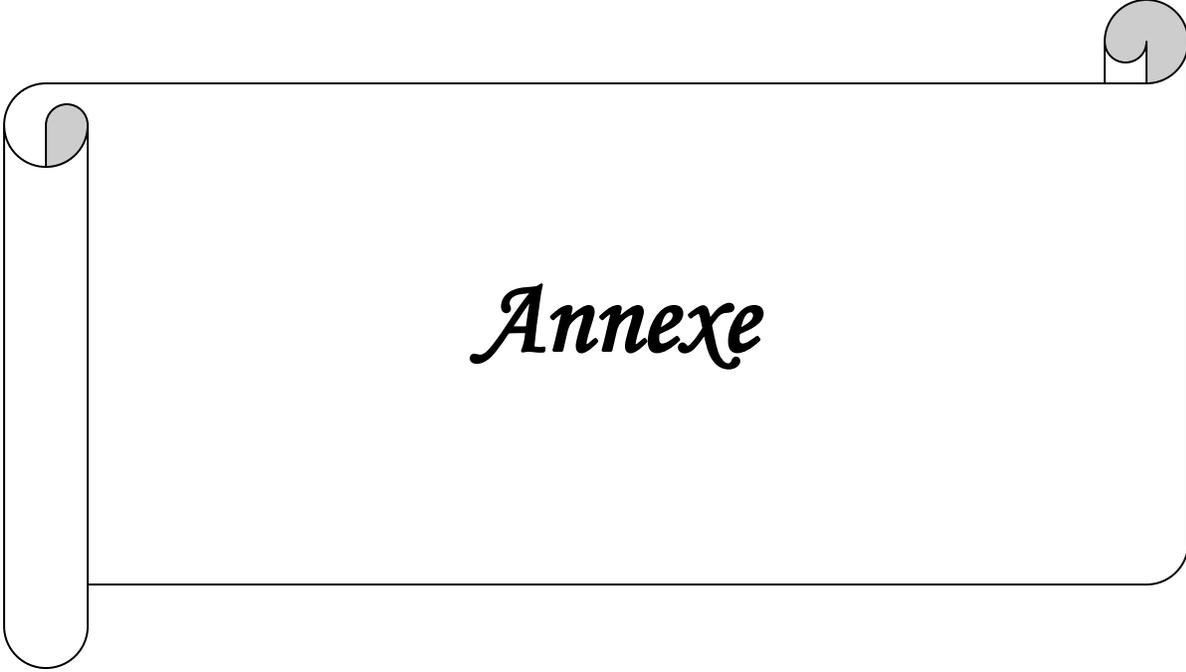
- **Ait abdellah, (2011).** Culture et cout de production des grandes cultures.  
P84.ISBN :978- 9961-88-18-7
- **Basavaraju, O., A.R.M. Rao et T.H. Shankarappa (2002).** Effect of Azotobacter inoculation and nitrogen levels on growth and yield of radish (*Raphanussativus L.*). In: Proceedings of Microbial Technology for Sustainable Development and Productivity, (Ed.,Rajak D.C.), Jabalpur, Biotechnology of Microbes and Sustainable Utilization, pp. 155- 160.
- **Bassil, NV., WM. Proebsting, LW. Moore ET DA. Lightfoot (1991).** Propagation of hazelnut stem cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. Hort. Sci. 26:1058–1060.
- **Beauchamp C.J. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*. 74 (1): 19-27.
- **Beauchamp C.J.,(1993)-** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique.*Phytoprotection*,74(1) :19-27.
- **Bejiga. 2006.** *Lens culinaris* Medik. Fiche de Protabase. Brink, M. and Belay, G.(Editeurs). PROTA (Plant Resources of Tropical African/ Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageniniges, Pays Bas.
- **Benmati M. (2014).** PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*): Aspect moléculaires et génétiques. Thèse de Doctorat. Biotechnologie et génomique végétale. Université de Constantine1.
- **-Brink, M. Belay, G. (2006).** Céréales et légumes secs: ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P:102

- **Couvillon, GA (1998).** Rooting Responses to Different Treatments. *Acta Hort.* 227: 187- 196.
- **Cubero, J. I., (1981).** Origin, domestication and evolution of (*Lentils common wealth*) *Agricultural Bureau, Slough, UK*, 15-38..
- **De Freitas, JR (2000).** Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var. Norstar) inoculated with rhizobacteria. *Pedobiologia* 44:97–104.
- **Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M. (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbio.Res.* 159: 371-394.
- **Doyle JJ, Luckow MA. (2003).** the rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol.* 131: 900–10.
- **Ercisli, S., A. Esitken, R. Cangiet F. Sahin (2003).** Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. *Plant Growth Regul.* 41:133–137.
- **Ercisli, S., A. Esitkenet F. Sahin (2004).** Exogenous IBA and inoculation with *Agrobacterium rubi* stimulate adventitious root formation on hardwood stem cuttings of two rose genotypes. *Hort. Sci.* 39:533–534.
- **Erturk, Y., S. Ercisli, R. Sekban, A. Haznedaret MF. Donmez (2008).** The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of tea (*Camellia sinensis* var. *Sinensis*) cuttings. *Roum. Biotechnol. Lett.* 13:3747–3756.
- **Esitken, A, S. Ercisli, H. Karlidaget F. Sahin (2005).** Potential use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in organic apricot production. In: Libek A., Kaufmane E., Sasnauskas A. (eds) International conference on environmentally friendly fruit growing. Tartu, Estonia, pp 90–97.
- **FAO (2006)** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques, INRAA. FAO (organisation des Nations Unis pour l'Alimentation et l'Agriculture)

- **-FAOSTAT-Agriculture, (2011).** Food and agricultural commodities production. Food and agriculture organization, Rome.
- **Gepts P, Beavis WD, Brummer EC, Shoemaker RC, Stalker HT, Weeden NF, Young ND. (2005).** Legumes as a model plant family: genomics for food and feed report of the crosslegume advances through genomics conference. *Plant Physiol* 137: 1228
- **Govind Gupta, Shailendra Singh Parihar, Narendra Kumar Ahirwar, Sunil Kumar Snehi and Vinod Singh ,(2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture, *MicrobBiochemTechnol*, 7:2
- **Hamadache, A., (2014).** Grandes Cultures Tome II – Légumineuses alimentaires (Pois chiche, Fèves, Lentille), 188p.
- **Hammouda, D., Khalfallah, N., (2015)** tude comparative de la caryo-morphologie chez six géotypes du *Lens culinaris* Medik. *European Scientific Journal*, 11(24).
- **Jornal for Clin Nutriation.1 ,281-98.**
- **Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA ,(2010).** Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Arch Agron Soil Sci* 56:73-98
- **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. (2011).** Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites. Magister. Sciences Agronomiques. Ecole National Supérieur Agronomique. El Harrach-Alger.

- **Lee, KJ ., S. Kamala-Kannan, HS. Sub, CK. Seonget GW. Lee (2008).** Biological control of Phytophthora blight in red pepper (*Capsicum annum L*) using *Bacillus subtilis*. *World J. Microb.Biot.*24:1139–1145.
- **Liener I. E, (1962).** Toxic factors in edible legumes and their elimination ». *American*
- **Lugtenberg B., Kamilova F. (2009).** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev.Microbiol.* 63: 541-556.
- **Maphosa .Y and Jideani V. (2017).** The Role of Legumes in Human Nutrition. Improving Health through Adequate Food chapter. Edited by Maria Chavarri Hueda. In the book: *Functional Foods*
- **Martinez-V O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo G et Mora M.L. (2010).**•Mechanisms and piratical consideration involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Jornal of Soil Science and Plant Nutrition.* 10 (3): 293-319.
- **Martinez-Viveros O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo.G. , Mora M.L.,(2010)-** Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobactéria.*J.Soil Sci.Plant Nutr.*10(3) :293-319.
- **Mollier, A., (2014)** La modélisation des relations sol-plante : l'exemple du phosphore. In S. Pellerin, F. Butler, C. Van La-them, et S. Recous (Éd.), *Fertilisation et Environnement: Enjeux et perspectives pour l'aide à la decision*, Paris, Quae, 202-216.
- **MuneesAhemad,MulugetaKibret , (2013)** .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20
- **Nutrition Research, 47 ,175-276.**
- **Pihlanto et Korhonen, (2003);** Bioactive peptides and proteins ». *Advances in food*
- **Reyes, I., L. Alvarez, H. El-Ayoubiet A. Valery (2008).** Selection and evaluation of growth promoting rhizobacteria on pepper and maize.*Bioagro.*20:37–48.

- **Rodriguez, MN., RD. Villalonga, RAJ. Castillo, AJL. Marques, LR. Gonzalez, SP. Llaneset FM. Peguero (2001).** Influence of application of biofertilizer based on Azospirillum on germination of seed and production of vegetable crops. *Centro Agricola* 28:38–41.
- **Salantur A, A. Ozturk, S. Akten, F. Sahinet F. Donmez (2005).** Effect of inoculation with non indigenous and indigenous Rhizobacteria of Erzurum (Turkey) origin on growth and yield of spring barley. *Plant Soil*, 275:147–156
- **Salma Taktek ,(2015).** Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat. Université LAVAL québec canada
- **Schawartz, H.F. and Langham, M.A.C. (2012).** Grows stage of lentil. Disponible sur internet: <http://legume.ipmpipe.org>.
- **Somers E., Vanderleyden J., Srinivasan M. (2004).** Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol*, 304:205-240.
- **Vargas, DP, R. Ferrera-Cerrato, JJ.Almaraz-Suarez, AG.Gonzalez (2001).**Inoculation of plant growth-promoting bacteria in lettuce. *Terra* 19:327–335.
- **Vivas A., Biro B.,Campos E . , Berea J.M., Azcn R.,(2003)** symbiotic efficiency of autochthonous arbuscular mycprrhizal fungus (G.mossae) and Brevibacillus sp.isolated from cadmium polluted soil under increasing cadmium levels.*Environ. Pollut.* , 126 :179-189.
- **-Yunnus, A. G. and Jackson, M.T. (1991).** Thé gène pools of thé Grasspea. *Plant Breeding* 106 (4): 319-328.



*Annexe*

**Annexe 01:****1. Milieu LB:**

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

## 2. Solutions hydroponique (M.Claïrotte 2008) :

Les solutions stock :

Nom	Concentration	1litre	A préparer
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	1M	120 ,37g/l	250ml
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	1M	174,25g/l	1250ml
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	1M	110,98g/l	3000ml
<b>Fe-EDTA</b>	100Mm	34,81g/l	500ml
<b>MnCl<sub>2</sub></b>	100mM	12,58g/l	100ml
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	100Mm	6,2g/l	500ml
<b>ZnSO<sub>4</sub></b>	10Mm	1,62g/l	100ml
<b>NaMOO<sub>4</sub></b>	10Mm	1,83g/l	25ml
<b>CuSO<sub>4</sub></b>	10Mm	1,6g/l	500ml
<b>Urée CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O</b>	1M	60,06g/l	100ml

Annexe 02:**3. Solutions stock dans un bac de 5ml :**

Nom	Concentration solutions stock	Concentration final	Volume prélever (ml) pour bac 5L
MgSO <sub>4</sub>	1M	100	0,4
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1M	700	3,5
CaCl <sub>2</sub>	1M	1650	8,25
Fe-EDTA	100Mm	16	0,8
MnCl <sub>2</sub>	100mM	4	0,2
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	100Mm	22	1,1
ZnSO <sub>4</sub>	10Mm	0,4	0,2
NaMOO <sub>4</sub>	10Mm	0,05	0,025
CuSO <sub>4</sub>	10Mm	1,6	0,8

**Remarque :**

- . Changer la solution chaque semaine.
- . Les 15 premiers jours en ajout 2 ml urée (chaque bac de 5 L).

Annexe03:**•Préparation du réactif vanadomolybdique :**

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

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

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

**- Préparation du courbe étalon :**

1- Peser précisément 0,439 g de dihydrogénophosphate de potassium préalablement séché dans une coupelle en verre.

2- Introduire la poudre dans un bécher de 50 ml et ajouter 30 ml d'eau déminéralisée.

3- Insérer un barreau aimanté et agiter jusqu'à dissolution complète.

4- Verser le contenu du bécher dans une fiole de 100 ml, et rincer plusieurs fois le bécher avec de l'eau déminéralisée, récupérer les eaux de rinçage dans la fiole.

5- Compléter la fiole à 100mL avec de l'eau déminéralisée et agiter Solution mère à 1g/L en P.

- **La solution mère peut être congelée par aliquotes de 600 $\mu$ L, par contre, la solution fille de P doit impérativement être préparée le jour de l'analyse.**

6- Diluer 10 fois la solution mère avec de l'eau déminéralisée : 500 $\mu$ L de solution mère à la micropipette 20-1000 $\mu$ L dans un tube en PP de 6mL, et 4.5mL d'eau déminéralisée à la pipette 1.00-5.00mL.

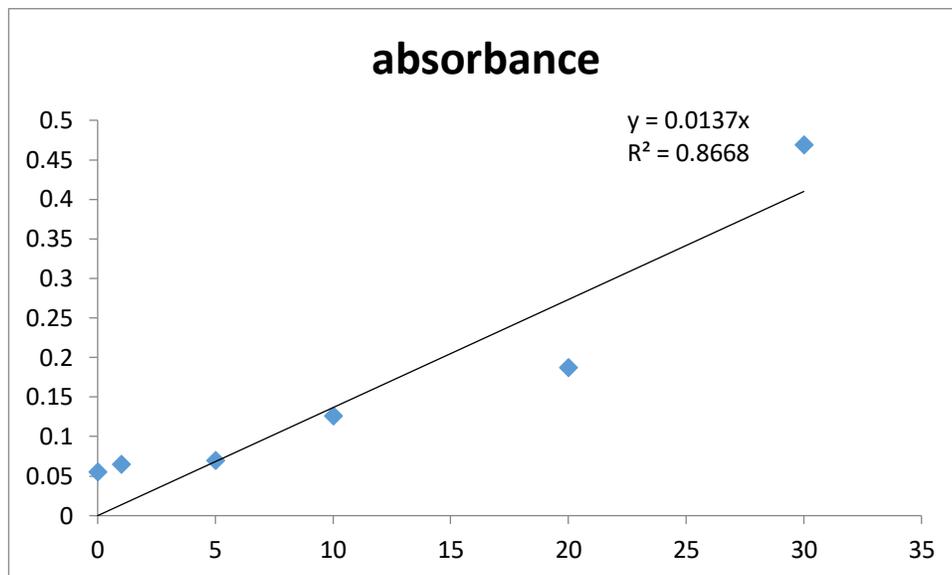
7- Boucher et homogénéiser Solution fille à 100 mg/L en P.

**Dosage du phosphore :**

1- A l'aide d'un marqueur, identifier 6 tubes en PP de 6 ml comme mentionné dans **le tableau 2.**

2- On a pris 500 $\mu$ l de ces tubes et le met dans 6 tubes d'ependorf et on les mettre pendant 20 min à l'obscurité.

3- Ensuite on a fait une spectrophotométrie pour obtenu une courbe Etalon.



**La courbe d'Etalon.**

4- pesée 0,04 g d'échantillons et on rajoute 1000 $\mu$ l de solution préparé (30% HCl+ 10% HNO<sub>3</sub>°).

5- On fait une centrifugation pendant 12 min.

6- Récupérer le surnagent 140 $\mu$ l dans des tubes à essais.

7- Diluer 50 fois (140 $\mu$ l surnagent + 6860 eau distillée).

8- Pour 6 ml solution final on met 3 ml solution dosage vanadomolybdique + 2, 25 ml eau + 750 $\mu$ l extrait d'échantillons dilué.16.

9- Réaliser le dosage au spectrophotomètre.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : ABADI Manel.

***Les PGPRS associés à la lentille et leur effet sur la promotion de la croissance en hydroponie.***

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

**Résumé :**

Les PGPR sont des bactéries du sol qui peuvent stimuler la croissance des plantes de façon directe ou indirecte en fournissant des substances qui sont habituellement en quantité limitée dans le sol ou de ralentir la croissance des agents pathogène. Les légumineuses alimentaires sont considérées depuis longtemps comme les plantes à graines les plus cultivées avec les céréales par l'homme. En Algérie, la lentille (*lens culinaris*) occupe une place importante en alimentation humaine et animale, elle est classé 3ème culture légumineuse après l'haricot et le petit pois.

L'objectif de ce travail est à déterminer l'accumulation de phosphore dans les plants de lentilles inoculées par 14 bactéries rhizosphériques et comparer leur l'effet sur le potentiel de promotion de la croissance de lentilles en culture Hydroponique, et mettre en évidence l'activité qui favorise la croissance sur la germination des graines *in vitro* et la mesure de la longueur des tiges, des racines, du poids frais et sec des plants de lentilles (*Lens culinaris*).

Les résultats obtenus démontrent que l'inoculation des bactéries rhizosphériques à un effet bénéfique sur la stimulation racinaire et aérienne qui à été principalement obtenus pour les souches 79, 103, 02,28, qui sont les meilleurs candidats des PGPR de la lentille. Par ailleurs, L'étude de la solubilisation de phosphore accumulé dans la lentille montres que l'efficacité de solubilisation la plus élevée a été observée dans la partie aérienne chez les bactéries inoculées par la bactérie 31.

**Mots-clefs :** légumineuse, PGPR, La lentille (*lens culinaris*), Inoculation, hydroponique.

**Laboratoires de recherche :** Génétique Biochimie et Biotechnologie végétale (GBBV).

**Encadreur :** Dr. MAOUGAL. R.T (M.C.A –INATAA- U .F.M, Constantine 1).

**Examineur 1 :** Dr. KECHID .M (M.C.A –INATAA- U.F.M, Constantine 1).

**Examineur 2 :** Mr. TEMAGOULT.M (M.A.A –SNV- U. F.M, Constantine 1).