



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 : Botanique

القسم: علم النبات

Spécialité : Interaction plantes-pathogènes et Protection
des plantes

التخصص: تفاعل النباتات – ممرضات
النباتات وحماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THÈME

**Isolement et caractérisation des bactéries associées à quelques
échantillons de semence et de la rhizosphère du pois chiche**

Présenté par : Mlle. KHERFI Imene

Soutenu publiquement le : 11/11/2024

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme LAALA S.	MCA (ENSA)
Promotrice :	Mme. KHENFOUS-DJEBARI B.	MCB (ENSA)
Examineur :	M. RAHMOUNE B.	MCA (ENSA)
Invité :	M. BOUZAA S.	(OAIC)

Promotion : 2019/2024

Table de matière

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des annexes.....	IV
Liste des abréviations	VI
Introduction	1
Synthèse bibliographique	4
1. Généralités sur les légumineuses	5
1.1. Importance nutritionnelle et économique des légumineuses.....	5
1.2. Espèces de légumineuses.....	5
2. Généralités sur la culture du Pois chiche.....	7
2.1. Origine du pois chiche.....	7
2.2. Classification botanique de <i>Cicer arietinum</i> L.....	7
2.3. Description botanique de l'espèce.....	8
2.4. Intérêts nutritionnels et agronomiques du pois chiche	10
2.5. Importance économique de pois chiche.....	10
2.5.1. Dans le monde.....	10
2.5.2. En Algérie	10
2.6. Facteurs limitant la production du pois chiche.....	11
2.6.1. Facteurs abiotiques.....	11
2.6.2. Facteurs biotiques.....	11
2.6.2.1. Insectes ravageurs.....	11
2.6.2.2. Nématodes parasites	12
2.6.2.3. Maladies.....	12
3. Bactérioses de légumineuses.....	12
3.1. Bactériose due à <i>Xanthomonas fuscans</i> subsp. <i>fuscans</i>	12
3.1.1. Taxonomie et nomenclature	12
3.1.2. Caractères cultureux et cellulaires.....	13
3.1.3. Symptômes de la tache brune.....	13
3.1.4. Gamme d'hôte	13
3.1.5. Conservation et dissémination	13
3.1.6. Distribution géographique.....	13
3.2. Bactériose due à <i>Pseudomonas syringae</i>	14
3.2.1. Taxonomie.....	14

3.2.2.	Caractères cultureux et cellulaires.....	14
3.2.3.	Caractères biochimiques	15
3.2.4.	Symptômes causés par <i>P. syringae</i>	15
3.2.5.	Gamme d'hôtes	16
3.2.6.	Distribution géographique.....	16
3.2.7.	Conservation et dissémination	16
3.3.	Bactériose due à <i>Pseudomonas viridiflava</i>	16
3.3.1.	Taxonomie.....	16
3.3.2.	Caractères cultureux et cellulaires.....	16
3.3.3.	Caractères biochimiques	17
3.3.4.	Symptômes causés par <i>Pseudomonas viridiflava</i>	17
3.3.5.	Gamme d'hôtes	17
3.3.6.	Distribution géographique.....	17
3.3.7.	Conservation et dissémination	18
3.4.	Bactériose due à <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	18
3.4.1.	Taxonomie.....	18
3.4.2.	Caractères morphologiques	18
3.4.3.	Caractères biochimiques	18
3.4.4.	Symptômes causés par <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	19
3.4.5.	Gamme d'hôtes	20
3.4.6.	Distribution géographique.....	20
3.4.7.	Conservation et dissémination	20
3.5.	Bactériose due à <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>	21
3.5.1.	Taxonomie.....	21
3.5.2.	Caractères biochimiques	21
3.5.3.	Symptômes causés par <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i>	22
3.5.4.	Gamme d'hôtes	22
3.5.5.	Distribution géographique.....	22
3.5.6.	Conservation et dissémination	22
4.	Généralités sur la rhizosphère	23
4.1.	Microflore rhizosphérique	23
4.2.	PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).....	24
4.3.	Modes d'action des PGPR.....	24
4.3.1.	Mode direct	25
4.3.1.1.	Fixation d'azote	25
4.3.1.2.	Solubilisation des phosphates.....	25
4.3.1.3.	Dissolution du potassium.....	26
4.3.1.4.	Production des sidérophores	26
4.3.2.	Mode indirect	26
4.3.2.1.	Gestion du stress	26
4.3.2.2.	Production d'enzymes hydrolytiques	27

4.3.2.3. Production des composés organiques volatils (COV)	27
4.3.2.4. Production d'exopolysaccharides (EPS)	27
4.3.2.5. Production d'antibiotiques.....	28
4.3.2.6. Production d'hormones de croissance végétale.....	28
Matériel et Méthodes	29
1. Matériel biologique	30
1.1. Origine des semences et du sol rhizosphérique	30
1.2. Présentation de la région d'étude.....	30
2. Analyse et identification des bactéries par la méthode d'isolement sur milieu de culture.....	31
2.1. Analyse des semences	31
2.1.1. Macération des semences	31
2.2. Analyse microbiologique du sol	32
2.2.1. Extraction de la biomasse microbienne.....	32
2.3. Analyse de la microflore bactérienne totales par spectrophotométrie.....	32
2.4. Ensemencement des macérats	32
2.5. Lecture des boites	33
2.6. Repiquage et purification.....	33
2.7. Conservation des isolats	33
2.8. Caractérisation phénotypique des isolats.....	34
2.8.1. Caractères morfo-cultureux	34
2.8.2. Recherche des pigments fluorescents.....	34
2.8.3. Détermination du Gram au KOH à 3%	35
2.8.4. Vérification de pouvoir pathogène sur Tabac	35
2.9. Caractères biochimiques.....	36
2.9.1. Recherche de l'enzyme levane sucrase	36
2.9.2. Recherche de l'enzyme catalase.....	36
2.9.3. Recherche des enzyme cytochromes oxydases	36
2.9.4. Recherche des enzymes pectinolytiques	37
2.9.5. Mode d'utilisation du glucose sur Hugh et Leifson	37
2.9.6. Recherche de l'arginine dihydrolase	37
2.10. Tests sur Galerie API 20 ^E	37
2.11. Tests complémentaires pour la recherche des bactéries bénéfiques.....	38
2.11.1. Absorption du rouge Congo	38
2.11.2. Vitesse de croissance des bactéries	38
2.11.3. Solubilisation des phosphates.....	38
2.11.4. Croissance des bactéries sur milieu dépourvu de source d'azote	39

2.12.	Vérification du pouvoir pathogène sur pois chiche	39
2.12.1.	Préparation du matériel végétal	39
2.12.2.	Préparation de l'inoculum	39
2.12.3.	Inoculation des plantules	39
2.13.	Mise en évidence de l'activité antagoniste des bactéries isolées.....	40
2.13.1.	Intérêt de l'étude.....	40
2.13.2.	Matériel biologique utilisé pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne 40	
2.13.3.	Technique de strie croisée par confrontation déphasée.....	41
Résultats et discussions		42
1. Résultats et discussions.....		43
1.1.	Isolement sur milieux de culture	43
1.2.	Purification des isolats.....	44
1.3.	Caractérisation phénotypique des isolats obtenus	45
1.3.1.	Détermination du Gram au KOH à 3%	45
1.3.2.	Résultats du test d'hypersensibilité sur Tabac	46
1.3.3.	Mode d'utilisation du glucose sur Hugh et Leifson	47
1.4.	Caractérisation biochimique des isolats obtenus	49
1.4.1.	Recherche de l'enzyme Levane sucrase.....	49
1.4.2.	Recherche de l'enzyme catalase.....	50
1.4.3.	Résultats de test Cytochrome oxydase	50
1.4.4.	Recherche des enzymes pectinolytiques	51
1.4.5.	Recherche de l'arginine dihydrolase	52
1.5.	Résultats du test des Galeries API E	53
1.6.	Résultats des tests complémentaires pour la recherche des bactéries bénéfiques	54
1.6.1.	Absorption du rouge Congo	54
1.6.2.	Vitesse de croissance des bactéries	55
1.6.3.	Solubilisation des phosphates.....	55
1.6.4.	Résultats de Croissance des bactéries sur milieu dépourvu de source d'azote... ..	56
1.7.	Identification des isolats	57
1.7.1.	Isolats pathogènes	58
1.7.1.1.	Isolats pathogènes du sol rhizosphérique	58
1.7.1.2.	Isolats pathogènes de semences.....	58
1.7.2.	Isolats non pathogènes (commensales)	58
1.7.2.1.	Isolats non pathogènes du sol rhizosphérique	58
1.7.2.2.	Isolats non pathogènes de semences.....	58
1.8.	Etude du pouvoir pathogène sur le pois chiche	61
1.9.	Résultats de la confrontation par la technique de strie croisés	63
Conclusion		65

Références bibliographiques	68
Annexes	86
Résumé	98

Résumé

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), est une légumineuse alimentaire de haute valeur nutritionnelle qui se distingue par sa richesse en protéines, minéraux et vitamines, ainsi que par son importance dans les systèmes agricoles. La productivité de cette culture est fortement influencée par son microbiote, tant au niveau des semences que du sol rhizosphérique. Cette communauté microbienne comprend d'une part des bactéries pathogènes, susceptibles d'altérer la viabilité des semences et la croissance des plants, et d'autres part des bactéries bénéfiques, notamment les bactéries symbiotiques du sol capables d'établir une symbiose fixatrice d'azote atmosphérique. Cette étude, visant à analyser et caractériser les bactéries isolées des semences et de la rhizosphère du pois chiche, a révélé la présence d'une microflore riche et diversifiée, composées de bactéries phytopathogènes appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Pantoea* et *Clavibacter*, et aussi la mise en évidence de bactéries non pathogènes associées à la semence et à la rhizosphère montrant des caractères bénéfiques à la croissance des plantes.

Mots-clés : Pois chiche, Rhizosphère, Semence, Bactérie.

Abstract

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is a food legume of high nutritional value distinguished by its richness in proteins, minerals and vitamins, as well its importance in agricultural systems. The productivity of the crop is strongly influenced by its microbiota, both at the seed and rhizospheric soil levels. This microbial community includes, pathogenic bacteria capable of altering seed viability and plant growth, and beneficial bacteria, particularly soil symbiotic bacteria capable of establishing atmospheric nitrogen-fixing symbiosis. This study, aimed at analyzing and characterizing bacteria isolated from chickpea seeds and rhizosphere, revealed the presence of a rich and diverse microflora, composed of phytopathogenic bacteria belonging to the genera *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Pantoea* and *Clavibacter*, as well as the identification of non-pathogenic bacteria associated with seed and rhizosphere showing beneficial characteristics for plant growth.

Keywords : Chickpea, Rhizosphere, Seed, Bacteria.

ملخص

الحمص هو من البقوليات الغذائية ذات القيمة الغذائية العالية، ويتميز بغناه بالبروتينات والمعادن والفيتامينات، وكذلك بأهميته في النظم الزراعية. تتأثر إنتاجية هذا المحصول بشكل كبير بالكائنات الدقيقة المرتبطة به، سواء على مستوى البذور أو التربة المحيطة بالجذور. يشمل هذا المجتمع الميكروبي من جهة البكتيريا المُمرضة القادرة على التأثير على حيوية البذور ونمو النبات، ومن جهة أخرى البكتيريا المفيدة، وخاصة البكتيريا التكافلية في التربة القادرة على تأسيس تكافل مثبت للنيتروجين الجوي. كشفت هذه الدراسة، التي تهدف إلى تحليل وتوصيف البكتيريا المعزولة من بذور الحمص ومنطقة الجذور، عن وجود مجتمع ميكروبي غني ومتنوع، يتكون من بكتيريا مُمرضة للنبات تنتمي إلى أجناس *Pseudomonas*، بالإضافة إلى اكتشاف بكتيريا غير مُمرضة مرتبطة بالبذور *Xanthomonas*، *Erwinia*، *Pantoea*، *Clavibacter* والتربة المحيطة بالجذور تظهر خصائص مفيدة لنمو النبات

الكلمات المفتاحية: الحمص، التربة المحيطة بالجذور، البذور، البكتيريا