



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département: Productions végétales

القسم: الإنتاج النباتي

Spécialité: Ressources génétiques et amélioration des productions végétales

التخصص: موارد وراثية وتحسين الإنتاج النباتي

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De master

THEME

Etude des microflores associées aux racines de la légumineuse (*Cicer arietinum*) pour une production durable

Présenté Par : **BOUZID Oumnia Wissal**

Soutenu Publiquement le 14 /10/2025

Devant le jury composé de :

Promotrice :	Mme. ABIDI Lila	M.C.A, ENSA
Co-promotrice :	Mme KHENFOUS DJEBARI Bahria	M.C.A, ENSA
Présidente :	Mme BELOUHRANI Amel	M.C.A, ENSA
Examineur :	M. KADRI Adel	M.C.A, ENSA

Promotion 2020-2025

8.2 Importance agronomique.....	19
8.3 Importance économique.....	20
9. Situation des pois chiches cultivés en Algérie.....	20
9.1 Les zones de culture et de production du pois chiche en Algérie	21
9.2 Types de cultures cultivées en Algérie	22
9.3 Les principales variétés de pois chiches cultivées en Algérie.....	22
10. La Techniques de culture.....	23
11. Contraintes phytosanitaires.....	25
11.1 Les maladies	25
11.2 Les ravageurs	26
12. Contraintes abiotiques majeurs du pois chiche	26
13. Mécanismes d'adaptation du pois chiche face aux stress abiotiques	28
CHAPITRE □ : Interactions entre les rhizobia et le pois chiche	30
1. Relations symbiotiques dans des nodules racinaires des légumineuses	31
2. Mécanismes biologiques de fixation d'azote	31
3. Développement des nodules	32
4. Les rhizobia.....	32
4.1 Classification actuelle de Rhizobia.....	33
5. Facteurs biotiques et abiotiques conditionnant la nodulation	34
6. Diversité des rhizobiums nodulant le pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	35
7. Méthodes de caractérisation des bactéries nodulantes associées au pois chiche.....	36
8. Mécanismes de promotion de croissance des plantes par les bactéries rhizosphériques	37
9. Activités de tolérance au stress.....	41
10. Utilisation des rhizobiums comme biofertilisants	44
Matériel et Méthodes.....	42
□. Procédure d'isolement, de caractérisation et d'identification des isolats bactériens	46
1. Présentation des laboratoires d'étude.....	46
2. Matériel bactérien	46
3. Isolement des bactéries rhizosphériques	46
3.1 Manipulation du matériel végétal	46
3.2 Désinfection de la surface des nodules	47
3.3 Isolement à partir des nodules.....	47
3.4 Ensemencement	48
4. Identification et caractérisation des isolats	48
4.1 Caractérisation culturelle des isolats	48
4.2 Purification des isolats bactériens	49
4.3 Conservation des isolats	50

4.4	Caractérisation biochimique	50
4.5	Étude des interactions entre isolats	52
4.6	Caractérisation physiologique.....	52
4.7	Identification des isolats bactériens	53
□.	Essai sous serre	53
1.	Sites d'expérimentation.....	53
2.	Conditions environnementales de l'essai	54
3.	Matériel végétal	56
3.1	FLIP 90-13C	56
3.2	FLIP 01-29C	56
4.	Dispositif expérimental	57
5.	Installation de la culture du pois chiche	58
6.	Mise en place de la culture.....	59
8.	Entretien et suivi de la culture.....	61
11.	Paramètres végétaux étudiés	70
12.	Paramètres édaphiques (azote et phosphore).....	73
III	Essai de germination sous stress salin	73
□.	Analyses statistiques	75
Résultats et discussion	72
1.	Isolats bactériens.....	79
2.	Étude des caractères culturaux des isolats	79
2.1	Sur milieu de culture YMA	79
2.2	Sur milieu YMA+RC	80
2.3	Sur milieu YMA+BBT.....	81
2.4	Test de gram	83
3.	Caractérisation biochimique	84
3.1	Fixation d'Azote atmosphérique	84
3.2	Solubilisation du phosphore	85
3.3	Solubilisation du zinc.....	86
3.4	Production d'Indole-3-acétique	86
3.5	Production d'amylase.....	87
3.6	Production de protéase.....	88
3.7	Production de la catalase.....	89
3.8	Interaction entre les isolats	90
4.	Étude de la tolérance des isolats bactériens à différents stress physico-chimiques	91
4.1	Tolérance des isolats au NaCl	91
4.2	Tolérance des isolats aux températures	94

4.3 Tolérance des isolats au pH.....	97
5. Identification des isolats bactériens	99
6.1 Test de germination préliminaire pour l'essai sous serre.....	101
6.2 Germination des graines sous stress salin	101
6.3 Sélection des isolats bactériens pour l'inoculation racinaire du pois chiche en vue d'une production durable	103
7. Paramètres agronomiques	103
11. Analyses physico-chimiques du substrat post-culture	112
12. Résultats de l'Analyse en Composantes Principales (ACP).....	113
12.1. ACP en condition du pH.....	113
12.2 ACP en condition d'NaCl.....	115
12.3 ACP en conditions de températures différentes	117
12.4 ACP des paramètres végétaux	119
Conclusion générale.....	73
Références bibliographiques.....	127
Annexes.....	131

ABSTRACT:

The excessive use of chemical fertilizers, coupled with ongoing soil degradation, poses serious threats to environmental integrity and long-term agricultural sustainability. Consequently, biological agriculture and microbe-based biofertilizers are gaining prominence as eco-friendly alternatives. In this study, seven bacterial strains associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.) were isolated from root nodules of two cultivars (FLIP 90-13C and FLIP 01-29C) and subjected to comprehensive morphological, physiological, and biochemical characterization to evaluate their potential as bioinoculants. All isolates were identified as Gram-negative, catalase- and oxidase-positive bacilli, producing circular colonies of whitish to creamy coloration with smooth to slightly mucoid surfaces and regular margins. Functional assays revealed that most strains were capable of atmospheric nitrogen fixation and solubilization of phosphorus and zinc, while none exhibited IAA, amylase, or protease production. Catalase activity was consistently detected, indicating enhanced tolerance to oxidative stress. The isolates demonstrated considerable adaptability to abiotic stresses, including variable pH, salinity, and temperature. Among the isolates, NOD2 and NOD3 are the most promising for saline soils, ND1 and ND4 are suitable for moderately saline soils and semi-arid areas, NOD1, ND2, and ND3 are adapted to varying thermal conditions, and ND1, ND2, ND3, and ND4 show differentiated pH tolerance, demonstrating notable eurytolerance. Compatibility tests confirmed the absence of antagonistic interactions, supporting the feasibility of formulating multi-strain inoculants. Although germination assays under saline stress showed limited overall success, greenhouse trials highlighted the capacity of strain NOD1 to significantly enhance root length compared to uninoculated controls. Despite the presence of typical Fusarium wilt symptoms that caused an overall limitation of plant growth, these results highlight the ecological and agronomic role of chickpea-associated rhizobia, identifying strains NOD1 and ND2 as promising inoculants for the development of biofertilizers, while the other strains exhibit complementary biochemical traits useful for sustainable agriculture.

Key-words: PGPR, Rhizobia, Biofertilizer, *Cicer arietinum*, Symbiotic association.

ملخص :

إنّ الاستعمال المفرط للأسمدة الكيميائية وتدهور التربة بشكل مستمر يُمثّلان تهديدًا خطيرًا للبيئة وللإستدامة الزراعية. وفي هذا السياق، تُعدّ الأسمدة الحيوية المعتمدة على الكائنات الحية الدقيقة بديلًا مستدامًا وصديقًا للبيئة. تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتوصيف سبع عزلات بكتيرية مرتبطة بنبات الحمص (*Cicer arietinum* L.)، تم الحصول عليها من العقد الجذرية لصنفي (FLIP 90-13C, FLIP 01-29C) أظهرت النتائج أنّ جميع العزلات عبارة عن عصيات سالبة الغرام موجبة الكاتالاز والأوكسيداز، مكونة مستعمرات دائرية ذات لون كريمي إلى أبيض، بسطح أملس أو لزج قليلًا وبهوامش منتظمة. أظهرت الاختبارات الوظيفية قدرة معظم العزلات على تثبيت النيتروجين الجوي وإذابة الفوسفور والزنك، في حين لم يُسجل إنتاج للأوكسين (IAA) أو الأميلاز أو

البروتياز. كما ظهرت فعالية إنزيم الكاتالاز لدى جميع العزلات مما يعكس قدرتها على تحمل الإجهاد التأكسدي. وأثبتت العزلات كفاءة عالية في مقاومة الإجهادات اللاأحيائية مثل الملوحة، تباين الـ pH ودرجات الحرارة، من بين العزلات، يُعتبر NOD2 و NOD3 الأكثر وعدًا للتربة المالحة، بينما يناسب ND1 و ND4 التربة معتدلة الملوحة والمناطق شبه الجافة، ويكيف ND2 و ND3 مع الظروف الحرارية المتغيرة، ويظهر ND1 و ND2 و ND3 و ND4 تحملًا متفاوتًا لدرجة الحموضة، مما يدل على قدرة تحمل واسعة ملحوظة. وأكدت اختبارات التوافق غياب أي تفاعل تضادي، مما يُتيح إمكانية تطوير لقاحات متعددة السلالات. وأظهرت تجارب النباتات تحت الإجهاد الملحي انخفاضًا عامًا في نسبة النباتات، بينما بينت التجارب في الأوعية قدرة العزلة NOD1 على زيادة طول الجذور بشكل ملحوظ مقارنة بالمعاملة الشاهدة، على الرغم من ظهور أعراض نموذجية لذبول الفيوزاريوم التي أدت إلى تقييد عام في نمو النباتات المصابة، فإن هذه النتائج تسلط الضوء على الدور الإيكولوجي والزراعي للريزوبيا المرتبطة بالحمص، حيث تم تحديد السلالتين NOD1 و ND2 كمعلقات واعدة لتطوير الأسمدة الحيوية، في حين تُظهر السلالات الأخرى صفات بيوكيميائية تكميلية مفيدة للزراعة المستدامة.

كلمات مفاتيح: بكتيريا محفزة لنمو النبات (PGPR)، ريزوبيا، أسمدة حيوية *Cicer arietinum*، الارتباط التكافلي

Résumé :

L'utilisation excessive des engrais chimiques, combinée à la dégradation continue des sols, représente une menace sérieuse pour l'environnement et la durabilité agricole. Dans ce contexte, l'agriculture biologique et les biofertilisants à base de microorganismes apparaissent comme une alternative durable et respectueuse de l'environnement. La présente étude porte sur l'isolement et la caractérisation morphologique, physiologique et biochimique de sept isolats bactériennes associées au pois chiche (*Cicer arietinum* L.), issues des nodules racinaires de deux variétés (FLIP 90-13C et FLIP 01-29C). Les isolats ont été identifiés comme des Gram négatif, catalase- et oxydase-positifs, formant des colonies circulaires de couleur crème à blanchâtre, à surface lisse ou légèrement muqueuse et à contours réguliers. Les tests fonctionnels ont montré que la majorité des isolats fixaient l'azote atmosphérique et solubilisait le phosphore et le zinc, alors qu'aucune n'a produit d'AIA, d'amylase ou de protéase. L'activité catalasique a été observée chez tous les isolats, traduisant une tolérance accrue au stress oxydatif. Les isolats ont présenté une large tolérance vis-à-vis des stress abiotiques (salinité, pH et température), Parmi les isolats, NOD2 et NOD3 se révèlent les plus prometteurs pour les sols salins, ND1 et ND4 conviennent respectivement aux sols modérément salins et aux zones semi-arides, NOD1, ND2 et ND3 sont adaptés aux conditions thermiques variables, et ND1, ND2, ND3 et ND4 présentent une tolérance différenciée au pH, illustrant une eurytolérance notable. Les tests de compatibilité n'ont révélé aucune interaction antagoniste, suggérant la possibilité de développer des inoculum multi-isolats. Les essais de germination sous stress salin ont montré une faible réussite globale, tandis que les expérimentations en pots ont mis en évidence la capacité de l'isolat NOD1 à améliorer significativement la longueur racinaire par rapport aux témoins, malgré la présence de symptômes typiques de fusariose ayant généré une limitation globale de la croissance des

plants atteints. Ces résultats mettent en évidence le rôle écologique et agronomique des rhizobia associés au pois chiche, identifiant les isolats NOD1 et ND2 comme inoculum prometteurs pour le développement de biofertilisants, tandis que les autres isolats présentent des traits biochimiques complémentaires utiles pour une agriculture durable.

Mots clés : PGPR, Rhizobia, Biofertilisant, *Cicer arietinum*, Association symbiotique.