REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Science de la nature et de vie

Spécialité : Biotechnologie et microbiologie appliquée

Par :

TCHIKOU Khadidja
ABBAS TURKI Wafaa

Thème :

Evaluation de la qualité microbiologique de la rhizosphère/endosphère de la luzerne de la région d'El Goléa Wilaya de GHARDAIA

Soutenue publiquement le : 19 /06 /2017. Devant le jury composé de :

Membre de jury 1 : **AINAS M** MAA Etablissement : Faculté de science Médéa Président
Membre de jury 2 : **BOUMEDIENE F** MAB Etablissement : Faculté de science Médéa Examinateur
Membre de jury 3 : **CHAMI B** MAB Etablissement : Faculté de science Médéa Examinateur
Membre de jury 4 : **BOUHERAMA A** MAB Etablissement : Faculté de science Médéa Encadreur

Année universitaire 2016/2017

Résumé

Dans le cadre d'une étude qui porte sur l'évaluation de la qualité microbiologique de la luzerne cultivée MedicagosativaL.dans une zone saharienne (El Goléa-Ghardaia-), nous avons jugé intéressant d'effectuer un travail sur l'isolement des bactéries issus de deux compartiments (Rhizosphère-Endosphère) et de les caractériser sur le plan biochimiques, physiologiques et fonctionnelle afin de sélectionner une communauté microbienne possédant un pouvoir PGPR, une résistance aux conditions de stress biotic et abiotic et de les utilisé comme inoculum.

Nos résultats ont montré une richesse microbienne au niveau de la rhizosphère et de l'endosphère, les isolats obtenus ont montré des bonnes critères ce que les rends des bon candidats pour la construction d'une communauté microbienne.

Mots clé :MedicagosativaL, rhizosphère ,endosphére , PGPR ,

ملخص

في إطار دراسة ترتكز على تقييم الجودة الميكروبيولوجية لنبتة البرسيم (البرسيم الحجازي) في منطقة صحراوية (القولية- غرداية) وجدنا أنه من المثير للاهتمام العمل على عزل البكتيريا من قسمين (ريزوسفير – أوندوسفير) ودراسة خصائصها البيوكيميائية والفسيولوجية والوظيفية من أجل اختيار مجتمع ميكروبي يمتلك القدرة PGPR، مقاومة في الشروط الحيوية وغير الحيوية واستخدامها كلقاح. وأظهرت النتائج التي توصلنا لها ثراء ميكروبي في منطقة الجذور ومنطقة الأندوسفير، العينات المعزولة بينت معايير جيدة ما يجعلها مرشحة جيدة لبناء مجتمع ميكروبي.

مفاتيح كلمات: البرسيم الحجازي، ريزوسفير، أندوسفير ، PGPR.

Summary

As part of a study on the the microbiological quality assessment of cultured alfalfa MedicagosativaL. In a Saharan zone (El Golea-Ghardaia-), we found it interesting to carry out at a work on the bacteria isolation from two compartments (Rhizosphere-endosphere) and to characterize them biochemically, physiological and functional in order to select a microbial community with PGPR power, resistance to biotic and abiotic stress conditions, and to use them as inoculum. Our results showed microbial richness at the rhizosphere and Endosphere level, the isolates obtained showed good criteria what makes them good candidates for the construction of a microbial community.

Key words: MedicagosativaL, Rhizosphere, Endosphére, PGPR,

Dédicaces

Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut de DIEU soit sur son prophète MOHAMED
Je dédie ce Modeste travail :

A mon mari, mon adorable papa, à la mémoire de ma très cher mère ALLAH YARAHMHA et mes très chers beaux-parents, Pour leur soutien, Leur dévouement et leur soutien permanent durant toutes mes années d'études, leurs sacrifices illimités, leur réconfort moral et tous les efforts qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon instruction pour me voir réussir un jour.
Que Dieu les garde.

A mes sœurs Nawel ,Soumia et Douaa .Ainsi Imene

A mon frère Lotfi et sa femme Meyassa

A Mon binôme waffa.

A tous mes amis (e).

Sans oublier mes grand- mères, mes tantes,

Mes cousines et cousins

khadidija

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord le bon Dieu qui m'a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude à notre encadreur ***Mm BOUHERAMA .A*** *Pour sa prise en charge et ses bons conseils, qui ont abouti à l'élaboration d'un travail qui, nous l'espérons, sera satisfaisant.*

Nous tenons à remercier ***Mr DJOUADI pour*** *son aide et ses conseils pércieuses.*

Je remercie les membres du jury qui m'ont honoré on acceptant d'examiner ce travail.

Mr AINAS M *Dr à l'université de MEDEA qui m'a fait l'honneur de présidé ce jury.*

Mm BOUMEDIEN *F Maitre assistant d'avoir d'accepté de faire partie du jury*

Mr chami M *Maitre assistant qui m'a fait le grand honneur d'accepter de faire partie du jury*

Mes sincères remerciements vont également à toute l'équipe du service du laboratoire de pédologie et microbiologie du département science de la nature et de la vie, pour leur précieuse aide et collaboration.

Et enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

TABLEAU DES MATIERES

Résumé
Remerciements
Partie bibliographie
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction 1

Partie I : Rappel Bibliographiques

chapitre I : Les zones arides 3

1. propriétés 3
2. Les microorganismes des sols des zones arides 3
3. L'agriculture saharienne 3
4. les zones arides d'Algérie 4

Chapitre II : Le sol 5

1. Définition et propriété 5
2. Les fonctions du sol 8
3. Activité biologique du sol 8

Chapitre III : La rhizosphère 9

1. Définition et structure 9
2. Les interactions des communautés bactériennes dans la rhizosphère 10
   2.1 Définition d'une communauté bactérienne 10
   2.2 Nature des interactions bactérienne 11
3 . Composition des communautés bactériennes rhizosphérique 12
   - Bactéries à effets bénéfiques 12
   - Bactéries à effets pathogènes 13
4 . Les facteurs influençant la structure des communautés bactériennes rhizosphérique 13
   4.1 Facteurs liés au sol 14
   4.2 Facteurs liés à la plante 14
   4.3 Facteurs liés à la composition microbienne 15
   4.4 L'influence de la composition de la communauté microbienne rhizosphérique sur l'environnement 16
5. Effet de la plante sur les bactéries rhisosphérique 16

Chapitre IV : La luzerne (Medicago sativa) 18

1. Historique origine et distribution 19
2. Classification botanique 19
3. Description morphologique 20
4. Les facteurs limitants la culture : 21

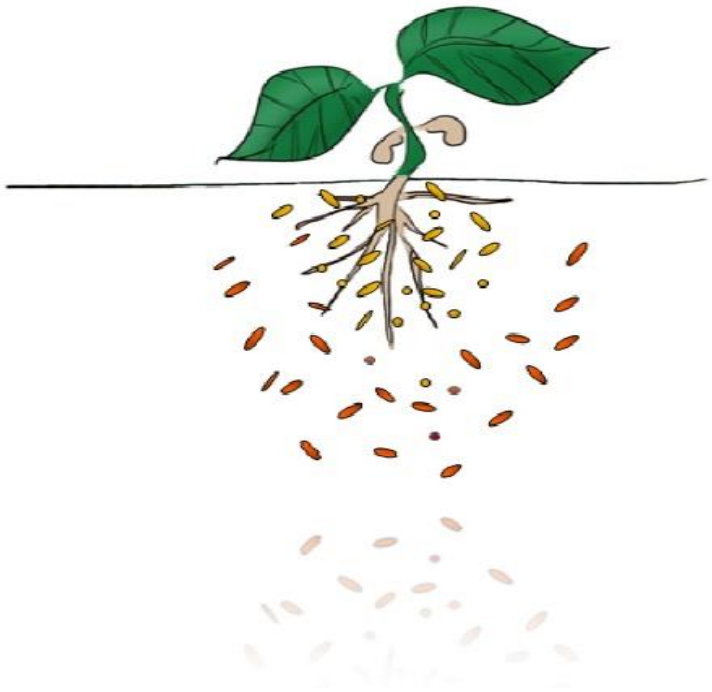
5. Intérêt et utilisation 22
6. Luzerne en Algérie 24
6.1 Ressources génétiques 25
6.2 Avenir de la luzerne en Algérie 25
7. Les microorganismes dans la rhizosphère de la luzerne commune : 26
Partie II : Matériels et méthodes
Chapitre I : Présentations de la région d'El Goléa 27
1- Situation géographique 27
2. Conditions climatiques 28
3. Ressources naturelles 28
4- Activité agricole 29
Chapitre II : Matériel 30
1. Matériel non biologique 30
2. Matériel biologique 30
Chapitre III : Méthode 30
1. Préparation des échantillons rhizosphérique et endosphérique 30
2. Préparation de la solution mère et les dilutions 31
3. Isolement et purification 31
4. Caractérisation des bactéries 31
4.1. Etude macroscopique 31
4.2. Etude microscopique 31
4.3. L'effet PGPR des colonies bactériennes 32
4.4 Caractérisation phénotypique 32
5 Traitements numériques 33
Partie III : résultats et discutions
chapitre I : Etude de la microflore rhizosphérique/Endosphérique 34
1. Analyse de la composition de la microflore 34
2. Caractérisation macroscopique 36
3. Caractérisation microscopique 37
4. L'effet PGPR 39
4.1. Fixation d'azote 39
4.2. Solubilisation des phosphates 40
4.3. Production de sidérophores 41
5. Caractérisation phénotypiques 42
- Tolérance à la température 43

- Tolérance au pH 44
- Tolérance au stresse salin 46
- Tolérance au stress hydrique 47
- La résistance aux antibiotiques 48
- La résistance aux métaux lourds 49
- Les teste enzymatiques 50

6. Taxonomie numérique 51

Conclusion 53

Références Bibliographie



Références bibliographique

Abou-ShanabReda A.I., 2007: Characterization and 16S rDNA Identification of hermotolerant Bacteria Isolated from Hot Springs. Journal of Applied Sciences Research, 3(10) pp 994-1000.

Alexander, M., 1994. Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, New York (USA).

Artiola-Fortuny J. &Fuller W.H., 1982. Adsorption of some mono-hydroxy benzene erivatives by soils. *Soil Science*, **133:** 218-227

Atlas R. M. &Bartha R., 1992. Microbialecology. Fundamentals and applications. 3rd edition. The Benjamin/Cummings PublishingCompany. San Francisco, California (USA), 563.

Bais, H.P., T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy, et J.M. Vivanco. 2006. The role of rootexudates in rhizosphere interactions with plants and otherorganisms. Annu. Rev. Plant Biol. **57:** 233-266.

Baker (2006). The nature and practice of biological control of plant pathogens. *Am. Phytopathol. Soc*., St. Paul.

Baker-Austin C. and Dopson M. 2007. Life in acid: pH homeostasis in acidophilic, *Trends in Microbiology,* 15: 165-171.

Beaudoin N., Denys D., Muller J.C., Monbrun M.D. et Ledain C., 1992. Influence d'une culture de luzerne sur le lessivage du nitrate dans les sols de Champagne- Crayeuse. *Fourrages, 129, 45-57.*

Bertin E. 2002. Les extraits foliaires de la luzerne EFL. L'UFR médecine de l'université de Remis. 9-23p.

Calvet R., 2000. Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France Agricole. Paris

Cardon Z.G. (2007). The rhizosphere an ecological perspective. Elsevier Academic Press California , 1st Edition,231 p.

Chaabena A, 2001- Situation des cultures fourragères dans le sud septentrional du Sahara algérien et caractérisation de quelques variétés introduites et populations sahariennes de luzerne cultivée, thèse Magister en sciences agronomique, Institut. National Agronomique, EL-HARACH, p 124

Crosinier J., 1999. Devenir de la pollution métallique drainée par les eaux pluviales, influence du compartiment microbien et des alternances de dessiccation/réhumectation sur le transfert du zinc dans la zone non saturée du sol. Thèse de Doctorat. Université de Claude Bernard – Lyon I (France).

Curl E. A. and Truelove B. (**1986)**. The rhizosphere, Advanced series in agriculture sciences. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 288.

Dommergues Y. and Mangenot F. (1970). Écologie Microbienne du sol. Masson, Paris.

Duffy, B.K. et G. Defago (1999). Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Appl. Environ. Microbiol.,* **65**: 2429–2438.

Faugier A. (2010). Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires - the rare biosphère. Thèse Doctorat, École Centrale De Lyon, 173 p.

Foster (1958). Experiments with some micro organisms which utilizee thane and hydrogen. *J. Bacteriol*., **75**: 592-601.

Gagné S.,. (1984). Inhibition of phyto pathogenic fungi by bacteria from soils and legume rhizosphere. *Can. J. Microbiol*. **31(9)**, 856-860.

Gangwar, M., et G. Kaur (2009). Isolation and characterization of endophytic bacteria from endorhizosphere of sugarcane and ryegrass. Int. J. Microbiol. 7 (Suppl 1).

Gray A. 1997. Pancreatic and extra pancreatic effects of the traditional anti-diabetic plant, *Medicagosativa*(lucerne). *Br J Nutr*. 78 (2) : 325-34.

Hawkes C.V., DeAngelis K.M. et Firestone M. K. (2007). Root Interactions withSoilMicrobialCommunities and Processes. *The Rizosphere: An Ecological Perspective. Elsevier Inc,* **1:** 22-29.

Hinsinger P., Plassard C. and Jaillard. (2006). Rhizosphère a frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration*. **88 :**210-213.

IIlmer, P. et F. Schinner (1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates - solubilizationmechanisms. *SoilBiol. Biochem*., **27**(3): 257-263.

Iribar A. (2007). Composition des communautés bactériennes dénitrifiantes au sein d'un aquifère alluvial et facteurs contrôlant leur structuration: relation entre structure des communautés et dénitrification, Thèse doctorat, Université de Toulouse, 255 p.

Jones, R.G. (1986). Salt Tolerance. pp: 271-291. *In*:Physiological Processes Limiting Plant Productivity, Johnson, C.B (Ed.). ButterworthPress, London, UK.

Killian C. et Fehèr D. (1939). Recherches sur la microbiologie des sols désertiques. Ed. Paul Le Chevalier, Paris, 127 p.

Klinkowski, M., 1933. Lucerne:itsecological position and distribution in the world. Imperial Bureau of Plant Genetics: Herbage Plants, Bulletin 12, Aberysthwyth, Wales.

Laville, Jet al., 2009;Kowalchuk et al., 2010 Characterization of the *hcnABC*gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens*CHA0. *J. Bacteriol.,***180**: 3187- 3196.

Le françois P. et Ruby F., 2003. Prévision et santé. Une approche intégrée. Réseau proteus.

Lesins, K. A. et Lesins, I., 1979. Genus Medicago (Leguminosae). A Taxogenetic study. The Hague, Boston, London., 228 p.

Lynch J.M. et Whipps J.M.(1990). Substrate flow in the rhizosphere .Plant and Soil .129 :110.

Lynch, J.M. (1990). The Rhizosphere. Lynch JM, (ed.) John Wiley& Sons Ltd, Chichester.

Malinow M. 1981. Cholesterol and bile acid balance in Macacafas cicularis effects of alfalfasaponins. *J Clin. Invest*.67 (1) : 156-62.

Marschner P., Kandeler E. et Marschner B. (2003). Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertiliz erexperiment. *Soil Biology & Biochemistry*, **35:** 453-461.

Mauriès, M., 1994. La luzerne aujourd'hui. France Agricole, 254 p.

Michaud, R., Lehman, W. F., et Rumbauch, M. D., 1988. World distribution and historical development. *Dans :* Alfalfa and Alfalfa improvement, Hanson, A. A., D. K. Barnes, etR. R. Hill *eds.*, 25-91.

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.

Nautiyal, CS. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett*., **170**: 260-270.

Nedjai M., 1973. Nutrition et alimentation des ruminants: Cas concerts. *Ed. Institut Technique d'élevage,* p 20.

Nehl D. B. and Knox O.G.G. (2006). Significance of Bacteria in the Rhizosphére.p.89-119 *In* Mukerji K.G. C.Manoharachary, J.Singg (eds.), Microbial Activity in the rhizosphère. *Soil Biology*, **Vol 7**.

Paul E. A. & Clark F. E., 1996. Soil microbiology and biochemistry. 2nd edition. Academic Press.San Diego, California (USA), 340.

Quénéa K., 2004. Etude structurale et dynamique des fractions lipidiques et organiques réfractaires de sols d'une chronoséquence foret/maïs (CESTAS, Sud ouest de la France). Thèse de Doctorat. Université de Paris 6 (France).

Ramette, A., M. Frapolli, G. Defago, et Y. Moenne-Loccoz. 2003. Phylogeny of HCN synthase-encodinghcn BC genes in biocontrol fluorescent pseudomona and its relation shipwith host plant species and HCN synthesisability. Mol Plant Microbe Interact. **16:** 525-535.

Rupesh Ram k., 2007. Alternateme thods for cultivar synthesis in Alfalfa (Medicago sativa L). Thèse master. Univ Kerala Agricultural University. India, p 96.

Schwarze et J.J. Pasternak 2001) .1-Aminocyclopropane-1- carboxy licacid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida*GR12-2 do not stimulate canola rootelongation. *Can. J. Microbiol.* **40**:911–915.

Siddiqui, Z. (2006). PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR:Biocontrol and Biofertilization, **111**-142.

Sinskaya, E. N., 1950. Flora of cultivated plants of the USSR. XIII PerennialLeguminous Plants. Part I. Medic, Sweetclover, Fenugreek. Sinskaya, E. N. *eds.*, 659 p.

Skujinš J. (1986). Microbialecology of desertsoils. *Adv. MicrobialEcol.,* **7:**49-91.

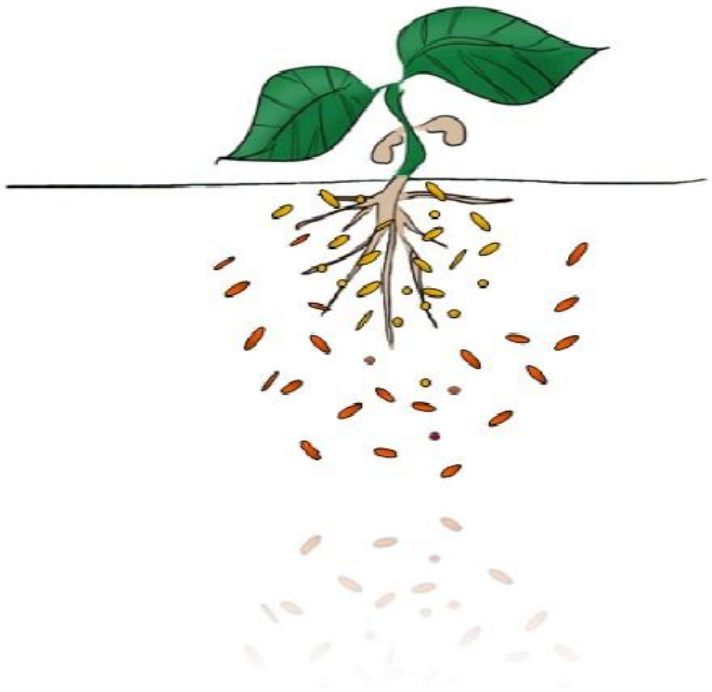
Thiebeau P., Pamaudeau V. et Guy P., 2003. Quel avenir pour la luzerne en France et en Europe. Le courrier de l'environnement n°49, juin 2003. 29-46.

Valdebinito, M., A.L Crumbliss., G. Winkelman et K. Hantke (2006). Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin and yersinia nbactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *Int. J. Med. Microbiol*. **296**:513-520.

Whipps, JM. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot*. **52**:487–511.

Zanin V. 1998. Un nouveau concept nutritionnel pour l'homme l'extrait foliaire de luzerne. Association pour la promotion des extraits foliaires en nutrition APEF Paris. 6-21 p.

Annexe



Annexe 01 : les solutions utilisés

L'eau physiologique 9%

Composition	
NaCl	9g
L'eau distillé	1000ml

$Mg\ Cl_2$

Composition	
$Mg\ Cl_2$	2 mg
L'eau distillé	1000ml

$Ca\ CO_3$

Composition	
$Ca\ CO_3$	2 mg
L'eau distillé	1000ml

$Zn\ So_4$

Composition	
$Zn\ so_4$	1 mg
L'eau distillé	10ml

$Cu\ SO_4$

Composition	
$Cu\ so_4$	2mg
L'eau distillé	10ml

Piniciline

Composition	
Piniciline	1 mg
L'eau distillé	10ml

Rifamycine

Composition	
Rifamycine	2mg
L'eau distillé	10ml

Streptomycine

Composition	
Streptomycine	1 mg
L'eau distillé	10 ml

Annexe 02 : Appareillages et verreries

Appareillages	verreries	Autre matériel
❖ Autoclave ❖ Bain marie ❖ Balance électrique ❖ Etuve ❖ Four pasteur ❖ Microscope optique ❖ Observateur de colonies ❖ Plaque chauffante ❖ Réfrigérateur ❖ pH-mètre	❖ Becher ❖ Boite de Pétrie ❖ Entonnoirs ❖ Erlen-Meyer ❖ Fiole ❖ Flacons ❖ Lame et lamelles ; ❖ Pipettes pasteur ; ❖ Tubes à essais munis de bouchant en métal ❖ Verre de montre ❖ Tube à essai 50ml	❖ Anses de platine ❖ Papier aluminium ❖ Pince en platine ❖ Pissettes ❖ Pendhoff ❖ Spatule ❖ Bec bunsen ❖ Gants jetables ❖ Marqueurs ❖ Portoir pour tube ❖ Boite de pétri ❖ Liquide désinfectant

Annexe 03 : Les milieux de culture

Tryptone Soya Agar (TSA)

Agar	15g
Tryptone	15g
NaCl	5g
Peptone papaïnique de soja	5g

Le pH final doit être ajusté à 7.3 ± 0.2 à 25°C.

NBRIP

Glucose	10g
Ca3(PO4)2	5g
(NH4)2SO4	1g
NaCl	0.2g
MgSO4.7H2O	0.25g
KCl	0.20g
Agar	15g

TSA à amidon à 1%

TSB	3g
Amidon	10g
Agar	15g

TSA à Gélatine

TSB	3g
Gélatine	120g
Agar	15g

TSA 1/10 +NaCl 1M*

TSB	3g
Agar	15g
NaCl	58g

Milieu JENSEN

CaCO3	2g
K2HPO4	1g
MgSO4.7H2O	0.5g
NaCl	0.5g
FeSO4.7H2O	0.1g
Agar	15g
Glucose	20g
Na2MoO4.2H2O	0,005g

Milieu de CAS (Chrome Azurol S)

Le milieu utilisé est décrit par Schwyn et Neilands (1987) et modifié par Mahmoud et Abd Alla (2001). Ce dernier est préparé en mélangeant 2,7 mg de FeCl3.6H2O dissous dans 10 ml de HCl 10 mM avec 1,21g/l de chrome Azurol S (CAS) dissous auparavant dans 50 ml d'eau distillée. Ce mélange, de couleur violette foncée, est ajouté très lentement sous agitation à 1,821g de HDTMA (Hexaméthylammoniumbromure) dissous dans 40 ml d'eau distillée. La solution bleu foncé obtenue est autoclavée à 121 °C/15 min. Un autre mélange est préparé en 115 dissolvant 30,24 g du tampon de Pipes et 15 g d'agar dans 750 ml d'eau. Le pH de cette solution est ajusté au pKa de Pipes (6,8) en ajoutant le KOH 50% (w/v).

Annexe 04

Description morphologique des rhizosphére

	Tailles	Formes	Conteurs	Surfaces	Hauteurs	Couleurs	Consistances
R001	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Rugueux	plat	Beige	Non visqueux
R002	Petite colonies	Circulaire	Régulière	rugueux	Plat	crémeuse	Non visqueux
R003	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Rugueux	Bombé	Blanchâtre	Non visqueux
R004	Moyenne colonies	Circulaire	Régulière	Humide	Bombé	Saumon claire	Non visqueux
R005	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Beige	visqueux
R006	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	humide	Bombé	Jaunâtre	visqueux
R007	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Crémeuse	visqueux
R008	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R009	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R010	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Crémeuse	visqueux
R011	colonies Moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Saumon	visqueux
R012	colonies Moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Beige	visqueux
R013	colonies Moyenne	/	Régulière	Lisse	Plat	Crémeuse	visqueux
R014	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Blanchâtre	visqueux
R015	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Beige	visqueux
R016	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Jaunâtre	visqueux
R017	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Saumon claire	visqueux
R018	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Crémeuse	visqueux
R019	Grosse colonies	Circulaire	Irrégulière	Lisse	Bombé	Beige	visqueux
R020	Grosse colonies	Circulaire	Irrégulière	Lisse	Plat	Crémeuse	visqueux
R021	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Beige	visqueux
R022	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R023	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Blanchâtre	visqueux
R024	Grosse colonies	Circulaire	Irrégulière	Lisse	Plat	Blanchâtre	visqueux
R025	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Beige	visqueux
R026	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux

R027	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	visqueux
R028	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Beige	visqueux
R029	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Humide	Plat	Orange	Non visqueux
R030	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Humide	Plat	Blanchâtre	Non visqueux
R031	Colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Beige	visqueux
R032	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R033	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R034	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Humide	Plat	Jaunâtre	Non visqueux
R035	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	visqueux
R036	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Saumon	visqueux
R037	colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Orange	Non visqueux
R038	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Blanchâtre	visqueux
R039	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Plat	Crémeuse	visqueux
R040	Petite colonies	punctiforme	Régulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	visqueux
R041	colonies moyenne	Circulaire	Irrégulière	Lisse	Plat	Jaune orangé	visqueux
R042	Petite colonies	punctiforme	Régulière	Lisse	Bombé	Jaune claire	visqueux

Description morphologique des endosphére

	Taille	Forme	conteurs	Surface	Hauteur	Couleurs	Consistance
E001	Colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Jaunâtre	Humide
E002	Petite colonies	Punctiforme	Irrégulière	Rugueuse	Légèrement bombé	Crémeuse	Humide
E003	Envahissante	/	/	Lisse	Bombé	Jaune claire	Visqueux
E004	Grosse colonies	Circulaire	Irrégulière	Lisse	Bombé	Blanchâtre	Visqueux
E005	Colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	Visqueux
E006	Petite colonies	Punctiforme	Régulière	Lisse	Plat	Saumon	Visqueux
E007	Petite colonies	punctiforme	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	Visqueux
E008	Grosse colonies	Circulaire	Régulière	Lisse	Bombé	Crémeuse	Visqueux
E009	Envahissante	/	/	Lisse	Plat	Jaune claire	visqueux
E010	Colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	Visqueux
E011	Petite colonies	Punctiforme	Régulière	Humide	Légèrement bombé	Jaunâtre	Non visqueux
E012	Petite colonies	Punctiforme	Régulière	Lisse	Plat	Crémeuse	Visqueux
E013	Petite colonies	Punctiforme	Régulière	Lisse	Plat	Beige	Non visqueux
E014	Petite colonies	Circulaire	Régulière	Humide	Plat	Crémeuse	Non visqueux
E015	Colonies moyenne	Circulaire	Régulière	Lisse	Légèrement bombé	Blanchâtre	Visqueux
E016	Envahissante	/	/	Lisse	Bombé	Orange claire	Visqueux

Annexe 05

Caractère phénotypique pour les rhizosphéres

	PH			T°					Nacl			Kcl			PEG			Antibiotique			Métaux lourd				gram	Teste enzymatique			
	4	7	10	4	25	44	60	80	150	250	500	150	250	500	10	20	30	RIF	PIN	STR	Cu	Zn	Mg	ca		gel	ami	cat	oxy
R001	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
R002	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R003	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R004	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R005	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R006	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R007	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R008	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R009	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R010	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R011	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R012	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R013	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
R014	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R015	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
R016	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R017	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R018	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R019	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R020	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
R021	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R022	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

R023	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R024	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R025	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R026	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R027	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
R028	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R029	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
R030	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
R031	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R032	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
R033	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
R034	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
R035	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R036	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
R037	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
R038	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R039	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R040	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
R041	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
R042	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

Caractère phénotypique pour les endosphéres

	PH			T°					Nacl			Kcl			PEG			Antibiotique			Métaux lourd				gram	Teste enzymatique			
	4	7	10	4	25	44	60	80	150	250	500	150	250	500	10	20	30	RIF	PIN	STR	Cu	Zn	Mg	ca		gel	ami	cat	oxy
E001	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
E002	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
E003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
E004	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
E005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E006	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E007	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
E008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
E009	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
E010	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E011	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E012	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E013	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
E014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
E015	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
E016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

L’effet PGPR des rhizosphére

	Fixatrice d’azote	Solubisateurs de phosphate	Chélateurs de fer
R001	+	-	+
R002	+	+	+
R003	+	+	+
R004	+	-	+
R005	+	+	+
R006	+	+	+
R007	+	+	+
R008	+	+	+
R009	+	+	+
R010	+	+	+
R011	+	+	-
R012	+	+	+
R013	+	+	+
R014	+	+	+
R015	+	-	+
R016	+	+	+
R017	+	+	+
R018	+	+	+
R019	+	-	+
R020	+	+	+
R021	+	-	-

l’effet PGPR des endosphéres

	Fixatrice d’azote	Solubisateurs de phosphate	Chélateurs de fer
E001	+	+	-
E002	+	+	-
E003	+	+	-
E004	+	+	+
E005	+	+	-
E006	+	+	-
E007	+	+	-
E008	+	+	+
E009	+	+	+
E010	+	+	+
E011	+	+	+
E012	+	+	+
E013	+	+	+
E014	+	+	-
E015	+	+	-
E016	+	+	+

R022	+	-	-
R023	+	-	-
R024	+	-	-
R025	+	-	-
R026	+	-	-
R027	+	+	-
R028	+	-	+
R029	+	-	-
R030	+	-	-
R031	+	-	-
R032	+	-	+
R033	+	+	-
R034	+	+	+
R035	+	+	+
R036	+	+	-
R037	+	+	-
R038	+	-	+
R039	+	-	+
R040	+	+	+
R041	+	+	+
R042	+	+	+

Liste des abréviations

Al3+ : L'ion aluminium
C ° : Degrés Celsius .
C : Carbonne
Ca^{2+} : l'ion calcium
CAS : ChromAsurolS
Cd2+ : Cluster de différenciation 2
CH_4 :Méthane
Cm : centimètre
CO : monoxyde de carbone
CO_2 : Dioxyde de carbone
Cu2+ : L'ion cuivre
E : Endosphère
EPS :Exopolysaccharides
Fe3+ : L'ion fer III
H :hydrogène
Ha :hectare
HCl : L'acide chlorhydrique
Hg2+ : Mercury(II) reductase
hsp : heat shock proteins
KCl : chlorure de potassium
KDa : kilodalton
KOH : L'hydroxyde de potassium
MAT : La matière azoté total.
mg : milligramme
ml : millilitre
Mm : millimètre
MO : La matière organique
MS : La matière sèche
MVSP : (MultiVariateStatistical Package-KovachCmputing services-Royaume-Uni).
N : Azote.
N_2O : protoxyde d'azote
Na Cl : Chlorure de sodium
O_2 : oxygène
OH : hydroxyde
P : phosphore
Pb2+ : L'ion plomb
PEG : polyéthylène glycol
PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PGR : Plant GrowthRegulation
pH : potentiel Hydrogène
R : rhizosphère

SAU : La superficie agricole utile
Sn2+ : L'ion Etain
t/ha/an : Tan /hectare / an
T°C : Température en centigrades.
Tm:Température moyenne
Tms :Tonne de matière sèche
TSA : Trypticasesoy agar
UFC : Unité Formant Colonie
UPGMA : Unweighted pair group method with arithmetic mean
UV : rayonnement ultraviolet
µg : Microgramme
µg/mL : microgramme / millilitre
µL. : microlitre
Zn2+ : L'ion de zinc

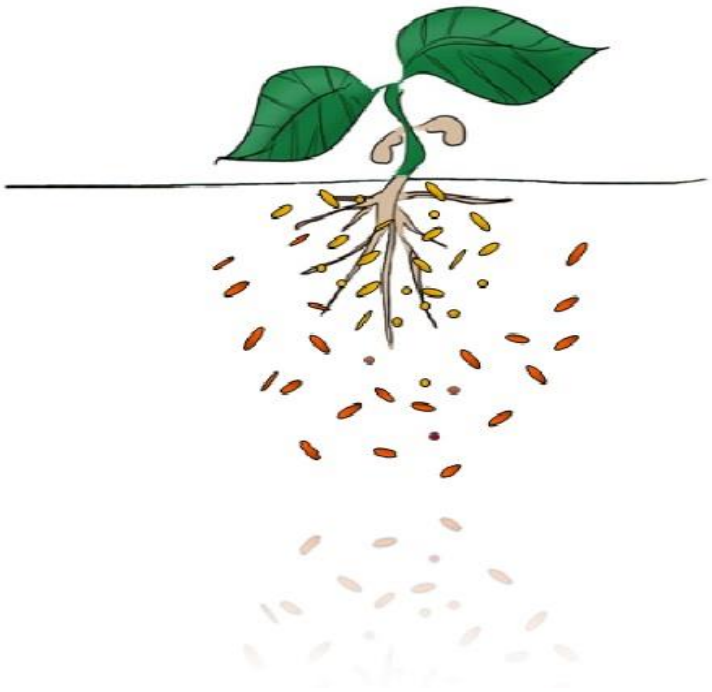
Liste des tableaux

N °	Titre	Page
I	Distribution des microorganismes en fonction du sol.	8
II	Liste de quelques micro-organismes utiles vivants dans le sol	17
III	Rendement en protéines de la luzerne comparé à deux autres espèces fourragères.	18
IV	Composition nutritionnelle de *Medicago sativa.L* (1mg =167µg ER)	24
V	Nombre des reads et des genres dans le sol, la rhizosphère et l'endosphére de la luzerne.	34

Liste des figures

N °	Titre	Page
1	Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le Climagramme d'EMBERGER	5
2	Les constituants d'un sol	7
3	Schéma des trois zones constitutives de la rhizosphère	10
4-A	La luzerne *Medicago sativa.L*	20
4-B	La morphologie de la fleur de *Medicago sativa.L*	21
4-C	Les différents organes de *Medicago sativa.L*	21
5	Situation géographique de l'oasis d'El-Goléa.	27
6	Évolution de la SAU en 1962 à 2012	29
7	Zone d'étude	30
8	Colonies isolée à partir de la rhizosphère (A) et à partir de l'endosphère (B) après incubation de 48h à 25°C sur le milieu TSA1/10 (pH7).	35
9	souche isolée à partir de rhizosphère sur le milieu TSA 1/10 de PH 7.	35
10	Observation macroscopique des colonies rhizosphérique (A) et endosphérique (B).	36
11-A	Figure 11 - A : Observation microscopique des colonies Gram + et Gram - (G*100). B : Diversité de Gram et forme des isolats de rhizosphère	37
11-B	la diversité de Gram et forme des isolats de rhizosphére	38
11-C	la diversité de Gram et forme des isolats de l'endosphére	38
12	Capacité de fixation d'azote par les bactéries isolées	39
13-A	Capacité de solubisation de phosphate par les bactéries isolées.	41
13-B	La variation de diamètre de l'halo sur le milieu NBRIP	41
14	La production de sidérophores chez les isolats testés.	42
15	Tolérance des isolats rhizosphériques (A) et endosphériques (B) à différentes températures.	44
16	Tolérance des isolats rhizosphériques (A) et endosphériques (B) à différentes valeurs de pH.	45
17	Tolérance des isolats rhizosphérique et endosphérique à différentes concentrations de Na Cl et K Cl.	46
18	Croissance des isolats rhizosphérique et endosphérique sur TSA1/10 additionné de PEG 6000.	47
19	la résistance des isolats rhizosphérique et endosphérique aux antibiotiques	48
20	la résistance des isolats rhizosphérique et endosphérique aux métaux lourd	49
21	Test des enzymes respiratoires des isolats rhizosphérique (A) endosphérique (B) étudiés.	50
22	phénogramme représentant les caractéristiques phénotypique des souches rhizosphérique.	52
23	phénogramme représentant les caractéristiques phénotypique des souches endosphérique .	52

Introduction



Introduction

Depuis l'indépendance, l'Algérie a mis en œuvre plusieurs programmes de développement du secteur agricole, qui n'ont pas atteint les résultats escomptés et ont favorisé l'émergence d'une dépendance alimentaire considérable vis-à-vis des marchés extérieurs.

Sous une pression sociale d'une demande alimentaire forte et pour enrayer le déficit structurel algérien en céréale, les pouvoirs ont été orientés vers le Sahara, une région désertique immense qui couvre une superficie de plus de deux millions de Km^2, caractérisée par un climat aride, une température élevée, des précipitations peu abondantes et irrégulières, une forte évaporation et une faible humidité de l'air. Cependant elle dispose d'une richesse en ressources hydriques importants constitués en majorité de réserves d'eau souterraine non renouvelable, ce qui rend l'activité agricole assez complexe et conditionnée impérativement par la disponibilité en eau et la possibilité d'utilisation dans le temps.

L'agriculture en zones sahariennes constitue une source de revenus, un facteur de stabilité et un moyen de fixation des populations locales mais souffre de problèmes de gestion rationnelle et durable sans modification physique, chimique et biologique de l'environnement.

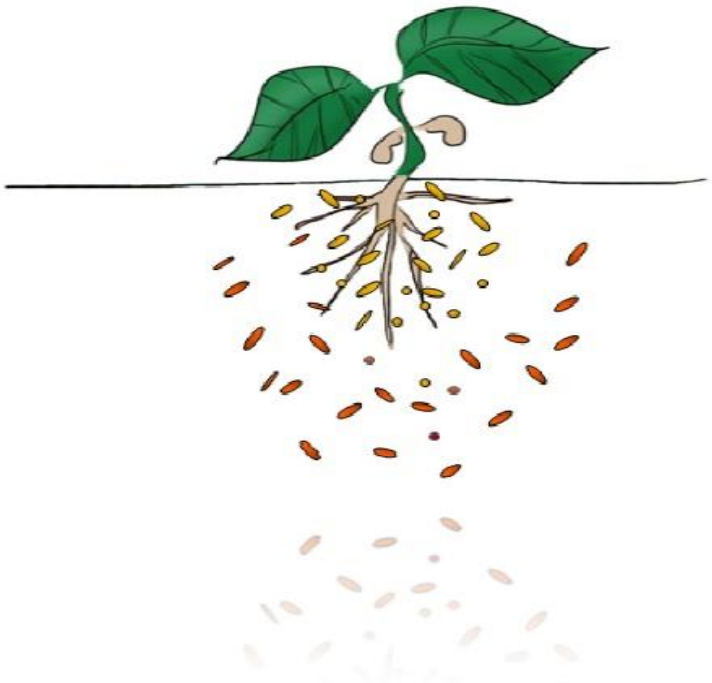
Le développement d'une agriculture saharienne ne se limite pas à étendre les superficies à irriguer ou à augmenter le débit soustrait à partir des forages, mais surtout d'améliorer la productivité agricole et son appareil de production, les techniques d'aménagement et d'exploitation hydro-agricole, qui sont aujourd'hui une nécessité d'assurer un développement harmonieux et durable, et ce pour une agriculture moderne et performante.

L'un des moyens les plus prometteurs pour améliorer la productivité et réduire les coûts des produits agricoles, consisterait dans l'utilisation des microorganismes vivants comme inoculum. De meilleures connaissances des mécanismes d'interaction plantes-microorganismes permettent de favoriser des populations déjà présentes dans la rhizosphère et qui sont bénéfiques pour les plantes, et de développer des pratiques autres que l'utilisation d'inoculants chimiques.

Dans le cadre d'une étude qui porte sur l'évaluation de la qualité microbiologique de la luzerne cultivée dans une zone saharienne (El GoléaGhardaia), nous avons jugé intéressant d'effectuer un travail sur l'isolement des bactéries issus de deux compartiments (Rhizosphère-Endosphère)

et de les caractériser sur le plan biochimiques, physiologiques et fonctionnelle afin de sélectionner une communauté microbienne possédant un pouvoir PGPR, une résistance aux conditions de stress biotic et abiotic et de les utilisé comme inoculum.

Rappel Bibliographique



Chapitre I : Les zones arides

1. propriétés

La zone aride est caractérisée à la fois par son climat toujours peu pluvieux, et parfois très sec, et très irrégulier, et par sa végétation herbacée, rarement arborée. Elle est subdivisée en zone désertique (hyper aride) dont la pluviométrie est inférieure à 100 mm , zone aride proprement dite dont la pluviométrie est comprise entre 100 et 300- 400 mm et zone subaride (semi aride) dont la pluviométrie est comprise entre 300- 400 mm et 600 mm., en fonction des conditions climatiques, et, partant, des caractères de la végétation, à chacune d'elles correspondent des sols typiques **(Aubert, 1960)**. L'aridité ne doit pas être confondue avec la sécheresse, concept météorologique à référence temporelle phénomène conjoncturel (période, année sèche). L'aridité a de fortes implications hydrologiques et édaphiques dont elle est indissociable **(Aggoussine, 2003).**

-Hydrologiques : faiblesse et irrégularité extrême des écoulements.

-Géomorphologique : processus d'érosion et d'accumulation spécifique, pauvreté des sols.

-Edaphiques : extrême dénuement de la végétation, raréfaction et adaptation des êtres vivants.

2. Les microorganismes des sols des zones arides

Les sols des zones arides et semi-arides étaient supposés pendant longtemps, comme milieux stériles, mais les travaux d'exploration ont montrés qu'il existe des espèces microbiennes comme les bactéries, actinomycètes, champignons et algues, qui s'adaptent aux conditions climatiques extrêmes **(Sasson, 1967).** Qui entrent dans la composition des micros biocénoses des sols arides **(Sasson, 1967)** ; ils jouent aussi un rôle fondamentale dans les processus importants comme ; la régulation des cycles biogéochimiques (azote, carbone, soufre) **(Sasson, 1967).**

Selon **Rivkind (1929)** dans les sols sahariens, la microflore totale variait entre 120 et 220 millions de germes par gramme de terre dans les sols cultivés, alors qu'elle n'était que de 28 millions germes par gramme de terre dans les sols incultes.

3. L'agriculture saharienne

En général le sol saharien ne constitue qu'un simple support à toute activité agricole. Un agriculteur au Sahara est appelé à utiliser beaucoup plus d'engrais qu'un agriculteur dans les régions du Nord du pays. Les sols les plus favorables à l'agriculture se situent dans les vallées

(dayas) et les plaines sableuses. Généralement ces sols présentent une faible fertilité et une salinité en raison de l'absence ou du mauvais fonctionnement du réseau de drainage. L'étude du PDGDRS (1999) a montré que les superficies des terres valorisables dans toutes les régions sahariennes se situent autour d'environ 1 400 000 hectares.

Mais la valorisation des terres passe d'abord par la disponibilité de l'eau ou par la conjugaison de ressources en terres et de ressources en eau.

La salinisation a été identifiée comme un processus majeur de la dégradation des terres.
Dans les zones arides et semi-arides du monde, des ressources hydrauliques importantes sont disponibles mais elles sont de qualité médiocre (saumâtre). La salinisation des sols dans ces régions est non seulement liée aux conditions climatiques (fort ensoleillement et faible pluviométrie) mais également au recours souvent mal contrôlé à l'irrigation, ce qui entraîne une accumulation des sels dissous en surface **(Ben Naceur *et al.*, 2001)**. D'après **(Mermoud, 2006)** La salinisation est défini comme un processus d'accumulation de sels à la surface du sol et dans la zone racinaire qui occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol, il s'en suit une diminution des rendements, et à terme, une stérilisation du sol.

4. les zones arides d'Algérie

L'Algérie est classée comme étant une zone semi- aride à aride du fait de l'importance de l'évapotranspiration par rapport aux précipitations et caractérisé par une température maximum qui peut atteint jusqu'à 43ºc à l'ombre et la moyenne de la température journalière atteint 22ºc. Selon **Halitim (1988),** la zone aride couvre près de 95% du territoire national, dont 89,5% dont le domaine hyper aride (saharien) **(Nedjraoui, 2003).**
La classification bioclimatique d'Emberger et sauvage a été largement adoptée en région méditerranéennes .cinq étages du bioclimat méditerranéen ont été définis pour l'Algérie : saharien, aride, semi-aride, sub-humide et humide **(figure 01)**.

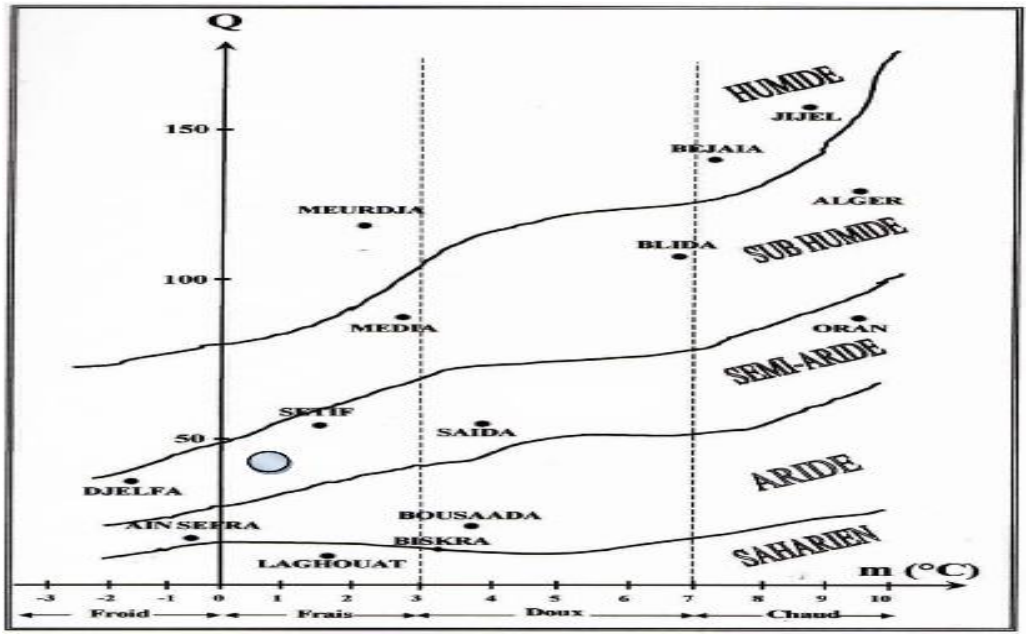


Figure 01 : Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le Climagramme d'EMBERGER.

On distingue selon Nedjraoui (2003) : - Le semi- aride : 300- 600 mm. - L'aride : 300- 00 mm. - Le Saharien < 100 mm qui occupe 89,5% la superficie totale de l'Algérie.

Chapitre II : Le sol

1. Définition et propriété

Les sols constituent l'élément essentiel des biotopes continentaux. Leur ensemble, dénommé pédosphère, résulte de l'interaction de deux compartiments biosphériques, l'atmosphère et les deux couches superficielles de la lithosphère que sont de composition et de densité différentes, une croûte légère en surface sur une épaisseur allant de 7 km à plus de 40 km. Et le manteau lithosphérique, plus dense, en profondeur sur une épaisseur pouvant dépasser 100 km. C'est l'altération des roches mères, due à des forces chimiques et biologiques, qui donne naissance au régolite (manteau superficiel de débris), lui-même transformé en ce que l'on appelle sol. Les cinq principaux facteurs impliqués dans la formation du sol sont la roche mère, le climat, la topographie, l'activité biologique et le temps (**Atlas R. M. & Bartha R., 1992.)**

Le sol est un milieu polyphasique composé d'une phase solide (minérale et organique), d'une phase liquide, d'une phase gazeuse et, colonisé par des organismes vivants. Il est traversé par des flux d'énergie et de matière dont la régulation est en grande partie assurée par les communautés vivantes qui le colonisent. C'est un milieu organisé et cette organisation, qui

influe directement sur l'ensemble des propriétés du sol, et sur lequel dépend des interactions bio-organominérales **(figure 02).**

Le sol a de nombreuses fonctions, il est un milieu biologique dans et sur lequel se développent des organismes vivants. Ce développement dépend de la qualité de ce sol ou fertilité (quantité de carbone, d'azote, capacité d'échange ionique, etc.). Il est aussi un acteur déterminant du cycle de l'eau (stockage et régulation) et de la qualité de cette eau (source de pollution, capacité de rétention des polluants mais aussi biodégradation de ceux-ci). Mais le sol joue aussi un rôle prédominant dans tous les cycles biogéochimiques **(Quénéa K., 2004).**

- **La phase solide du sol**

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer les organismes vivants du sol comme une partie de la phase solide, puisqu'ils ne sont ni gazeux ni liquides (**Calvet., 2000**).

La fraction minérale est la fraction la plus importante du sol, elle peut représenter entre 93 à 95% du poids total du sol. Elle est composée de différentes particules minérales élémentaires. La proportion relative de ces particules définie la texture du sol ou composition granulométrie. Ces particules élémentaires ne sont généralement pas indépendantes, mais agrégés en unités structurales sous l'effet des liants organiques ou minérales **(Callot *et al* ,1982).**

- **La phase liquide du sol**

La phase liquide du sol n'est pas de l'eau pure mais une solution dont la composition est complexe et très variable. On la désigne par l'expression « solution du sol ». L'eau peut être présente dans les sols sous forme de vapeur et dans sa forme habituelle à l'état liquide **(Lavelle et Spain, 2002).**

L'eau qui circule dans les pores du sol véhicule une grande diversité de matériels dissous ou en suspension : organiques, inorganiques, organo-minéral. Les échanges ioniques entre l'eau et le substrat solide, en particulier les argiles constituent une des fonctions du sol les plus importantes pour la nutrition végétale **(Frontier et Pichod-Viale, 1995).**

Comme les composants majeurs des constituants du sol, l'eau est considérée comme une ressource. Sa disponibilité dans le temps et dans l'espace, les compétitions qui surviennent entre les organismes et l'énergie déployés par les plantes et les autres organismes pour l'absorber dans les pores du sol, sont des caractéristiques importantes, contrôlant l'activité dans le sol **(Lavelle et Spain, 2002).**

L'eau conditionne l'activité biologique et la plupart des processus physico-chimiques qui se produisent dans le sol **(Stotzky, 1997; Lavelle et Spain, 2001).** C'est aussi le facteur physicochimique le plus important qui affecte les organismes dans le sol. La présence d'une couche d'eau est nécessaire à la survie des bactéries. C'est le cas également de certains invertébrés comme les nématodes et les protozoaires, qui sont considérés comme des organismes aquatiques puisqu'ils vivent dans les films d'eau qui entourent les particules du sol.

- **La phase gazeuse du sol**

Un mélange de gaz et de vapeur d'eau forme l'atmosphère à l'intérieur des pores du sol. Les plus importants de ces gaz sont le l'O_2 provenant de l'atmosphère et le CO_2 provenant des respirations et fermentations des organismes du sol et des organes non chlorophylliens des plantes supérieures **(Frontier et Pichod-Viale, 1995**). Les taux de CO_2 *(0,3-3,0%)* y sont aussi plus élevés que ceux de la surface du sol. L'O_2 doit diffuser rapidement dans le sol pour répondre aux besoins respiratoires des racines et des microorganismes, le CO_2 aussi doit être capable de diffuser à l'extérieur **(Lavelle et Spain, 2001).** A part, le *CO2* et *l'*O_2, une variété d'autres gaz *(*N_2O, CH_4,H_2, CO...) sont présents dans l'atmosphère du sol. Ils peuvent servir de substrats ou d'inhibiteurs à l'activité des microorganismes. La composition de l'atmosphère du sol est cruciale pour la croissance des plantes et l'activité des organismes.



Figure 02 : les constituants d'un sol **(Lemiére et al .,2000) .**

2. Les fonctions du sol

Le sol a de nombreuses fonctions, il est un milieu biologique dans et sur lequel se développent des organismes vivants.

Il constitue une interface d'échange entre l'atmosphère, l'hydrosphère et la lithosphère. Il est notamment un lieu de transfert et de stockage de l'eau. Sa fonction épuratoire est importante : il constitue un filtre physique (rétention de particules) et chimique (adsorption des polluants par exemple) pour les eaux de pluie s'y infiltrant en direction des nappes d'eaux souterraines.

Le sol remplit aussi un rôle important dans les cycles géochimiques (notamment du carbone et de l'azote). Il est un lieu de recyclage des matières organiques (MO). **(Quénéa K., 2004).**

La minéralisation des MO mortes est réalisée dans les sols par une multitude d'organismes vivants. Ceux-ci fragmentent les MO déposées et les mélangent aux éléments minéraux du sol. Ainsi, le sol constitue une réserve de biodiversité importante. Une partie de la MO, la plus réfractaire en général, échappe à une minéralisation totale et, associée à de la matière minérale, elle constitue l'humus. Le sol est donc un lieu de stockage de MO.

La minéralisation des réserves organiques constitue une source de nutriments pour les plantes pour lesquelles le sol est le support de vie.

Tableau I : Distribution des microorganismes en fonction du sol (**Alexander, M., 1994).**

	Organisme /g de sol * 10^3				
Profondeur (cm)	**Bactéries aérobies**	**Bactérie anaérobies**	**Actinomycétes**	**Champignons**	**Algues**
3-8	7800	1950	2080	119	25
20-25	1800	379	245	50	5
35-40	472	98	49	14	0.5
65-75	10	1	5	6	0.1
135-145	1	0.4	-	3	-

3. Activité biologique du sol

Le sol est un habitat généralement favorable à la prolifération des microorganismes procaryotes et eucaryote, leur nombre est supérieur à celui trouvé dans les eaux douces ou marines : la population microbienne s'élève à des valeurs comprises entre 10^6 et 10^9 bactéries par gramme de sol (**Artiola-Fortuny et Fuller ; 1982**). Leur abondance et leur nature dépendent du type de sol, de la végétation, du climat et des diverses actions anthropiques et de leurs variations

(**Calvet ; 2000**). La profondeur est une variable écologique qui affecte significativement la survie des microorganismes. Dans les zones tempérées, si une grande partie d'entre eux se concentre dans le premier mètre de la couche superficielle, ce sont en fait les premiers centimètres qui en contiennent le plus grand nombre (**Crosinier ; 1999**).

Les bactéries et les champignons constituent les microorganismes les plus représentés dans les sols où ils sont les principaux responsables de la minéralisation des matières organiques (**Quénéa ; 2004**). Ils participent aussi à un processus appelé humification qui conduit à la formation de l'humus (**Paul et Clark ; 1996**) qui est un composé complexe et majeur du cycle de la matière organique tellurique et de la fertilité du sol.

Chapitre III : La rhizosphère

1. Définition et structure

Le terme rhizosphère a été décrit pour la première fois en 1904 par un chercheur allemand Lorenz Hiltner, c'est un mot composé d'origine grec : " rhizo " ou" rhiza" signifiant" racine" et "sphère" qui veut dire « globe » ou « La zone du sol dans laquelle la microflore est influencée par les racines des plantes », donc rhizosphère peut être définit comme étant la fraction du sol qui entoure et englobe le système racinaire des plantes **(Prescott, 2007).**

La rhizosphère est définie aussi comme un environnement crée par les interactions entre les exsudats racinaires et les microorganismes, elle est le lieu des échanges entre sol, racines, microorganismes et faune associés. Ces échanges, intenses, se traduisent par des flux bidirectionnels d'eau et de nutriments **(Lynch, 1990)**. Elle constitue ainsi un habitat favorable pour la prolifération des microorganismes et exerce un impact potentiel sur la santé des plantes et la fertilité des sols **(Hinsinger et al., 2006).**

La rhizosphère **(Figure 03)** est la zone du sol qui est adjacente aux racines, elle s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire. La surface des racines est définie comme le rhizoplan, l'endorhizosphère est définie comme le cortex des racines du fait qu'il est colonisé par les bactéries **(Nehl et Knox, 2006).**

La rhizosphère peut être aussi divisée en plusieurs zones distinctes. Ça inclus l'endorhizosphère (tissus racinaires), l'endoderme et les couches corticales, et inclue aussi la surface racinaire avec l'épiderme et les mucilages polysaccharidiques, et l'ectorhizosphère **(Morgan et al., 2005)** qui est correspond au volume de sol colonisé ou potentiellement colonisable par les microorganismes (bactéries ou champignons) et influencé par ceux-ci.

Sa définition peut s'étendre à la mycorhizosphère correspondant au volume de sol qui environne une racine colonisée par un champignon mycorhizien (le champignon mycorhizien permet d'augmenter le volume de l'ectorhizosphère). **(Balandreau et Knowles, 1978)**.

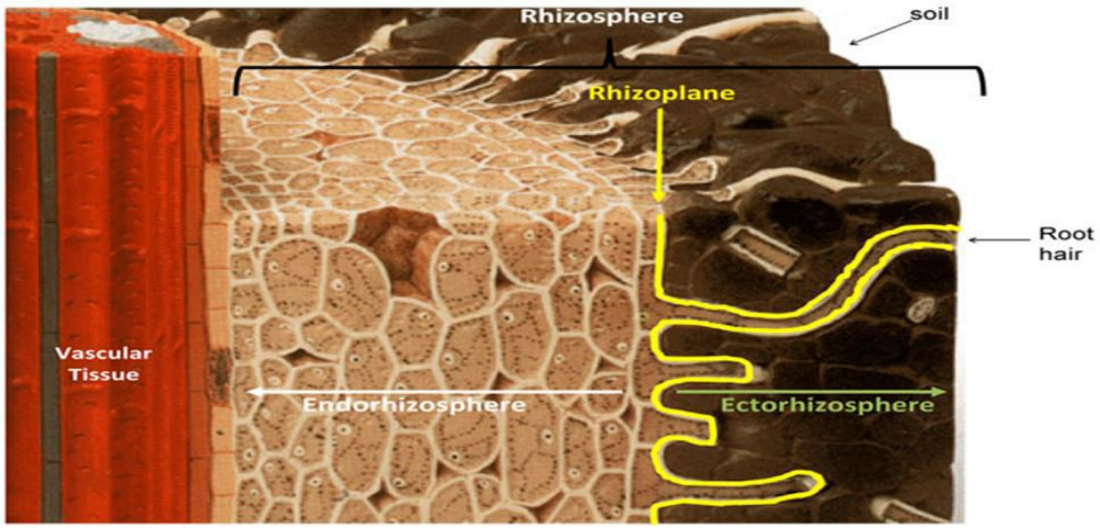


Figure 03 : Schéma des trois zones constitutives de la rhizosphère

2. Les interactions des communautés bactériennes dans la rhizosphère

2.1 Définition d'une communauté bactérienne

En Ecologie, une communauté est généralement définie comme un ensemble de populations, i.e. d'individus de différentes espèces qui coexistent en même temps et au même endroit **(Begon *et al.* 1996)**. Mais cette définition est trop générale pour être appliquée directement aux communautés bactériennes. L'écologie microbienne a attribué le terme communauté pour désigner des assemblages d'espèces bactériennes qui sont en interaction dans un même écosystème, milieu, habitat et/ou qui partagent une même fonction **(Paul et clarck1996).**

Une communauté bactérienne correspond donc à l'ensemble des populations bactériennes dans un habitat donné. Chaque espèce de la communauté prend part un système d'interactions complexes existant dans la rhizosphère entre le sol, les plantes et le biote du sol **(Jossi, 2008).**

2.2 Nature des interactions bactérienne

L'individu se multiplie normalement pour former un groupe ou clone, ou bien des individus identiques, on parle dans ce cas de population **(Atlas et Bartha, 1993).** Typiquement, beaucoup de populations de caractères différents coexistent dans les environnements naturels. Les populations microbiennes qui vivent dans un même habitat interagissent entre eux pour former une communauté microbienne, structurée, et où chaque population contribue à son maintien. Des interactions apparaissent entre individus à l'intérieur d'une population microbienne, entre diverses populations à l'intérieur de la communauté **(Atlas et Bartha, 1993).**

Les microorganismes en particuliers les bactéries sont fréquemment impliquées dans une multitude d'interactions non génétiques avec d'autres microorganismes, notamment au niveau de la rhizosphère. Ces interactions sont souvent nutritionnelles. Un microorganisme dépend d'un autre microorganisme pour la dégradation de produits ou de substrats spécifiques, ou différents microorganismes sont en compétition pour le même substrat **(Trévors, et Van Elsas, 1997)**. Dans d'autres cas, un microorganisme peut exercer un effet nuisible sur les autres microorganismes, par exemple par la production d'antibiotiques ou de composés toxiques.

Les interactions entre populations microbiennes peuvent être reconnues comme des interactions négatives (compétition, amensalisme), positives (commensalisme, synergique et mutualisme), ou positives pour l'un et négatives pour l'autre population (parasitisme ou prédation). De nombreux exemples montrent l'existence de tous ces types d'interactions entre population microbienne dans les sols.

Ces interactions sont catalysées par les exsudats racinaires qui favorisent certains groupes de microorganismes au dépend d'autres au sein de la communauté microbienne **(Curl et ruelove, 1986)**. Les interactions sont les suivantes :

- Commensalisme

Le commensalisme existe au niveau de la rhizosphère notamment par des changements dans les conditions environnementales (humidité, pH, le potentiel osmotique, etc…) par un micro-organisme rendant ainsi un climat favorable pour le développement d'un autre. Aussi, certains organismes dégradent ou neutralisent des substances toxiques favorisant ainsi la croissance des autres **(Curl et Truelove, 1986).**

- Mutualisme

Le mutualisme ou symbiose est une association mutuellement avantageuse aux microorganismes partenaires, exemple : de *Proteris vulgaris* qui a besoin de biotine, mais qui synthétise l'acide nicotinique requis par *Bacillus polymyxa* qui le transforme en biotine **(Dommergues et Mangenot, 1970).**

- Antagonisme

En écologie, le terme d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte (**Curl et Truelove, 1986)**. L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose.

- Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance. L'effet sélectif des exsudats racinaires sur la microflore serait le résultat de la compétition qui oppose des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide, ces dernières sont particulièrement favorisées dans la rhizosphère. La fréquence élevée des *Fusarium*dans la rhizosphère serait due au pouvoir compétitif de ce champignon **(Dommergues et Mangenot, 1970).**

- Hyperparasitisme

L'hyperparasitisme est l'attaque directe d'un microorganisme par un autre dans un but nutritionnel. La rhizosphère qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme **(Gagné, 1984).**

3. Composition des communautés bactériennes rhizosphérique

Selon l'effet que les bactéries dans la rhizosphère peuvent exercer, ils peuvent être subdivisés en deux groupes, ceux à effets bénéfiques et ceux à effet pathogène.

- Bactéries à effets bénéfiques

Les bactéries colonisant les racines qui exercent des effets bénéfiques sur le développement des plantes par des mécanismes directs ou indirects sont définies comme des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR/PGPB) **(Anyia et *al*., 2009).**

Les PGPB sont des bactéries du sol, de la rhizosphère, de la rhizoplane, de la phyllosphère ou endophytes qui, sous certaines conditions, sont bénéfiques pour les plantes (**Bashan et de-Bashan, 2005)**.

Elles sont communément utilisées pour augmenter le rendement de diverses cultures **(Bashan et al. 2008).** Elles appartiennent à plusieurs genres incluant *Azospirillum, Azotobacter,*

Herbaspirillum, Bacillus, Burkholderia, Pseudomonas, Rhizobium et *Gluconacetobacter, ...* **(Pedraza, 2008).**

Les PGPB sont divisées en deux groupes et pouvant stimuler la croissance des plantes de façon directe et indirecte. Le premier groupe influence directement le métabolisme de la plante en fournissant les substances qui sont habituellement en quantité limitée dans le sol. On y regroupe les bactéries capables de solubiliser les phosphates insolubles, d'augmenter la production des phytohormones et de fixer l'azote atmosphérique **(Amarger, 2002 ;Bashan et al. 2008).** Elles peuvent aussi augmenter la tolérance des plantes à divers stress tels les pesticides et le stress hydrique y compris la sécheresse **(Cohen et al. 2009)**.

Le deuxième groupe bactérien, nommé biocontrôle-PGPB, ne stimule pas directement le métabolisme de la plante. Par contre, il influence indirectement la croissance de celle-ci par la prévention des effets causés par des phytopathogènes tels des bactéries, des mycètes, des nématodes et des virus **(Bashan et al. 2008).**

- Bactéries à effets pathogènes

Des interactions complexes existent entre les plantes et les bactéries qui leur sont associées.

En effet, on distingue des bactéries phytopathogènes et des bactéries déletères.

Les bactéries phytopathogènes peuvent exercer une action pathogène qui conduit à une réduction plus ou moins marqué du développement des plantes **(Benizir*i et al.*, 2001)**. Alors qu les bactéries délétères sont des pathogènes mineurs rhizosphériques, non-invasifs (n'entrant pas dans les tissus vasculaires) agissant par des mécanismes variés comme la production de phytotoxines, d'enzymes pectinolytiques, la compétition pour les nutriments avec la plante ou avec d'autres bactéries bénéfiques à la plante **(Antoun*et al.*,1998).**

4. Les facteurs influençant la structure des communautés bactériennes rhizosphérique

La structure d'une communauté bactérienne est soumise à des fluctuations temporelles et spatiales qui correspondent à des phases de colonisation de nouveaux milieux ou de remplacement d'une communauté par une autre plus adaptée **(Hassink , 1993).** Beaucoup de paramètres interviennent pour modeler cette structure tant en termes de diversité que d'effectifs **(Hassink, 1993 ,Bornemanet *al.*, 1996 , Borneman et Triplett, 1997).**

Un certain nombre d'études ont toutefois permis d'identifier les facteurs présentant une influence marquée sur la structure des communautés bactériennes. **(Hassink , 1993).**

4.1 Facteurs liés au sol

La structure des communautés bactériennes est variable et dépendante de nombreux facteurs. En effet, la structure des communautés bactériennes ainsi que sa composition peuvent varier considérablement suivant l'espace **(Faugier, 2010).** Plusieurs études **(Killian et Fehèr, 1939)** ont montré que la structure des communautés bactériennes dans le sol et leur distribution est liée aux caractéristiques physico chimique des sols. Le pH peut influencer fortement la composition bactérienne, il est l'un des forts prédicateurs de la composition de cette communauté et de leurs diversités, en effet une variation du pH du sol peut affecter sa composition.

La composition hydrique des sols est un facteur limitant des activités bactériennes, surtout dans les sols désertiques que dans d'autres environnements **(Killian et Fehèr, 1939)**. Selon **(Skujins 1986)**, la teneur en eau dans les sols désertiques n'a pas assez d'importance mais la grande importance est attachée au potentiel hydrique des sols. Ce dernier décrit essentiellement la force par laquelle l'eau est retenue dans le sol et l'énergie que les microorganismes devraient dépenser pour assimiler l'eau. En conséquence, la croissance microbienne des sols de désert peut se produire la plupart du temps à de plus basses températures coïncidant avec la disponibilité prolongée de l'eau **(Skujins, 1986).**

Les conditions climatiques et les variations saisonnières provoquent des fluctuations considérables dans la densité et l'activité des communautés microbiennes. **(Killian et Fehèr 1939)** ont démontré que le nombre des bactéries a augmenté de 1,6 $x10^4$ jusqu' au 1.5 x 10^6 UFC par gramme de sol durant la période pluvieuse dans les sols désertique du grande Sahara Algérien. De même, dans un sol oasien ou la teneur en eau dans le sol est élevée.

4.2 Facteurs liés à la plante

Dans un écosystème, la disponibilité des ressources nutritives est un facteur limitant. Il existe une forte relation entre le taux de carbone organique dissous et la composition des communautés bactériennes **(Iribar, 2007)**. En effet au niveau de la rhizosphère, la quantité et la qualité des exsudats racinaire fournit par les plantes peuvent influencer fortement sa composition bactérienne, on parle de l'effet rhizosphère. L'effet rhizosphère, décrit par Hiltner en 1904, suppose que de nombreux micro-organismes sont attirés par les nutriments (composés organiques) secrétés par les racines des plantes, et que sont utilisés par les micro-organismes comme source de carbone et d'énergie **(Bais et AL., 2006 ; Jossi, 2008).** Les changements induits par les racines dans le sol environnant conduisent à l'adaptation des communautés

bactériennes du sol et à la sélection des communautés spécifiques principalement constituées par les populations les plus compétentes **(Gobat et al., 2004).**

Des observations scientifiques ont montré que beaucoup de plantes sélectionnent des groupes de microorganismes spécifiques via l'exsudation de composés dans la rhizosphère, qui représente une association positive où les plantes fournissent le carbone pour la croissance microbienne et les microorganismes en retour fournissent des éléments majeurs tels que l'azote et le phosphore, ainsi qu'une protection contre les attaques des pathogènes et parasites **(Zoe et Cardon, 2007).**

L'apport trophique racinaire influence la densité des populations bactériennes présentes dans la rhizosphère (environ 10^6 microorganismes par gramme de sol). En effet, **(Lynch et Whipps1990),** ont indiqué que les populations bactériennes présentes sur les racines et dans la rhizosphère sont plus abondantes (5 à 50 fois plus) que dans le reste du sol. La composition de ces populations rhizosphériques, pour un même sol, varie d'une plante à une autre, voire d'un cultivar à l'autre. Cet effet rhizosphère correspond à un recrutement de communautés microbiennes telluriques par la plante **(Smalla*et al.*,2000).**

4.3 Facteurs liés à la composition microbienne

Les bactéries partagent la rhizosphère avec d'autres organismes et des microorganismes. Beaucoup de recherches ont montré l'existence de phénomène de la compétition entre les microorganismes du sol vis-à-vis les sources de nutriments et de l'habitat **(Varma et al., 2006).** Les champignons mycorhiziens arbusculaires communément appelés mycorhizes et ensemble, ils représentent les deux principaux groupes de microorganismes bénéfiques qui colonisent la rhizosphère **(Russo et al. 2005).** Ces champignons peuvent sécréter des substances qui ont un effet sélectif sur la communauté microbienne **(Marschner et Timonen, 2005).**

Ainsi, leur colonisation peut influencer, le taux de croissance et l'organisation bactérienne en modifiant, entre autres, le nombre de bactéries aérobiques dans la rhizosphère **(Barea et al. *2002b).*** L'inverse est également vrai. À titre d'exemple, la relation symbiotique entre *Azospirillum.sp* et les champignons mycorhizes permet une amélioration de l'établissement de la bactérie dans la rhizosphère tout en favorisant la formation des mycorhizes **(Barea et al. *2002b)***.

4.4 L'influence de la composition de la communauté microbienne rhizosphérique sur l'environnement

Les modifications dans la structure des communautés bactériennes associées à la rhizosphère au niveau génotypique ainsi qu'au niveau phénotypique, affectent les productions bactériennes et les interactions plantes-bactéries et peuvent générer un effet de rétroaction bénéfique ou délétère sur la plante **(Jossi, 2008).**

En raison de leurs activité enzymatiques et de leur grande capacité de concentration en élément, les micro-organismes peuvent être plus efficaces que les plantes en l'absorption des nutriments **(Gobat et al., 2004).** Cela pourrait conduire une concurrence plantes-bactéries ou à l'amélioration de la nutrition des plantes **(Richardson et Simpson, 2011).**

La plupart des plantes comptent sur les champignons mycorhizes pour l'acquisition de nutriments minéraux, en particulier pour l'absorption du phosphore, créant ainsi un flux préférentiel de nutriments travers les mycorhizes et en modifiant les capacités fonctionnelles de la microflore du sol **(Frey-Klett et al.,2005 ; Ouahmane et al.,2007).**

Les activités microbiennes affectent la croissance des plantes et la résistance à de nombreux égards **(Lugtenberg et al.,2002)**, soit directement par la production d'hormones végétales telles que l'auxine **(Patten et Glick, 2002)**, ou indirectement par la protection contre les agents pathogène, la production d'antibiotiques, ou la production d'acide cyanhydrique **(Blumer et Haas, 2000 ;Jossi, 2008).**

5. Effet de la plante sur les bactéries rhisosphérique

La plante y mobilise l'eau et les éléments minéraux nécessaires à son développement et à sa croissance. Dans la rhizosphère jusqu'à 30 % des composés photosynthétisés par la plante sont remis à la disposition des micro-organismes qui y vivent par le biais d'un phénomène appelé exsudation racinaire. Ces exsudats racinaires incluent une grande quantité d'acides organiques et de sucres ainsi que des composés organiques complexes. Ils sont transformés en biomasse microbienne ou réoxydés en CO2. La richesse de la rhizosphère en sucres, en amino-acides, en acides organiques, en isoflavonoides, en régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plante, rend ce microenvironnement un site d'une remarquable activité biologique et d'une richesse naturelle en vers de terre, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries **(Paul et Clark, 1996).**

Dans la rhizosphère, des interactions intenses et importantes prennent place entre trois composantes : la plante, le sol et les microorganismes. En effet, des interactions biochimiques et des échanges de signaux moléculaires entre les plantes et les microorganismes du sol ont été

décrits. Ces interactions peuvent influencer significativement la croissance des plantes et le rendement de la récolte **(De Salamone et al., 2005).**

Les racines des plantes offrent une niche pour la prolifération des bactéries du sol qui profitent des exsudats racinaires **(Wipps, 2001 ; Walter et Vega, 2007).** La densité de la population bactérienne dans la rhizosphère peut atteindre un nombre 100 fois plus élevé que le sol non rhizosphérique, et plus de 15% de la surface racinaire peut être recouverte par les micro-colonies de divers groupes bactériens. De plus, ces bactéries utilisent les nutriments sécrétés par la plante –hôte pour leur croissance **(Van Loon, 2007 ; Nannipieri et al., 2008).**

Tableau II : Liste de quelques micro-organismes utiles vivants dans le sol

Les microorganismes	Le rôle
Actinomycètes	Groupe de bactéries appartenant à la flore du sol, qui jouent un rôle important dans la décomposition des matières organiques **(Maier *et al*., 2000).**
Azobacter	Bactérie aérobie stricte et libre dans le sol qui fixe l'azote atmosphérique chez la plupart des végétaux est bénéfique pour la croissance végétale, elle joue un rôle important dans la division cellulaire, l'élongation racinaire, la prolifération des poils absorbants **(Ahmad *et al*, 2005)**
Pseudomonas spp	Bactérie aérobie stricte et libre dans le sol. C'est une bactérie rhizosphérique phytoprotectrice des racines (PGPR). Elle crée un bio film adhésif et protecteur (mucilage microbien). Elle a également la capacité de solubiliser le fer. Et protection des plantes contre les maladies telluriques **(Schroth et Hancock, 1982;)**
Protozoaire	La plupart sont hétérotrophes, certains sont phototrophes ; ils se nourrissent de bactéries, de levures, de champignons et d'algues, ils peuvent être impliqués dans la décomposition de la matière organique **(Maier *et al*., 2000 ; Wild, 1993).**

Les champignons	Ubiquitaire dans les sols, les champignons sont les organismes chimio hétérotrophe. De part leurs formes filamenteuse et leurs productions fréquente d'exo polymère il possède un rôle important dans le maintien de la structure et de l'organisation de sols **(Gadd ,2007)**

Chapitre IV : La luzerne (*Medicago sativa*)

La luzerne est la plante fourragère la plus répandue dans le monde. Elle jouit un d'intérêt lié notamment à sa richesse en protéines. Elle offre ainsi le rendement en protéines le plus élevé des plantes fourragères **(tableau III)**. Comme toutes les légumineuses, elle possède cette formidable capacité à fixer l'azote de l'air.

Tableau III : Rendement en protéines de la luzerne comparé à deux autres espèces fourragères.

Espèce	t MS/ ha %	MAT Kg	MAT/ha
Luzerne	13	20	2600
Maïs grain	07	10	700
Soja	02	40	800

Source *:* **Mauriès (1994)**

La luzerne représente actuellement dans le monde près de 32 millions d'hectares, la luzerne est une plante fourragère principalement destinée à l'alimentation des ruminants. L'utilisation de la luzerne est limitée par les valeurs énergétiques modérées de ce fourrage dans les rations des ruminants à forts niveau de production. Il convient donc d'améliorer sa digestibilité à même niveau de production. en effet, une meilleure digestibilité permet une augmentation de la production laitière de vache laitière ***(Emile et al ., 1997).***

Les arabes lui donnèrent le nom d'Alfalfa, superlatif d'alfa, et qui signifie, d'après Rupesh Ram (2007), **Le françois et Ruby (2003),** « le meilleur fourrage » ou «père de tous les aliments ». Chez eux et depuis toujours, la luzerne a été, considérée comme une plante miracle**.** Ils en nourrissaient leurs chevaux pour les rendre plus forts **(Nedjai, 1973).** Quant à l'appellation luzerne, elle provient de l'ancien français luiserne ou du latin lucerna signifiant flamme ou lumière.

1. Historique origine et distribution

A partir d'études phylogénétiques de la luzerne et d'autres légumineuses et d'après Sinskaya (1950) et Michaud et al. (1988) la luzerne aurait deux centres d'origines. Le premier est la région montagneuse transcaucasienne, au climat continental marqué, qui a donné naissance aux luzernes modernes européennes. Le deuxième centre géographique d'origine cité par **(Sinskaya 1950)** est l'Asie Centrale. La plus vieille référence connue indique que la luzerne était utilisée comme fourrage il y a environ 3300 ans.

D'après **Klinkowski (1933) et Michaud et al. (1988),** la luzerne fut introduite d'Espagne en France, vers 1550 et ensuite disséminée sur toute l'Europe. La luzerne trouve son plus grand développement dans les zones tempérées chaudes des Etats-Unis, d'Europe, d'Amérique du Sud, Asie, Japon, Australie, Nouvelle-Zélande, Afrique et Argentine (**Mauriès, 1994).**

2. Classification botanique

Le genre *Medicago* appartient à l'ordre des Fabales, superfamille des légumineuses, famille des Fabacées et sous-famille des Faboïdées, il est proche des genres *Melilotus* et *Trigonella*. Le genre *Medicago* a été classé en 4 sous-genres par (**Lesins et Lesins 1979**) sur la base de la morphologie des gousses et des graines : *Lupularia, Orbicularia, Spirocarpos* et *Medicago*. Ces sous-genres comprennent au total 55 espèces dont 21 sont pérennes, 33 sont annuelles et une est de pérennité variable. Le sous-genre *Medicago* comprend 4 sections : *Falcago, Arborae, Marinae* et *Suffruticosae*.

La section *Falcago* comporte 4 sous-sections : *Falcatae*, *Rupestres*, *Daghestanicae*, et *Papillosae* **(Lesins et Lesins, 1979**). La sous-section *Falcatae* comprend 5 espèces : *falcata, sativa, glomerata, glutinosa* et *prostata*. La couleur de la fleur et la forme des gousses sont les caractères qui permettent de distinguer les espèces de cette sous-section. Ces 5 espèces sont toutes pérennes, allogames et autogame diploïdes avec 2n =16 chromosomes et d'autre sont

tétraploïdes avec 2 n = 4X = 32 chromosomes **(Lesine et Lesine 1979)**, et elles ont une corolle jaune, violette ou bigarrée de jaune et de violet.

La plus connue parmi ces espèces est la luzerne cultivée (Medicago sativa, L.)

3. Description morphologique

C'est une plante herbacée vivace à tige dressée dès la base puis rameuse et anguleuse. Sa hauteur varie de 30 à 90 cm **(Figure 04 A).** Elle présente des nodules racinaires qui témoignent de son association symbiotique avec les bactéries nodulant les légumineuses.



Figure 04A : La luzerne *Medicago sativa.L* **(Clark et *al.*, 1913).**

La première feuille est unifoliée. Les feuilles suivantes alternes, sont composées de trois folioles égales, glabres, obtuses, un peu échancrées et denticulées.

Les fleurs hermaphrodites, symétriques, sont longues (7 à 11mm). Elles sont regroupées en inflorescences en grappe longues de 20 à 40 mm et de 15 à 30 fleurs **(Camille, 1980)**, avec un fruit sous forme d'une gousse plus ou moins enroulée et spiralée de 1 à 4 spires **(Figure 04 C),** La floraison se déroule entre juin et octobre.

Les couleurs des fleurs sont très diversifiées. La plus fréquente chez les *M. sativa* est le mauve-violet **(Figure 04 B)** alors que les *M. falcata* ont des fleurs jaunes **(Mauriès, 1994).**



Figure 04 B : La morphologie de la fleur de *Medicago sativa.L* **(Perron, 2015).**

La luzerne est une plante pérenne qui peut vivre entre 2 à 10 ans selon son mode d'exploitation.



Figure 04 C : Les différents organes de *Medicago sativa.L* (**Papleux, 2015).**

4. Les facteurs limitants la culture :

- **La température :** bien qu'ayant une aire de culture très large, la luzerne exige des conditions de température et d'humidité suffisantes avec un optimum de croissance 25c° **(CHAABENA 2001)**. les froids hivernaux provoquent un arrêt de croissance plus ou moins prononcé selon les variétés surtout la première année, les années suivantes elle peut supporter

des températures de 10-15°c et dès que la température atteint 2-3°c, elle germe **(I.N.R.A.Maroc, 1965).**

- **L'eau :** La luzerne est très exigente en eau mais cependant elle est résistante à la sécheresse de 2 à 3 mois à cause de leur pivot qui pénètre profondément **(I.N.R.A.Maroc,1965).** Le manque d'eau freine fortement le développement des plantes ; un excès d'eau favorise le développement des maladies fongiques et prive les racines d'oxygène (**Zanin, 1998)**.

- **La lumière** : La croissance et la production des végétaux dépendent de l'énergie solaire reçue dont l'utilisation est limitée par le froid de l'hiver caractérisé par les jours courts, ou la sécheresse de l'été caractérisée par les jours longs (**Lapeyronie, 1982**). Donc, le photopériodisme intervient dans les modifications morphologiques et dans la production de la matière sèche (**Hnatyszyn et Guais, 1988**).

5. Intérêt et utilisation

La diffusion de la luzerne est la conséquence de ses rôles écologique, économique nutritionnel et thérapeutique.

➢ Intérêt thérapeutique

- Le noyau phénolique des phyto-estrogènes qui sont des flavonoïdes, présente des groupements OH (hydroxyles), il est en fait très semblable à celui de l'oestradiol. De plus la distance entre les groupements hydroxyles des deux extrémités de la molécule est identique, cette propriété est très importante car elle permet de rendre plus assimilatrice aux récepteurs que les oestrogènes stéroïdiens.
- Les saponines de la luzerne ont comme effets : La diminution significative de l'absorption intestinale du cholestérol, la diminution de la progression de cellules cancéreuses et l'effet anti-oxydant (**Malinow, 1981; Gray, 1997; Hwang, 2001)**.
- Autres propriétés

  anti-bactérienne et anti-fongique

  Anti-hémorragique

  Régulateur métabolique

  Hémostatique

- *Medicago sativa.L* pourrait contrer l'action anticoagulante des médicaments à action similaire. Ses effets sur la régulation du métabolisme du cholestérol pourraient s'ajouter à ceux des médicaments hypolipidémiants (**Malinow, 1981;Gray, 1997 ; Hwang, 2001)**.

➢ Intérêt écologique

La fonction écologique de la luzerne se manifeste sur la conservation du sol et de sa fertilité **(Beaudoin et *al.*,1992).**

Le système racinaire pivotant, très développé et profond (jusqu'à deux mètres) permet de fragmenter le sol et d'améliorer sa structure **(Thiebeau et *al.*,2003)**. La fixation d'azote atmosphérique et le piégeage de carbone lié au processus de la photosynthèse, que la luzerne réalise, montrent qu'elle contribue à limiter les effets de l'activité de l'homme sur son environnement.

La luzerne est caractérisée par une teneur en Matière Azotée Totale (MAT) importante qui peut varier de 14 à 29 % de la Matière Sèche (MS) selon le stade, les époques et les modes de récolte , permet de placer la luzerne comme une culture "dépolluante" (**Zanin, 1998**).

➢ Intérêt économique

La luzerne est qualifiée de plante « nitratophage », à cause de l'azote qu'elle prélève dans le sol, et dans l'atmosphère **(Thiebeau et *al.*, 2001)** . Ces mêmes auteurs, rapportent que la luzerne exporte 2 à 3 t/ha/an de protéines, sans aucun apport d'engrais azoté de la part de l'agriculteur. La luzerne affiche une plus grande régularité de rendement que ses partenaires et permet ainsi de sécuriser le rendement fourrager de l'exploitation. Sa production est assez bien étalée sur toute l'année, cette répartition présente l'avantage d'avoir du fourrage vert pendant l'été et de pouvoir réaliser moins de stocks dans certaines situations **(Renault, 2003).**

➢ Intérêt alimentaire

La luzerne a une remarquable composition en acides aminés qui la rend supérieure, sur ce critère, au tourteau de soja, en plus, la Rubisco est une protéine blanche extraite des feuilles de la luzerne utilisée comme diététique en pharmacie.

La luzerne comporte une combinaison particulièrement intéressante de minéraux et d'oligoéléments.

Elle est riche en vitamines du groupe B, C, D, E et A **(Schoutteten, 2004).**

Tableau IV : Composition nutritionnelle de *Medicago sativa.L* (1mg =167µg ER) **(Bertin, 2002).**

Acides Aminés	mg/g de protéines	Vitamines	Valeur pour 10g de luzerne
Histidine	**24**	**A (β carotène)**	**750 µg ER**
Isoleucine	**55**	**B5**	**~ 0 mg**
Leucine	**95**	**B6**	**0.84 mg**
Lysine	**65**	**B8**	**2 µg**
Méthionine et Cystéine	**31**	**B9**	**7.5 µg**
Phénylalanine et Tyrosine	**88**	**B12**	**0.14 µg**
Thréonine	**52**	**C**	**6mg**
Tryptophane	**25**	**D**	**~ 0 µg**
valine	**62**	**E**	**9 mg**
		K	**1 mg**

Oligo-éléments		Minéraux	
cuivre	**0.08 mg**	**calcium**	**320 mg**
iode	**3mg**	**magnésium**	**14 mg**
fer	**5 mg**	**phosphore**	**78 mg**
zinc	**0.2 mg**	**potassium**	**78 mg**

Les hydrates de carbone		Les lipides
Sucre simple	**glucose 0.8 %**	**Acide gras 8 à 12 %**
Sucre complexes	**saccharose (0.3%)**	
stachyose(0.1%)	**glucosanes(3.2%)**	
pentosane (2%)	**galactane (2.7%)**	
Et mananes (0.1%)		

6. Luzerne en Algérie

Dans le Sahara algérien, paradoxalement, la luzerne constitue le premier fourrage et occupe la place la plus importante **(Chaabena, 2001)**. Compte tenu des conditions de microclimat au niveau des Oasis, elle assure jusqu'à dix coupes et parfois même plus **(Abdelguerfi, 1994)**.

6.1 Ressources génétiques

En Algérie, il est très fréquent de rencontrer des souches spontanées de *M.gaetula.* Cette espèce est très fréquente à l'Est du pays surtout en région d'altitude (Sétif, Constantine...). Par son port rampant et par son système racinaire puissant et rhizomateux, elle résiste parfaitement au surpâturage et à la sécheresse ; elle serait sans aucun doute intéressante dans des programmes d'hybridation en vue de la création de variétés rustiques pour le pâturage en sec en zone semi-aride et sub-humide**(Le Houerou, 1987)**.

Lesins et Lesins (1979) mentionnent que plusieurs taxa ont été signalés en Afrique du nord : *Medicago sativa ssp. tunetena, M. sativassp.faurei* et M. *sativaf.gaetula.* Leur distribution se situe dans les régions montagneuses de la Tunisie et de l'Algérie. *M. sativa ssp.tunetena*, ce taxon, très bien adapté au pâturage, est fréquent en Algérie orientale dans les régions d'altitude **(Abdeguerfi et Laouar, 1999)**.

Dans le sud, le cultivar local, Temacine, est le plus utilisé par les agriculteurs, et ce malgré le prix de ses semences nettement plus élevé (3 à 4 fois plus) que celui des cultivars introduits.

Les semences de Temacine sont produites localement par les agriculteurs alors que les semences des cultivars étrangers sont importées par les organismes d'Etat. Il semble que le cultivar Temacine serait assez résistant à la salinité en particulier **(Abdelguerfi, 1987)**.

Parmi les espèces les plus connues par les agriculteurs, d'après l'**IDGC Algérie(1979**) on a :

- la luzerne de Provence, originaire du midi méditerranéen français. Elle est productive et est bien adaptée en Algérie.

-la luzerne des Oasis, population résistante à la chaleur et à la salure.

6.2 Avenir de la luzerne en Algérie

La luzerne pérenne devrait être développée dans les régions du nord et particulièrement là où l'eau ne serait pas un facteur limitant (**Abdelguerfi, 1994**).

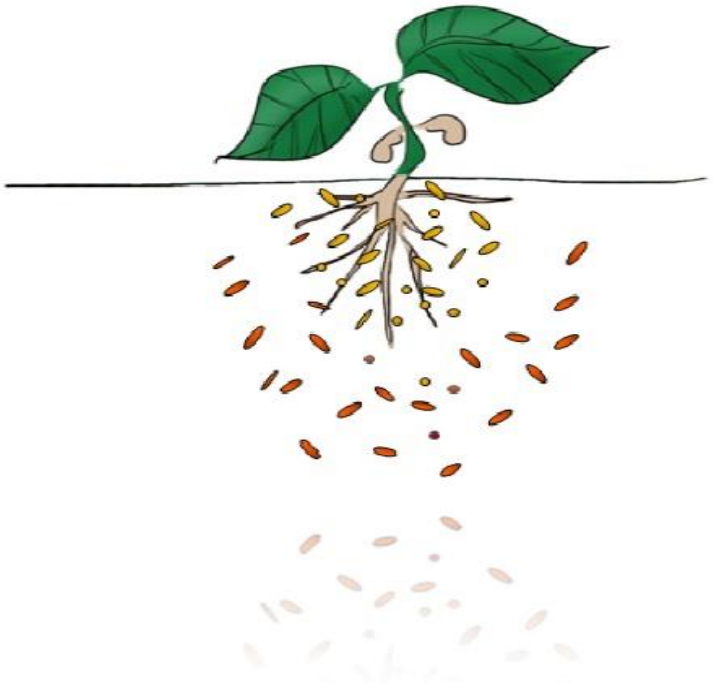
Cependant, elle supporterait sans dommage des restrictions hydriques importantes, voir totale ; cela permet à la luzerne de s'adapter à n'importe quel système fourrager, même à ceux ayant des ressources assez faibles en eau d'irrigation (**Legoupil et Ruffin, 1974**).

Les luzernes pérennes à port rampant seraient à conseiller dans les zones marginales et au niveau des terres de parcours. Dans les Oasis, les techniques de conduites, particulièrement l'irrigation et la fertilisation devraient être améliorées pour permettre une production plus importante et une longévité plus élevée (**Abdelguerfi, 1994**).

7. Les microorganismes dans la rhizosphère de la luzerne commune :

Les interactions entre les plantes et les microbes de sol sont de nature dynamique et se sont développés au cours de temps par les mécanismes de coévolution. Ainsi, (**Marschner et al. 2003)** suggèrent que les communautés bactériennes dépendent du type de plante, de son âge et de la composition en exsudats. Cependant, les analyses moléculaires des communautés bactériennes dans la rhizosphère de plusieurs plantes herbacées dicotylédones et spécifiquement la luzerne cultivée ont montré une grande richesse microbienne. Les analyses ont montré la présence des α- Proteobactéries tel que les Rhizobia, Bradyrhizobia, des β-Proteobactéries tel que les Nitrosomonas, Burkholderia, des γ-Proteobactéries tel que les Pseudomonas, Vibrio, Erwinia, des Bacteroidetes tel que Cytophaga, Bacteriodes, Flexibacter, Flavobacter. Ainsi d'autres groupements comme les Actinobacteria, Bacillus des Acidobactéries, des Rhodospirillales et des Geobacter **(Hawkes et al. 2007).**

Matériel Et Méthode



Objectif

Dans le cadre de notre projet de fin d'étude, nous avons réalisé une étude qui a pour but l'évaluation de la communauté bactérienne qui se trouve en association avec la luzerne (*MedicagosativaL.*) dans la région d'El Goléa (W.Ghardaia).

Chapitre I : Présentations de la région d'El Goléa

1. Situation géographique

L'oasis d'El-Goléa est une oasis Algérienne qui se trouve au centre du Sahara à 870km au Sud d'Alger, à 270km au Sud-ouest de Ghardaïa, à 410km au Sud-ouest d'Ouargla, 480km au Nord d'In Salah et 380km à l'Est-nord de Timimoune. Ses coordonnées géographiques Lambert se présentent comme suit :

- Altitude : 396 m.

- Longitude : 02° 52' Est.

- Latitude : 30° 35' Nord.

Selon **Chaich, (2006),** L'oasis d'El-Goléa, s'étend sur une longueur d'environ une dizaine de kilomètres dans la vallée d'Oued Sagguar, dont la superficie totale est de 49000 Km ² **(Figure 05).**

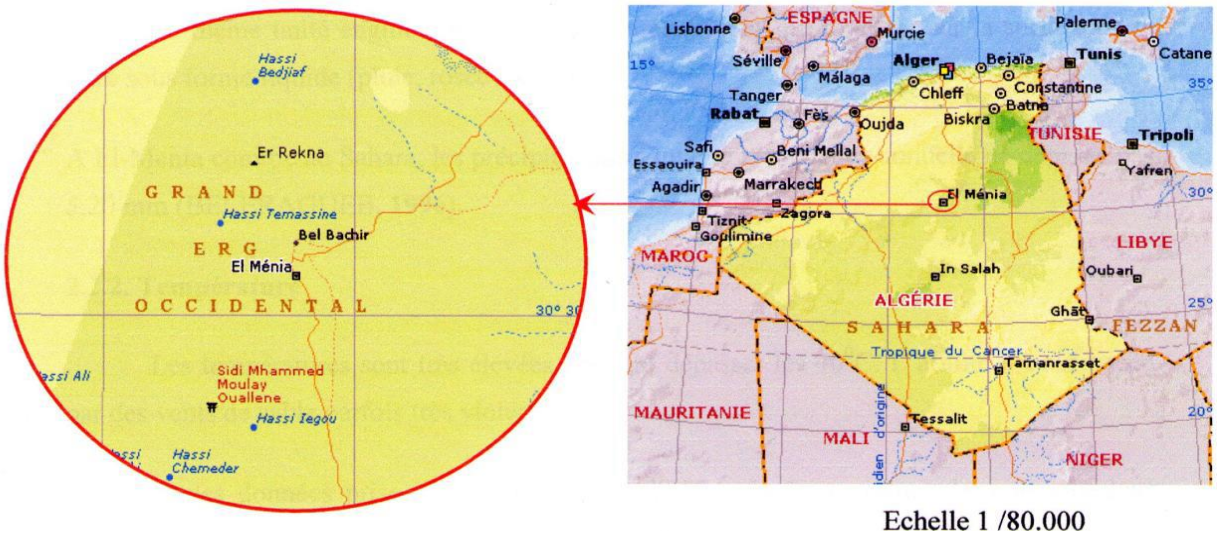


Figure 05 : Situation géographique de l'oasis d'El-Goléa.

2. Conditions climatiques

La région d'El Goléa comme toutes les régions sahariennes se caractérisent par un climat de type aride avec de fortes amplitudes thermiques entre la nuit et le jour et entre l'hiveret l'été, La température moyenne maximale du mois le plus chaud est noté pour le mois de juillet avec 35,1 °C. Par contre la température moyenne minimale du mois le plus froid revient au mois de février avec 9,0 °C.

La moyenne annuelle des précipitations ne dépasse pas 5,80 mm **(Beleragueb, 1996 In Zekkour, 2007).**

L'analyse des relevés mensuels durant la dernière décennie (2007-2017), montre bien que les précipitations ont des valeurs faibles durant toute l'année avec un maximum atteint de 15mm de pluie au mois d'Octobre.

Le vent, d'après **Dreux (1980)** est un facteur secondaire, ou il a une action indirecte sur le climat, en activant l'évaporation, il augmente la sécheresse. Les vents à El-Goléa, se manifestent tout particulièrement dans le déplacement des sables, surtout entre Novembre et Avril **(Dubief, 2001).**

3. Ressources naturelles

Le solComme dans toutes les régions sahariennes, le sol d'El-Goléa est de texture sableuse plus ou moins calcaire imprégné de matière organique et sèche, pratiquement ce ne sont pas des sols au sens agronomique. Sur les plateaux en dehors des palmeraies, l'érosion éolienne a décapé les éléments fins, ne laissant en surface que les éléments grossiers. Au niveau de la plaine alluviale (sols des palmeraies), les apports sont assez homogènes et on rencontre les sables fins et sable fins limoneux. En profondeur la variabilité est plus grande, on observe des niveaux granilocaillouteux et des niveaux argileux. **(Beleragueb, 1996 In Zekkour, 2007).**

- L'eau

Comme dans la plupart des oasis du Sahara, les principales ressources hydriques disponibles sont d'origine souterraine. L'abondance en eau est l'un des critères les plus frappants d'El-Goléa, cette dernière est assurée par la présence, de haut en bas, de deux nappes :

- Nappe phréatique (Superficielle).

- Nappe la nappe Albienne (Artésienne).

4. Activité agricole

L'activité agricole à El-Goléa est caractérisée essentiellement par la culture desarbres fruitiers associée aux palmiers dattiers. Une tendance vers l'élevage est sentie parles superficies emblavées par les cultures fourragères qui occupent une importante place oùl'ensemble des agriculteurs dans la région s'intéressent par cette culture de luzerne qui àelle seul représente 40% des cultures fourragères **(Chaiche, 2006).**

La superficie agricole utile (SAU) est passée de 3286 haen 1984 à 6151 ha en 1988 grâce à l'application de la loi83/18 relative à l'APFA qui occupe 3319 attributairespour une superficie de 9423 ha **(Figure 06) (Madr, 2015).**

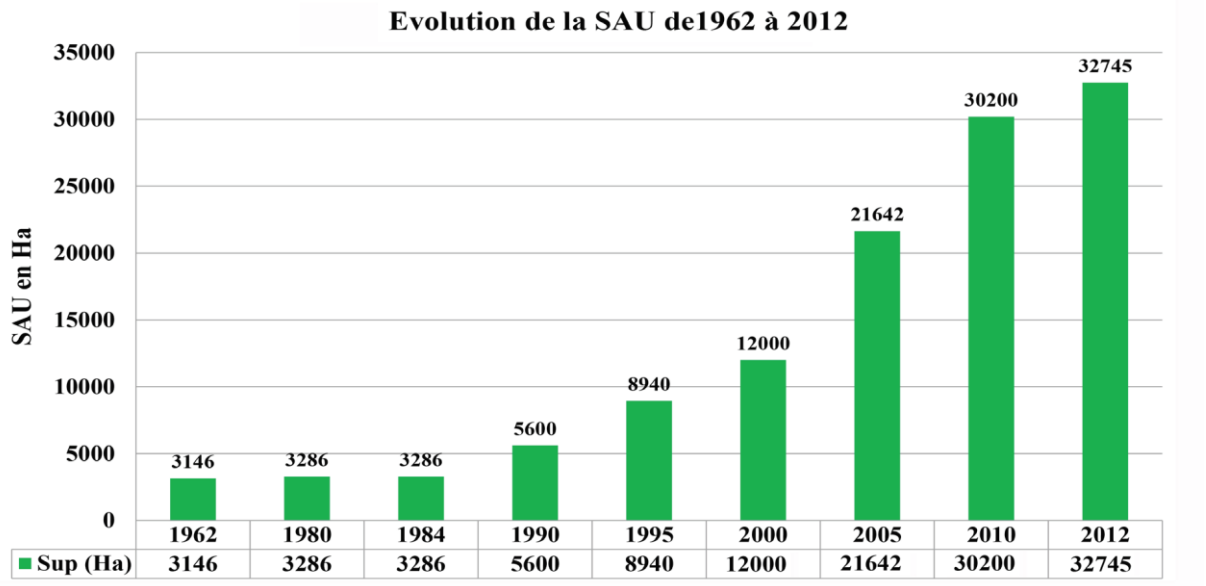


Figure 06 : Évolution de la SAU en 1962 à 2012**(Madr, 2015).**

Chapitre II : Matériel

1. Matériel non biologique

Durant notre stage nous avons utilisés des solutions **(Annexe 01),** des appareils **(Annexe 02)** et des milieux de culture **(Annexe 03).**

2. Matériel biologique

Les plantes de *Medicagosativa L.* provenant de la région d'El Goléa **(Figure 07)** sont prélevées dans des conditions d'aseptise, à une profondeur de 15 Cm et mis dans des sachets stériles préalablement étiquetés. Les échantillons sont transportés au laboratoire de la faculté des sciences –Médéa- dans des conditions de froids +4°C pour faire l'objet de différentes analyses.



Figure 07 :la situation de site de prélèvement

Chapitre III : Méthode

Au niveau du laboratoire de la faculté de science (Université de Médéa), les échantillons ont été analysés par des techniques microbiologiques classiques afin de rechercher et caractériser les bactéries associées à la partie rhizosphérique et endosphérique de la plante.

1. Préparation des échantillons rhizosphérique et endosphérique

Les échantillons de sols sont prélevés à partir des champs cultivés de la luzerne. Chaque échantillon composé de plantules et de sol rhizosphérique est recueilli dans des récipients stériles. Ces derniers sont gardés au frais et transportés au laboratoire.

2. Préparation de la solution mère et les dilutions

Pour le sol rhizosphérique, nous avons préparé la solution mère et cela ont pèsent 1g, à qui nous avons ajouté 10mL d'eau physiologique stérile (Nacl 9‰). L'ensemble est agité puis laissé reposer pendant quelques minutes, ensuite nous avons préparé une série de dilutions décimales : 10^{-1},$10^{-2,}$ 10^{-3} et 10^{-4}.

Pour la partie endosphérique, 3 g des racines de plantes ont été broyé dans 2 ml d'eau physiologique stérile (Nacl 9‰), ce mélange est considéré comme la solution mère.

3. Isolement et purification

L'isolement des bactéries mésophiles aérobies totales a été effectué à partir de la solution mère et de deux dilutions (10^{-2} et 10^{-4}) sur le milieu TSA1/10 (pH=7).

On a ensemencé 100 ul de chaque solution sur la gélose (TSA1/10) par étalement en surface, les boites de Pétri sont incubés à une température de 25°C pendant 48h. Après purification un code a été attribué pour chaque colonie, nous avons nommé les colonies selon leurs localisations sur les racines (R pour rhizosphère et E pour Endosphère), suivi du numéro de la colonie.

4. Caractérisation des bactéries

4.1. Etude macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué sur les colonies bactériennes après 24h d'incubation. L'aspect, la taille, la forme, l'opacité, la consistance et la pigmentation sont les caractères retenus pour cette étude **(Annexe 04).**

4.2. Etude microscopique

L'observation microscopique consiste à observer les cellules bactériennes après une coloration de Gram.

Examen après coloration de Gram

La coloration de Gram est une double coloration qui nous permet de connaitre la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des bactéries purifiées.

4.3. L'effet PGPR des colonies bactériennes

4.3.1. La fixation d'azote

La fixation d'azote moléculaire est testée sur milieu Jensen.Le milieu est ensemencé par stries à partir des isolats bactériennes, puis incubés à 25°C/48h. Toute croissance sur ce milieu traduit la capacité des bactéries à fixer l'azote.

4.3.2. La solubilisation du phosphate

La capacité des bactéries isolés à partir des colonies isolés sur le TSA 1/10 (pH=7) a été réalisé sur milieu NBRIP (pH=7).

Un volume de 2ul de chaque culture bactérienne de 24h est déposé à la surface du milieu NBRIP puis incubé à 25°C/7jours.

4.3.3. Production des sidérophores

La production des sidérophores est testée en milieu Chrome Azurol S (CAS), la capacité de production de sidérophores se traduit par la formation d'halo **(Shwyn et Neilands, 1987).** Chaque isolat bactérienne a été ensemencé en spot à la surface du milieu CAS et puis incuber à 25°C/4 jours.

4.4 Caractérisation phénotypique

Pour la caractérisation des colonies, nous avons retenus 29 caractères incluant des traits physiologiques (température de croissance, tolérance à l'acidité, à la salinité et au déficit hydrique), biochimiques (catalase, oxydase, activité enzymatique et de résistance intrinsèque aux agents antibactériens (antibiotiques et métaux lourds) **(annexe 05).**

Pour la température nous avons incubé les boites de Petri contenat le TSA comme milieu de culture à 3 températures déférentes, 4°, 25°C et 44°C. La variation du pH a été réalisé à l'aide de HCl (0.1M) et du KOH (0.1M), nous avons fixé trois pH 4 ,7 et 10.

L'effet de la salinité a été réalisé par le NaCl et le KCl, pour les deux sels, nous avons retenus trois concentrations, il s'agit de 150mM, 250mM et 500mM.

Les concentrations de PEG ajoutés dans le TSA, afin de créer un déficit hydrique étaient de 10 g/l , 20g/l et 30g/l.

Enfin pour les tests biochimiques nous avons préparé des solutions pour chaque antibiotique (Piniciline ,Rifamycine et Streptomycine) en rajoutant 1mg de l'un de ces derniers dans 10 ml de l'eau distillé stérile. 20 µl de cette solution finale est rajouté au milieu TSA 1/10. En ce qui concerne les métaux lourd ($CaCo_3$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$, $MgCl_2$) nous avons préparé des solutions de 10 ml d'eau distillé stérile en rajoutant 2 mg de chaque métaux lourd, a

l'exception $ZnSO_4$on a utilisé 1mg seulement. Par la suite 20 µl de cette solution finale (métaux lourd+ l'eau distillée) est rajouté au milieu TSA 1/10.

5 .Traitements numériques

La taxonomie numérique est une méthode de classification d'étude de relations phonétiques basée sur le principe de la similitude globale d'organisme examinés pour un grand nombre de caractère **(Sneath, 1974).**

De manière schématique, la méthode consiste à étudier , pour chaque souche pris en compte plusieurs caractère morphologique , biochimique , physiologique et à attribuer pour chaque caractère un code numérique binaire (1 :pour la présence du caractère ou 0 :pour l'absence de ce caractère).les caractères sont alors utilisé pour former des groupes d'individus qui se ressemble selon des critère prédéfini et à éliminer ceux qui s'en distinguent et qui pourront former un autre groupe avec leurs semblables. Ces groupes sont appelés taxons. Deux ou plusieurs taxons peuvent être à leur tour groupés en un nouveau taxon d'u niveau hiérarchique supérieur qui comprendra un plus grand nombre d'individus .de regroupements en regroupement, on arrive progressivement à inclure tous les individus dans un même ensemble représenté graphiquement par un dendrogramme.

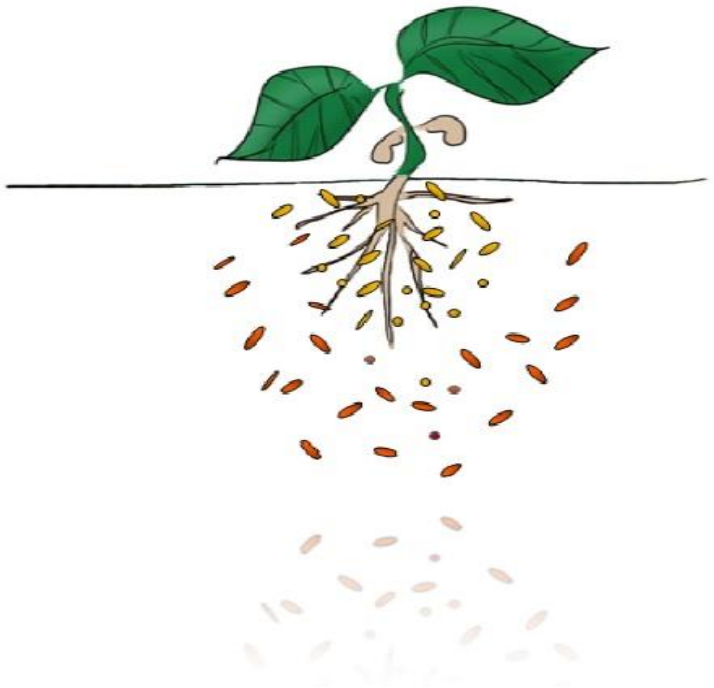
Les profils phénotypiques obtenus pour les colonies isolées et purifiées ont été soumis à l'analyse numérique par l'algorithme UPGMA et le coefficient de similitude de Jaccard à l'aide du logiciel MVSP (MultiVariateStatistical Package-KovachCmputing services-Royaume-Uni).

Les milieux tests ont été préparés sur la base du milieu TSA1/10 en apportant les modifications requises ; modification du pH initial par ajout de HCl (0.1M) ou de KOH (0.1M), ajout d'antibiotiques, de métaux lourds ou autres.

Résultat

Et

Discussion



Chapitre I : Etude de la microflore rhizosphérique/Endosphérique

Le désert représente 30% de la surface de la terre. Les conditions de vie dans ces environnements sont un réel défi pour les micro-organismes à cause de nombreux facteurs limitant (peu d'eau et/ou de carbone disponible, une variation importante de température et une forte exposition aux irradiations UV).

Une étude réalisée en 2016 **(Boulahouache Et Gasmi)** au niveau du laboratoire Biologie des Sols-FSB-USTHB- avait pour but de déterminer la diversité bactérienne des échantillons de la rhizosphère et de l'endosphére de la luzerne cultivé au niveau de l'oasis d'El Goléa. Les résultats obtenus **(Tableau V)**, par les techniques de séquençage haut débit, montrent une grande diversité bactérienne représentée par 343169 reads (équivalent nombre de cellules) répartis sur 472 genres. La densité cellulaire obtenue ainsi que le nombre de genre représenté sont relativement élevés comparativement à ce qui est rapporté dans la littérature.

Tableau V : Nombre des reads et des genres dans le sol, la rhizosphère et l'endosphére de la luzerne.

	Sol	Rhizosphère	Endosphére	Total
Reads	169706	119861	53602	343169
Genre	425	380	342	472

1. Analyse de la composition de la microflore

Après une incubation de 24-48h à 25°C, à partir du compartiment rhizosphérique, nous avons pu dénombrer 265 colonies équivalent de $265*10^5$UFC obtenu à l'aide de la loi de Kass**(Figure 08-A).**

Nous avons utilisé dans le cadre de cette étude les broyats racinaires de la luzerne pour isoler les bactéries endosphérique sur le milieu TSA 1/10 dans des conditions optimale (T=25° et pH=7), nous avons pu dénombrer 250 colonies équivalent de $25*10^3$UFC (**Figure08-B).**

Le nombre de bactéries obtenu montre que la densité des bactéries est très élevée dans la rhizosphère et l'endosphère. Ces résultats peuvent être expliqués par «l'effet rhizosphère» **(Foster et Rovira, 1978).**La diversité et la structure des communautés microbiennes dans la rhizosphère **(Latour et al., 2009; Kowalchuk et al., 2010)** et leur activité métabolique **(Nannipieri et al., 2008)** diffèrent de celles du sol nu. Les populations aptes à percevoir les

variations de l'environnement rhizosphérique et à adapter leur physiologie, sont favorisées et tirent profit de cette perturbation. Les composés organiques exsudés par les plantes dans la rhizosphère activent différents groupes de microorganismes et augmentent leur prolifération **(Bais et al., 2006).** La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes **(Loper et Schroth, 1986a).**

Après isolement et purification, nous avons sélectionné 42 isolats **(Figure 09)** obtenu à partir des échantillons du sol rhizosphérique de la luzerne, et 16 isolats provenant du compartiment endosphérique. La sélection des isolats à étudier a été réalisé selon les critères morphologique (taille, couleur, consistance,..).



Figure 08 : Colonies isolée à partir de la rhizosphère (A) et à partir de l'endosphère (B) après incubation de 48h à 25°C sur le milieu TSA1/10 (pH7).

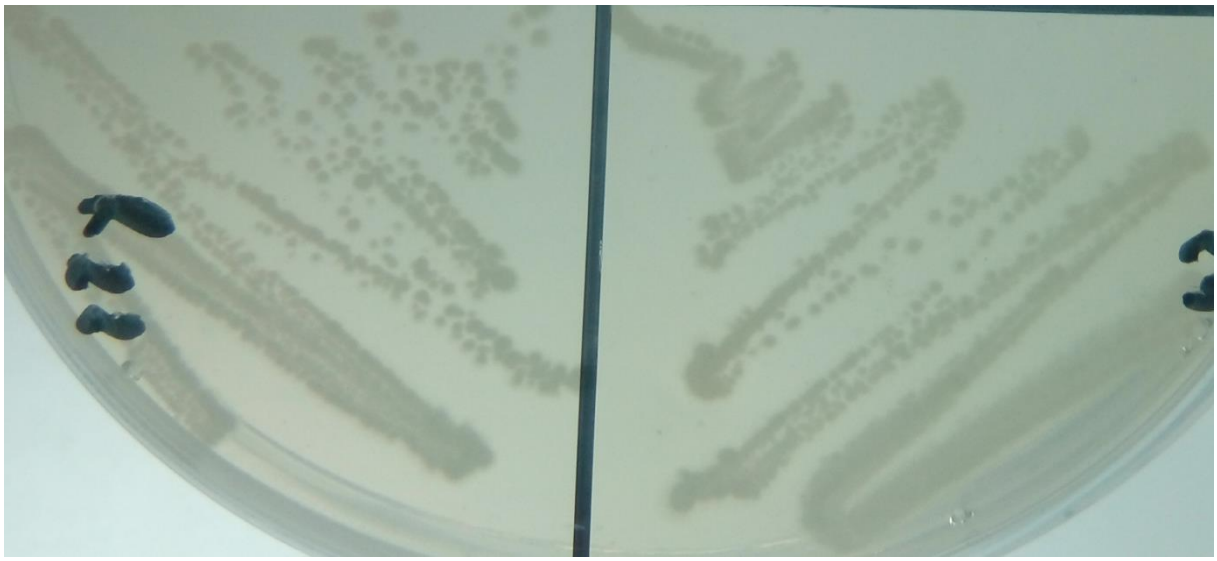


Figure 09 : souche isolée à partir de rhizosphère sur le milieu TSA 1/10 de PH 7.

2. Caractérisation macroscopique

Les différents caractères morphologique macroscopique des souches étudiés sont noté après croissance sur milieu TSA 1/10 à une température de 25°C pendant 24 à 48 h.

Les colonies formés par nos souches, que soit rhizosphériques pu endophytique, présentent différents critères morphologiques **(Figure 10)**, elles sont de petite taille, circulaire à bord régulier ou irrégulier et à élévation différente (bombé, semi bombé, plate). Elles sont de couleurs différente ; blanche, créme, saumon et transparente. Certaines d'entre elle montre des pigmentations naturelle.

La majorité des colonies sont muqueuse avec une surface lisse brillante. Ces derniers caractères étant en relation avec l'excrétion à l'extérieur des cellules de polysaccharides extracellulaires (Exopolysaccharides ou EPS)**.**

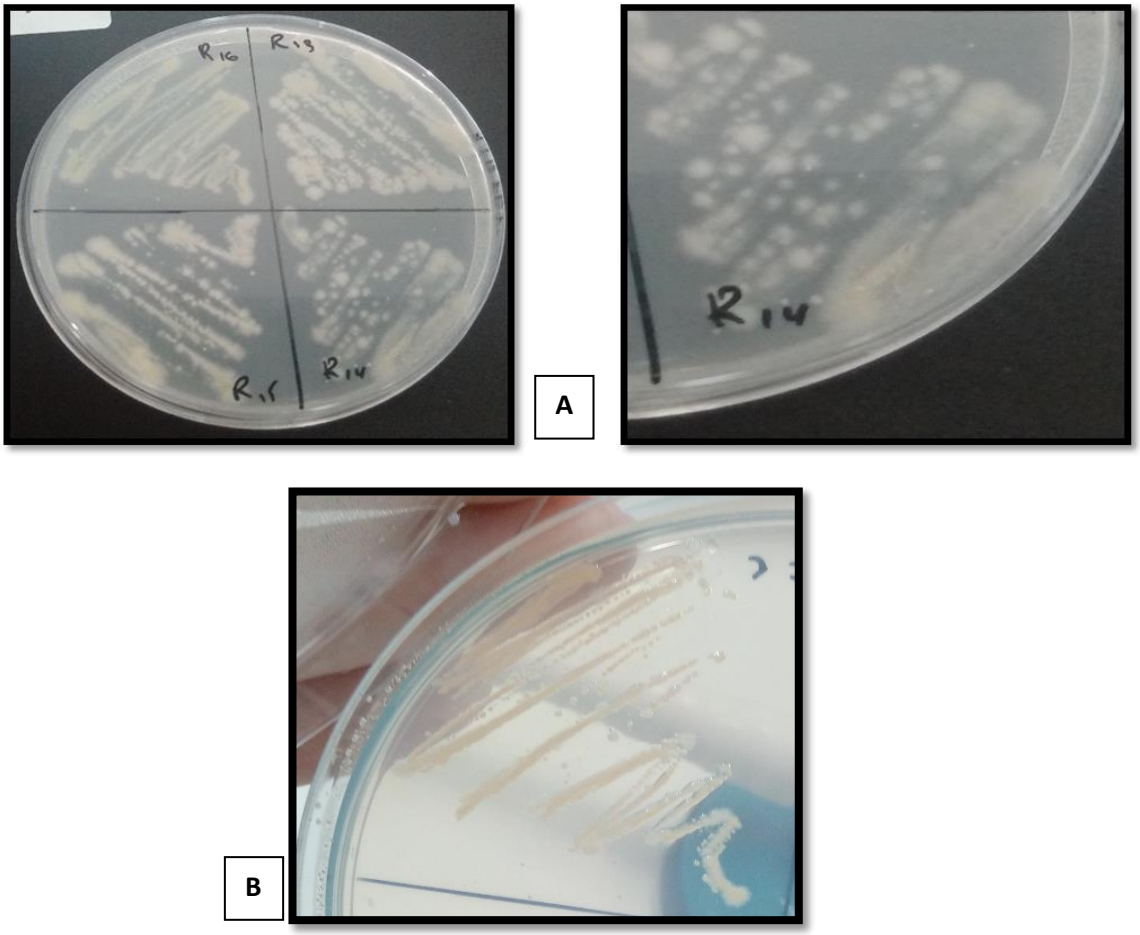


Figure 10 : Observation macroscopique des colonies rhizosphérique (A) et endosphérique (B).

3. Caractérisation microscopique

Des observations microscopiques réalisées sur des cellules fixées colorées par la technique de coloration de Gram **(Figure11-A)**, nous a permis de vérifier que parmi les 42 isolats rhizosphériques 25 isolats, soit un pourcentage de 59%, sont des bactéries à Gram positif, tandis que les 41% restant sont des bactéries à Gram négatif. Dans les deux groupes, la forme la plus dominante est la forme cocci(35.71% chez les Gram+ et 23.80% chez les Gram-) (**Figure 11-B).**

Ces résultats sont en désaccord avec les résultats des analyses moléculaire, **(Boulahouache Et Gasmi, 2016)** qui ont trouvé une prédominance de bactéries à Gram négatif avec 75.12% du nombre total de reads. Cette contradiction est due probablement à la dominance des bactéries non cultivable appartenant au groupe des Gram négatif dans la rhizosphère de la luzerne.

Il ressort de nos observations qu'il y a une prédominance des formes Gram +. Ce qui preuve que les sols désertique du Sahara sont peuplés d'une flore microbienne particulièrement riche en bactéries parmi lesquelles, ceux qui sont très résistants.

L'observations des isolats endophytique sous le microscope nous a montré que parmi les 16 isolats ,6 sont Gram + 37.5% avec une forme bacille ou Cocci regroupé ou non regroupé en violette .Les 10 souches qui reste 62.5% sont des cocci et des bacille a Gram- coloré en rosâtre**,** Dans les deux groupes, la forme la plus dominante est la forme cocci(31.25% chez les Gram+ et 50% chez les Gram-)**(Figure 11-C).**

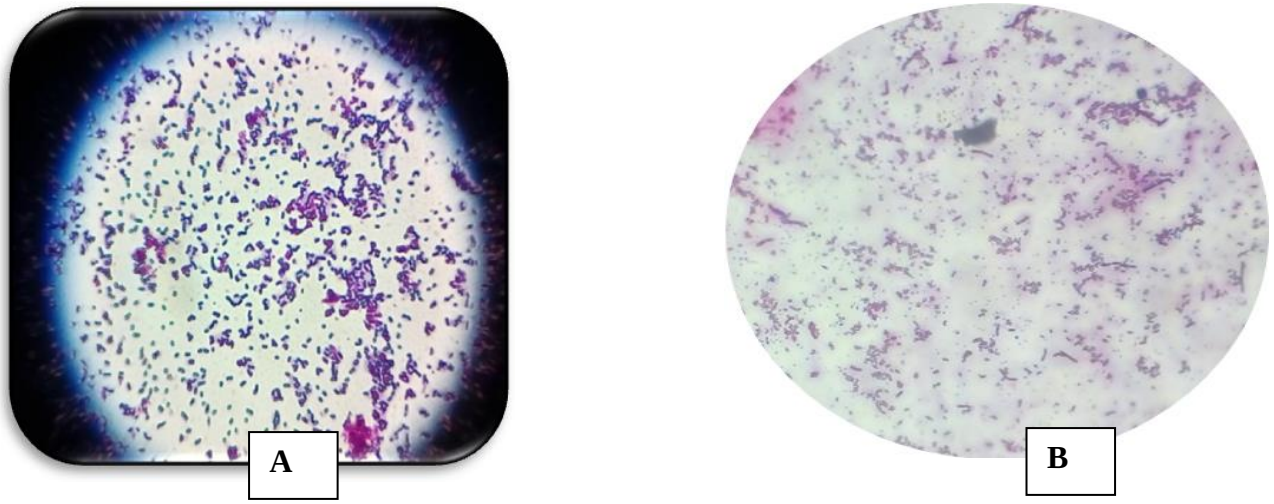


Figure 11 - **A** : Observation microscopique des colonies Gram + (A) et Gram – (B) (G*100).

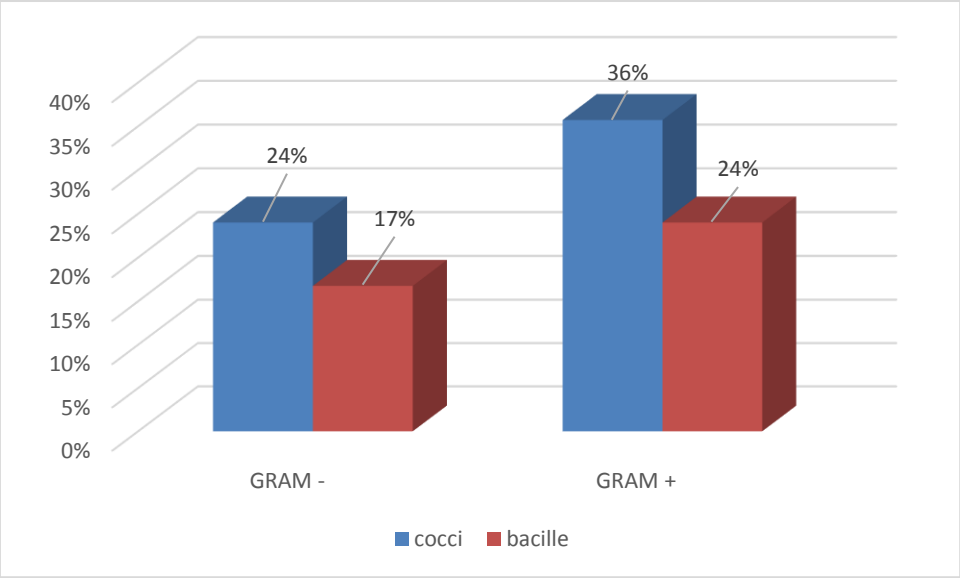


Figure 11-B : la diversité de Gram et forme des isolats de rhizosphére.

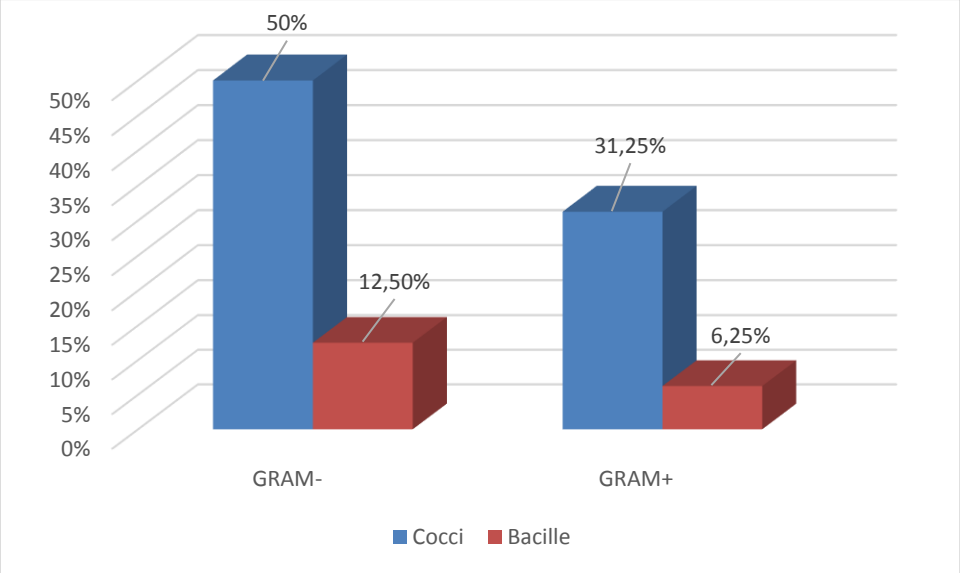


Figure 11-C : la diversité de Gram et forme des isolats de l'endosphére.

4. L'effet PGPR

4.1. Fixation d'azote

Une propriété importante des PGPR influençant directement la croissance des plantes est la fixation d'azote. Elle est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel la plante bénéficie de l'association microbienne.

La croissance sur milieux Jensen a été signalée pour 42 bactéries sur l'ensemble des 42 isolats rhizosphérique testées, et pour les 16 isolats endosphérique soit un pourcentage de 100% des bactéries isolées **(Figure 12)** sont fixatrice d'azote.

L'azote atmosphérique n'est fixé par la microflore hétérotrophe, que dans l'habitat particulier constitué par la rhizosphère proche, cet habitat est caractérisé par la présence de substrats énergétiques en quantité suffisante et par une anérobiose assez stricte, résultant du blocage de la diffusion de l'oxygène par l'engorgement. La nécessité d'une source d'énergie pour le processus de fixation microbienne explique parfaitement le fait que ce processus soit localisé à la rhizosphère.

La capacité des isolats endosphérique à fixer l'azote peut être expliqué par le passage des bactéries rhizosphérique à l'intérieur du système racinaire de la plante.

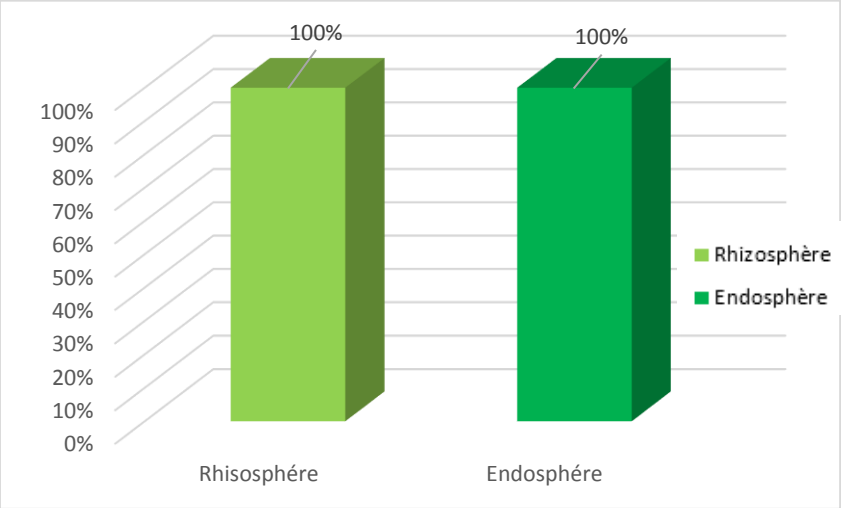


Figure 12 : Capacité de fixation d'azote par les bactéries isolées

4.2. Solubilisation des phosphates

L'alimentation minérale en phosphate est également une des principales activités améliorant la croissance des végétaux. La solubilisation des phosphates est traduite par la formation d'un halo autour des colonies qui ont pu être développé sur le milieu NBRIP, nous avons trouvé que sur l'ensemble des 42 isolats rhizosphérique testés, 22 isolats, soit un pourcentage de 59% des bactéries isolées, ont été capables de solubiliser le phosphate inorganique sur le milieu NBRIP, alors que 100 % des isolats endosphérique ont été capable de solubiliser le phosphate (**Figure 13-A).**

Cette solubilisation est traduite par la présence d'un halo transparent autour de la colonie bactérienne. La variation du diamètre de cet halo montre qu'il y a une variabilité dans le pouvoir de solubilisation du phosphate entre les différents isolats testés **(Figure 13-B).** Le calcul de l'halo de solubilisation nous a permis de mettre en évidence la capacité solubilisatrice de chaque isolat bactérien. Le diamètre de l'halo varie de 12mm chez les souches plus efficaces à 1 mm chez les souches solubilisatrices de phosphate les plus faibles.

Les résultats obtenus avec les bactéries rhizosphériques peut ne pas refléter la réalité, ils peuvent être expliqués par le faite, que nous avons utilisé un milieu solide pour la mise en évidence de cette capacité. Les microorganismes libèrent le P par la production d'acides organiques et /ou par la sécrétion de protons. Par conséquent, le P peut être libéré par la substitution des protons ou sa complication avec le Ca^{2+}**(Illmer et Schinner, 1995).** Ainsi lors de la solubilisation, les bactéries acidifient l'espace périplasmique par oxydation directe du glucose. Ce processus conduit à la libération de différents acides organiques (lactique, gluconique, isobutyrique, acétique, glycolique, oxalique, malonique et succinique). Cependant ces composés sont libérés difficilement dans le milieu solide contrairement au milieu liquide **(Nautiyal, 1999).** La conséquence de ce phénomène se manifeste par la non-apparition du halo de transparence autour des colonies des souches solubilisant efficacement les phosphates, d'où la nécessité d'utiliser un milieu liquide.

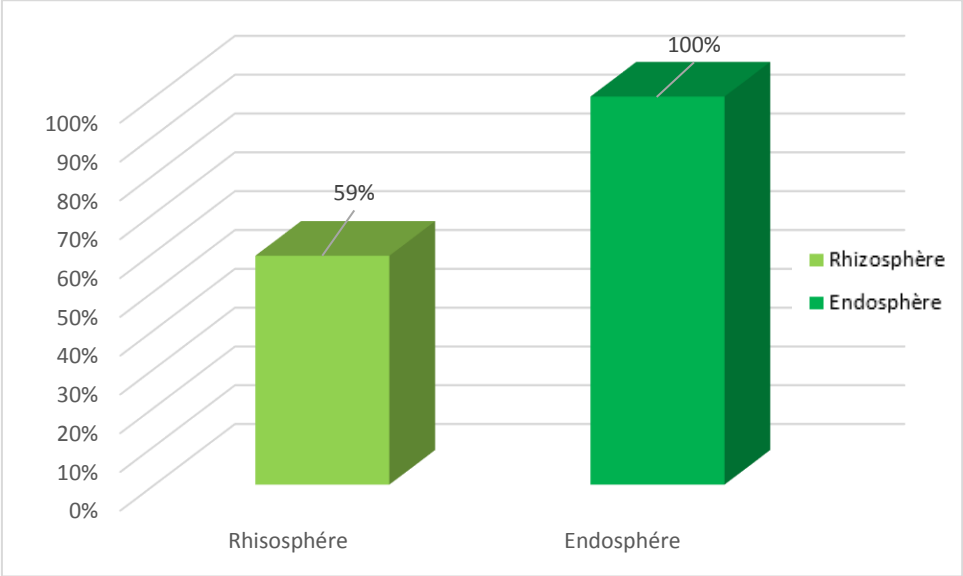


Figure 13-A : Capacité de solubisation de phosphate par les bactéries isolées.

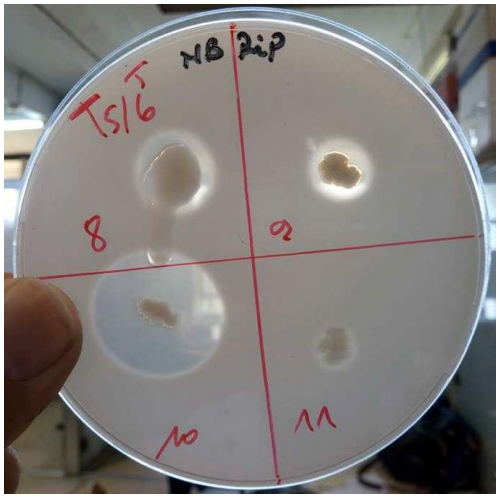


Figure 13-B :. La variation du diamètre de l' halo sur le milieu NBRIP.

4.3. Production de sidérophores

La production des sidérophores influence la croissance des plantes en liant le fer sous sa forme disponible : Fe3+ **(Whipps, 2001).** Par ces fonctions les sidérophores procurent une protection des plantes contre plusieurs maladies fongiques ou bactériennes **(Siddiqui, 2006).** Ces composés inhibent la croissance des champignons phytopathogènes**(Ramette et al., 2003).**

Parmi les 42 isolats rhizosphériques étudiés, 28isolats, c'est-à-dire 67 % de la totalité des bactéries testées **(Figure 14)** ont montré un résultat positif. Alors que pour les isolats provenant

de l'endosphère de la luzerne, 50% de la totalité des bactéries isolées sont des productrices des sidérophores.

La capacité de production intrinsèque de la souche est sous l'influence des facteurs environnementaux **(Valdebinito et al. 2006).** Plusieurs facteurs agissent sur la synthèse des sidérophores : le pH, la teneur en fer et les formes d'ions de fer, la présence d'oligo-éléments et une quantité suffisante de C, N, et P **(Duffy et Defago 1999)**. Cependant, sur milieu solide la production est beaucoup moins appréciée que sur milieu liquide. Ceci serait dû à l'inhibition de la croissance des bactéries par les composants du milieu de culture ou à la nature du sidérophore produit **(Gangwar et Kaur, 2009).**

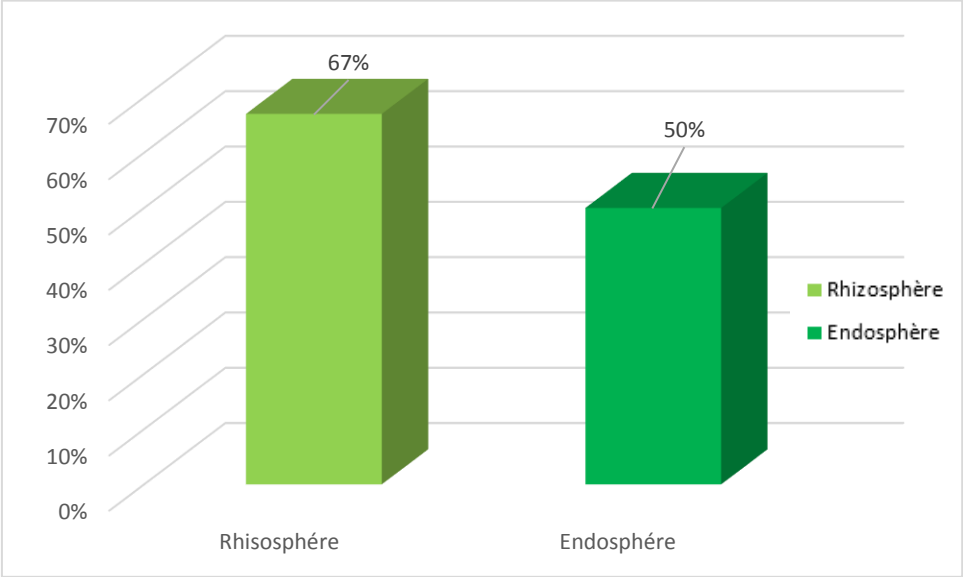


Figure 14 : La production de sidérophores chez les isolats testés.

5. Caractérisation phénotypiques

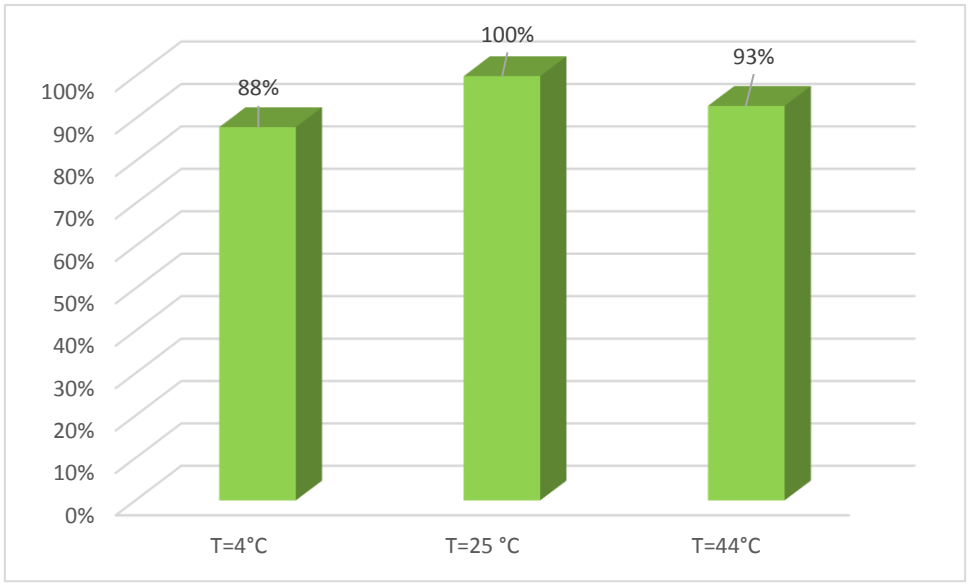
La caractérisation phénotypique traditionnelle est toujours admise comme étape primordiale pour l'identification et la séparation des bactéries nouvellement isolées. En dehors de ces informations utiles dans l'étude de la biodiversité et la taxonomie, notamment polyphasique, les caractères phénotypiques offrent des opportunités pour sélectionner des souches efficientes,

compétentes et indifférentes aux divers stress environnementaux. Ainsi, ces approches d'ordre fondamental et pratique permettent la détermination d'une inoculation efficace et bénéfique pour les plantes hôtes. Plusieurs critères phénotypiques ont été retenus pour cette étude afin de mieux caractériser nos isolats :

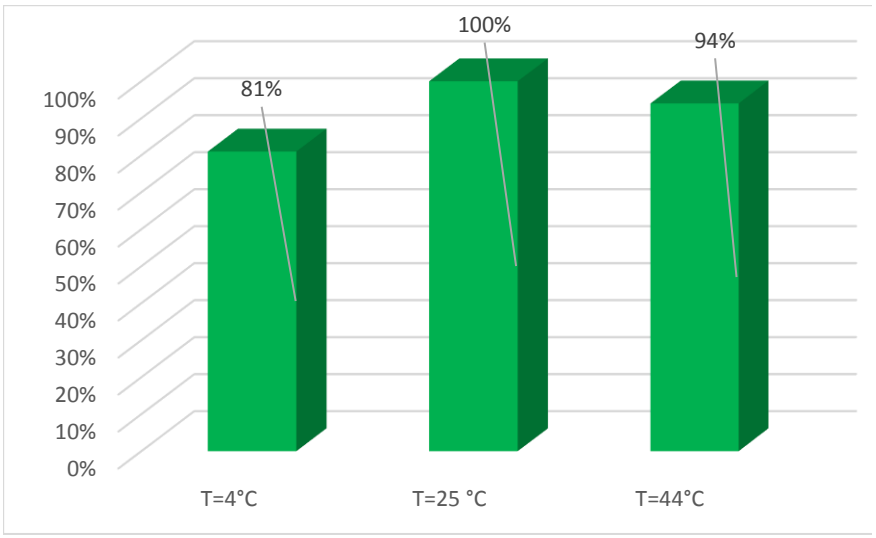
- **Tolérance à la température**

Nous avons étudié l'effet de la variation de la température chez les isolats rhizosphériques et endosphérique, pour cela nous avons fixé 3 températures : 4°C-25°C et 44°C sur la croissance des souches. Les 42 souches rhizosphériques étudiées montrent une prolifération de 100 % à une température de 25°C, ce qui indique que la microflore de notre sol est de nature mésophile. Une proportion majoritaire de nos souches, 39 souches, soit un pourcentage de 93%peut croitre à une température de 44°C, et sont considérée à cet effet comme des thermophiles, aussi, à une température de 4°C, 38 souches c'est-à-dire 88% croient, et cela les qualifiées de psychrophile (**Figure 15-A**)**.**

La majorité des 16 souches isolées à partir du compartiment endosphérique de la luzerne tolère des températures allant de 4°C à 44°C (**Figure 15-B**). Il faut signaler toutefois, que 81% des souches tolèrent une température de 4°C et 100% d'entre elles tolèrent une température de 25°C. A des températures élevées, le taux de tolérance est de 94% à une température de 44°C**.**
Il en résulte de ce test que la majorité des souches présentent une bonne thermotolérance tant aux basses qu'aux hautes températures. Les thermophiles présentent une variété d'adaptations cellulaires. Leurs lipides membranaires contiennent des acides gras saturés et linéaires ce qui n'est pas le cas pour les mésophiles. Cela permet aux thermophiles de croître à des températures plus élevées en fournissant le bon degré de fluidité nécessaire pour le fonctionnement des membranes **(Ulrih et al ., 2009).**Dans plusieurs organismes, la thermotolérance est corrélée avec la production des protéines hsp (heatshockproteins) **(Michiels et al.,1994)**. Des protéines de poids moléculaire entre 38 et 68 KDa jouent un rôle important dans la protection des organismes contre le stress thermique **(Abou-Shanab,2007).**
Cette adaptation à des variations extrême de température, est en relation avec le climat caractéristique de la zone d'El Goléa, qui se caractérise par un été chaud (34°C) et un hiver froid (10°C).



A



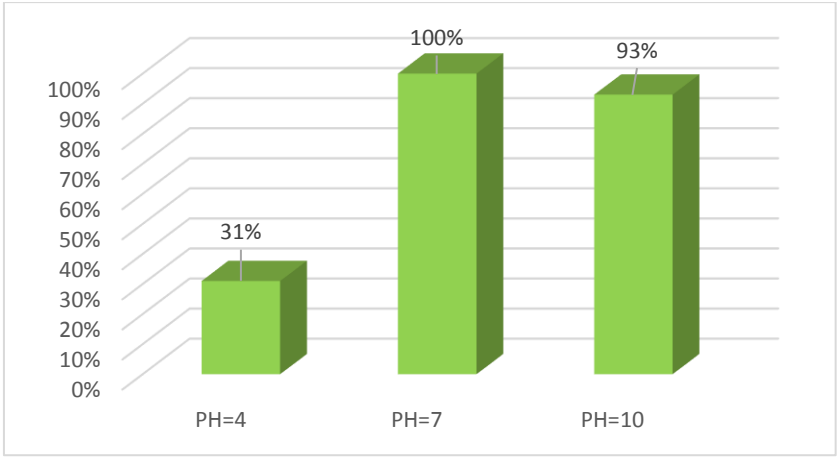
B

Figure 15 : Tolérance des isolats rhizosphériques (A) et endosphériques (B) à différentes températures.

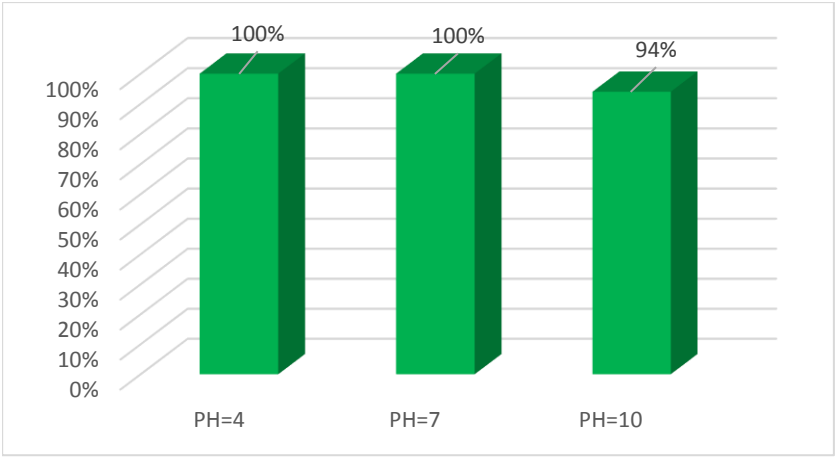
- **Tolérance au pH**

Il ressort de l'effet du pH **(Figure16)** sur la croissance et le développement des isolats étudiés que la totalité de nos souches rhizosphérique et endosphérique sont capable de pousser à pH 7, elles sont de cet effet considéré comme étant neutrophiles. 93% des isolats rhizosphériques et 93% des isolats endophytiques sont capable de se croitre sur des milieux de culture à pH10. A pH 4, seulement 31% des isolats rhizosphériques ont montré la capacité de se développer tandis que 100% des isolats endophytiques se développent.

Les résultats obtenus indiquent que les isolats provenant de la rhizosphère sont des alcalophiles alors que les isolats d'origine endosphérique ont l'aptitude de tolérer des pH acides plus que les pH alcalins. Ces résultats des isolats rhizosphériques sont en accord avec les caractéristiques physique du sol d'El Goléa qui possède un pH légèrement alcalin (8.7) **(Boulahouache Et Gasmi, 2016).**



A



B

Figure 16 : Tolérance des isolats rhizosphériques (A) et endosphériques (B)à différentes valeurs de pH.

- **Tolérance au stresse salin**

Dans le but de tester la tolérance de nos souche aux sels, nous avons retenu pour cela, deux sels considéré comme majoritaire dans le sol d'El Goléa, il s'agit de Na Cl et de KCl, nous avons ensemencé chacune sur le milieu TSA 1/10 à différentes concentrations de sel (150-250 et 500mM). Après une incubation à 25°C pendant 24-48h, la totalité des souches que soit rhizosphériques ou endosphérique**(Figure 17)** montre une prolifération quel que soit la concentration du sel appliqué. Avec la concentration 250mM de KCl, 94% des souches endosphérique sont tolérantes, cette résultat est probablement une faute de manipulation**.**

Selon **Kushner (1978),** beaucoup d'organismes marins sont des halophiles légers (avec 3%, p/v de NaCl en eau de mer). Les halophiles modérés se développent de façon optimale à 3-15% (p/v) (0,5-2,5M) de NaCl et les halophiles extrêmes à 25% (p/v) (4,2M) de NaCl. 100% sont capables de se développer sur des milieux de culture à500 mM de NaCl,

L'adaptation des bactéries à des fortes concentrations en sel est due à leur faculté de synthèse et d'accumulation intracellulaire des solutés compatibles qui ont un rôle d'osmorégulateurs et protecteurs contre les effets néfastes de la salinité et elle est aussi en relation avec leur capacité à produire des exopolysacharides qui forme une couche protectrice contre la dessiccation et le stress salin.

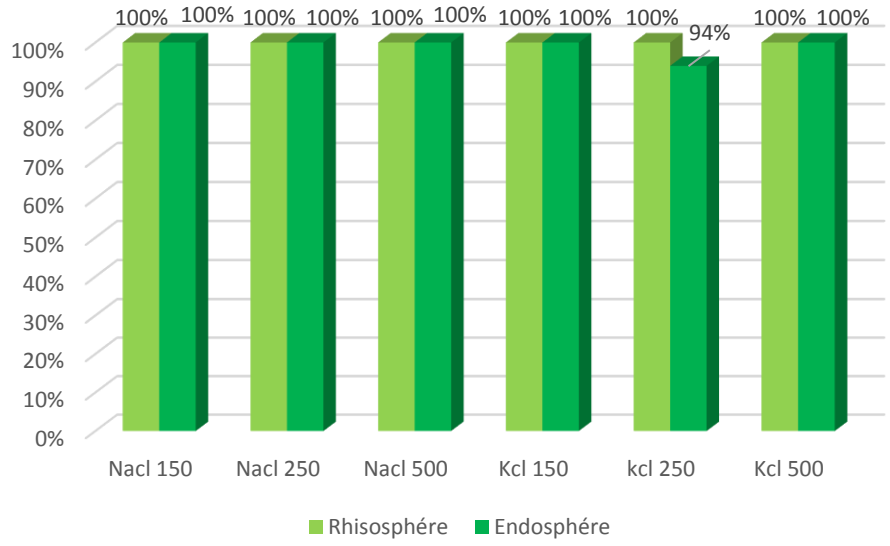


Figure 17 : Tolérance des isolats rhizosphérique et endosphériqueà différentes concentrations de Na Clet K Cl.

- **Tolérance au stress hydrique**

Ce test consiste à étudier la croissance des isolats sous conditions de déficit hydrique, ce dernier a été créé en utilisant le polyéthylène glycol (PEG 6000) à différentes concentrations (10, 20 et 30g/l).

Les résultats sont présentés par **(figure18),** montre la capacité de croissance de nos 42 isolats rhizosphériques et les 16 isolats endosphériques sur le milieu TSA1/10 en présence de différentes concentrations de PEG6000.Avec la concentration 20g/l dePEG6000, 94% des souches endosphérique sont tolérantes, cette résultat est probablement une faute de manipulation**.**

Il existe une forte corrélation entre la tolérance aux stress salin et hydrique (sécheresse) ; nous avons observé que les isolats halotolérants sont aussi tolérants aux fortes concentrations de PEG.

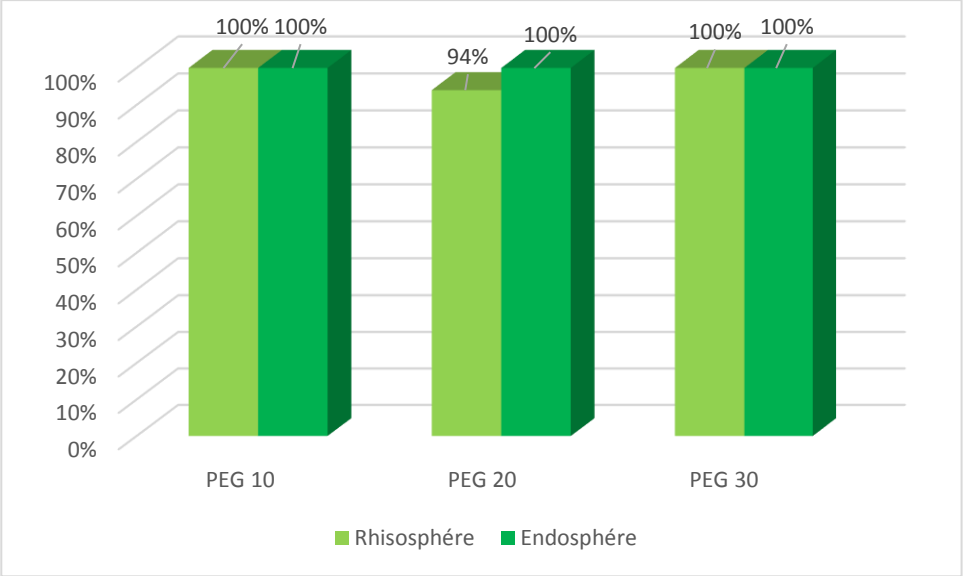


Figure 18 : Croissance des isolats rhizosphérique et endosphériquesur TSA1/10 additionné de PEG 6000.

- **La résistance aux antibiotiques**

En ce qui concerne la résistance aux antibiotiques, presque la totalité des isolats présentent une forte résistance aux trois antibiotiques testés (Piniciline-Rifamicine et Streptomycine). En effet, pour les isolats rhizosphériques, 100% de nos isolats résistent au Piniciline, et 98% sont capable

de se croitre en présence de Rifamycine et Streptomycine (98 %). Les isolats endosphériques résistent aux trois antibiotiques testés, et présentent une croissance de 100%.**(Figure 19).**

La résistance aux antibiotiques, composés qui représentent relativement une structure étroite avec les substances produites par les bactéries du sol et les champignons, aurait probablement été développée bien avant les usages des agents antimicrobiens en médicine humaine et vétérinaire **(Schwarz et al., 2001).** C'est ainsi que les bactéries des eaux naturelles provenant de lacs de montagne situés loin des rejets dérivant des activités humaines ou animales portaient des niveaux de résistance significatifs **(Jones et al., 1986).** L'auteur explique ce phénomène de résistance par l'implication des plasmides de résistance, par un contact avec des organismes producteurs d'antibiotiques (actinomycètes et champignons), par une résistance intrinsèque ou que cette résistance est associée à la croissance dans les environnements oligotrophes. De ce fait, à côté de la résistance intrinsèque ou naturelle des souches, plusieurs pratiques de société : alimentaires (antibiotiques dans les aliments, l'eau et les plantes), médicales (utilisation inappropriée des antibiotiques dans l'environnement médical) et agriculturales (utilisation non discriminative des antibiotiques dans la pratique agricole et vétérinaire) ont contribué et accrue largement au développement de la résistance et de la multirésistance (résistance acquise) **(Todar, 2008).**

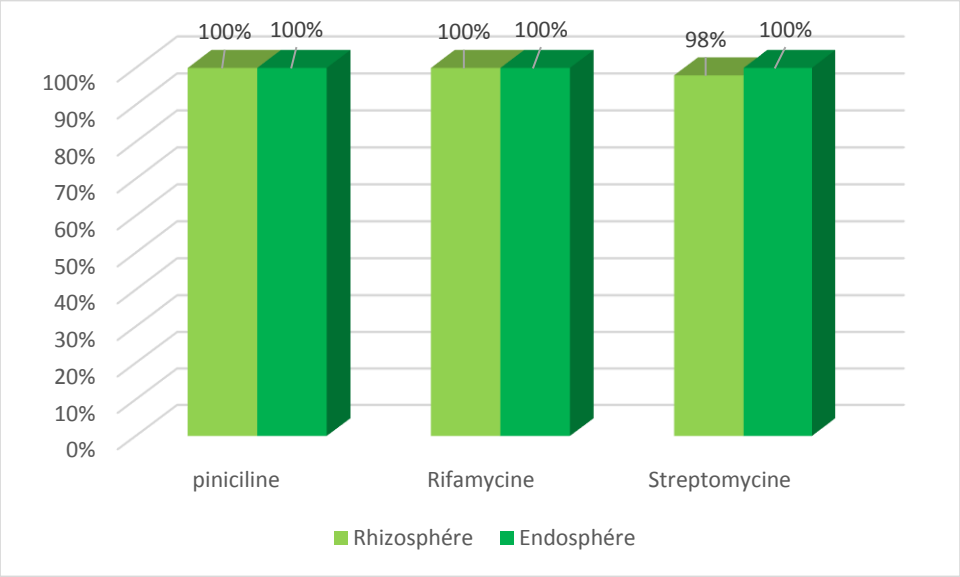


Figure 19 : la résistance des isolats rhizosphérique et endosphériqueaux antibiotiques.

- **La résistance aux métaux lourds**

La résistance aux métaux lourds par nos isolats a été testée avec 4 métaux qui sont le Cuivre, le Zinc, le Magnésium et les carbonate de calcium. Les résultats (**Figure 20**) ont montré que 100% de nos isolats (Rhizosphérique et endosphérique) ont pu développer en présence des 4 métaux, ce qui implique une résistance de nos isolats aux métaux lourds testés.

La propagation de la résistance aux antibiotiques n'est pas seulement le fruit d'une utilisation appropriée ou inappropriée des antibiotiques par l'homme, mais peut être la cause de l'impact d'autres activités anthropogènes. En effet certains polluants de l'environnement tels que les métaux lourds, composés hautement persistants et non biodégradables, engendrés par des activités diverses, se sont révélés un véritable fléau aussi bien sur le plan toxicologique mais également sur le plan écologique. Donc la pollution métallique peut avoir un rôle important dans le maintien et la prolifération de la résistance aux antibiotiques **(Baker-Austin et al., 2006).**

Des travaux réalisés par Allen et al (1977) et Calomiris et al (1984) sur des souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif, ont montré l'association entre la résistance aux métaux (Hg2+, Cd2+, Zn2+, Cu2+, Pb2+, Sn2+ Al3+) et la résistance aux antibiotiques en utilisant la technique des répliques. Ils ont observé que la multi-tolérance au Cu2+, au Pb2+, et au Zn2+ est associée de manière significative aux germes multi-résistants aux antibiotiques mais pas aux germes sensibles.

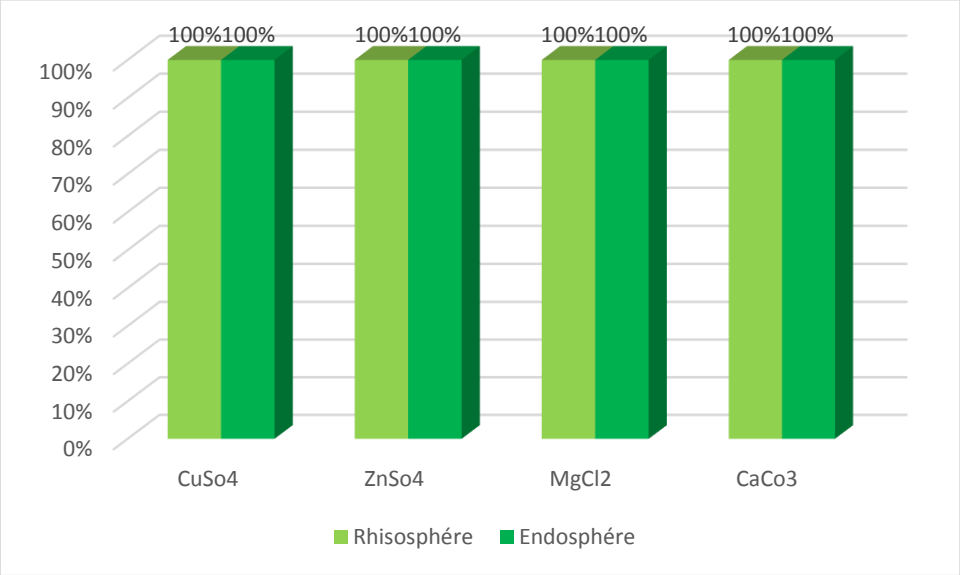


Figure20: la résistance des isolats rhizosphérique et endosphérique aux métaux lourd .

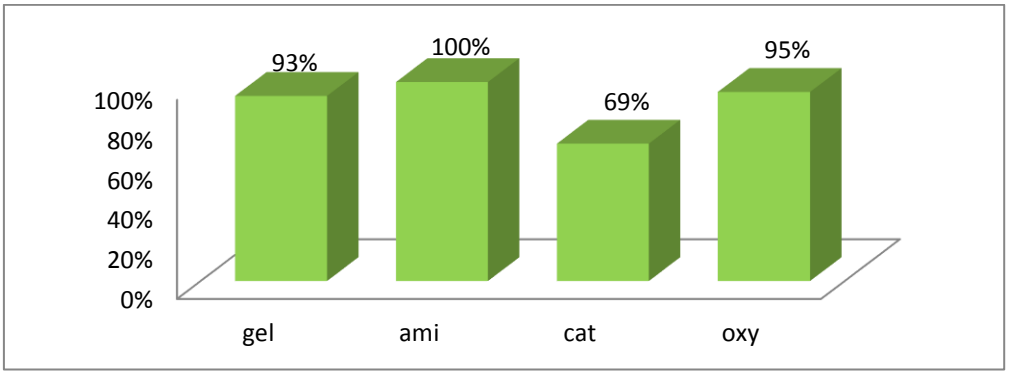
- **Les teste enzymatiques**

La totalité de nos souches sont révélé oxydase positive et seulement 2 souches qui ont une oxydase négative, et pour le catalase 29 souches sont positive et 13 souches qui sont catalase négative **(Figure20).**

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.

Les résultats obtenus par la coloration de Gram ont montré une dominance des bactéries à Gram positif, le test de catalase a approuvé ces résultats. En effet, La major partie des isolats, soit 29 souches possèdent une catalase positive et sont par conséquent des aéro-anérobies ou des aérobies stricts.

A



B

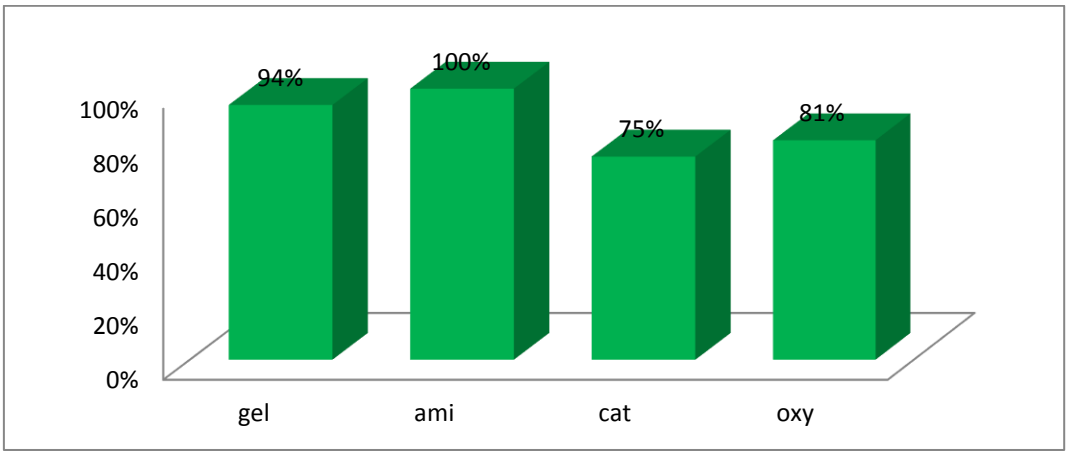


Figure 21 : Test des enzymes respiratoires des isolats rhizosphérique (A) endosphérique (B) étudiés.

6. Taxonomie numérique

Pour une caractérisation phénotypique de nos souches nous avons retenu 29 caractères incluant de trait physiologique, la croissance à déférente température et de pH, la résistance à des agents antibactériens (antibiotique et métaux lourd) et la tolérance à différente niveau de salinité (Na Cl et KCl).

L'analyse numérique des profils phénotypique établir de nos souches montre que les 42 souches se représente sur 42 branches différentes, ce nombre importants de branche indique que les souches examiné sont très diversifiées sur le plan phénotypique, elles défissent toute une branche de phénogramme **(Figure 21).**

L'analyse numérique des profils phénotypique nous a permis de délimiter 02 phénons majeurs A et B avec un indice de similitude de 0.875, ces 2 phénons se distinguent surtout par leurs pouvoirs d'alcanisation ou d'acidification du milieu.

Le phénon A renferme la majorité des souches (40 souches), elles présentent toutes les même caractéristiques phénotypiques, elles sont toutes des bactéries mésophiles, thermophiles, alcalinisantes, et selon le test de catalase, ces bactéries sont considérées comme des anaérobies strictes.

Le phénon B est représenté seulement par 2 souches, elles présentent les même caractéristique entre elles, à l'exception que la souche R020 est capable de se croitre dans un milieu acide (pH=4) et appartient à la famille de Gram – et elle a un catalase négatif tandis que la souche R029 est incapable de se croitre dans un pH acide et elle est aérobie (catalase +) et fait partie du groupe Gram +.

L'analyse numérique englobe la comparaison des caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques entre les souches de l'endosphère. Cette analyse ne peut être valable que sur une base comparative d'un maximum de caractères relatifs aux souches.
L'analyse numérique des profils phénotypique établis montre que les 16 souches sont représentées sur 16 branches déférentes. Le dendrogramme **(Figure 22)** qui dérive de cette analyse est formé de 3 phénons et de clusters mettant en évidence une grande diversité phénotypique entre les souches endosphériques.
Deux premières souches se distinguent nettement du reste des souches car elles ne sont regroupées avec aucune autre souche. Le reste des souches représentant la majorité est regroupé dans le phénon C.

En effet, les souches d'un même cluster présentent une grande variabilité au niveau de l'assimilation des sources d'azote ainsi qu'au niveau de leur tolérance aux métaux lourds et une résistance aux différents antibiotiques testés.

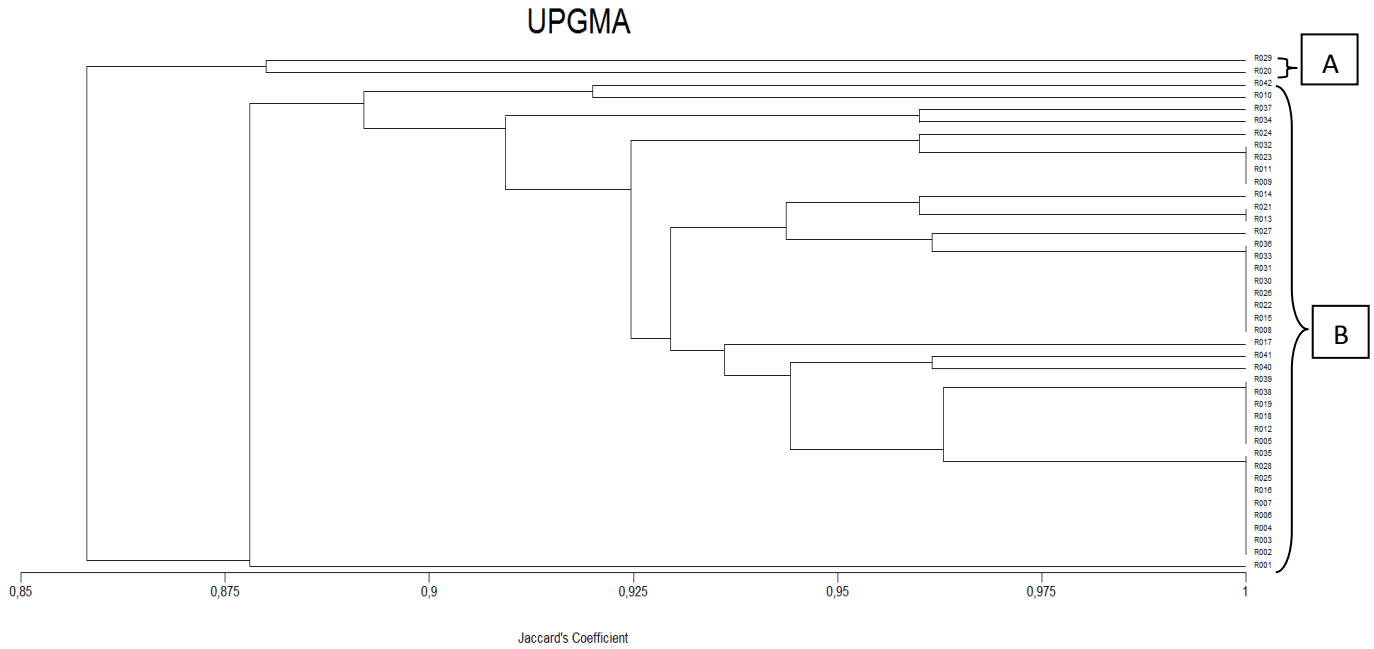


Figure 22 : Phénogramme représentant les caractéristiques phénotypiques des souches Rhizosphériques

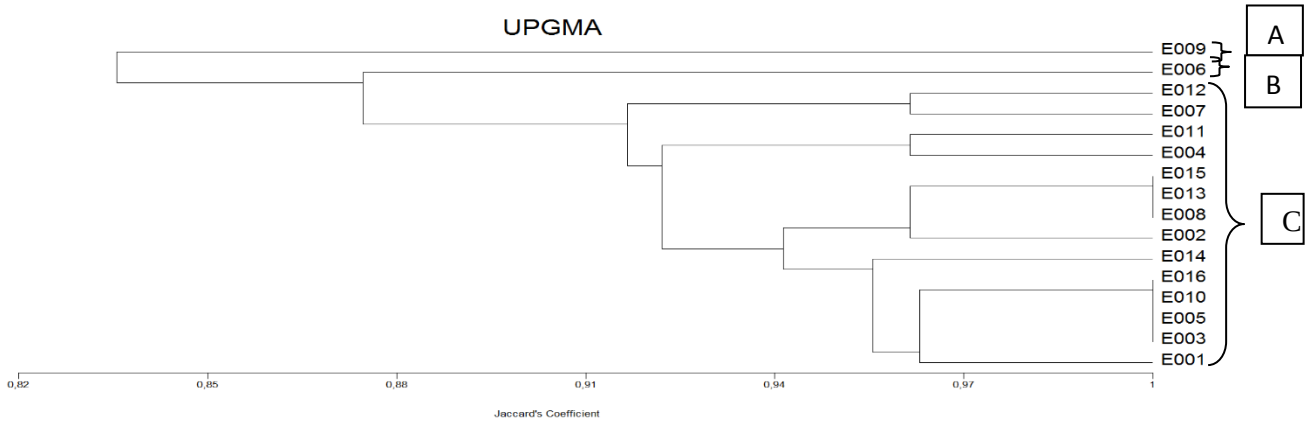
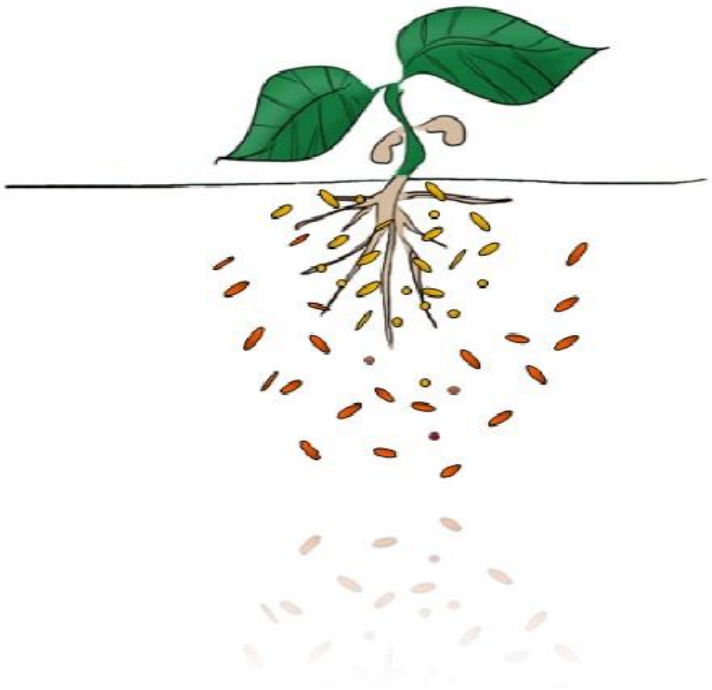


Figure 23 : Phénogramme représentant les caractéristiques phénotypique des souches endosphérique .

Conclusion



Conclusion

Notre étude a pour objectif l'analyse de la microflore bactérienne de l'environnement rhizosphérique et endosphérique de la plante *Medicago sativaL*.

La zone de notre étude se caractérise par un climat aride, un sol sableux, pauvre en matière organique et présente une faible rétention en eau et des températures élevée, cette zone de ce fait est considérée comme un environnement pauvre qui nécessite l'apport d'engrais chimiques pour le développement de l'agriculture. L'utilisation des produits agricoles conduit à des incidences négatives sur la qualité de l'environnement par la contamination de l'eau par une utilisation intensive de produits phytosanitaires et d'engrais de synthèse, présence dans les aliments de résidus nocifs pour la santé, appauvrissement des sols, réduction de la biodiversité du fait de la présence de mono cultures de masse, et particulièrement la perturbation de la vie microbienne.

L'isolement et la caractérisation de souches a été effectuée à partir d'un sol rhizosphérique, endosphérique provenant des racines de *Medicago sativa* et de l'intérieur de son système racinaire après broyage.

Les résultats que nous avons obtenus indiquent que le sol rhizosphérique est plus riche en bactéries que le compartiment endosphérique, cette richesse est due d'un côté à l'effet rhizosphère et de l'autre côté au pouvoir sélectif de la plante.

L'Etude microscopique après une coloration de Gram nous a permis de constater une dominance des bactéries du groupe Gram positif dans le sol rhizosphérique, une classe de bactéries qui renferme les formes les plus résistantes aux conditions extrêmes, alors que les isolats endophytiques ont une majorité Gram négatif.

La recherche de l'effet P.G.P.R chez nos 42 isolats rhizosphériques et 16 isolats endosphériques, a montré que la totalité de nos isolats sont fixatrice d'azote atmosphérique (100%), 60% des isolats rhizosphériques et 100% des isolats endosphérique ont une capacité de solubiliser le phosphate, et 67% des isolats rhizosphériques et 50% des isolats endosphérique présentent le pouvoir de produire les sidérophores. Cette capacité fonctionnelle, est très importante chez les bactéries associées à la luzerne quel que soit leurs origine.

La caractérisation phénotypiques de nos isolats a permis d'enregistrer que nos souche sont capable de supporter des variations de température, de pH, de vivre dans les conditions de salinité et de stress hydrique, aussi, elles présentent une forte résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds. Les isolats microbiens purifiés manifestent des caractères phénotypiques intéressants, les ressources microbiennes représentent des atouts naturels et rées si leur exploitation est conduite dans des conditions environnementales rigoureuses et que la valorisation de leurs potentialités s'oriente vers des applications biotechnologiques ciblées.

Au terme de ce travail, plusieurs perspectives semblent nécessaires à réaliser :

- Réaliser des études moléculaires pour déterminer avec précision le statut taxonomique des isolats.
- Elargir l'étude de la capacité de ces isolats à tolérer différentes conditions de stress environnemental.
- Etudier le pouvoir des isolats à produire d'autres phytohormones (Cytokines, désaminase, gibbérellines,…) et procéder à la caractérisation d'autres activités enzymatiques (pectinases, lipases, chitinases,….)
- Etudier l'effet des isolats sur des plantes à intérêt agricole, et les tester sous l'effet de différents stresses (salinité).