

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



N° d'ordre :

N° de série :

**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

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

**MASTER**

**Domaine:** Sciences de la nature et de la vie

**Filière:** Ecologie et environnement

**Spécialité :** Ecologie

**Par :** BHAZ Imane

**BOUZID Fatima Zahra**

**Thème**

**Diversité phénotypique de quelques isolats rhizobiens associés à  
la culture d'arachide (*Arachis hypogaea* L.) dans la région de  
Ghardaïa**

**Soutenu publiquement le :** / /2022

**Devant le jury composé de :**

M. KHENE M A.	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
M. KRAIMAT M.	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
Mme. OULED HEDDAR M.	/	Univ. Ghardaïa	<b>Co-encadreur</b>
Mme. ADDOUNE N.	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaïa	<b>Examineur</b>

**Année universitaire : 2021/2022**

# Remerciements

*En premier lieu, nous rendons grâce à **Dieu** le tout puissant qui nous a donné la force, la santé, la volonté, le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail dans des bonnes conditions.*

*Nous exprimons nos remerciements les plus distingués à notre encadreur **Mr. KRAIMAT Mohamed**. pour son orientation, ses conseils, et son aide à progresser dans nos recherches grâce à son esprit critique et son soutien tout le long de la réalisation de travail mais aussi pour son humour encourageant.*

*Nous remercions les membres de jury **Mr. KHENE Mohamed Amine**. et **Mme. ADDOUNE Noura**. qui nous ont fait l'honneur d'accepté juger de notre travail.*

*Une mention spéciale pour **M. BENHAMMOUDA Hicham**. et **Mlle. HADJ AMAR Nadjat**. pour leur nombreux conseils, remarques ,pertinents surtout leur patience durant la réalisation de notre travail, ainsi qu'à toute l'équipe de laboratoire universitaire de la faculté des sciences et de la nature et de la vie et sciences de la terre université de Ghardaïa.*

*Notre reconnaissance va à tous les habitants qui ont autorisé à utiliser leur parcelles pour l'échantillonnage.*

*Enfin, un grand merci à nos familles respectives pour leurs soutiens et à toute personne ayant participé et aidé de près ou de loin au bon déroulement de nos études.*



# *Dédicace*



*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie le fruit de ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde:*

*Ma mère et mon père Khira et Mohammed pour leur amour et pour leur patience, conseils, aide et aussi de m'avoir encouragée pour la réalisation de ce travail, et pour leur soutien moral et matériel durant toutes les étapes de ma vie, je leurs dit merci mille fois. Aucun hommage ni remerciement ne pourrait être suffisant*

*A ma seul chère sœur: Ranya*

*A mes chers frères : Abd El Basset , Abd El Momen et Diaa*

*A ma chère cousin: Khadidja*

*A toute la famille de BAHAZ et BENNADIR*

*A mes chères amies : Salma, Rahma, Aicha, Ouiam, Maroua et Raouia*

*A mon binôme Fatima Zahra qui a partagé avec moi les bons et les durs moments*

*Ainsi qu'à toutes les personnes qui me sont chères que j'ai omis de citer.*

## *Imane*





## *Dédicace*

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie le fruit de ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde:*

*A la mémoire de mon père Djalloul que Allah l'accueille dans son vaste paradis*

*A ma mère Bakhta qui a beaucoup sacrifié à mon bonheur, qui m'a encouragé à terminer mes études. Aucun hommage ni remerciement ne pourrait être suffisant*

*A mes chères sœurs : Oum El Khir, Salima, Nawal, Masouda et Wisal*

*A mes chers frères, leurs femmes et enfants*

*A toute la famille de BOUZID et SOUILLEM*

*A mes chères amies : Salma et Rahma*

*A mon binôme Imane qui a partagé avec moi les bons et les durs moments*

*Ainsi qu'à toutes les personnes qui me sont chères que j'ai omis de citer*

## *Fatima Zahra*



## Résumé

La présente étude a été réalisée pour évaluer et déterminer la caractérisation phénotypique des aspects morphologiques, biochimiques et physiologiques chez l'arachide (*Arachis hypogaea* L.), une légumineuse capable d'établir une symbiose avec des bactéries du sol (*Rhizobia*). Cette interaction aboutit à la formation de nodules au niveau des racines de la plante, qui a un rôle important dans la fertilisation biologique et l'amélioration des paramètres physico-chimiques des sols. En effet, seize (16) isolats ont été collectés dans deux régions de la Wilaya de Ghardaïa (Metlili et Sebseb), tout en prenant compte des situations géographiques ainsi que des caractéristiques édaphiques des parcelles échantillonnées.

Les résultats obtenus ont montré que les isolats rhizobiens étudiés se subdivisent en deux catégories, à croissance rapide et lente, capables de croître dans des salinités allant de 0,5% à 6%. En effet, le test de coloration de Gram révèlent que la majorité des isolats sont des bacilles à Gram + ou -, possédant une capacité de solubilisation du phosphore plus ou moins variable. Ceci est dû, le fait que, les isolats provenant des sols, dans la plupart des cas, des sols à pH modérément alcalin caractérisé par des valeurs de conductivité électrique variant entre légèrement salés et extrêmement salés et d'une texture à prédominance sableuse. Par ailleurs, l'analyse multivariée de ces caractéristiques phénotypiques montre deux grands groupes à 69% de similarité. Tandis que d'API 20NE montre que la plupart des isolats bactériens étudiés présente un indice de similarité faible contrairement aux résultats des API20E qui sont similaires à 100% (S6 et S14).

**Mots clés:** Arachide, nodules, *Rhizobia*, symbiose, Ghardaia.

## **Abstract**

The present study was carried out to evaluate and determine the phenotypical characterization of morphological, biochemical and physiological aspects in peanut (*Arachis hypogaea* L.), a legume capable of establishing symbiosis with soil bacteria (*Rhizobia*). This interaction results in the formation of nodules at the level of the roots of the plant, which has an important role in biological fertilization and the improvement of the physico-chemical parameters of the soil. Indeed, sixteen(16) isolates were collected in two regions of the Wilaya of Ghardaïa (Metlili and Sebseb), while taking into account the geographical situations as well as the edaphic characteristics of the plots sampled.

The results obtained showed that the rhizobial isolates studied are subdivided into two categories, fast and slow growing, capable of growing in salinities ranging from 0.5% to 6%. Indeed, the Gram staining test reveals that the majority of isolates are Bacillus to Gram + or - , with a more or less variable phosphorus solubilization capacity. This is due to the fact that isolates taken from soils, in most cases, are moderately alkaline pH soils characterized by electrical conductivity values ranging from slightly salty to extremely salty and with a predominantly sandy texture. Moreover, the multivariate analysis of these phenotypical characteristics shows two large groups with 69% similarity. While of API 20NE shows that most of the bacterial isolates studied have a low similarity index in contrary the results of API20E which are 100% similar (S6 and S14).

**Keywords:** Peanut, nodules, *Rhizobia*, symbiosis, Ghardaia.

## ملخص

أجريت الدراسة الحالية لتقييم وتحديد الخصائص المظهرية للجوانب المورفولوجية والكيميائية والفيزيولوجية في الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) ، وهو بقول قادر على إقامة تكافل مع بكتيريا التربة (*Rhizobia*). ينتج عن هذا التفاعل تكوين عقيدات على مستوى جذور النبات، والتي لها دور مهم في الإخصاب الحيوي وتحسين الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة. وقد تم جمع ستة عشر (16) عزلة من منطقتين بولاية غرداية (متليلي وسبسب) مع الأخذ بالإعتبار المواقع الجغرافية والخصائص التكوينية للقطع التي تم أخذ عينات منها.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن العزلات الجذرية المدروسة مقسمة إلى فئتين ، سريعة النمو وبطيئة النمو ، فهي قادرة على النمو في ملوحة تتراوح من 0,5% إلى 6% ، وبالفعل أظهر اختبار صبغة Gram أن غالبية العزلات هي عصيات ذات Gram موجب أو سالب ، مع قدرة تذويب الفوسفور المتغيرة إلى حد ما. ويرجع ذلك إلى حقيقة أن العزلات المأخوذة من التربة ، في معظم الحالات ، هي تربة ذات وسط قاعدي معتدل تتميز بقيم ناقليّة كهربائية تتراوح بين قليلة الملوحة و شديدة الملوحة وذات قوام رملي في الغالب. علاوة على ذلك ، التحليل متعدد المتغيرات للخصائص المظهرية يظهر مجموعتين كبيرتين مع تشابه 69%. بينما يظهر API 20NE أن معظم العزلات البكتيرية المدروسة لها مؤشر تشابه منخفض ، على عكس نتائج API20E التي تتشابه بنسبة 100% (S6 و S14).

**الكلمات المفتاحية:** فول سوداني، عقيدات، *Rhizobia*، تكافل، غرداية.

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Données climatiques de Ghardaïa (1998 -2018).	12
<b>02</b>	Croissance des isolats à différentes concentrations de Na cl.	32



## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Arbre phylogénétique basé sur la méthode d'Neighbor-Joining de la plupart des souches représentatives isolées des nodules racinaires d' <i>A. hypogaea</i> .	03
<b>02</b>	Schéma des différentes étapes conduisant à la formation du nodule.	04
<b>03</b>	Représentation d'une plante d'arachide.	06
<b>04</b>	Evolution des superficies, productions et rendements d'arachide en Algérie.	07
<b>05</b>	Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le Climagramme d'EMBERGER.	14
<b>06</b>	Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN appliquée à la région de Ghardaïa (1998 -2018).	15
<b>07</b>	Coupe géologique schématique de la région du M'Zab (ANRH, 2017).	16
<b>08</b>	Localisation géographique des isolats au niveau de la région de Ghardaïa (Originale).	19
<b>09</b>	Conservation des nodules(Originale).	20
<b>10</b>	Fiche de lecture des résultats API 20 E (Catalogue analytique de la galerie Api 20 E).	23
<b>11</b>	Ajouter les réactifs à les puis de galerie API 20NE (Originale).	24
<b>12</b>	Détermination de texture à partir densimètre (Originale).	26
<b>13</b>	Mesure de pH avec un pH-mètre (Originale).	26
<b>14</b>	Mesure de conductivité électrique avec un Conductivité mètre (Originale).	27
<b>15</b>	Racine d'un plant d'arachide nodulée(Originale).	28
<b>16</b>	Aspect des colonies sur milieu YMA (Originale).	29
<b>17</b>	Aspect microscopique des bactéries isolées( $G \times 100$ ) (Originale).	30

<b>18</b>	Résultat du test YMA+BTB (Originale).	30
<b>19</b>	Croissance des isolats sous différents niveaux de Na cl (Originale).	31
<b>20</b>	Résultat du test Oxydase (Originale).	33
<b>21</b>	Résultat du test Catalase (Originale).	33
<b>22</b>	Résultats sur galerie API 20E de l'isolat S5 (Originale).	34
<b>23</b>	Résultats sur galerie API 20NE de l'isolat S2 (Originale).	34
<b>24</b>	Galerie API Strep de l'isolat S1 (Originale).	35
<b>25</b>	Halo de solubilisation (Originale).	35
<b>26</b>	Variation de l'indice de solubilisation du phosphate chez les isolats étudiés.	36
<b>27</b>	Diagramme en boîte à moustache de pH.	37
<b>28</b>	Diagramme en boîte à moustache de CE.	37
<b>29</b>	Dendrogramme montrant la distribution des isolats en fonction au niveau de similitude de leurs caractères phénotypiques.	39
<b>30</b>	Dendrogramme de similarité des isolats d'API 20E.	40
<b>31</b>	Dendrogramme de similarité des isolats d'API 20NE.	41

## *Liste des Abréviations*

<b>%</b>	Pourcentage.
<b>ANOVA</b>	Analysis of variance.
<b>ANRH</b>	Agence nationale des ressources hydrique.
<b>API</b>	Analytical Profile Index.
<b>BTB</b>	Bleu de BromoThymol.
<b>C °</b>	Degré Celsius.
<b>Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub></b>	Tricalcium phosphate.
<b>Ca Cl<sub>2</sub></b>	Chlorure de calcium.
<b>CE</b>	Conductivité électrique.
<b>C.E.C</b>	Capacité d'échange cationique.
<b>CV</b>	Coefficient de variance.
<b>DSA</b>	Directions des Services Agricoles.
<b>g</b>	gramme.
<b>h</b>	heure.
<b>Ha</b>	Hectare.
<b>IS</b>	Indice de Solubilisation.
<b>Km</b>	Kilomètre.
<b>ml</b>	milli-litre.
<b>Mm</b>	milli-mètre.
<b>Na Cl</b>	Chlorure de sodium.
<b>O<sub>2</sub></b>	Di-oxygène.
<b>ONM</b>	Office nationale de la météorologie.
<b>P</b>	Phosphore.
<b>Pv</b>	P value.
<b>PGPR</b>	Plant Promoting Growth Rhizobacteria.

<b>Ph</b>	Potentiel d'Hydrogène.
<b>PIB</b>	Produit intérieur brut.
<b>PVK</b>	Pikovsakaya.
<b>Qx</b>	Quintaux.
<b>R</b>	<i>Rhizobium</i> .
<b>µm</b>	micro- mètre.
<b>UPGMA</b>	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean.
<b>YMA</b>	Yeast Mannitol Agar.
<b>YMB</b>	Yeast Mannitol Broth.

## *Table des matières*

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
Matériel et Méthodes .....	10
Chapitre I. Présentation de la zone d'étude.....	10
1.Situation géographique.....	10
1.1. Metlili.....	10
1.2. Sebseb.....	11
2. Géomorphologie.....	11
3. Sol.....	11
4. Caractéristiques climatiques.....	11
4.1. Température .....	12
4.2. Précipitation.....	13
4.3. Humidité.....	13
4.4. Evaporation.....	13
4.5. Vent.....	13
4.6. Insolation.....	13
5. Synthèse climatique.....	13
5.1. Climagramme d'Emberger.....	13
5.2. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен.....	15
6. Contexte géologique.....	15
6.1. Géologie régionale.....	15
6.2. Géologie locale.....	16
6.2.1. Céno-manien.....	16
6.2.2. Albien.....	17
6.2.3. Quaternaire.....	17
6.2.4. Turonien.....	17
6.2.5.Tectonique.....	17

7. Contexte hydrogéologique.....	17
Chapitre II. Approche méthodologique.....	18
1. Choix des sites.....	18
2. Localisation des sites des prélèvements .....	18
3. Méthodes d'analyse.....	20
3.1. Collecte des nodules.....	20
3.2. Conservation des nodules.....	20
3.3. Isolement des isolats à partir des nodules.....	21
3.4. Purification et conservation des isolats.....	21
4. Examen microscopique par la coloration de gram.....	21
5. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats.....	22
5.1. Test de BTB.....	22
5.2. Test d'oxydase.....	22
5.3. Test de catalase.....	22
5.4. Les galeries Api.....	22
5.4.1. Api 20 <sup>E</sup> .....	23
5.4.2. Api 20 Ne.....	23
5.4.3. Api 20 Strep.....	24
5.5. Tolérance à la salinité.....	24
6. Test de solubilisation du phosphate.....	25
7. Analyse physicochimique des sols.....	25
7.1. Prélèvement des échantillons de sol.....	25
7.2. Texture par densimétrie.....	25
7.3. Mesure de PH.....	26
7.4. Mesure de conductivité électrique.....	27
8. Analyse statistique.....	27
Résultats.....	28
1.Caractérisation phénotypique des isolats.....	28
1.1. Nombre et description des nodules d'arachide.....	28
1.2. Etude morphologique.....	29
1.2.1. Croissance et comportement des colonies.....	29
1.2.2. Analyse microscopique.....	29
1.3. Analyse physiologique.....	30
1.3.1. Test BTB.....	30
1.3.2. Effet de Na Cl.....	31

1.4. Analyse biochimique.....	32
1.4.1. Recherche de oxydase.....	32
1.4.2. Recherche de catalase.....	33
1.4.3. Résultat de système Api.....	33
1.4.3.1. Api 20 <sup>E</sup> .....	33
1.4.3.2. Api 20 NE.....	34
1.4.3.3. Api 20 Strep.....	34
2. Solubilisation de phosphate.....	35
3. Résultat des analyses physicochimique des sols.....	36
3.1. Texture du sol.....	36
3.2. PH.....	36
3.3. Conductivité électrique (CE).....	37
4. Analyse multivariée.....	38
4.1. Analyse des critères phénotypiques par UPGMA.....	38
4.2. Analyse de similarité des isolats de teste API20E .....	39
4.3 Analyse de similarité des isolats de test API 20NE.....	40
Discussion générale.....	41
Conclusion.....	46
Liste des références	
Annexes	

# *Introduction*





### **Introduction**

L'agriculture joue un rôle important dans l'économie Algérienne, en employant 23% de la population active et en participant à 11% du produit intérieur brut (PIB) dans cette dernière décennie (Hamdi et Mehaouat, 2018). En tant que le sol regorgé de vie biologique, un des écosystèmes les plus diversifiés de la planète et qui fournissant de nombreux services écosystémiques (Lambers *et al.*, 2009). Dans lequel les propriétés physiques d'un sol, influence énormément, la croissance et le développement de la plante. En effet, le support de la plante, la pénétration de ses racines, le drainage d'eau, l'aération et la rétention d'humidité d'un sol, ainsi que la disponibilité en éléments nutritifs d'une plante, sont étroitement liés aux conditions physiques du sol. Ces propriétés, sont liées aussi à deux notions fondamentales : la texture et la structure (Mouffak, 2014).

Le sol est un habitat généralement favorable à la prolifération des microorganismes, leur abondance et leur nature dépendent du type de sol, de la végétation, du climat et des diverses actions anthropiques et de leurs variations (Darem et El Filali, 2020). Il a été estimé qu'un gramme de sol contenait de  $10^{10}$  à  $10^{11}$  bactéries, et de 6 000 à 5 0000 espèces bactériennes (Aouane et Hamani, 2017). Puisque les (PGPR) sont des bactéries rhizosphériques qui peuvent améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanisme tel que la solubilisation de phosphate, la production de sidérophores, la fixation biologique de l'azote et la production de phytohormone (Boukhelifa et Hadj Mahammed, 2018). Ces dernières sont les substances essentielles pour la stimulation de la croissance des plantes. Néanmoins le volume du sol varie en fonction de la nature des plantes, et la diversité des communautés bactériennes rhizosphériques (qui sont des bactéries présentent l'aptitude à coloniser les racines de façon intense) est influencée à la fois par le sol, sa composition, ses caractères physicochimiques, ainsi que par les exsudats racinaires produites par les plantes (Lemanceau, 1992).

En plus de ces caractéristiques, la fixation symbiotique joue donc un rôle important dans le cycle de l'azote et dans l'écosystème tout entier puisqu'elle constitue la plus grande source d'azote combinée produite dans la nature. Ce phénomène est très important pour la production végétale (Nielssen *et al.*, 1978) et le processus de fixation biologique peut déployer des fixateurs libres, associatifs et symbiotique (Bliefert et Perraud, 2001). Par rapport à la quantité totale d'azote fixé dans les écosystèmes terrestres, la contribution majeure provient des systèmes symbiotiques. La bactérie fixatrice d'azote atmosphérique, et les légumineuses représentent l'un des modèles les plus importants d'interactions entre bactéries et plantes (Mouafek, 2010).

## ***Introduction***

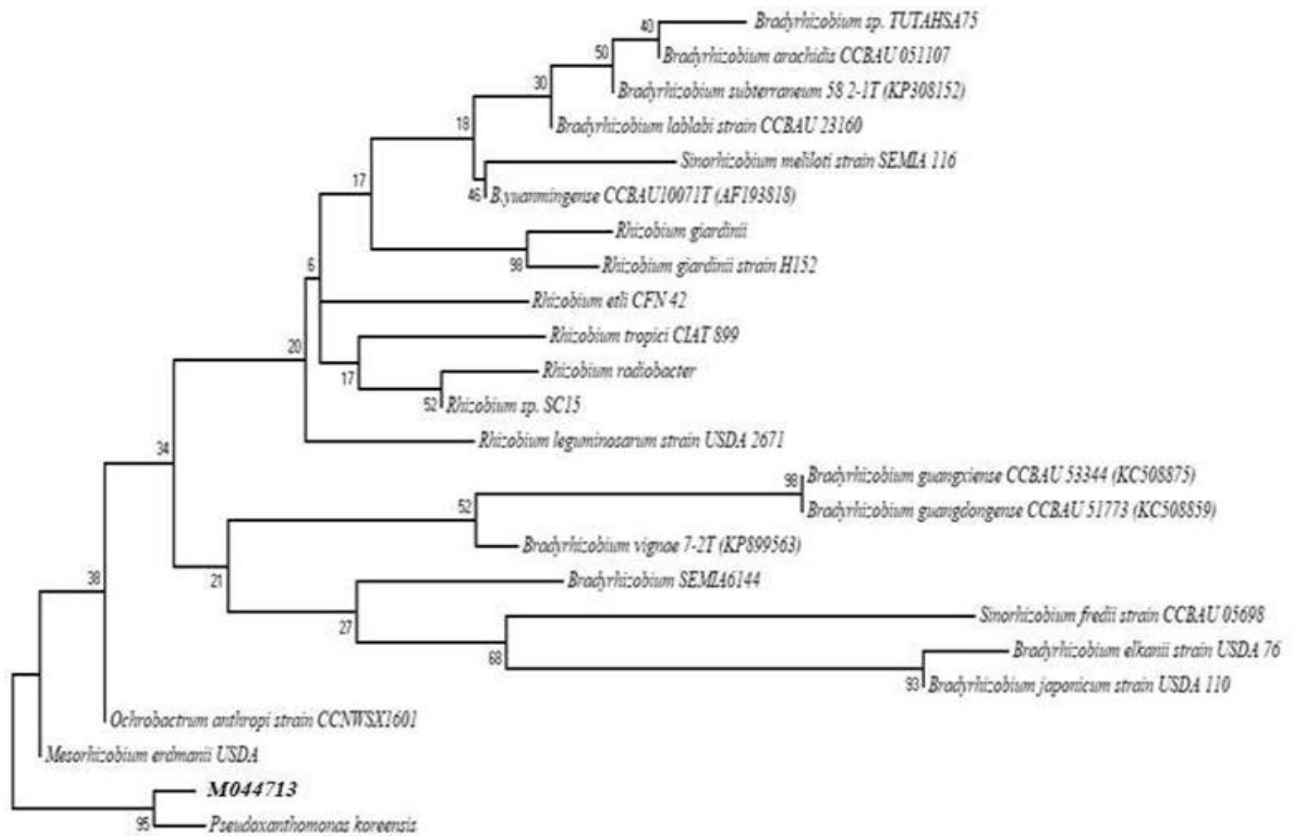
---

Les légumineuses (ou *Fabaceae*) sont cultivées principalement comme source de protéines pour la consommation humaine (haricot, pois, fève,...) ou l'alimentation animale (soja, luzerne, féverole...) (Faghire, 2012). Considérées comme des angiospermes, elles se répartissent principalement en trois (03) grandes familles (*Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* et *Papilionoideae*), comprenant plus de 650 genres et 18000 espèces annuelles et ligneuses (Duhoux *et al.*, 2004). De part de leurs importances agronomiques et forestières, ayant une distribution mondiale et une grande importance écologique et économique, couvrant tous les principaux biomes et formant des constituants écologiquement importants des écosystèmes tempérés, méditerranéens, tropicaux, arides, saisonnièrement secs, des forêts tropicales et de savanes (Affati et Kerdouci, 2020). Elles contribuent à la restauration de sols dégradés (Darem et El Filali, 2020).

D'autre part, les *Rhizobia* sont des bactéries a sporulées, strictement aérobies (Pelmont, 1993). Ce sont des microorganismes typiquement Gram négatifs, très mobile quand ils sont jeunes, elles se présentent en coccobacilles ou en bâtonnet, (Jordan, 1984 ; Bekki, 1983), de 0,6 à 0,8  $\mu$  de large sur 1 à 4 $\mu$  de long, rencontrés dans le sol sous forme libre ou en bactéroïdes à l'intérieur des nodosités (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Vincent *et al.*, 1974). La morphologie de la bactérie est très voisine quel que soit l'espèce (Vincent *et al.*, 1977). Ce sont des bactéries appartiennent à deux sous-classes phylogénétiques distinctes: les  $\alpha$  et  $\beta$ -*Protéobactéries*. Plus de 100 espèces regroupées en 13 genres : (i) 11 appartenant à la sous-classe  $\alpha$ - *Protéobactéries* et comprenant les genres: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Ensifer* actuellement, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Phyllobacterium*, *Microvirga*, *Azorhizobium*, *Ochrhobactrum*, *Methylobacterium*, *Devosia* et *Shinella*. (ii) Deux genres appartenant à la sous-classe  $\beta$ -*Proteobactéries*, l'ordre des *Burkholderiales* dont *Burkholderia* et *Cupriavidus* anciennement *Ralstonia* (Kanouni, 2019).

Il a été rapporté que l'arachide forme des nodules racinaires efficaces avec des *rhizobia* à croissance lente, ces souches sont classées dans le genre *Bradyrhizobium* (Kraïmat *et al.*, 2021). Jusqu'à présent, de nouvelles espèces de *Bradyrhizobium* ont été isolées d'*Arachishypogaea*, dont *Bradyrhizobium lablabi* , *B. arachidis* , *B. subterraneum* , *B. guangxiense*, *B. guangdongense*, *B. vignae* , et *B. yuanmingense* (Wang *et al.*, 2013; Grônemeyer *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015; Grônemeyer *et al.*, 2016; Osei *et al.*, 2018).

Cependant, l'arachide forme une symbiose avec des bactéries à croissance rapide étroitement apparentées à *Rhizobium giardini* et *R. tropici* (Taurian *et al.*, 2006). Les principales espèces nodulant d'arachide se sont montrées dans la Figure 01.



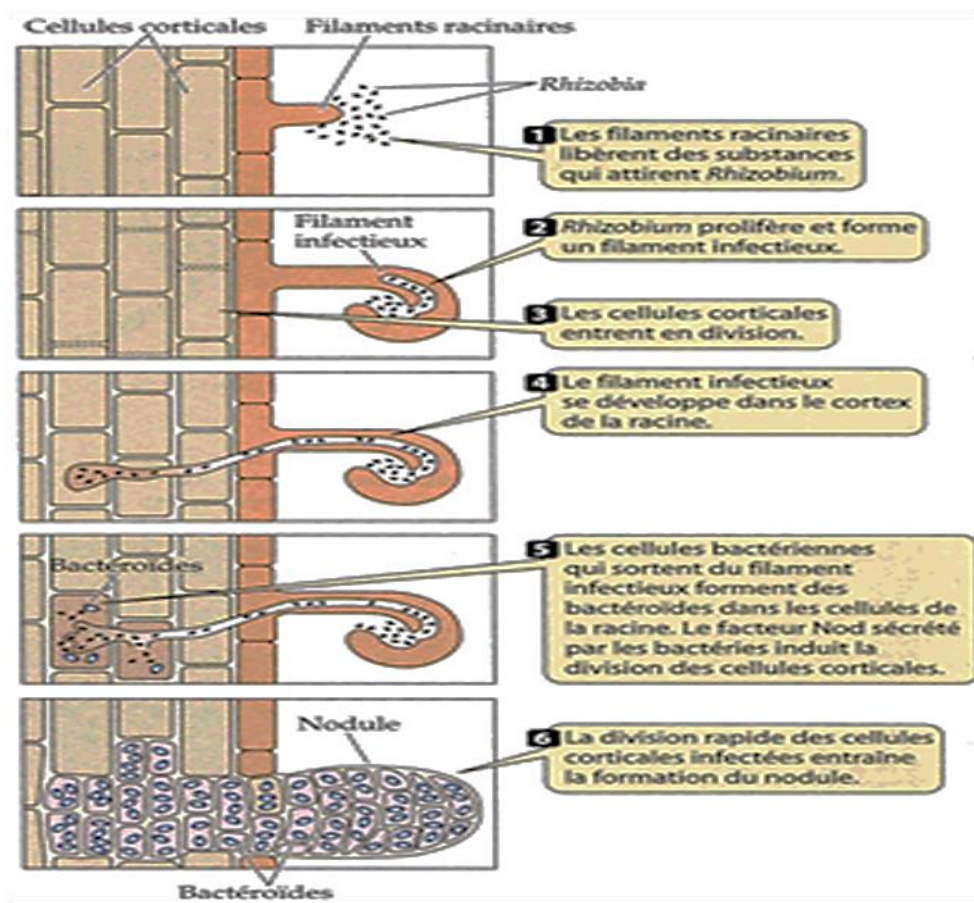
**Figure 01** : Arbre phylogénétique basé sur la méthode d'Neighbor-Joining de la plupart des souches représentatives isolées des nodules racinaires d' *A. hypogaea* (Kraïmat *et al.*, 2021).

La symbiose *Rhizobia*- légumineuse est un phénomène complexe se traduit par la formation d'organes spécifiques, appelés nodules ou nodosités (Perry *et al.*, 2004). Dans ces nouveaux organes, les bactéries convertissent l'azote atmosphérique en ammonium qui peut ensuite être absorbé par la plante qui, à son tour, fournit à la bactérie des hydrates de carbone issus de la photosynthèse et un environnement protecteur (Sakrouhi, 2017).

En effet, cette interaction est très complexe, il a été montré qu'elle est initiée par un dialogue moléculaire au sein duquel des signaux moléculaires produits par ces deux partenaires jouent un rôle clé. Cette association passe par une série d'étapes complexes (Briat et Job, 2017). À partir de poil absorbant, les vésicules golgiennes convergent vers le point de contact, forment un cordon amorphe contenant des mucilages limités par des fibrilles celluloseuses d'origine végétale; c'est le filament d'infection (Dupuy et Nougier, 2005). Ce cordon relie les cellules épidermiques aux cellules corticales. De là, l'organogenèse se poursuivra jusqu'à l'obtention d'un nodule (Aouadji et Saidi Sief, 2015). Ayant atteint la zone corticale, le cordon se ramifie et pénètre presque complètement dans la racine. La zone corticale interagit avec la multiplication cellulaire, qui est activée par l'expansion volumique et simultanément avec la libération de cytokines bactériennes; Le méristème forme ou marque une excroissance appelée nodule (Dupuy

## Introduction

et Nougier, 2005). Par la suite, la formation du nodule implique la libération des rhizobiums à partir des cordons d'infection à l'intérieur des cellules corticales suivie de la division et la différenciation des rhizobiums en cellules fixatrices d'azote reconnues sous le nom de bactéroïdes (Ouled Amrane Saadia, 2012). La majorité de la population bactérienne se transforme en bactéroïdes de forme branchée, sphérique ou en massue. Une membrane pér bactéroïdienne enveloppe ces bactéroïdes (Perry *et al.*, 2004). Elle protège la plante contre l'ammoniac produit et une pathogénicité potentielle de la bactérie, tout en maintenant un gradient d'azote, d'oxygène et de nutriments nécessaires à la fixation de l'azote (Aouaji et Saidi Sief, 2015). Et c'est pourquoi ils sont les deux composantes impliquées dans la sensibilité de la symbiose au sol (Saadallah *et al.*, 2001).



**Figure 02** : Schéma des différentes étapes conduisant à la formation du nodule (Perry *et al.*, 2004).

De plus, la survie des *Rhizobium* dans le sol, la formation des nodosités et la fixation de phosphore sont des processus très sensibles à l'action directe d'un certain nombre de facteurs de l'environnement. En effet, plusieurs facteurs tels que la composition physico-chimique du sol. Cependant, en Algérie ce processus naturel est affecté par plusieurs contraintes abiotiques parmi

## ***Introduction***

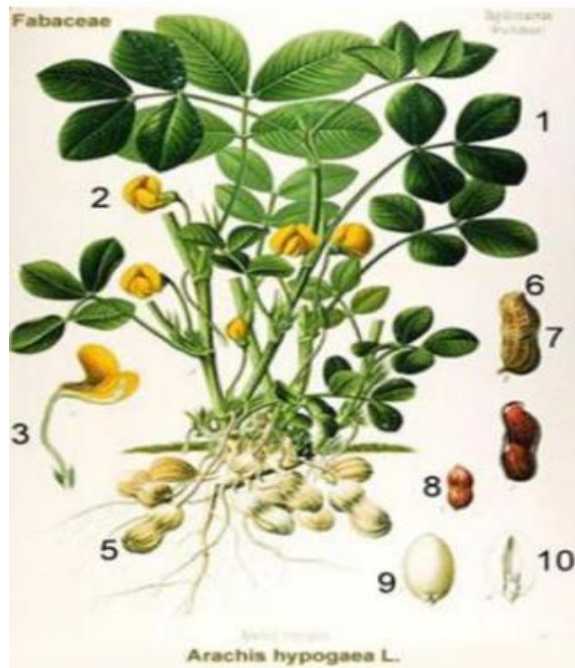
---

lesquels le stress hydrique, le stress salin et les variations de température (Minata et Ammar, 2018).

Bien que la solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Ces microorganismes bénéficient directement du P biodisponible nécessaire pour leur croissance (Taktek, 2015).

L'arachide c'est une espèce appartenant à la famille des *légumineuses*, sous famille des *Papilionacées (Fabacée)*, tribu des *Arachidinées* (Krapovickas et Gregory, 1994). Ce dernier repartie en sept sections la plus importante est *Arachis* (Smartt *et al.*, 1978). La section *Arachis* comprend deux espèces (*Arachis monticola* et *Arachis hypogaea*) (Ben Saha et Hadj Amar, 2020).

C'est aussi une plante tropicale originaire d'Amérique du Sud. Le centre d'origine se situe à l'est des Andes dans une région comprise entre le sud-est de la Bolivie, le Nord-Ouest de l'Argentine, le nord du Paraguay et la région ouest du Matto Grosso au Brésil (Foncéka, 2010). La plante est caractérisée par une tige principale et des ramifications primaires qui peuvent avoir de 0,20 à 0,70 m de long, selon les variétés et les conditions du milieu (Clavel et Gautreau, 1997). Les racines portent comme beaucoup de légumineuses des nodules dus à l'association symbiotique de la plante et de bactéries fixatrices d'azote. Ces nodules apparaissent environ quinze jours après la levée. Sur la plante développée, ils se rencontrent sur le pivot, ainsi que sur les racines primaires et secondaires, essentiellement dans les quinze premiers centimètres du sol. Leur dimension peut aller de la taille d'une tête d'épingle à environ 4 mm, leur nombre varie entre 800 et 4000 (Gillier et Silvestre, 1969). La feuille d'arachide est une plume composée de quatre feuilles vert foncé qui s'applique le soir et quand le vent souffle, et son fruits : une chambre contenant de 1 à 3 graines dont la couleur varie selon le terrain dans lequel la plante est plantée (Al-Hamdani, 2011).



- 1 : feuille composée de 4 folioles,
- 2 : fleur,
- 3 : hypanthe,
- 4 : gynophore,
- 5 : gousse,
- 6 : bec de la gousse,
- 7 : constriction ;
- 8 : tégument de la graine,
- 9 : graine sans tégument,
- 10 : cotylédon portant l'hypocotyle, l'épicotyle et la radicule

**Figure 03** : Représentation d'une plante d'arachide (Fonceka, 2010).

Autant que l'arachide tolère bien la sécheresse, mais elle présente des phases de sensibilités variables selon les stades physiologiques. La graine a besoin d'une quantité d'eau importante proche de la capacité de rétention pour s'imbiber avant de germer (Minata et Ammar, 2018).

Cette plante a de gros besoins en chaleur, il lui faut une moyenne optimum qui varie de 28°C à 35°:

- Pour la germination, c'est aux alentours de 32° -34°C .
- Pour la floraison et la fructification 24° - 33°C.
- Les températures de 15° à 45° apparaissent comme extrêmes en deçà et au-delà desquelles la germination est inhibée. Elle est une plante peu sensible au photopériodisme .

De plus, l'arachide est sensible à la salinité, peu sensible aux sols alcalins et très tolérante au pH doit être supérieur à 5 car l'arachide ne tolère pas les milieux très acides. Ainsi que, des sols sablonneux sont également préférables car ils favorisent la pénétration des gynophores ou « ergots », alors que le développement des gousses. Les facteurs physiques des sols interviennent dans l'adaptation à un environnement de l'arachide, surtout par leur rôle dans l'alimentation hydrique et minérale et leur effet sur la pénétration et le développement des racines (Aguieb et Messai Belgacem, 2015).

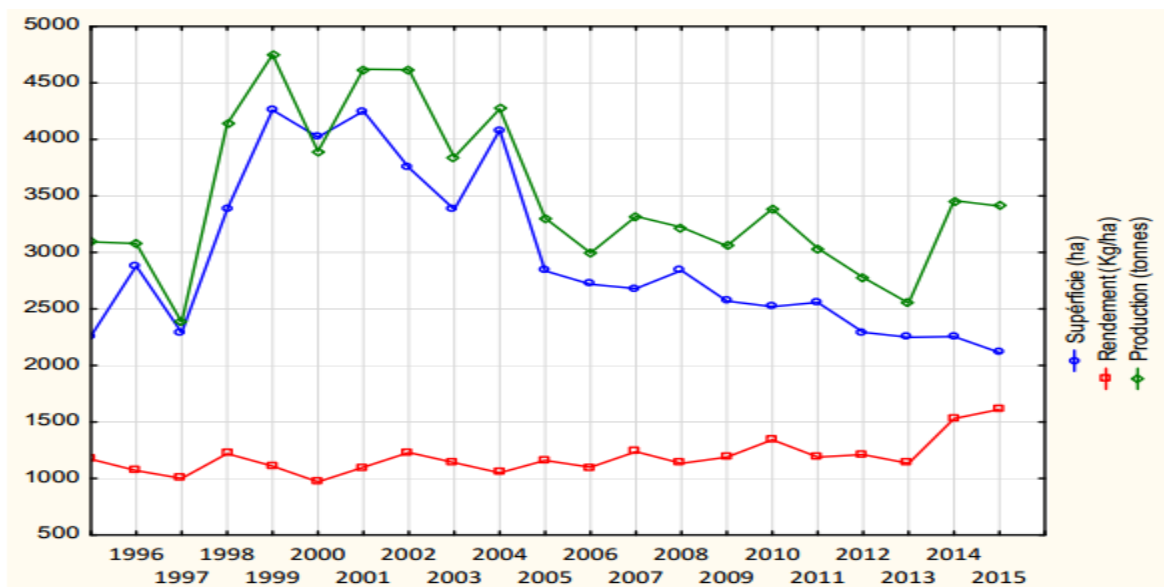
## Introduction

Néanmoins, il faut à l'arachide pour boucler son cycle végétatif à une hauteur d'eau comprise entre 400 et 1.200 mm afin de favoriser la maturation et la récolte, il est préférable que la dernière partie du cycle soit plus sèche (Moussaoui *et al.*,2020).

La production végétale de l'arachide est classée le 2<sup>ème</sup> dans le monde cultivée par plus de 120 pays (Aguieb et Messai Belgacem, 2015). En 2013, la production mondiale d'arachide a dépassé 45 millions de tonnes sur une superficie de 25,4 millions d'hectares. Les principaux producteurs sont la Chine, l'Inde, la Nigéria et les EU; alors de nombreux autres pays d'Afrique et d'Amérique du sud fournissent une production non négligeable (Faostat, 2015).

En Algérie, l'arachide a été cultivée par quelques tribus aux environs des villes. De même, des arachides à très petites gousses acclimatées depuis longtemps et bien connues des maraîchers, ont été signalées dans la région d'EL-Kala (Wilaya d'EL-Taref). Ainsi que, sa culture est menée durant la période estivale, pratiquement dans toutes les régions du pays. Ce sont essentiellement des génotypes destinés à la consommation, de débouché naturel et non pas à la transformation par l'industrie. Les surfaces actuelles dédiées à cette culture sont principalement localisées au Nord-est (El-Taref, Skikda), au Sud-est dans les Oasis (Ghardaïa) et au Sud (Adrar, El-Oued) où la nature des sols et le régime thermique répondent le mieux aux exigences la culture (Kraïmat, 2019).

Bien que, les rendements d'arachide restent en fluctuation continue d'une année à une autre, pendant la période (1995-2015) dont ils ne dépassaient guère les 15 qx/ha (Kraïmat, 2019).



**Figure 04** : Evolution des superficies, productions et rendements d'arachide en Algérie

(MADR, 2015).

## ***Introduction***

---

En revanche, l'arachide a investi le sud de la wilaya de Ghardaïa où des travaux de semis sont réalisés manuellement par une centaine d'agriculteurs qui sont confrontés à de nombreux problèmes (DSA, 2021).

C'est dans ce contexte que s'intègre notre travail, dont nous avons entrepris à étudier la caractérisation phénotypique des bactéries via une collection de 16 isolats provenant de plusieurs parcelles d'arachide dans la région de Ghardaia (Metlili et Sebseb) tout en prenant en considération les caractéristiques des sols de ces parcelles étudiées. En effet, la présente étude comporte :

- Une présentation de la zone de prélèvement où nous avons décrit la localisation géographique du site, nous avons donné un aperçu sur sa formation géologique, ses conditions climatiques ...etc.
- Une caractérisation phénotypique des isolats (aspects morpho-cultureux, microscopique, tests biochimiques, physiologiques et le potentiel de solubilisation du phosphore).
- Une étude des caractéristiques physico-chimiques du sol cultivé d'arachide.
- Des analyses et des interprétations des résultats obtenus, suivies par une discussion générale et conclusion.



*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*



## **Matériel et méthodes**

### **Chapitre I. Présentation de la région d'étude**

#### **1. Situation géographique**

La Wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord du Sahara algérien. À environ 600 Km au sud de la capitale du pays, Alger. Administrativement, cette wilaya comporte actuellement 11 communes regroupées en 8 Dairas pour une population de 396.452 habitants, soit une densité de 4,68 habitants/ km<sup>2</sup> (D.P.A.T., 2009).

Ses coordonnées géographiques sont :

Altitude 480 m, Latitude 32° 30' Nord et Longitude 3° 45' Est.

Selon le nouveau découpage administratif en 2021. La wilaya de Ghardaïa couvre une superficie de 30.845 km<sup>2</sup>, elle est limitée:

- Au Nord par la Wilaya de Laghouat (200Km).
- Au Nord Est par la Wilaya de Djelfa (300Km).
- A l'Est par la Wilaya d'Ouargla (200 Km).
- Au Sud par la Wilaya d'El Menia à (270 Km).
- A l'Ouest par la Wilaya d'El-Bayadh (350Km).

##### **1.1. Metlili**

La commune de Metlili est située au Sud de la wilaya de Ghardaïa à une distance de 45 km, elle couvre une superficie de 7300 Km<sup>2</sup>. et est repérée par les coordonnées suivantes:

- L'altitude 32° 16' Nord et
- La longitude 3° 38' Est,
- Altitude de 455 m. Elle est limitée au Nord par la wilaya d'el Bayadh et les communes de Daya, Bounoura, El Atteuf et Zelfana. Au Sud par la commune de Sebseb, a l'Est par la wilaya de Ouargla, a l'Ouest par : la wilaya d'El Bayadh (Benessedik, 2019).

### **1.2. Sebseb**

La commune de Sebseb est située dans la wilaya de Ghardaïa à 63 km du chef-lieu de la wilaya. Elle est d'une superficie de 5 640 km<sup>2</sup>, ses coordonnées géographiques sont :

- Altitude 450 m.

-Latitude 32° 08' Nord.

-Longitude 3° 36' Est.

Cette commune est limitée au Nord par la commune de Metlili, au Sud par la commune de Mansoura, à l'Est par la wilaya d'Ouargla, à l'Ouest par la wilaya d'El Bayadh (D.P.A.T., 2009).

## **2. Géomorphologie**

Dans la région de Ghardaïa, on peut distinguer trois types de formations géomorphologiques (D.P.A.T., 2005) :

- La Chebka :comme une terre rocheuse ou existe les lignes des ensembles des oueds exemple oued Metlili, oued Sebseb ou Oued N'Saa (Ben Semaoune, 2007).
- La région des ergs.
- La région des dayas.

## **3. Sol**

Les sols constituent l'élément essentiel des biotopes propres aux écosystèmes continent, dont le pH conditionne la répartition des organismes (Ramade, 1984). Cependant, Le sable ne domine pas au Sahara, où la plupart des sols désertiques sont de type pierreux. Au niveau de la région de Ghardaïa, les sols sont squelettiques, dont généralement sont marqués par la présence en surface d'un abondant argileux de type « Hamada ». Dans les dépressions, les sols sont plus riches grâce à l'accumulation des dépôts alluviaux (Ben Mazouz et Sebgag, 2020).

## **4. Caractéristiques climatiques**

Les facteurs climatiques jouent un rôle fondamental dans la distribution et la vie des êtres vivants. En effet, la région de Ghardaïa se caractérise par un climat Saharien, qui se distingue par une grande amplitude thermique entre le jour et la nuit, d'été et d'hiver (Ben Semaoune, 2008).

## Matériel et méthodes

La présente caractérisation est faite à partir d'une synthèse climatique de 20 ans entre 1998-2018, à partir des données de l'Office Nationale de Météorologie (Tableau 01).

**Tableau 01 : Données climatiques de Ghardaïa (1998 -2018) (O.N.M, 2019).**

Mois	Température (°C)			Précipitation P(mm)	H HR(%)	Evap (mm)	V (m/s)	Insol (h/mois)
	Tmin	TMax	Tmoy					
Jan	4,78	21,05	12,01	9,6	28,6	105	17,18	262
Fév	5,93	23,02	13,87	8,6	25,4	128	19,29	256
Mar	9,22	28,29	18,24	7,3	21,5	183	19,68	293
Avril	13,15	33,67	31,73	6,1	26,1	263	21,36	310
Mai	17,80	37,69	28,31	2,7	36,6	313	22,27	338
Juin	23,08	42,58	32,93	2,5	43,6	370	22,15	355
Juill	27,74	45,65	34,70	2,1	50,2	418	21,27	361
Aout	26,63	43,60	35,63	5,7	58,1	376	22,71	342
Sept	21,70	38,79	30,88	16,6	53,3	281	21,03	282
Oct	16,59	34,38	25,02	7,4	45,1	188	27,34	281
Nov	8,93	26,96	17,54	5,5	38,3	127	17,27	262
Déc	5,49	21,29	12,86	6,0	34,2	130	17,8	253

TMax : Moyenne mensuelle des températures maximales.

Tmin : Moyenne mensuelle des températures minimales.

$T(M+m)/2$  : Moyenne mensuelle des températures maximales et minimales.

P (mm) : Précipitations moyenne mensuelles.

H : Humidité relative de l'air (%).

V : Vitesse moyenne mensuelle de vent (m/s).

Evap : Evaporation moyenne mensuelle.

Insol(h/mois) :Durée mensuelle de l'insolation totale (heures/mois).

### 4.1. Température

La température est marquée avec une grande amplitude entre les températures d'été et d'hiver, de jour et de nuit. La période chaude commence en Mai et dure jusqu'en Septembre (OMN, 2019).

On observe que le mois le plus chaud est juillet, avec une température moyenne de 34,70 °C. Le mois le plus froid est Janvier, avec une moyenne égale à 12,01 °C (Tableau 01).

### **4.2. Précipitation**

Les précipitations sont en générale faibles caractérisant les climats arides. Selon le (Tableau 01), le mois le plus pluvieux est le mois de septembre avec 16,6 mm. Par contre le mois de Juillet est le plus sec avec une moyenne de 2,1 mm, et elles sont très faibles ou même nulles pendant le reste de l'année. Ce qui explique la sécheresse de la région étudiée (ONM, 2019).

### **4.3. Humidité**

Au niveau de la région de Ghardaïa, l'atmosphère présente en quasi permanence un déficit hygrométrique. Le maximum se situe en mois d'Aout avec une valeur 58,1% et le minimum s'observe aux mois de Mars où l'humidité est de 21,5 % (tableau 01).

### **4.4. Evaporation**

D'après le Tableau 01. On constate que l'évaporation mesurée sous l'abri par l'évaporomètre de Piché, est très intense à un maximum 418 mm en juillet et un minimum 105 mm en janvier.

### **4.5. Vent**

La plus forte vitesse de vents est enregistrée à la station ONM Ghardaïa (1998-2018) en mois Octobre (17,18m/s) et le minimum Au mois de Janvier (27,34m/s) (Tableau 01).

### **4.6. Insolation**

L'insolation dans la région est grande durant toute l'année, avec un maximum de 361 heure en juillet. Un minimum de 253 heures a été noté en décembre et un moyenne annuelle de l'insolation de 308 (h/mois) (tableau 01).

## **5. Synthèse climatique**

La synthèse climatique qui basé sur le diagramme Ombrothermique de Gaussen et le Climagramme d'Emberger. En utilisant des données de l'ONM de Ghardaïa pour une période de (1998-2018) (ONM, 2019).

### **5.1. Climagramme d'Emberger**

Il permet de connaître l'étage bioclimatique de la région d'étude et de donner une signification écologique du climat. Il est représenté :

- En abscisses par les mois de l'année.

## Matériel et méthodes

- En ordonnées par les précipitations en mm et les températures moyennes en °C.

On a utilisé la formule de STEWART adaptée pour l'Algérie :

$$Q2 = 3,43 \times \frac{P}{(M - m)}$$

Q : Quotient thermique d'Emberger

P : Précipitations moyennes annuelles exprimées en mm.

M : Moyennes mensuelles des températures maximales du mois le plus chaud en °C.

m : Moyennes mensuelles de la température minimale du mois le plus froid en °C.

3,43 = Coefficient de Stewart établi pour l'Algérie. (STEWART, 1969).

D'après le Diagramme d'Emberger réalisé, on trouve que la région de Ghardaïa est située dans la partie qui caractérisée par un climat saharien ( $Q2 = 6,72$ ) avec un hiver doux (température minimale = 4,78 °C) (Figure 05).

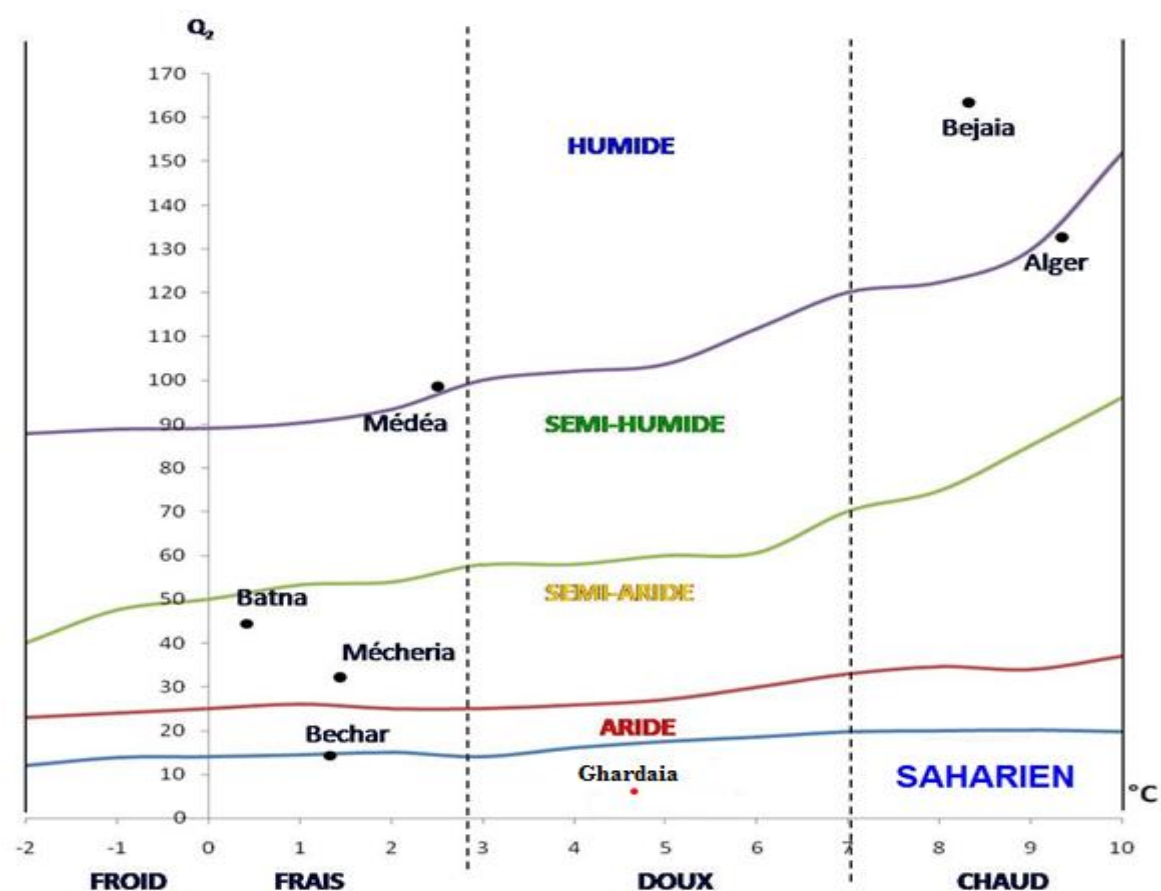
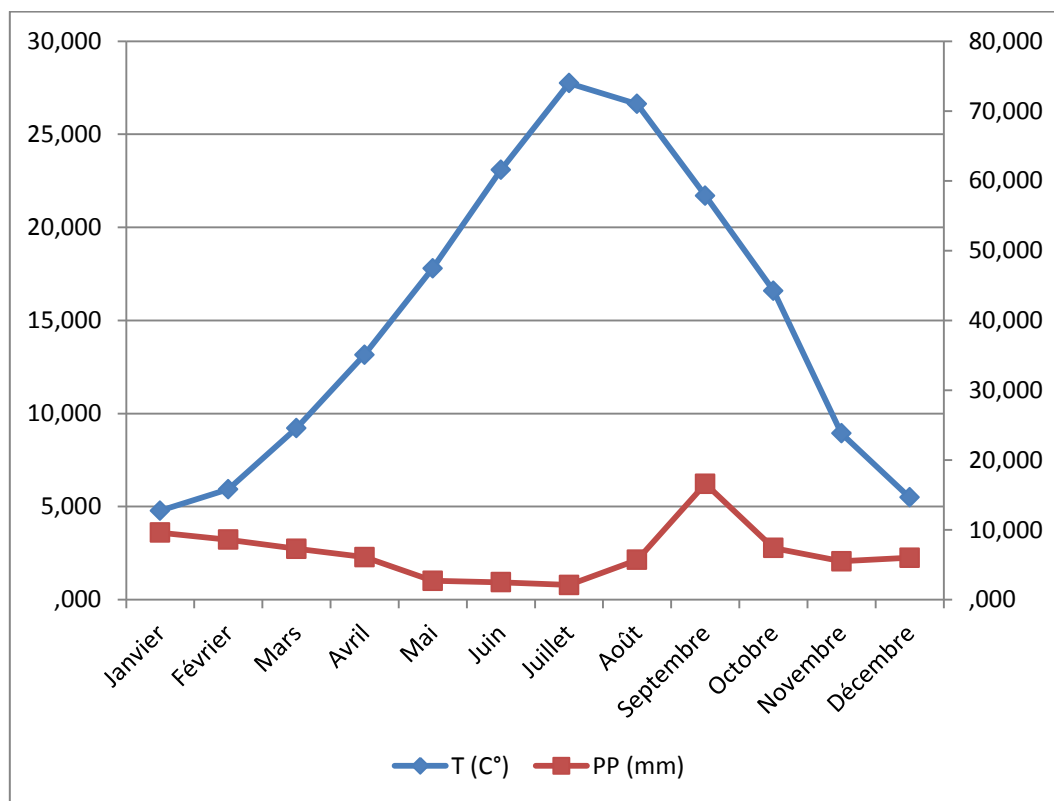


Figure 05 : Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le Climagramme d'Emberger (1998- 2018)

**5.2. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен**

D’après MUTIN (1977), le diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN permet de définir les mois secs. Un mois est considéré sec lorsque les précipitations mensuelles correspondantes exprimées en Millimètres sont égales ou inférieures au double de la température exprimée en degré Celsius ( $P = 2T$ ).

Selon le tableau 01 qui se base sur les données de précipitations et les données de températures mensuelles sur une période de 20 ans, on peut établir la courbe pluviométrique dont le but est de déterminer la période sèche. Dans la région de Ghardaïa, nous remarquons que cette période s’étale sur toute l’année (Figure 06).



**Figure 06 :**Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN appliquée à la région de Ghardaïa (1998 -2018).

**6. Contexte géologique**

**6.1. Géologie régionale**

La wilaya de Ghardaïa est située sur les bordures occidentales du bassin sédimentaire secondaire du Bas - Sahara. Les terrains affleurant sont en grande partie attribués au Crétacé supérieur. Ils ont composés principalement par des dépôts calcaires turoniens dolomitiques; qui

## Matériel et méthodes

forment un plateau subhorizontal appelé couramment "la dorsale du M'Zab" (Rouas et Bendania, 2018).

Du point de vue lithologique, les affleurements sont de type (Figure 07).

- Argiles verdâtres et bariolées à l'Ouest et le Sud-ouest attribués au Cénomaniens.

En grande partie il est couvert par les dunes du grand erg occidental.

- Calcaires massifs durs ; blanc grisâtre au centre. Attribués au Turonien.

- Calcaires marneux et argiles gypseuses à l'Est. Attribués au Sénonien.

- Sables rougeâtre consolidés à Est et au Nord-est attribués au Mio-pliocène.

- Alluvions quaternaires tapissant le fond des vallées des oueds.(ROUAS et BENDANIA, 2018).

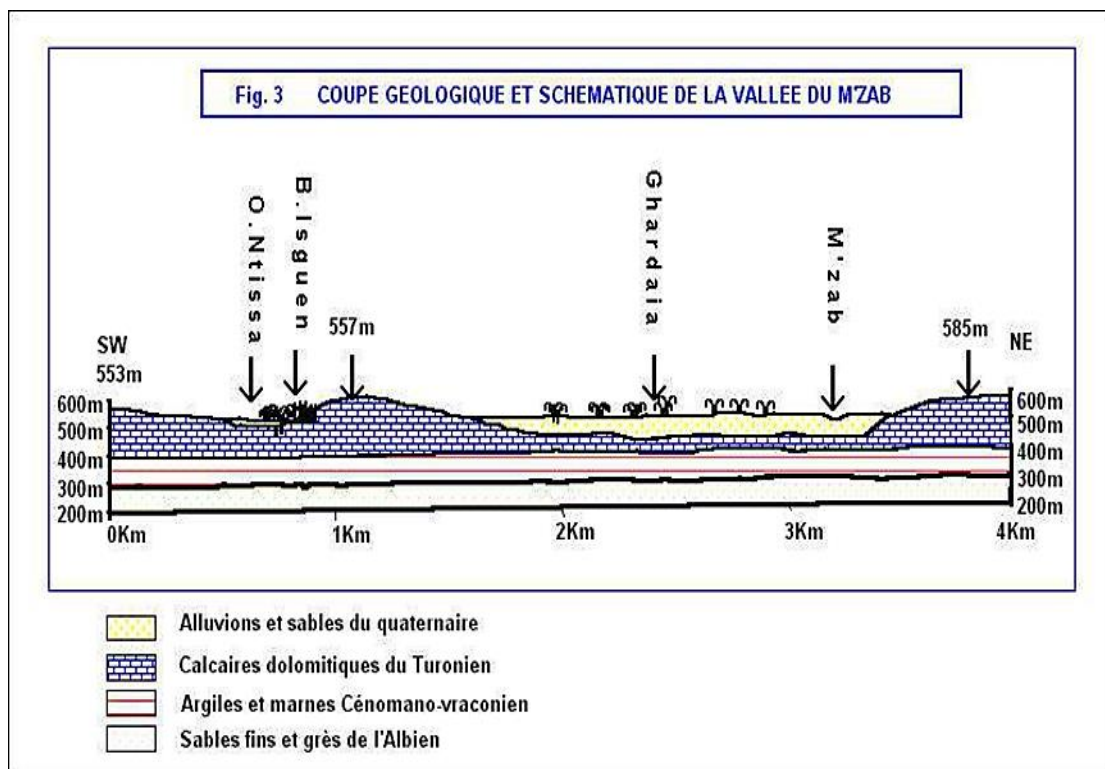


Figure 07 : Coupe géologique schématique de la région du M'Zab (ANRH, 2017).

### 6.2. Géologie locale

La zone d'étude présente à l'affleurement d'une succession de formations géologiques allant du Turonien. Le Quaternaire correspond au dépôt de recouvrement alluvionnaire de la plupart de la vallée de l'oued de Metlili (Achour, 2003).



### **6.2.1. Cénomanién**

Il est composé par des argiles bariolées, marrons et grises à verdâtres Plastiquées, à anhydrites, sableuse à la base avec la présence de gypse.

### **6.2.2. Albien**

Il est composé de sables fins à moyens jaunâtres parfois rougeâtres à rose. Des intercalations d'argiles verdâtres à vertes sont fréquentés.

### **6.2.3. Quaternaire**

Les alluvions quaternaires formées de sables, galets et argiles tapissent le fond de la vallée de l'oued d'une épaisseur de 20 à 35 mètres.

### **6.2.4. Turonien**

Il est composé par des calcaires blancs, des marnes grisâtres et rougeâtres au sommet, blancs, grisâtre plus ou moins dur à marnes jaunâtres.

### **6.2.5. Tectonique**

Les formations calcaires à structure tabulaires, au droit du site, ne sont affectées par aucun phénomène tectonique notable d'importance régionale. Les mêmes directions et pendages sont mesurés aussi bien en rive droite qu'en rive gauche. Aucune faille d'importance n'est relevée aux environs immédiats du site. La fracturation est cependant intense. Elle est liée d'une part aux phénomènes tectoniques à petites échelles et d'autres part aux phénomènes de géodynamique externe, notamment les variations de température; les fissures qui résultent de ces effets géodynamiques sont superficiels et d'orientation aléatoire (Benessedik, 2019).

## **7. Contexte hydrogéologique**

La willaya de Ghardaïa comprend deux sources d'eau souterraines, la nappe phréatique superficielle d'inféoflux, et le continental intercalaire. La nappe dite albienne, qui est située à de très grandes profondeurs (Bouhoun et Houache, 2019).

En effet, l'étage principal exploité est de l'Albien, il est composé de sables fins et de grés jaunâtres à gris à intercalations d'argiles. Cette masse grés sableuse est exploité par l'exécution de forages de profondeur variable selon les régions ; 100 à 250m à El-Menia, 450 à 500m à Sebseb et Ghardaïa, et de 900 à 1000 m à Zelfana et Guerrara (A.N.R.H, 2016).

## **Chapitre II. Approche méthodologique**

L'approche méthodologique suivie pour bien mener ce travail, consiste en l'isolement des bactéries des nodules d'arachide de la rhizosphère, la caractérisation et l'identification de ces souches l'identifier dans la région de Ghardaïa (Sebseb et Metlili) et comparer les paramètres physico-chimiques des sols. Tous les essais ont été menés au niveau de laboratoire d'analyse des sols et laboratoire de microbiologie au sein de l'Université de Ghardaïa.

### **1. Choix des sites**

Afin d'évaluer les bactéries des nodules d'arachide et leurs rhizosphères, un échantillonnage a été effectué auprès des exploitations agricoles réputées par leur production potentielle d'arachide. Deux périmètres agricoles ont été, donc, ciblés dans les deux régions étudiés (Sebseb et Metlili). Les critères qui se sont réunis : l'arachide cultivée pendant la période Mai-Juin, et récoltée à partir du mois de novembre jusqu'à décembre. Les coordonnées géographiques pour chaque parcelle prospectée ont été notées à l'aide d'un GPS.

### **2. Localisation des sites des prélèvements**

Les sites d'échantillonnage ont été sélectionnés provenaient d'une façon précise et bien répartie. Nous avons choisi, soigneusement 16 parcelles (14 de Sebseb et deux de Metlili) (Figure 08).

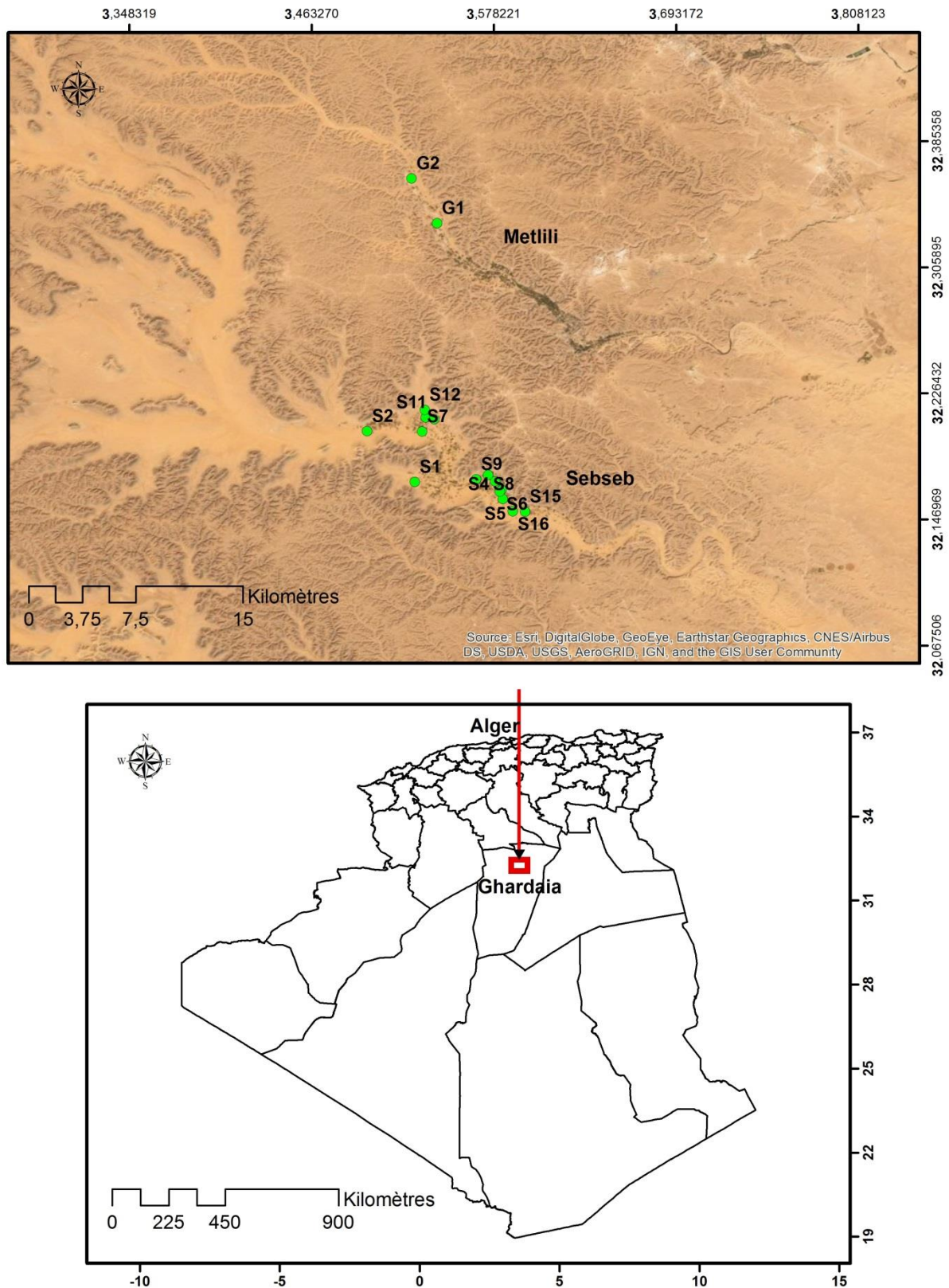


Figure 08 : Localisation géographique des isolats au niveau de la région de Ghardaïa (Originale).

### 3. Méthodes d'analyse

#### 3.1. Collecte des nodules

La collecte des nodules à partir des racines d'arachide a été réalisée pendant les mois de Novembre et Décembre pour toutes les parcelles agricoles échantillonnées. Les racines ont été placées dans des sacs en plastique et transportées au laboratoire à l'état frais (Vincent, 1970). Trois racines ont été prélevées pour chaque parcelle.

Au laboratoire, les racines ont été délicatement rincées à l'eau, puis à l'aide d'un couteau, les nodules sont détachés et conservés.

#### 3.2. Conservation des nodules

Cette étape qui consiste à remplir un tiers (1/3) des tubes à essais stériles par du chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$  (pour une meilleure absorption de l'humidité) (Vincent, 1970). Les nodules ont été par la suite déposés sur une couche stérile (les nodules de racine d'arachide provenant d'une même parcelle doivent être placés dans le même tube) tout en mentionnant le code de l'échantillon, le lieu, la date de prélèvement et avant de les mettre au réfrigérateur à  $-4^\circ \text{C}$  (Figure 09).

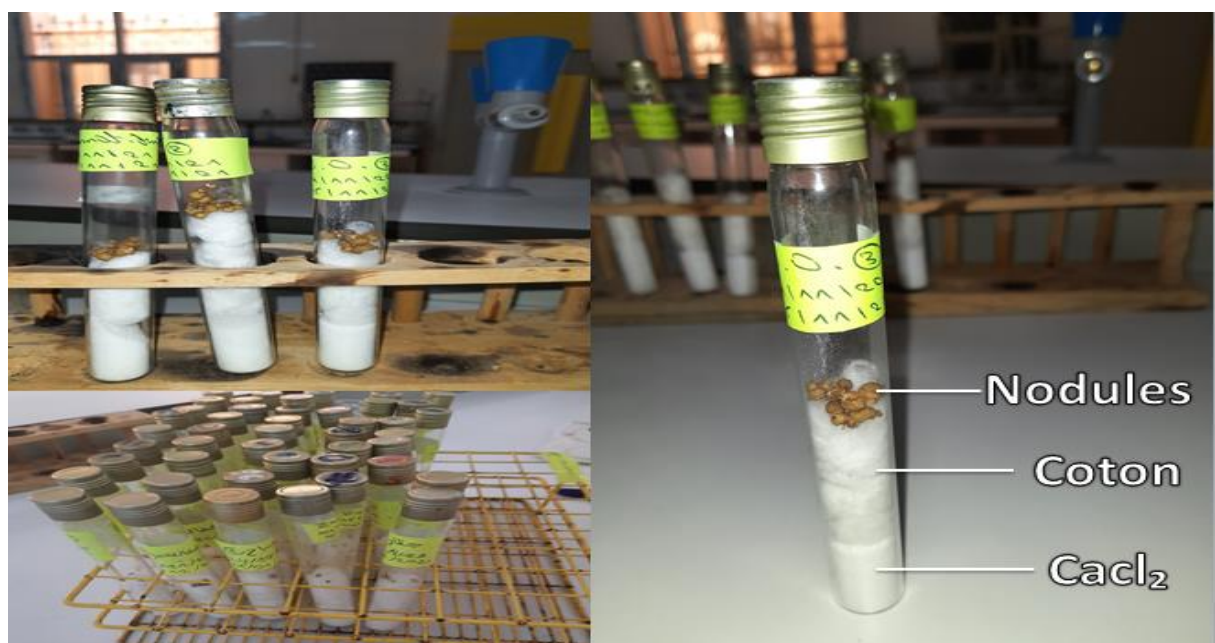


Figure 09 :Conservation des nodules(Originale).

### **3.3. Isolement des isolats à partir des nodules**

Après la conservation les nodules ont été décongelés dans des conditions stériles et sous la hotte à flux laminaire. Les nodules ont été immergés 10 secondes dans l'eau de javel puis rincés à l'eau distillée stérile. Dans une boîte de Pétri stérile 2 à 3 gouttes d'eau distillée stérile ont été déposées afin d'avoir une suspension après écrasement des nodules (Vincent, 1970).

### **3.4. Purification et conservation des isolats**

Le jus de nodule est étalé sur boîte de Pétri contenant un milieu spécifique (YMA)(Annexe1.1) dont on a ajusté le pH à 6,8 (Vincent, 1970). Le but d'avoir des colonies isolées et donc faciles à caractériser, les boîtes sont incubées 48 à 72 heures de 28 à 30°C.

## **4. Examen microscopique par la coloration de Gram**

Le test de coloration de Gram a été effectué dans cette étude dans l'objectif de distinguer entre les bactéries à Gram négatif et celles à Gram positif. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram.

La préparation des lames est réalisée sous la hotte à flux laminaire selon le protocole expérimental qui consiste à :

1. Déposer une goutte d'eau sur une lame bien propre.
2. Prélever un échantillon de colonie à l'aide d'un pique en bois et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène.
3. Couvrir la lame avec le Violet de Gentiane pendant une minute.
4. Laver du colorant à l'eau distillée.
5. Couvrir avec de Lugol pendant un minute.
6. Lavage les frottis avec l'éthanol pendant 10 secondes.
7. Aspiration avec de l'eau distillée et couvrir avec de la Fuschine pendant une minute.
8. Laver à l'eau distillée et sécher la lame sur du papier absorbant.

Une goutte d'huile à immersion a été déposée sur le frottis avant d'observer les échantillons sous microscope à un grossissement de (x 100) pour déterminer le Gram et la forme des cellules.

### **5. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats**

#### **5.1. Test de BTB**

Ce test permet de vérifier la capacité d'acidification ou d'alcalinisation des isolats. Il se fait sur le milieu YMA additionné à un indicateur coloré Bleu de Bromothymol (BTB) (Annexe1.3). Après incubation à 28°C (24h à 6 jours).

L'aptitude à modifier le pH en 24h nous a permis de distinguer les bactéries à croissance rapide de celles à croissance lente (après 5 à 6 jours) (Vincent, 1970).

#### **5.2. Test d'oxydase**

La détection de l'enzyme la phénylenediamine oxydase chez les bactéries à Gram négative a été déterminée selon les étapes suivantes :

1. Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester.
2. Mettre quelques gouttes du réactif d'oxydase (Annexe2.1) à disques de papier filtre puis prélever la colonie choisie à l'aide d'un bâtonnet et frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration pendant 30 secondes.
  - Coloration bleu foncé à violet :Oxydase positive.
  - Absence de coloration :Oxydase négative.

#### **5.3. Test de catalase**

Le test consiste à mettre les bactéries en contact du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

1. Prélever une colonie à partir du milieu solide.
2. Mettre sur une lame stérile, puis ajouter une goutte d'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
  - Réaction positive = formation de bulles d'air : Il dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène.
  - Réaction négative = Pas de bulles d'air.

#### **5.4. Les galeries Api**

Les galeries d'identification API sont la référence globale de l'identification, et sont choisies par les biologistes dans le monde du fait de leur facilité d'utilisation et de leur haute performance (Api Web Biomerieux).

## Matériel et méthodes

Ce principe a généré toute une gamme de galeries. Dans notre travail, nous se concentrons sur les galeries Api20 E, Api20 NE et Api20 Strep.

### 5.4.1. Api 20E

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne saline (Na cl à 1%) qui reconstitue les tests et qui se traduisent par des virages colorés spontanés pendant la période d'incubation ( à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures). La révélation de différents tests est réalisée après addition des réactifs nécessaires (Annexe2.2).

Le test d'oxydase constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification à noter sur la fiche de résultats (Figure 10) et qui est effectuée hors galerie (Delarras, 2014).

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (Api Web Biomerieux) (Annexe5.13).

Figure 10 shows the API 20 E result card. It includes a CE mark, a reference field, and a field for the origin of the sample in multiple languages. The main part of the card is a grid of 20 microtubes, each with a number (1, 2, or 4) and a test name below it. The tests are: ONPG, ADH, LDC, ODC, LCI, H<sub>2</sub>S, URE, TDA, IND, LVP, LGEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, OX, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, MOB, McC, OF-D, and OF-F. Below the grid, there are fields for 'Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy' and 'Ident. / Ταυτοποίηση:'. The Biomerieux logo is in the top right corner.

Figure 10 :Fiche de lecture des résultats API 20 E (Catalogue analytique de la galerie Api 20 E).

### 5.4.2. Api 20NE

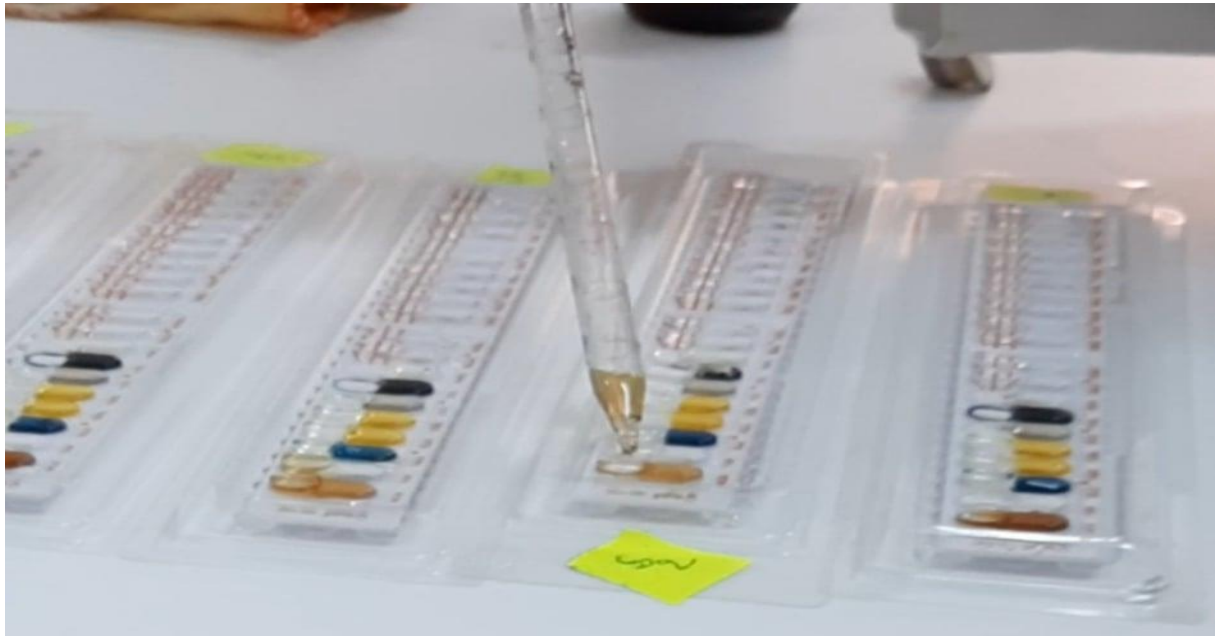
La galerie API 20 NE se compose de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Il permet l'identification des bacilles gram (-) non entérobactéries par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline (Na Cl à 1%) qui reconstitue les milieux.

## **Matériel et méthodes**

---

Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Annexe 5.14) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique et d'un logiciel d'identification Api Web Biomerieux.



**Figure 11:** Ajouter les réactifs à les puis de galerie API 20NE (Originale).

### **5.4.3. Api 20 Strep**

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH Api GP Medium) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré et la lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique et d'un logiciel d'identification Api Web Biomerieux.

### **5.5. Tolérance à la salinité**

L'effet du Na Cl sur la croissance des souches retenues a été testé sur milieu YMA additionné de concentrations variables à savoir : 0,5%, 1%, 3% et 6% .Les cultures sont incubées



dans une température de 28°C. Après 72 h d'incubation, la croissance bactérienne est évaluée par l'estimation visuelle.

### **6. Test de solubilisation du phosphate**

La capacité de solubilisation des phosphates est testée sur milieu PVK(Annexe1.4). Selon la méthode décrite par Pikovskaya (1948) contenant du phosphate tricalcique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) comme seule source de P.

Après 4 à 7 jours d'incubation à 28°C, la solubilisation du P complexé est mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie. La capacité solubilisatrice des isolats a été estimée par mesure du diamètre total (le diamètre du halo+ le diamètre de la colonie) pour chaque colonie en utilisant pied à coulisse digital. Puis calculé suivant la formule:

$$IS \text{ phosphate} = \frac{\text{Diamètre de la zone claire} - \text{Diamètre de la colonie}}{\text{Le diamètre de la colonie}} \times 100$$

### **7. Analyse physicochimique des sols**

#### **7.1. Prélèvement des échantillons de sol**

Les échantillons du sol pour chaque plante d'arachide ont été systématiquement prélevés dans tous les sites de collecte et conservés dans des sachets en papier numéroté. Les échantillons ont fait l'objet d'une série d'analyses physico-chimiques (Texture, pH et Conductivité électrique).

#### **7.2. Texture par densimétrie**

Les fractions d'argile et du limon ont été déterminée par densimètre selon la méthode de Bouyoucos (1927). Dans un flacon d'un litre, 50g d'échantillon séché est mélangé à 1L d'eau contenant 25ml d'Hexamétaphosphate de sodium (Annexe 4.6), puis mis sur bac thermostatique à 20 °C . La densité du mélange est mesurée à l'aide d'un densimètre à divers intervalles de temps. La densité obtenue en fonction du temps de sédimentation permet d'obtenir la portion d'échantillon ayant une granulométrie.(Mathieu et Pieltain, 1998) (Figure12).



**Figure 12:**Détermination de texture à partir densimètre (Originale).

### **7.3. Mesure de pH**

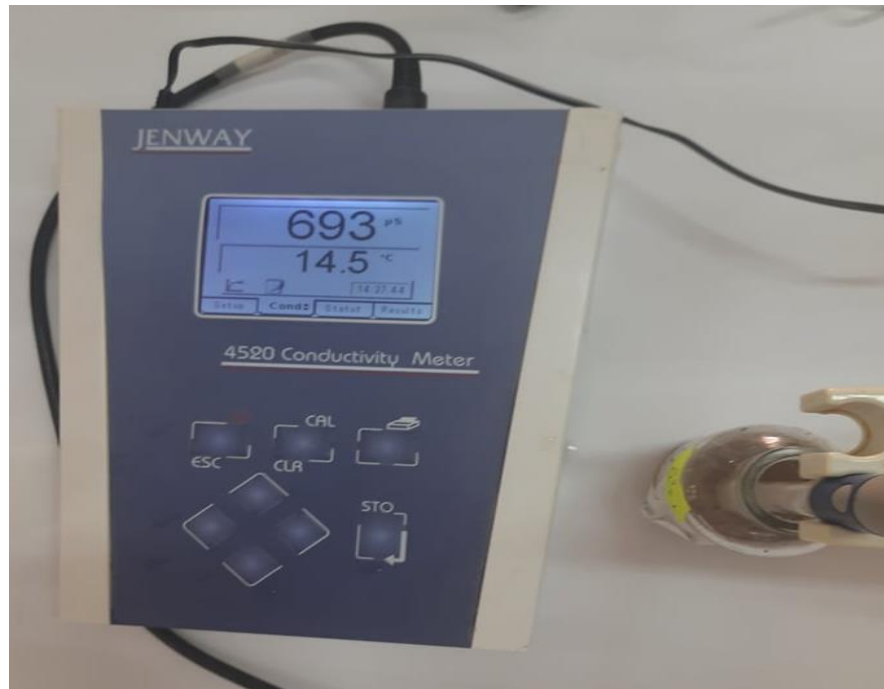
Selon Mathieu *et al* en 2003, peser 10 g de sol (séchée à l'air) y ajouter 50 ml d'eau distillée puis brasser énergiquement. Le contenu en agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 3 à 5 minutes, puis laissé à reposer 24h. Le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre et noter les valeurs.



**Figure 13 :**Mesure de pH avec un pH-mètre (Originale).

### 7.4. Mesure de conductivité électrique

Peser 10 g de terre fine dans un bécher ajouter 50 ml de l'eau déminéralisée et agiter plusieurs fois pendant une minute laissé reposer faire les mesures conductivimétrique (Benfedda et Bouguettaya, 2017).



**Figure 14 :** Mesure de conductivité électrique avec un Conductivité mètre (Originale).

### 8. Analyse statistique

Les résultats recueillis dans cette présente étude ont été examinés sous XLSTAT 2014 afin de générer une ANOVA à un seul facteur et d'une comparaison multiple des moyennes en utilisant la méthode Tukey HSD (Tukey Honest significant difference). Par ailleurs des analyses multivariées, en l'occurrence: Une analyse de similarité selon la méthode de Bray-Curtis (ANOSIM), en utilisant l'algorithme UPGMA ont été établies sur le programme Past 3.

# *Résultats et discussion*



## Résultats

### 1. Caractérisation phénotypique des isolats

Afin d'identifier les souches isolées à partir des nodules l'arachide (*Arachis hypogaea*), les 16 isolats ont subi une caractérisation phénotypique (en particulier, les caractères morphologiques, tests physiologiques et biochimiques).

#### 1.1. Nombre et description des nodules d'arachide

Les nodules sont bien développés et visibles au niveau des racines. Le comptage des nodules totaux par plant d'arachide a montré que le nombre moyen varie de 5 à 34. Néanmoins, ce nombre est variable d'une région à une autre. De plus, une variabilité a été, aussi, notée pour la taille des nodules, ainsi que les nodules, la forme et la couleur (Figure15).



**Figure 15:** Racine d'un plant d'arachide nodulée (Originale).

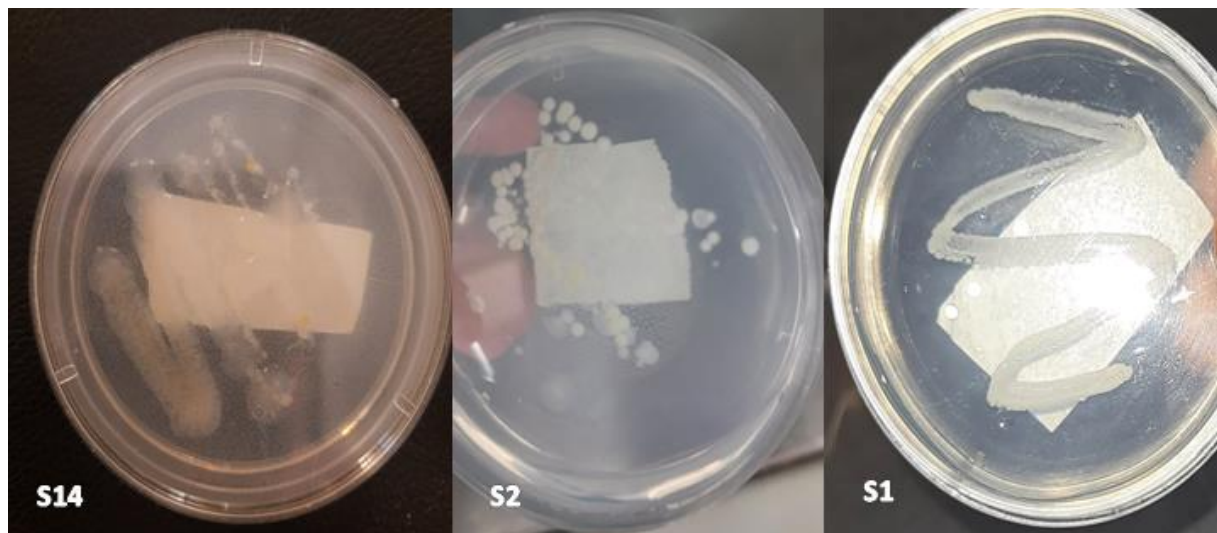
### **1.2. Etude morphologique**

#### **1.2.1. Croissance et comportement des colonies**

La croissance des isolats étudiés sur milieu YMA peut être classée en deux groupes:

- Un premier groupe des isolats à croissance rapide, dont les colonies apparaissent après 48 à 72 h de culture(S1, S2, S4,S5,S6,S9,S11,S12,S13,S14,S16,G1 et G2).
- Un second groupe des isolats à croissance lente pour lesquelles les colonies n'apparaissent qu'au bout de 7 jours de culture(S7,S8 et S15).

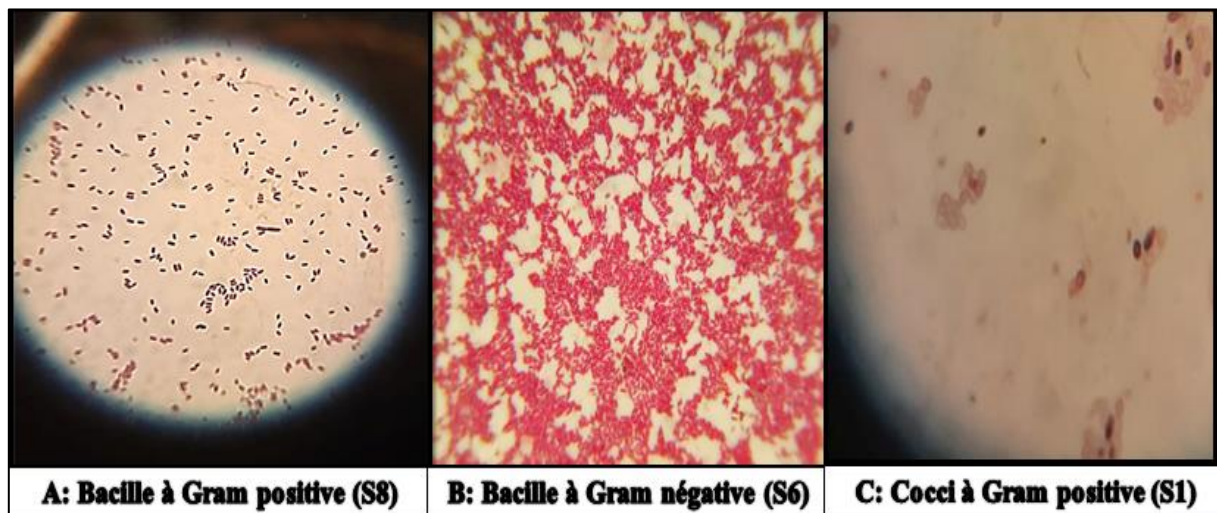
En effet, les colonies des isolats présentent des colonies en formes circulaires caractérisées par un contour régulier et une couleur blanchâtre, lisse, brillante avec une texture translucide homogène et une consistance visqueuse (Figure 16).



**Figure 16 :** Aspect des colonies sur milieu YMA (Originale).

#### **1.2.2. Analyse microscopique**

L'observation microscopique a révélé que quinze (15) isolats sont de forme bacille, neuf d'entre elles sont à Gram positif (S2,S4,S5,S7,S8,S11,S13,G1 et G2) et les six autres isolats sont à Gram négatif (S6,S9,S12,S14,S15 et S16), tandis qu'un seul isolat a une forme de Cocci positive (S1) (Figure 17).

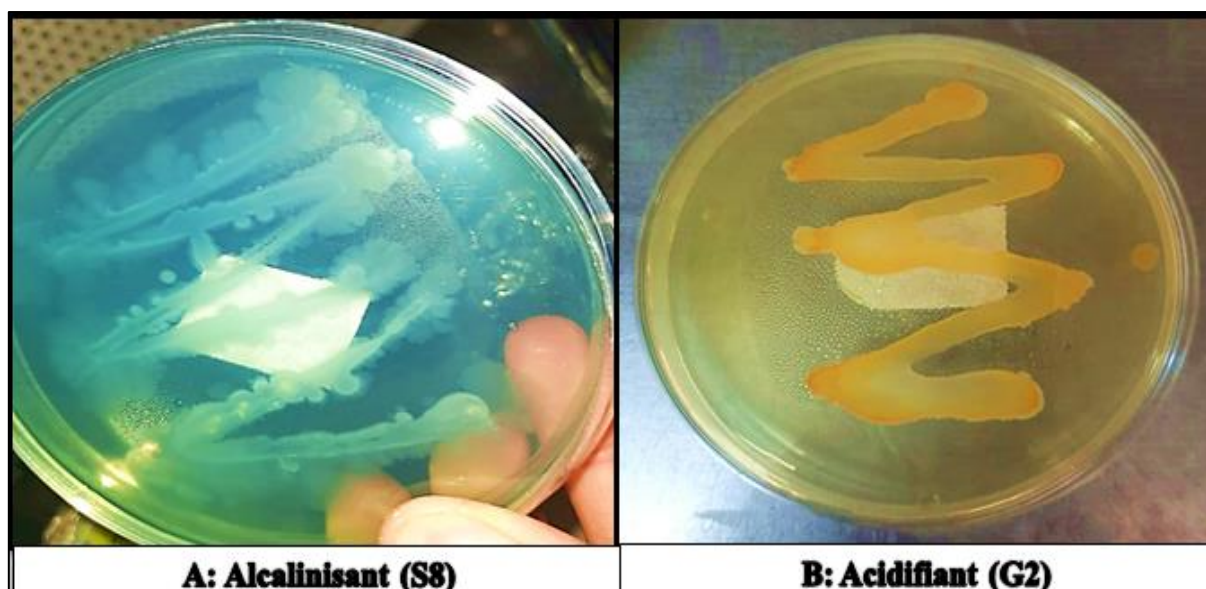


**Figure 17 :** Aspect microscopique des bactéries isolées(G×100) (Originale).

### 1.3. Analyse physiologique

#### 1.3.1. Test BTB

Les résultats obtenus sur milieu YMA+Bleu de Bromothymol montre un virage de couleur du vert vers le jaune pour les isolats (S1,S2,S4,S5,S6,S9,S11,S12,S13,S14,S16,G1 et G2). Ceci est du après 1 à 3 jours d'incubation ce qui signifie une acidification du milieu caractérisant les isolats à croissance rapide, contrairement à ceux à croissance lente (S7,S8 et S15 ) qui alcalinisent le milieu après 5 à 7 jours de culture (bleu).



**Figure 18:** Résultat du test YMA+BTB (Originale).

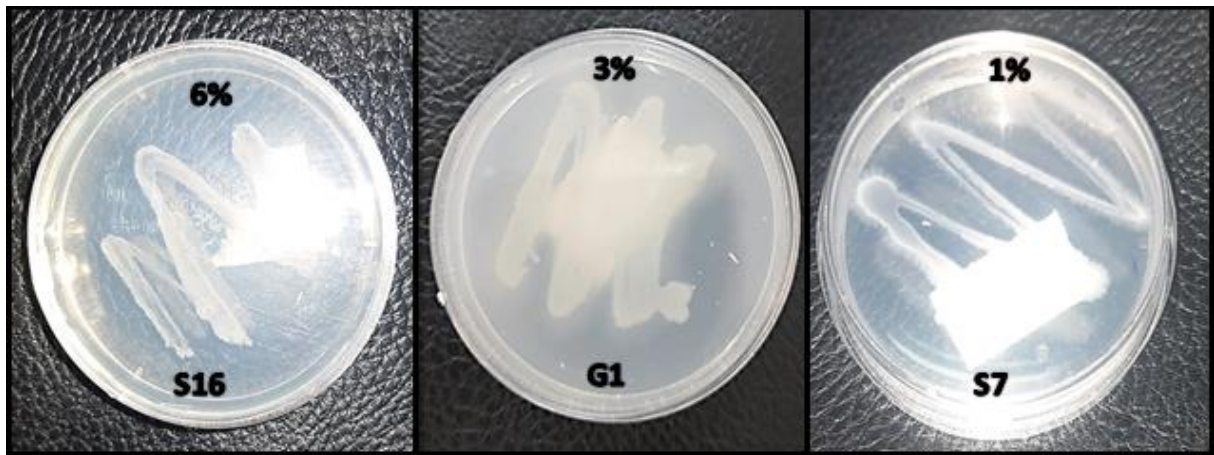
## ***Résultats et discussion***

---

### **1.3.2. Effet de Na Cl**

Les résultats de l'étude de l'effet du Na Cl sur la croissance des isolats variant de 0,5% à 6% après 2 jours d'incubation, montrent une grande variabilité dans leur tolérance, Nous avons rassemblé dans le Tableau 03 les résultats de cet test. Tous les isolats ont toléré une concentration de 0,5% ,1% et 3%, à l'exception de l'isolat S6, qui n'a pas été poussé en présence de 0,5% de Na cl. Toutefois, les isolats S8 et G1 représentent une bonne tolérance à la salinité en présence de 3%

Il a été, également, noté que la plupart des isolats montrent une croissance moyenne sous la concentration 6%.



**Figure 19:** Croissance des isolats sous différents niveaux de Na Cl (Originale).



**Tableau 02: Croissance des isolats sous différentes concentrations de Na Cl.**

Isolats	Na Cl			
	0,5 %	1 %	3 %	6 %
S1	+++	+++	++	++
S2	++	++	+	-
S4	+++	+++	++	++
S5	+	++	++	++
S6	-	+	+	++
S7	+++	+++	++	++
S8	+++	+++	+++	++
S9	+++	++	+++	++
S11	++	++	++	++
S12	+++	+++	++	-
S13	+	++	++	++
S14	+	++	++	++
S15	++	++	+	-
S16	+++	+++	+++	-
G1	+++	+++	+++	++
G2	+++	+++	++	+

+++ : Croissance optimale.

++ : Moyen croissance.

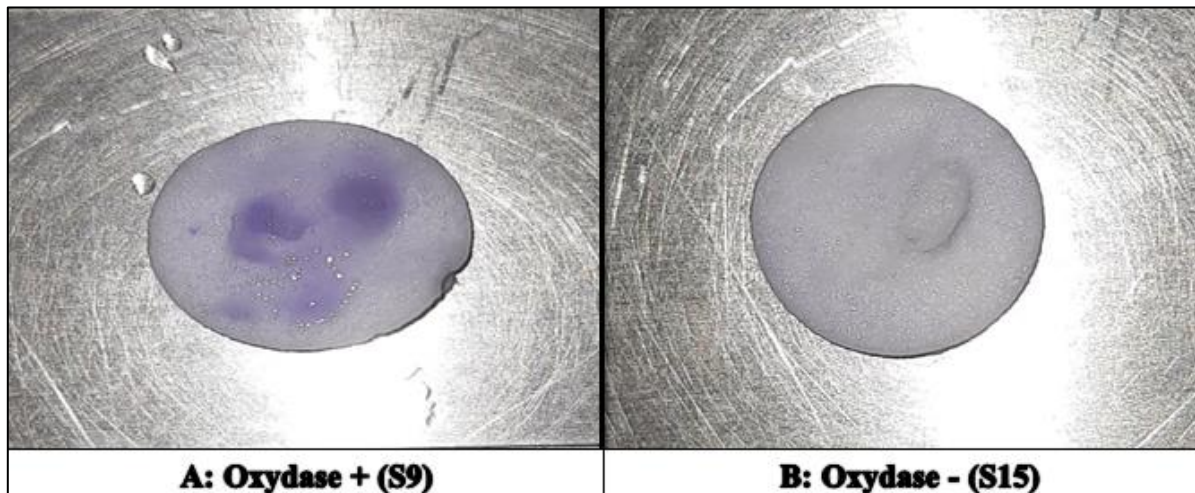
+: Faible croissance.

- : Pas croissance.

#### **1.4. Analyse biochimique**

##### **1.4.1. Recherche d'oxydase**

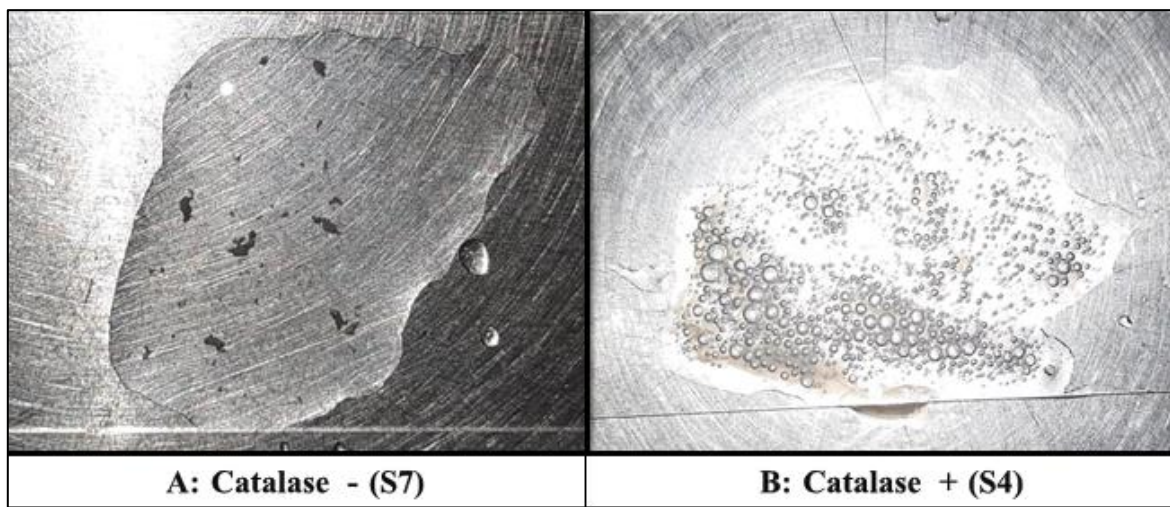
La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique vis-à-vis des bactéries surtout pour celles à Gram (-). Cependant, à l'exception des isolats S5, S9, S12, S16, G1 et G2 qui ont montré une activité positive d'oxydase les autres sont d'oxydase négative (Figure 20).



**Figure 20 :** Résultat du test Oxydase (Originale).

#### **1.4.2. Recherche de catalase**

Par ailleurs, la formation immédiate de bulles de gaz après l'ajout de l'eau oxygénée a été observée pour les isolats S4,S8,S15,S16 et G2, ce qui indique une catalase positive (Figure 21).



**Figure 21:** Résultat du test Catalase (Originale).

#### **1.4.3. Résultat de système Api**

##### **1.4.3.1. Api 20E**

Le test de galerie API 20 E nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des isolats testés afin que donné un résultat possible sur le genre ou éventuellement l'espèce d'une souche bactérienne. En effet, nous avons testé 3 isolats et la lecture des réactions après l'incubation pendant 24 heures à 36°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou

## Résultats et discussion

révélés par l'addition de réactifs. Les résultats de lecture présentés dans la Figure 22 et le tableau (Annexe 5.2).



**Figure 22 :** Résultats sur galerie API 20E de l'isolat S5 (Originale).

### 1.4.3.2. Api 20 NE

Le test API 20NE est conçu pour connaître la source de carbone préférée par les différents isolats étudiés, fournissant une base solide pour l'identification biochimique. Nous avons testé 12 isolats.

Donc la différence de le profil biochimique varie selon des isolats testés pour donne un résultat sur l'espèce d'une souche bactérienne. Les caractères de cette analyse représente dans la Figure 23 le tableau (Annexe5.4).



**Figure 23:** Résultats sur galerie API 20NE de l'isolat S2 (Originale).

### 1.4.3.3. Api 20Strep

La galerie API20 Strep impliquée pour a permet d'identifier l'espèce de isolat S1 selon le test d'orientation (Annexe 4.11). Donc tous les cupules contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Après une incubation à 37°C pendant 24 h. Les résultats de la galerie API 20 Strep sont résumés dans le tableau(Annexe5.6). La fermentation des carbohydrates dans certain cupule entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de coloré contrairement à l'autres d'absence la production d'acide.

## Résultats et discussion

Toutes les réactions de l'isolat S1 sont notées sur la fiche de résultats et ils nous orientent vers genre Streptococcus avec 53,9% d'identité à l'espèce *Streptococcus equinus*1 (Annexe4.12).



Figure 24 : Galerie API Strep de l'isolat S1 (Originale).

## 2. Solubilisation de phosphate

La capacité de solubilisation est révélée par un halo de transparence autour de la colonie après 7 jours d'incubation à 28°C sur milieu Pikovskaya contenant le phosphate tricalcique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphore, en calculant l'efficacité de cette solubilisation par mesure de différents diamètres des halos transparents autour des colonies.

Cependant, les résultats de l'analyse de la variance à un facteur (One-way ANOVA) (Tableau 04) révèle une différence qui n'est pas significative ( $p > 0,05$ ) entre les isolats quant à leur indice de solubilisation. En effet, la majorité des isolats testés sont capables de produire un halo de solubilisation. L'isolat le plus performant est S2 et la production la plus faible est observée chez l'isolat S11 (Annexe 5.7).



Figure 25 : Halo de solubilisation (Originale).

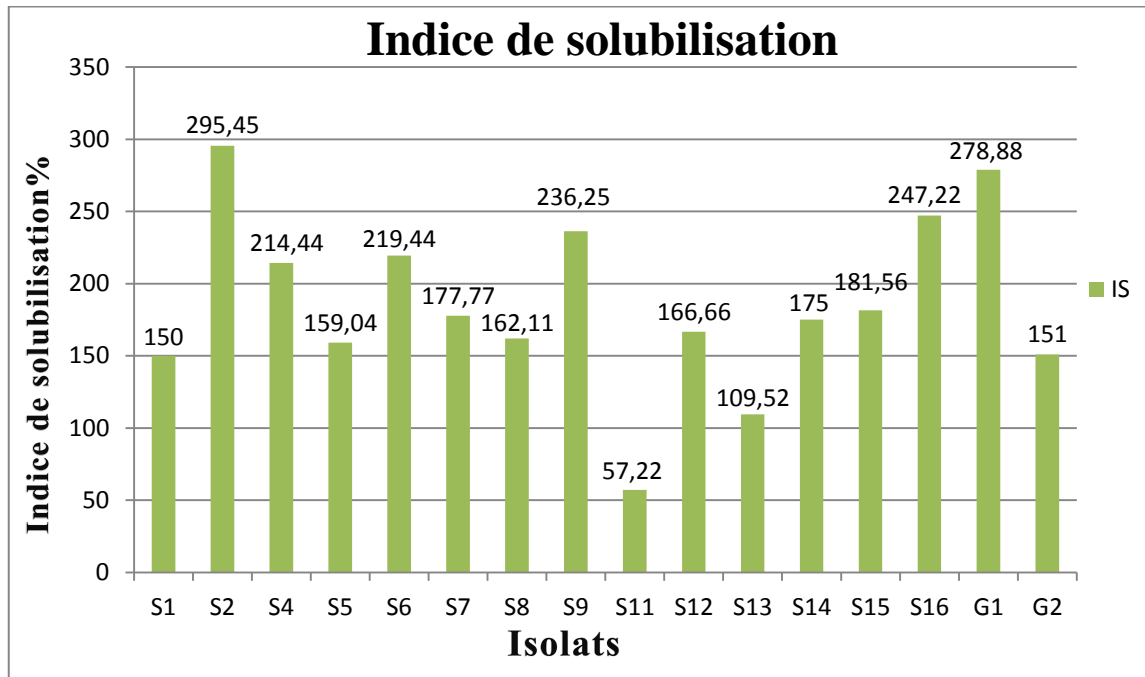


Figure 26: Variation de l'indice de solubilisation du phosphate chez les isolats étudiés.

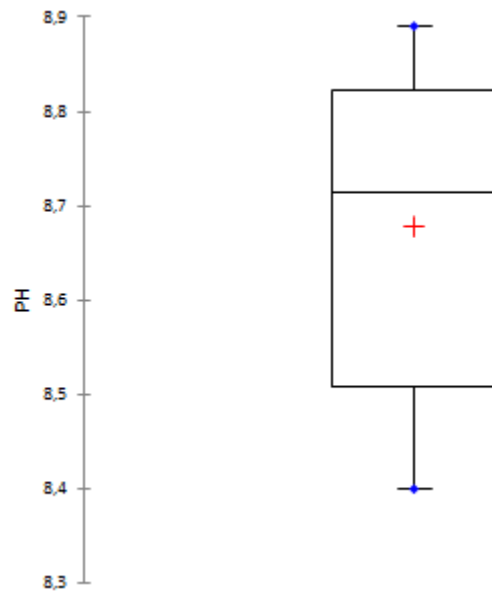
### 3. Résultat des analyses physicochimique des sols

#### 3.1. Texture du sol

L'analyse granulométrique des sols des parcelles échantillonnées montre que la majorité des sols ont une texture plutôt sableuse à l'exception des sols où proviennent les isolats S2,S12 et G2 dont la texture a une tendance plutôt argileuse.

#### 3.2. pH

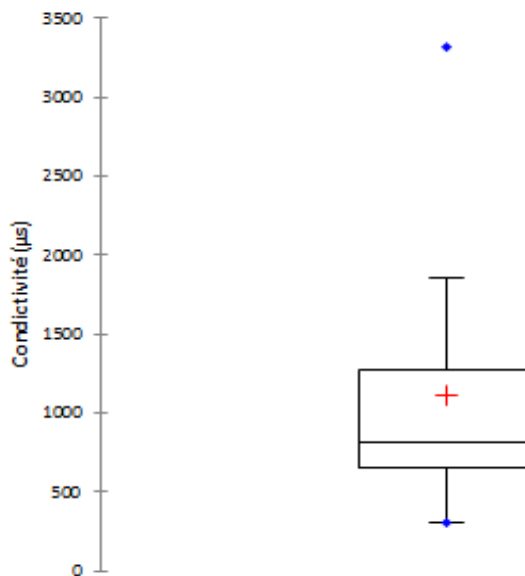
La figure 27 montre que le sol des différentes parcelles étudiés est généralement modérément alcalin varie entre 8,89 à 8,40, le maximum a été enregistré au niveau de région de Sebseb (S1) (pH=8,89) tandis que le moyen (pH=8,67). Egalement, les valeurs de pH ne sont pas dispersés puisque le coefficient de variation (CV=1,91%) est faible (Annexe5.9).



**Figure 27:** Diagramme en boîte à moustache de pH.

### 3.3. Conductivité électrique (CE)

La représentation graphique des résultats montre que les valeurs de CE ne sont homogènes pour l'ensemble des sols étudiés variant de 3320 à 311  $\mu\text{s}$  dont le coefficient de variation est de l'ordre de 74,54%. En effet, la majorité des sols sont considérées comme légèrement salées ( $500 < \text{CE} < 1000 \mu\text{s}$ ). Cependant, des valeurs ont été enregistrées de conductivité électrique que le sol de parcelle (S13) est le plus salé. Alors que, le sol (S16) a une salinité nulle (Figure 28) (Annexe5.11).



**Figure 28:** Diagramme en boîte à moustache de CE.

### **4. Analyse multivariée**

#### **4.1. Analyse des critères phénotypiques par UPGMA**

Le dendrogramme établis suite au calcul d'indice de similarité selon la méthode de Bray-Curtis, en utilisant l'algorithme UPGMA montre que les isolats peuvent être répartis en deux principaux groupes (Figure 29) (Annexe5.1).

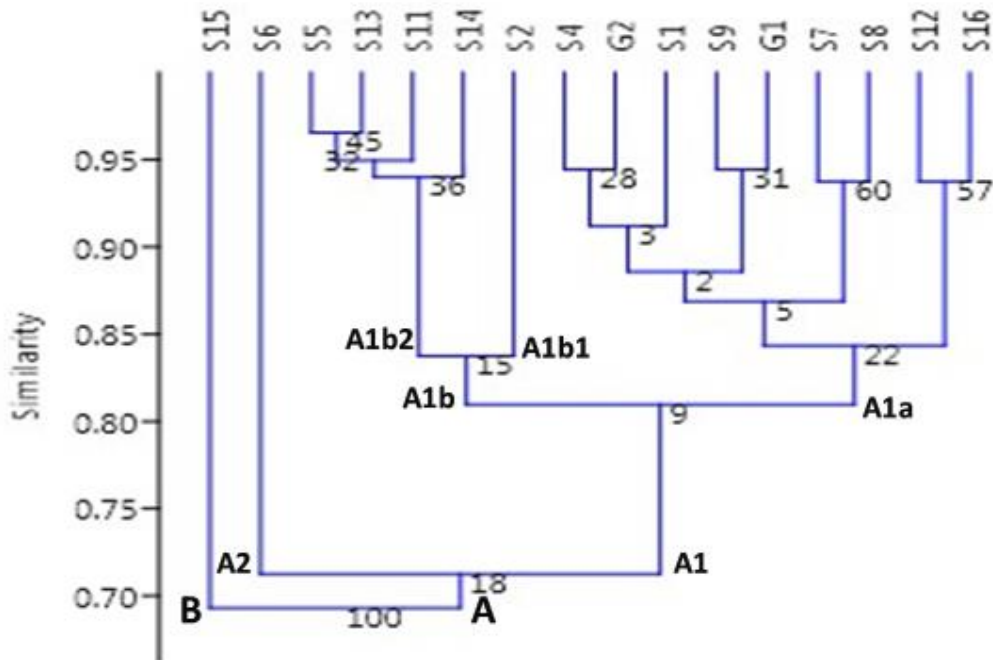
- Le groupe A est divisé en sous-groupe A1. Le sous-groupe A1 est subdivisé en :

Le sous-groupe A1a qui reforme tous les isolats à croissance rapide ( S16, S12 , G1, S9 ,S1 G2, S4) à l'exception des isolats(S8, S7) qui sont caractérisés par une croissance lente, ce groupe se subdivise rapidement à la distance de similaire phénotypique à 84 % d'isolats (S16, S12, G1, S9 S1, G2, S4) sont liée par rapport la forme , le type du gram positif et l'effet d'acidifiant du milieu de culture.

Le sous-groupe A1b: il se subdivise en deux groupe A1b1et A1b2, bien que le A1b1 contient l'isolats S2 qui solubiliser le phosphore maximale, A1b2 qui retient tous les isolats à croissance rapide (S14 ,S11,S13,S5)sont similaires à 94% .

Le sous-groupe A2: est composé de isolats S6 qui est caractérisé par une oxydase négatif, elle est capable de solubiliser le phosphore.

- Le groupe B: est composé d'un seule isolats S15 avec un indice de similarité faible pour tous les isolats.



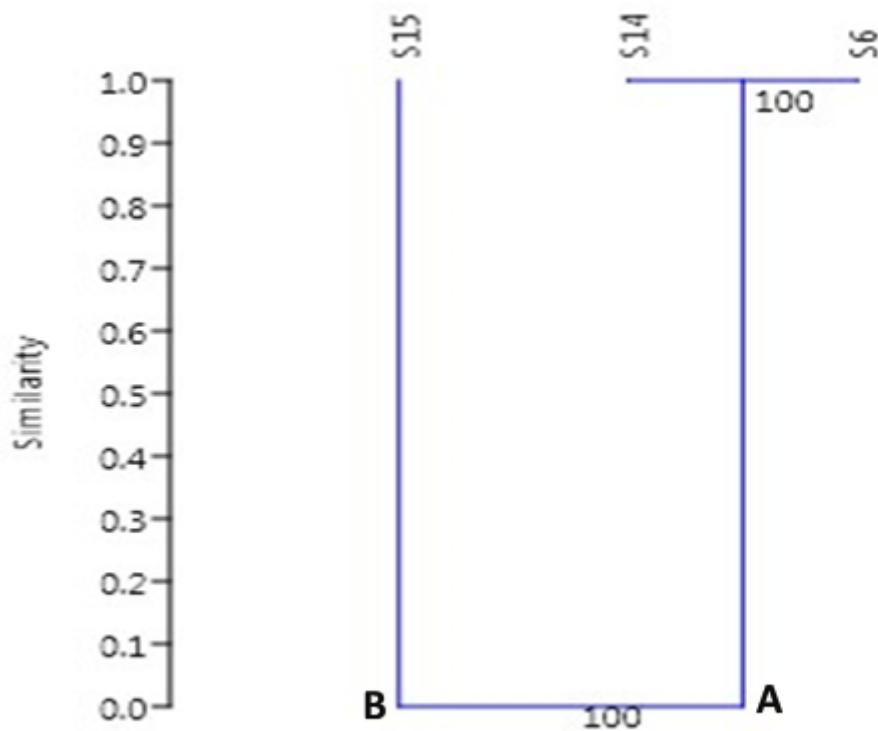
**Figure 29:** Dendrogramme montrant la distribution des isolats en fonction au niveau de similitude de leurs caractères phénotypiques.

#### 4.2. Analyse de similarité des isolats de teste API 20E

Les résultats d'API 20E selon le dendrogramme établis suite au calcul d'indice de similarité selon la méthode de Bray-Curtis, en utilisant l'algorithme UPGMA a été mis en évidence deux principaux groupes A et B (Figure 30) (Annexe5.3).

Le groupe A : est constitué des isolats S14 et S6 d'une de similarité 100%, tandis que l'isolats S15 constitue le groupe B qui est bien distinct.





**Figure 30:** Dendrogramme de similarité des isolats d'API 20E.

### **4.3. Analyse de similarité des isolats de teste API20NE**

Les résultats d'api NE établis par la méthode de Bray-Curtis, en utilisant l'algorithme UPGMA, sont représentés dans la figure 31 et le tableau (Annexe5.5).

- Le groupe A :est composé de 4 isolats (S8,S11, S7, S4) qui sont toutes des bacteries à gram négatif qui sont similaires à 45%,il se subdivise en 2sous-groupe :

Le sous-groupe A1:retient les isolats ( S8 ,S7,S11) caractérisé par une oxydase négative.

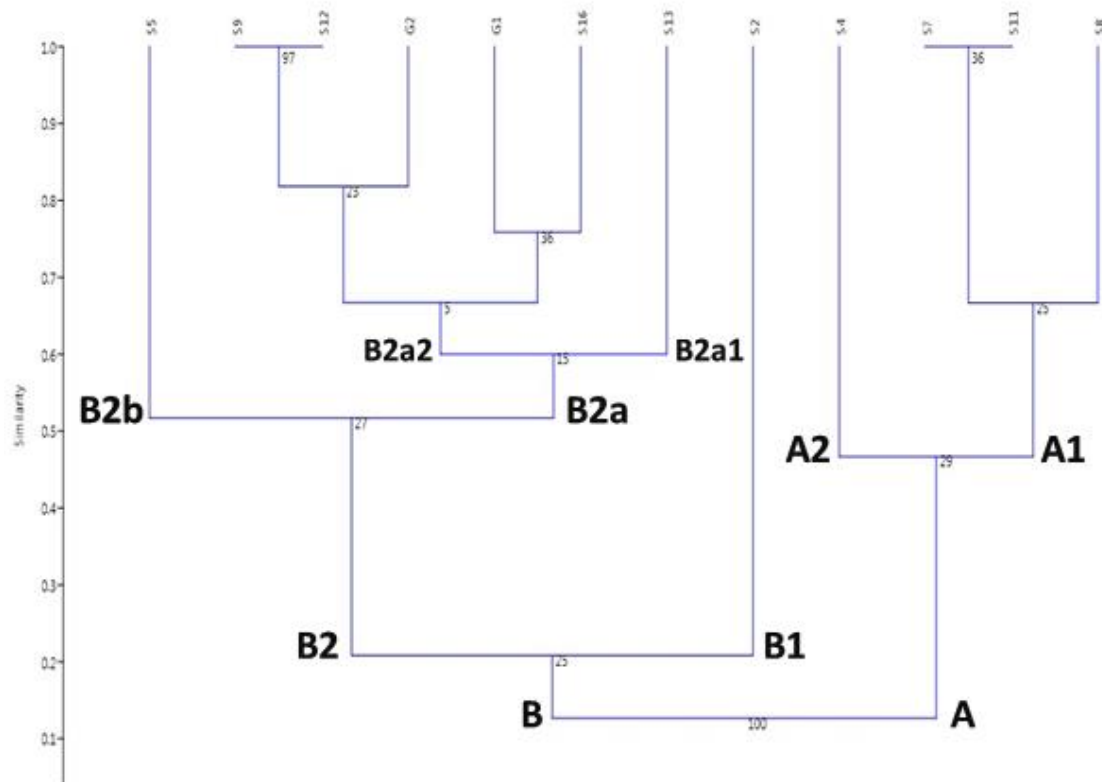
Le sous-groupe A2 :est constitué d'isolats S4 , est capable de solubiliser le phosphore.

- Le groupe B :englobe le reste des isolats , il se subdivise en deux sous-groupe :

Le sous-groupe B1 : est constitué uniquement d'isolats S2 avec un indice de similarité faible par rapport aux autres.

Le sous-groupe B2: se subdivise en B2a,il est divisé aussi en deux autres groupes B2a2 est composé d 'un seul isolats S13 que 60 % de similarité, ainsi que le groupe B2a2 retient les isolats (S16, G1, G2, S9) qui similaire par 60% se caractériser par solubilisation le phosphore.

Pour l'isolats S3 (B2b) est caractérisé par d'indice de similarité 50%.



**Figure 31:** Dendrogramme de similarité des isolats d'API 20NE.

### Discussion générale

La capacité des isolats à former des nodules sur les racines des légumineuses demeure le critère de base pour les caractériser comme étant des *rhizobia* (Graham *et al.*, 1991). En effet, la reconnaissance de l'importance de la symbiose *rhizobia* – légumineuse a joué un rôle important dans la protection de l'environnement et l'amélioration de la fertilité des sols et dans la réhabilitation des sols appauvris (Dekak, 2010; Kirdi, 2011).

Néanmoins, la caractérisation phénotypique traditionnelle est toujours admise comme étape primordiale pour l'identification et la séparation des bactéries nouvellement isolées. Elle constitue chez les *rhizobia*, la base de la description formelle (Vandamme *et al.*, 1996). Dans cette étude, 16 isolats associés à l'arachide récoltés à partir des racines ont été caractérisés via une approche phénotypique et une analyse numérique.

Notre résultats sont similaires également avec ceux rapportés par Hirsch *et al.*, (2001) qui rapportent que les nodules observés se situent au niveau des racines principale et secondaire et

## ***Résultats et discussion***

---

sont de type indéterminé, ce type de nodules rencontré chez l'arachide est comparable à celui des plantes de *Vicia faba* L.

Parmi les caractéristiques morphologiques et culturales utilisées pour la caractérisation et l'identification des *Rhizobiums*, une des plus remarquables est leur croissance sur milieu Yeast Mannitol Agar. En effet, la majorité des isolats cultivés sur YMA ont présenté au bout de 2 à 3 jours qui sont des colonies à croissance rapide, à l'exception les isolats S7,S8 et S15 apparaissent sur milieu après 5 - 7 jours. Ceci indique que leur vitesse de croissance est lente alors que la morphologie des colonies présentent un contour régulier de couleur blanche translucide, avec aspect lisse qui sont comparables aux caractéristiques morphologiques et culturales des *Rhizobia* (Jordan,1984 ;Vincent ,1970;Holt *et al.* ,1994;Mahdhi *et al*, 2007).

A la lumière des résultats obtenus que les réactions enregistrées chez les isolats sur le milieu YMA additionné au BTB est semblables à celles avancées par Jordan (1984) et Somasegaran et Hoben (1994), la plupart des isolats ont montré un virage de couleur du vert vers le jaune. Ce virage de couleur après 1 à 3 jours d'incubation signifie une acidification du milieu ce qui prouve que ces isolats ont une croissance rapide (Beck *et al.*, 1993), contrairement des isolats S7, S8 et S15 à croissance lente (croissance après 5-7 jours) qui sont considérées comme des bactéries qui alcalinisent le milieu de culture et cette réaction alcaline se traduit par le renforcement de la coloration bleu et suggère l'appartenance de ces souches au genre *Bradyrhizobium* (Jordan, 1984 ; Beck *et al.*, 1993 ; El Hilali, 2006; Pagano, 2008).

L'observation microscopique de la majorité des isolats a permis la visualisation de forme Bacille à Gram différent à l'exception de uniquement isolat (S1) est mobile avec de forme Cocci .Cette résultats obtenus pour l'ensemble des isolats répondent une approximation aux caractéristiques des *Rhizobia* (Vincent, 1970 ; Holt *et al.*, 1994; Duhoux et Nicole, 2004). Pour cette raison les résultats de l'identification préliminaire a permis de réaliser les tests de galerie API , qui nous amènent à observer certain des isolats testés possèdent les enzymes (Oxydase et Catalase).

Subba (1994) avait observé une différence significative dans la croissance de différentes souches de *Rhizobium* inoculées sur un milieu YMA salinisé et a rapporté que la tolérance des *Rhizobiums* à la salinité est supérieure à celle de leurs plantes hôtes. Des études rapportent que les bactéries nodulants les légumineuses, les *rhizobia* en particulier, sont exposés à l'action de divers facteurs abiotiques, notamment les sels. En général, les effets du Na Cl semblent être un bon indicateur de la réponse des rhizobiums aux conditions de salinité (Diez *et al.*, 2009). En

## ***Résultats et discussion***

---

effet, les résultats obtenus montrent que la majorité des isolats présentent une tolérance à la salinité jusqu'à une concentration de 1% à 3% comme l'isolat G1.

D'autre part, la salinité diminue la survie des *rhizobia* et inhibe l'expansion et la courbure des poils absorbants ainsi que la fixation des *rhizobia* sur les poils semble être sensible au stress salin, ce qui entraîne une réduction du nombre de ces organes symbiotiques (Saadallah *et al.*, 2001; Benkhaled, 2003). Il existe d'isolats (S2, S12, S15 et S16) qui montrent une nette sensibilité à des concentrations fortes de Na Cl allant de 6%.

En outre, les travaux de Mpeperekki *et al.* (1997) ont rapporté que l'existence de souches tolérantes à la salinité peut être une indication d'une adaptation au stress osmotique qui est dû à l'augmentation de la concentration d'ions et à la variation de l'humidité du sol. Zerhari (2000) et Sang *et al.* (2003) ont rapporté que les *Rhizobia* à croissance rapide à l'instar d'un (S1) sont plus tolérants à la salinité que les *Rhizobia* à croissance lente (S15).

Les souches *Rhizobium* sont capables de réaliser une symbiose efficace dans des niveaux de salinité élevés ne provenant pas nécessairement de sols salins (Subba *et al.*, 1999; Zahran, 1999), constate, de même, que la croissance est moyenne pour l'isolat S13 dans des différentes concentrations de Na Cl entre 1% à 6%. Quant à la réduction du nombre et du poids des nodules pourraient être la conséquence d'une mauvaise croissance des plantes. En retour, les isolats collectés à partir de sols salins réussissaient mieux à fabriquer des nodules racinaires dans des conditions salines (Zahran, 2011).

Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes. En cas de carence, le P devient élément nutritif limitant de la croissance végétale. Même dans les sols riches en phosphate, la plus grande quantité de cet élément n'est pas forcément sous forme assimilable (Ezawa *et al.*, 2002).

Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes (Richardson, 2001 ; Przemieniecki *et al.*, 2015). Par ailleurs, les bactéries solubilisant le phosphate ont d'autres propriétés bénéfiques pour les plantes, telle la production de différentes substances favorisant la croissance des plantes (Wani *et al.*, 2007).

Dans ce contexte, les isolats bactériens ont été testés pour leur aptitude à solubiliser le phosphate selon la méthode décrite par (Pikovskaya, 1948). Lors de la présente étude, 16 isolats capables de solubiliser le phosphate ont été isolés à partir des nodules développés sur les racines d'arachide. L'évaluation de la solubilisation, investie tant sur la base de la présence d'un halo ou

## ***Résultats et discussion***

---

zone claire sur un milieu solide (Fernandez *et al.*, 2007) que sur la quantification du taux de phosphore solubilisé sur milieu solide contenant le phosphate tricalcique comme seule source du phosphate (Pikovskaya, 1948), a révélé une différence entre les isolats. La capacité du P solubilisé, la plus élevée, est de 295,45% d'isolat S2. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux rapportés par Aarab *et al.*, (2009), quoique d'autres études ont montré que certaines rhizobactéries ont pu solubiliser des taux assez faibles dans notre étude apparus d'isolat 11 (IS=57,22%) (Hatim *et al.*, 2015).

Les analyses physico-chimiques permettent d'apprécier la fertilité naturelle d'un sol, d'expliquer les déficiences de rendements et d'orienter vers le choix des cultures (Soltner, 2005). Elles permettent aussi de rechercher d'éventuelles corrélations entre la présence ou l'absence des *Rhizobia*, donc nous avons utilisé la méthode de l'hydromètre utilise le Système canadien de classification des sols pour le sable, le limon et l'argile. Cette méthode est généralement utilisée pour déterminer la texture du sol sur des échantillons qui n'ont subi aucun prétraitement. Cependant, Elle est l'avantage de pouvoir traiter un grand nombre d'échantillons à la fois et d'être plus rapide (mesure par simple lecture sur l'hydromètre (Mathieu et Pieltain, 1998). À travers les différents résultats ont souligné que le texture de plupart de nos échantillons étudiés sont sable sauf les sols de S2, S12 et G2 selon l'échelle granulométrique montrent que le diamètre ( $D < 2\mu\text{m}$ ) celui est une texture d'argile.

D'après les résultats de cette étude l'analyse de pH indiquent que le sol est modérément alcalin varie entre 8,40 et 8,89 avec un faible coefficient de variation (CV=1,91%), malgré cette alcalinité, le sol reste salé (Job *et al.*, 1997). Parallèlement à nos résultats on a observé dans des conditions de laboratoire que les *Rhizobia* décroissent le pH du sol (Dubey, 2011).

Bien que les résultats de notre analyse montrent que le sol de notre région a une différence de conductivité électrique de 383 à 3320  $\mu\text{S}/\text{cm}$  d'après l'échelle de la salinité de Durand (1983). Une augmentation de la CE par rapport dans le présent travail (74,54%).

Nous pouvons admettre que les paramètres étudiés montrent que le sable présente des valeurs de conductivité élevées ont été enregistrées (maximale 3320  $\mu\text{m}$ ) pour du sol S13 de région Sebseb indiquant un sable très salé et le pH (8,46) est modérément alcalin.

Selon Roloff (2007), des valeurs de pH plus élevées (8 à 9) sont recommandées pour la production de luzerne car ils favorisent l'activité des bactéries rhizobiennes fixatrices d'azote, les valeurs de CE sont supérieures peuvent diminuer les rendements en l'arachide. Cela indique qu'il

## ***Résultats et discussion***

---

La croissance de nos isolats de la rhizosphère d'arachide est favorisée par un sol alcalin et légèrement salin.

# *Conclusion*



### **Conclusion**

Dans ce travail qui a porté sur l'étude de la symbiose *Rhizobia* d'arachide, nous avons cherché à évaluer la caractérisation phénotypique des rhizobiens nodulant l'arachide tout en effectuant des analyses physicochimiques du sol. Pour ce faire 16 isolats ont été collectés de plusieurs sites de la wilaya de Ghardaïa (Sebseb et Metlili).

La caractérisation du partenaire bactérien a débuté par une morphologique en utilisant des milieux de culture spécifiques et un examen microscopique par coloration de Gram, ainsi que des analyses physico-chimiques du sol. En effet, l'aspect morphologique des isolats sur milieu YMA-Bleubromothymol a montré une croissance lente et rapide. De même, l'analyse de la croissance bactérienne montre que les isolats peuvent prendre de la couleur bleu signifie qu'il alcalinisant (S7, S8 et S11), contrairement aux autres isolats ont pris la couleur jaune et d'une activité plutôt acidifiante.

À travers les résultats obtenus, l'examen microscopique par la coloration de Gram révèle que la majorité des bactéries sont de forme Bacille à différent Gram. En revanche, l'effet de la salinité montre que les isolats peuvent résister aux différentes concentrations de Na Cl allant jusqu'à 6%, par contre la réponse au stress salin était liée à l'origine des sols.

La plupart des isolats ont la capacité de solubiliser le phosphore sur milieu PVK solide et à produire un halo de transparence autour de la colonie. Néanmoins, la production maximale d'indice de solubilisation est observée 295,45% d'isolat S2 et le minimum IS 57,22% pour S11.

Lors du calcul de l'indice de similarité selon la méthode de Bray-Curtis, en utilisant l'algorithme UPGMA pour l'étude le phénotypique des isolats, elles ont été regroupés en deux groupes principaux A et B.

Quant aux résultats portant sur l'analyse physico-chimiques du sol montrent le pH reste toujours alcalin et une différence significative de valeur de la conductivité électrique, si les caractéristiques édaphiques peuvent significativement affecter cette croissance, avec, toutefois, cette différence serait due à la texture qui diffère d'un sol à un autre car chacun a sa substrats. Nous avons remarqué que (S2,S12 et G2 )c'est un argile mais la majorité est sable.

Au terme de ce travail, qui constitue un apport scientifique important, plusieurs perspectives sont envisageables. Il serait donc intéressant de rentabiliser nos investigations en:

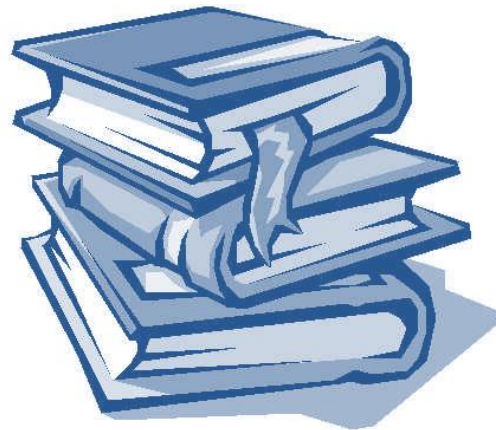


## ***Conclusion***

---

- Mener des essais *in vivo* pour confirmer le pouvoir solubilisateur du phosphore des isolats en symbiose avec l'arachide.
- Compléter la caractérisation des isolats en introduisant d'autres tests biochimiques et physiologiques d'une part et la recherche des gènes de nodulation pour mieux évaluer la diversité des *Rhizobia* et leur statut taxonomique d'autre part.
- Etudier le mécanisme par lequel ces bactéries ont pu coloniser les nodules.
- Tester la capacité des souches à solubiliser le phosphate inorganique en milieu liquide.
- L'élargissement de cette collection de *rhizobia* en y intégrant d'autres régions non étudiées.

# *Liste des références*



### Références bibliographiques

- **Aarab, S., Laglaoui, A., Bakkali, M., et Arakrak, A. (2009).** Sélection des isolats rhizobiens solubilisant le phosphate tricalcique: inoculation des graines du triticale (variété momtaz). Covaphos III Volume 5.147-152 ISBN: 9954-8734-2-7.
- **Achour, M. (2003).** Etude hydrogéologique de la nappe phréatique de la vallée de Metlili (Ghardaïa), 36 p.
- **Affati, D., et Kerdouci, K. (2020).** Etude des différents types d'interactions microbiennes avec les plantes légumineuses. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- **Aguieb, Z., et Messai belgacem, M. (2015).** Valorisation des arachides (*Arachis hypogea* L.) cultivées à la Wilaya D'El-Oued. Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-Oued,15-14p.
- **Al-Hamdani, R. (2011).** Pistache d'arachide de champ ( *Groundnut*. Famille *Fabacées* de espèce *Arachis hypogaea*). Collège d'agriculture et de foresterie, Université d'Al Mossoul.
- **A.N.R.H (2016).** "Inventaire des forages et enquête sur les débits extraits de la nappe albiennne dans la Wilaya de Ghardaïa. Agence Nationale des Ressources Hydrauliques."
- **A.N.R.H (2017):** Inventaire des forages et enquête sur les débits extraits de la nappe Albiennne dans la wilaya de Ghardaïa. Agence Nationale des Ressource Hydraulique.
- **Aouadj, R., et Saidi sief, O. (2015).** Isolement et caractérisation des bactéries nodulant la légumineuse fourragère *Hedysarum pallidum* Desf., poussant dans la région de Djebel Boutaleb (Setif). Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine, 15p.
- **Aouane, M., et Hamani, H. (2017).** Etude des PGPR "Plant Growth Promoting Rhizobacteria" des plantes actinorhiziennes: cas de *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnusangustifolia*. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Beijerinck, M. (1888).** Die Bacterien der *papilionace enknollchen*. Botanische Zeitung: 46:797-804.
- **Beck, D.P., Materon, L. A., et Afandi, F. (1993):** Practical Rhizobium-Legume Technology Manual. ICARDA(Ed), Syria, pp389.
- **Bekki, A. (1983).** Contribution à l'étude de quelques espèces de Luzerne et leurs symbiotes dans un environnement salé. DES biologie végétale. Oran Université d'Oran, 48 p.

## Références bibliographiques

---

- **Ben Khaled, L., Morte, G.A., Honrubia, M., et Oihabi, A. (2003):** Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le *Rhizobium*. *Agronomie*. 23(7): 553-560.
- **Ben Mazouz, A., et Sebgag, A. (2020).** Contribution à l'étude des rongeurs dans quelques palmeraies à Ghardaïa (commune de Guerrara), 3p.
- **Ben Saha, S., et Hadj Amar, S. (2020).** Solubilisation des phosphates inorganiques et production des sidérophores par quelques isolats rhizobiens nodulant l'arachide (*Arachis hypogaea* L.).Mémoire de Master, Université de Ghardaïa, 1p.
- **Bensemaoune, Y. (2007).** Les parcours sahariens dans la nouvelle dynamique spatiale.
- **Ben Semaoune, Y. (2008).** Les Parcours sahariens dans la Nouvelle Dynamique Spatiale: Contribution à la Mise en Place d'un Schéma d'Aménagement et de Gestion de l'Espace(SAGE)–Cas de la Région de Ghardaïa-Magister, Protection de l'Environnement en Zones Arides, Université KasdiMerbah-Ouargla. Algérie, 123 p.
- **Benesseddik, A. (2019).** Etude Hydrogéologique de la région de Metlili (Ghardaïa). Mémoire de Master .
- **Benyoub, K. (2010).** Isolement de souches de *Pseudomonas* à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie),156p.
- **Bliefert, C., et Perraud, R. (2001).** Chimie de l'environnement : Air, eau; Sols, déchets. Ed. De Boeck université. Paris, 496p.
- **Bouchiba, Z. (2018).** Diversité des *rhizobia* associés à *Scorpiurus uricatus*ssp. *sulcatus* et leur utilisation pour la réhabilitation des zones dégradées. Thèse de doctorat. Université de Oran.
- **Bouhoun, A., et Houache, B. (2019).** Contribution des Système D'Information Géographique (SIG) à la modélisation d'un réseau d'assainissement: Application sur la ville de Ghardaïa. Mémoire de Master,16-24p.
- **Boukhelifa, L. K., et Hadj mohammed, I. (2018).** Evaluation du pouvoir de solubilisation des phosphates par quelques isolats Rhizobiens provenant de la région de Sebseb. Mémoire de master. Université de Ghardaïa.
- **Bousba, W., et Laib, L. (2016).** Caractérisation phénotypique des isolats nodulants *Trigonella foenum-graecum*L. Université des Frères Mentouri Constantine, 7p.
- **Briat, J., et Job, D. (2017).** Les sols et la vie souterraine : des enjeux majeurs en agroécologie. France : QUAE. p : 293.

## Références bibliographiques

---

- **Chabbi, R. (2009).** Caractérisation des bactéries isolées à partir du genre *Trigonella* L.(*Légumineuses*) poussant dans différents écosystèmes de l'Est algérien. Mémoire de Master. Université Mentouri Constantine.
- **Clavel, D., et Gautreau, J. (1997).** L'arachide. In l'amélioration des plantes tropicales. Eds. Charrier, A., Jacquort, M., Hamon, S., Nicolas, D., 61-82.
- **Coenye, T., Gevers, D., Peer, Y. V., Vandamme, P., et Swings, J. (2005).** Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiol Rev.*; 29: 147-167.
- **Darem, H., et ElFilali, A. (2020).** Variabilité spatiale et interactions plante-rhizosphère chez une culture de luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Hassi L'Fehel (Ghardaïa). Mémoire de Master. Université de Ghardaïa, 1p.
- **Dekak, A. (2010).** Isolement et caractérisation des bactéries nodulant les légumineuses endémiques des genres *Genista* et *Argyrolobium*. Mémoire de Master. Université de Tébessa.
- **Delarras, C. (2014).** Pratiques en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France.
- **Diez, B., Fajardo, S., Puertas-Mejia, M.A., del Rosario de Felipe, M., et Fernandez Pascual, M. (2009):** Stress tolerance, genetic analysis and symbiotic properties of rootnodulating bacteria isolated from *Mediterranean leguminous shrubs* in Central Spain. *Arch Microbiol.*191, pp 35-46.
- **Diouf, A., de Lajudie, P., Neyra, M, Kersters, K., Gillis, M., Martinez-Romero, E., et Gueye, M. (2000).** Polyphasic characterization of *rhizobia* that nodulate *Phaseolus vulgaris* in West Africa(Senegal and Gambia). *Int J Systematic Evol Microbiol*, 50: 159-170.
- **Djani, H., et Mehaya, E. (2019).** Réponses morphologiques, biochimiques et effets PGPR chez quelques isolats rhizobiens nodulant l'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Mémoire de Master. Université de Ghardaïa.
- **Domergues, Y., et Mangenot, B. (1970).** Ecologie microbienne du sol : (Ed). Masson et Cie Paris, 796 p.
- **D.P.A.T. (2005).** Atlas de la Wilaya de Ghardaïa. Ed. El-Alamia, 142 P.
- **D.P.A.T., Direction de la planification et de l'Aménagement du Territoire de la Wilaya de Ghardaïa. (2009).** Atlas de Ghardaïa, 164 p.
- **Dubey, Y.P. (2011).** Rhizobia. As ameliorant to soil reaction. *African Journal of Micro.*
- **Dupuy, Y., et Nougier, P.(2005).** Les microorganismes. Du gène à la biosphère. Edition Ellipses. Paris. *biology Research.* 5(24), 4091-4096.

## Références bibliographiques

---

- **Duhoux, E., et Nicole, M. (2004):** Biologie végétale. Association et interaction chez les plantes. Ed. DUNOD. Paris.
- **Durand, J. H. (1983).** "Les sols irrigables; étude pédologique," Presses Universitaire de France.
- **El Hilali, I. (2006).** La Symbiose *Rhizobium*–Lupin: Biodiversité des Micro symbiotes et Mise en Evidence d'une Multi-Infection Nodulaire chez *Lupinus Luteus*.
- **Emberger, L., et Godron, M. (1983).** Code le relevé méthodique de la végétation et du milieu- Centre National de la Recherche scientifique. Paris, 160 p.
- **Évelyne ,T. (2011).** Les pucerons des grandes cultures Cycles biologiques et activités de vol 14.
- **Ezawa, T., Smith, S. E., et Smith, F. A. (2002).** P metabolism and transport in AM fungi. *Plant and Soil*, 244(1-2), 221-230.
- **Faghire, M. (2012).** Rôle des microorganismes symbiotiques (cas des *rhizobia*) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolusvulgaris* sous stress salin, Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech.
- **Fernandez, L. A., P. Zalba, M. A., Gomez M. A., et Sagordoy. (2007).** Phosphate solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Boil. Fertil. Soil*, 43:805–810.
- **Foncéka, D.(2010).** Elargissement de la base génétique de l'arachide cultivée (*Arachis hypogaea*): Applications pour la construction de populations, l'identification de QTL et l'amélioration de l'espèce cultivée. Thèse Docteur en sciences de Montpellier SupAgro.
- **Frank, B. (1889).** Über die Pilzsymbiose der Leguminosen, *Ber. Dtsch. Bot. Ges:* 7:332-346.
- **Frédéric, Z. (2004).** Diversité des bactéries hôtes des légumineuse méditerranéens en Tunisie et au Liban. Docteur de l'Université de Montpellier.
- **Garza, W. (2015).** *Fabaceae* classification, nutrient composition and health benefits preface.
- **Gillier, P., et Sylvestre P.(1969).** L'arachide. Ed Maisonneuve et Larousse.Paris.292P.
- **Graham, P. H., Sadowsky, M. J., et Keyser, H. H. (1991).** Proposed minimal standards for the description of new genera and species of root- and stem-nodulating bacteria. *Int J SystBacteriol* 41, 582–587.
- **Grimont, P.A. D.(1998).** La taxonomie bactérienne à la fin du XXe siècle, *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 13 HS 3–5.

## Références bibliographiques

---

- **Grönemeyer, J. L., Chimwamurombe, P., et Reinhold-Hurek, B. (2015).** *Bradyrhizobium subterraneum* sp. nov., a symbiotic nitrogen-fixing bacterium from root nodules of groundnuts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65, 3241–3247.
- **Grönemeyer, J.L., Hurek, T., Büniger, W., et Reinhold-Hurek, B. (2016).** *Bradyrhizobium vignae* sp. nov., a nitrogen-fixing symbiont isolated from effective nodules of *Vigna* and *Arachis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 62–69.
- **Hamdi, L., et Mehaouat, N. (2018).** Effet promouvoir des bactéries PGPR sur la croissance de la fève (*Vicia faba*). Mémoire de master. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED, 11p.
- **Hatim, S. (2015).** Activités enzymatiques et pouvoir solubilisateur du phosphate chez les bactéries fixatrices d'azote nodulant quatre espèces d'Acacia. Mémoire master sciences et techniques, FST FES Maroc.
- **Hirsch, A. M., Lum, M.R., et Downie J.A., (2001).** What makes the *rhizobia*-legume symbiosis so special. *Plant Physio*, 127: 1484-1492.
- **Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., et Williams, S. T. (1994).** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. pp: 518-537. 9th Edn., USA: Williams and Wilkins, Baltimore.
- **Issa, A., Falalou, H., Maârouhi, I. M., Yacoubou, B., et Didier, Z. J. (2016).** Caractérisation Agro-Morphologique Des Accessions D'arachide (*Arachis hypogaea* L.) Pour La Teneur En Huile. *European Scientific Journal, ESJ*, 12(15), 337.
- **Job, J. O., Gonzales Barrios, J.L., et Gonzales, M. R. (1997).** Détermination précise de la salinité des sols par conductivimètre électromagnétique. Coll. GEOFCAN «Géophysique des sols et des formations superficielles » Bondy. France.
- **Jordan, D. C. (1984).** International committee on systematic bacteriology. Subcommittee on the taxonomy of *Agrobacterium* and *Rhizobium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34:248.
- **Kanouni, L. (2019).** Inhibition des champignons phytopathogènes par *Rhizobium*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Khan, M. S., A. Zaidi., et M. Javed. (2009).** *Microbial Strategies for Crop Improvement*. pp: 1-371. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- **Kirdi, B. (2011).** Rôle des PGPR «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites (Doctoral dissertation).
- **Kraïmat, M. (2019).** Réponses adaptatives de quelques populations d'arachide locales (*Arachis hypogaea* L.) à la déficience en phosphore: Approches agro-morphologique, physiologique et biochimique. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla, 17p.

## Références bibliographiques

---

- **Kraïmat, M., Djani, H., Mehaya, El. A., Hadj Mahammed, I., Boukhlifa, L., Benbitour, I., Ouled hadj aïssa, M., Hadj ammar, S., Bensaha, S., Ouled heddar, M., et Bissati, S. (2021).** Phenotypic diversity and PGPR traits of *Rhizobia* nodulating peanut (*Arachis hypogaea* L.) grown in Algerian sandysoils.
- **La Direction locale des services agricoles (DSA). (2021).** Ghardaïa: une production de 7.450 qx d'arachide "Bio" engrangée.
- **Lambers, H., Mougel, C., Jaillard, B., et Hinsinger, P. (2009).** Plant-microbe-soil.
- **Leseur, D., Tassin, J., Enilorac, M. P., et al. (1996).** La symbiose *Calliandracoalothyr-rhizobium*: spécificité de la plante-hôte pour noduler et fixer l'azote atmosphérique. Caractéristiques biochimiques et symbiotiques du partenaire microbien. Bois et forêts des tropiques.
- **Li, Y. H., Wang, R., Zhang, X. X., Young, J. P. W., Wang, E. T., Sui, X. H., et Chen, W. X. (2015).** *Bradyrhizobium guangdongense* sp. nov. and *Bradyrhizobium guangxiense* sp. nov., isolated from effective nodules of peanut. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 65(12), 4655-4661.
- **Moussaoui, A., Ben Amour, M. S., Zouari Ferhat, A. (2020).** Etude technico-économique de la culture d'arachide (*Arachis hypogaea* L.) dans la région d'Oued Souf. Mémoire de master. Université Echahid Hamma Lakhdar –El- OUED, 12p.
- **MADR, (2015).** Superficies et productions : série B. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, Algérie.
- **Mahdhi, M., Mars, M.(2006).** «Genotypic diversity of *rhizobia* isolated from *Retamaraetam* in arid regions of Tunisia». Ann Microbiol.
- **Mathieu, C., Pieltain, F.(1998).**"Analyse physique des sols :méthodes choisies ",Tec & doc.
- **Mathieu, C., Pieltain, F., et Jeanroy, E. (2003).** "Analyse chimique des sols: Méthodes choisies," Tec & doc.
- **Minata, S., et Ammar, H. (2018).** Évaluation du pouvoir de solubilisation des phosphates par quelques isolats rhizobiens provenant de la région de Mansoura. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa.
- **Mouafek, A. (2010).** La symbiose à *rhizobia* chez la fève (*Vicia faba* L.) et La luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Biskra. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider Biskra.



## Références bibliographiques

---

- **Mouffak, A. A. (2014).** Effets des procédés de revégétalisation des sablières sur les aspects édaphiques des sols dégradés de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 23p.
- **Mpepereki, S., Makonese, F., et Wollum, A. G. (1997).** Physiological characterization of indigenous *rhizobia* nodulation *Vignaun guiculata* in Zimbabwean soils. Symbiosis. 22.pp. 275-292.
- **Mutin, L. (1977).** La Mitidja, Décolonisation et espace géographique. Ed. Alger : office Publications Univ, 607p.
- **O.N.M. (2019).** Données climatiques de la région de Ghardaïa. Ed. Office national de Météo, Ghardaïa, 3 p.
- **Ouled Amrane, S. (2012).** «Inventaire des légumineuses herbacées spontanées de la région d'El Goléa. Caractérisation symbiotique, phénotypique et génotypique des *rhizobia* associés.». Mémoire de Magister en Sciences Biologiques, 91p.
- **Osei, O., Abaidoo, R. C., Ahiabor, B. D., Boddey, R. M., et Rouws, L. F. (2018).** Bacteria related to *Bradyrhizobium yuanmingense* from Ghana are effective groundnut micro-symbionts. Applied Soil Ecology, 127, 41-50.
- **Pagano, M. C. (2008).** *Rhizobia* associated with neotropical tree *Centrolobium tomentosum* used in riparian restoration. Plant Soil and Environment, 54, 498-508.
- **Pelmont, J. (1993).** Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques, 899 p.
- **Pikovskaya, R. I. (1948).** Mobilization of phosphates in soil in connection with the vital activities of some microbial species. Mikrobiologia. 17: 362 – 370.
- **Perry, J. J., Staley, J.T., et Lory, S. (2004).** Microbiologie Ed De Boek et Larcier S:a.,Ed DUNOD,Paris.891P.
- **Przemieniecki, W. S., Kurowski, P. T., et Karwowska, A. (2015).** Plant growth promoting potential of *Pseudomonas* sp. SP0113 isolated from potable water from a closed water well. Archives of Biological Sciences, 67(2), 663-673.
- **Ramade, F. (1984).** Éléments D'écologie – Écologie Fondamentale. Éd. Mc Graw-Hill, Laghouat, 83p.
- **Rouas, A., et Bendania, M. L. (2018).** Etude Hydrogéologique de la région de Hassi Lafhel, 30p.
- **Richardson, A. E. (2001).** Prospects for using soil microorganism to improve the acquisition of phosphorus by plants. Aust. J. Plant Physiol. 28: 897-906.

## Références bibliographiques

---

- **Roloff, A. M, Anderson, G. R, Martemyanov, K. A, Thayer, S. A., et Homer. (2010)** .La gates the induction mechanism for endocannabinoid-mediated synaptic plasticity. J Neurosci.
- **Saadallah, K., Drevon, J.J., et Abdelly, C. (2001):** Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. Agronomie. 21(6-7): 627-634.
- **Sang, N., Chen, C. (2006).** Lipid signaling and synaptic plasticity. Neuroscientist.
- **Sakrouhi, I. (2017).** Caractérisation physiologique et taxonomique des *rhizobiums* nodulant *Acacia* isolés des dunes de Merzouga et étude transcriptomique d'une souche modèle de la collection. Thèse de doctorat. Université Mohammed V - Agdal.
- **Smartt, J., Gregory, W., et Gregory, M. P. (1978).** The genomes of *Arachis hypogaea*.1. Cytogenetic studies of putative genomedonors. Euphytica, 27(3), 665-675.
- **Soltner, D. (2005).** Les grandes productions végétales .Ed. Collection sciences et techniques agricoles,472p .
- **Somasegaran, P ., et Hoben, H. J. (1994).**Handbook for *Rhizobia*. Springer verlage New York. Inc, 450p.
- **Somasegaran, P., et Hoben, H. J. (2012).** Handbook for rhizobia: methods in legume-*Rhizobium* technology, Springer Science & Business Media.
- **Stewart, P. (1969).** Quotient Pluviothermique Et Dégradation Biosphérique. Bull. Soc. Hist. Nat.Afr. Nord.59. Pp : 23-36.
- **Subba Rao, G. V., Johnseng, C .,Kumarrao, J. V. DK., et Jana, M. K. (1999).** Response of the *Pigeon peaRhizobium* symbiosis to salinity stress: variation among *Rhizobium* strain in symbiotic ability. Biol and ferti; 9:49-53.
- **Taktek, S. (2015).** Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat. Université LAVAL, Québec, Canada,128p.
- **Taurian, T., Ibanez, F., Fabra, A., et Aguilar, O. M. (2006).** Genetic diversity of *rhizobia* nodulating *Arachis hypogaea* L. in central Argentinean soils. Plant and soil, 282(1-2), 41-52.
- **The State of Food and Agriculture (2015).** Social protection and agriculture: breaking the cycle of rural poverty from Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- **Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., Devos, P., Kersters, K., et Swings, J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiological Reviews: 60:407-438.
- **Vincent, J.M. (1970).** A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP handbook No15. Black well Scientific Publishers, Oxford.

## Références bibliographiques

---

- **Vincent, J. M. (1974).** In Rezki. M. A. 1990.
- **Vincent, J. M. (1977).** Root-nodule symbiosis with Rhizobium. In the biology of nitrogen fixation *quispel*. A. eds. North-holland. Amsterdam, 256-341 pp.
- **Walrand, S., et Rémond, D. (2017).** Les graines de légumineuses : caractéristiques nutritionnelles et effets sur la santé Innovations Agronomiques, INRA, 2017, 60. hal-01685940, 138p.
- **Wang, E. T., van Berkum, P., Sui, X. H., Beyene, D., Chen, W. X., Martinez et Romero, E. (1999).** Diversity of *rhizobia* associated with *Amorpha fruticosa* isolated from Chinese soils and description of *Mesorhizobium amorphae* sp. nov. Int J Syst Bacteriol.
- **Wang, R., Chang, Y. L., Zheng, W. T., Zhang, D., Zhang, X. X., Sui, X. H., et Chen, W. X. (2013).** *Bradyrhizobium arachidis* sp. nov., isolated from effective nodules of *Arachis hypogaea* grown in China. Systematic and applied microbiology, 36 (2), 101-105.
- **Wani, P.A., Khan, M.S., et Zaidi, A. (2007).** Co-inoculation of N-fixing and P-solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. Acta Agronomica Hung., 55: 315-323.
- **Zahran, H. H. (1999).** *Rhizobium*-legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. Microbiol Mol Biol Rev.
- **Zahran, H. H. (2011).** Condition for successful *Rhizobium*-Legume symbiosis saline environment. Biol. Fertil. Soils.
- **Zerhari, K. (2000).** Diversité phénotypique et génotypique des *rhizobia* isolées des régions arides et sahariennes du Maroc nodulant quatre espèces d'*Acacia*: *A. cyanophylla*, *A. gummifera*, *A. horrida* et *A. tortilis* sub-espèce *raddiana*. Thèse de Doctorat. Université V Agdal. Rabat Maroc. 125p.

### Référence électronique

- <https://apiweb.biomerieux.com/>
- <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html>.

# *Annexes*

### Annexe 1. Milieux de culture.

#### 1. Milieu Yeast-mannitol-Agar (YMA) : pour un volume 1L

Mannitol.....	10g
Extrait de levure.....	0,5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,5g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0,2g
Na Cl .....	0,1g
Agar .....	15g
Eau distillée .....	1000ml
PH.....	6,8 à

Autoclavage 120 °C pendant 20 min

#### 2. Milieu YMB (Yeast Mannitol Broth) en (g/l): Milieu YMA sans Agar.

#### 3. Milieu YMA + BTB (bleu de Bromothymol )en (g/l):

Après ajustement du pH on ajoute 10 ml de la solution de bleu de bromothymol (0.5g de BTB dans 100ml d'éthanol) au milieu YMA. Autoclavage 120°C pendant 20minutes.

#### 4. Milieu PVK: Pikovskaya (1948) en g/l :

Ca <sub>3</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.7g
Glucose.....	10g
Na Cl.....	0.2g
K Cl.....	0.295g
FeCl <sub>3</sub> .....	0,003g
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> .....	0.373g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0.41g
Extraits de levures .....	3g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
pH .....	6.8 à 7

Autoclavage 120 °C pendant 20 min.

### Annexe 2. Les réactifs.

#### 1. Préparation du réactif d'oxydase

- Dans un petit tube à hémolyse de 5 ml, dissoudre une pointe de couteau de N, N, N', N' tétraméthyl 1-4 phénylène diamine dans 5 ml d'eau distillée.
- Boucher puis agiter.
- Recouvrir le tube de papier aluminium, il est très sensible à la lumière.
- Le réactif conservé au réfrigérateur à l'abri de la lumière, il est stable 6 h.

### 2. Réactive des API

- **Réactif VP 1**

KOH : 40 g

H<sub>2</sub>O : 100 ml

- **Réactif VP 2**

Alpha-naphtol : 6 g

Ethanol : 100 ml

- **Réactif TDA**

Chlorure de fer FeCl<sub>3</sub> : 1 g

Eau distillée : 10 ml

- **Réactif NIT 1**

Acide sulfanilique : 0,4g

Acide acétique : 30g

H<sub>2</sub>O : 70ml

- **Réactif JAMES**

HCl 1N : 100 ml

Composant J 2183 : 0,5 g

- **Réactif ZYM B**

Fast Blue BB : 0,35g

2-méthoxy-éthanol : 100mL

(confidentiel)

### Annexe 3. Méthodes d'analyse des paramètres au laboratoire.

#### 1. Méthode de l'hydromètre

##### 1.1. Mode opératoire

La méthode proposé par Bouyoucos(Mathieu, C., Pieltain, F.1998)

- Séchage les échantillons de terre dans incubateur (24h à 50°C ).
- Transvaser l'échantillon dispersé (50g)dans flacon d'un litre, éventuellement placée dans un bac thermostatique à 20°C et ajuster à un litre avec de l'eau distillée .
- Préparer un blanco en utilisant seulement de l'eau distillée et 25ml de la solution d'hexamétaphosphate de sodium 5% .
- Introduire doucement l'hydromètre dans la suspension après 30secondes et 1minute laisser stabiliser et noter la lecture .
- Retirer l'hydromètre et le rincer à part.

- Les lecteurs suivants se font à 3,10,30,270;720,1080 minutes .
- La température et la densité du blanco doivent être mesurées aux mêmes temps de lecture .

### 1.2.Calcul

Le diamètre des particules qui demeurent en suspension après un temps de sédimentation est déterminé à l'aide de l'équation suivante :

$$D = \frac{\theta \times F}{\sqrt{t}} = 1.03 \mu m$$

D : diamètre des particules en suspension ( $\mu m$ ).

$\theta$  : paramètre de sédimentation ( $1.7\mu m$ ).

F : facteur de correction pour la température( $20^{\circ}C$ ).

t : temps de sédimentation (1080 minute).

### 2. Mesure du pH(Mathieu *et al.*, 2003):

- Prendre environ 10g de terre dans un b cher.
- Ajouter 50ml de de l'eau distillée.
- Mettre dans un agitateur durant 5 minutes.
- Laisser stabiliser jusqu'à 24h.
- Allumer le pH Mètre.
- Tremper l'électrode dans le b cher.
- Puis noter le pH.

### Annexe 4. Les figures.

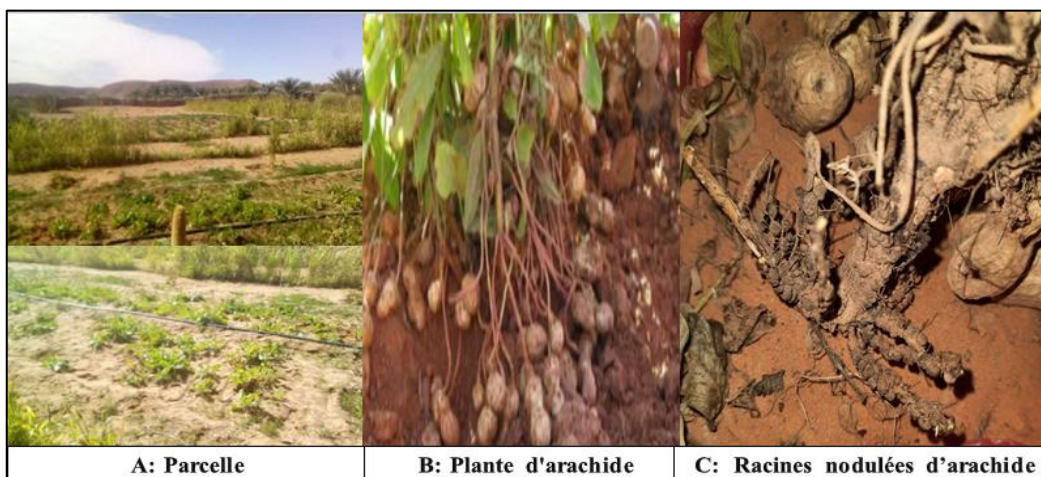


Figure 1 : Collecte des nodules (Originale).

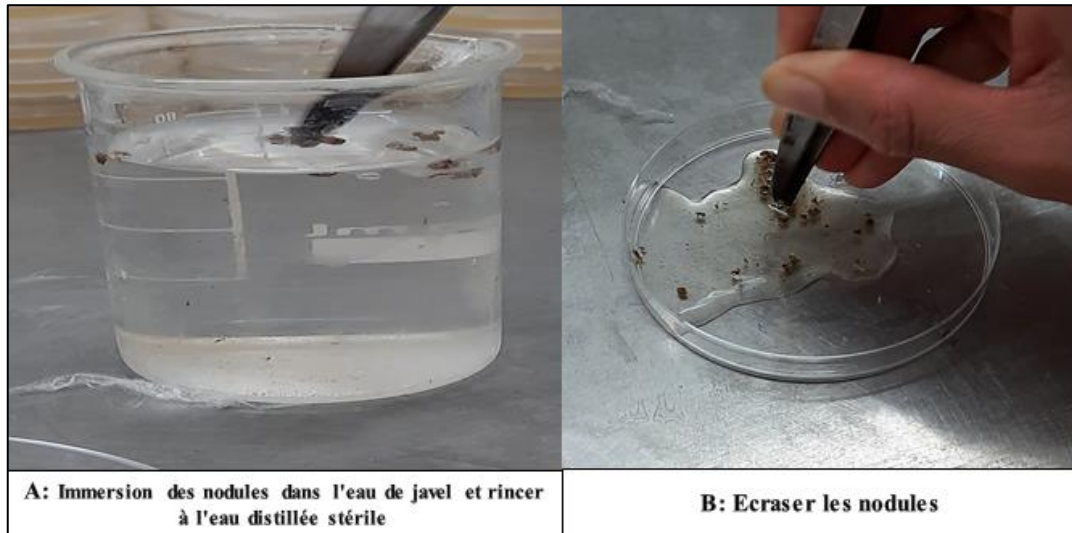


Figure 2 : L'isolement des bactéries (Originale).

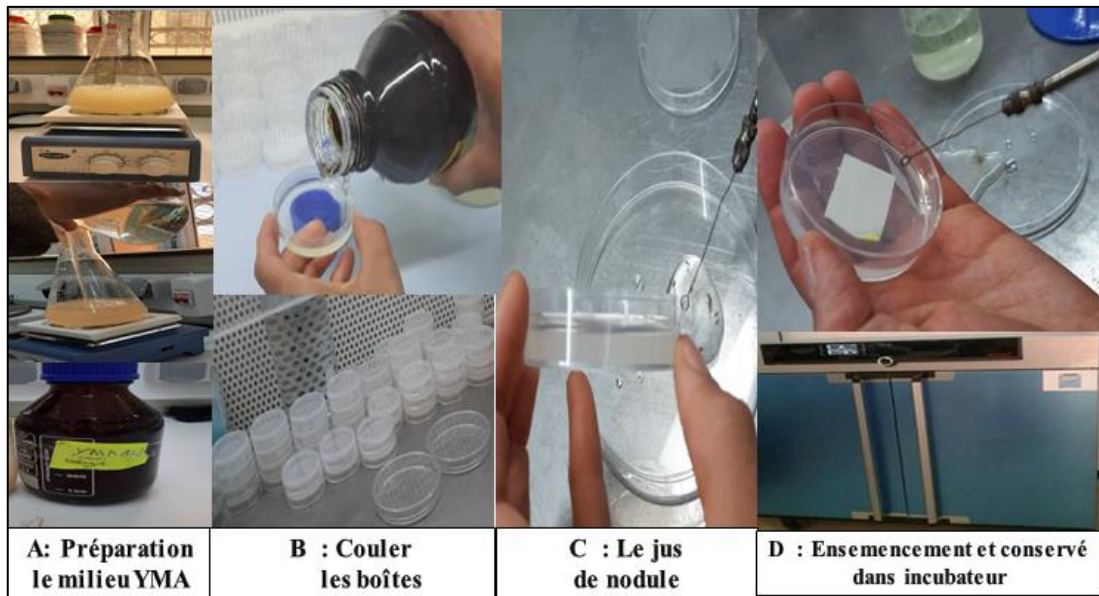


Figure 3 : Purification et conservation des isolats(Originale).

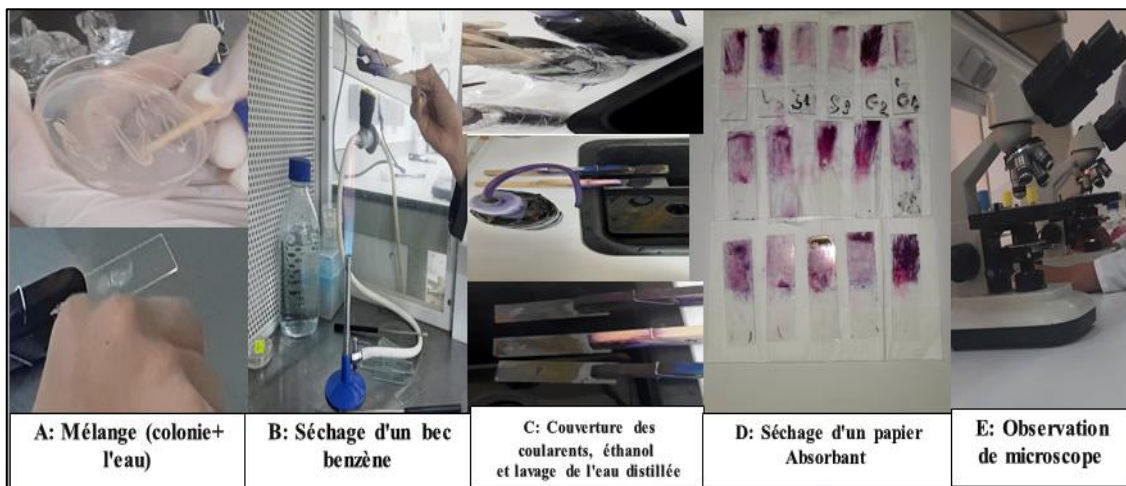


Figure 4 : Coloration de gram (Originale).



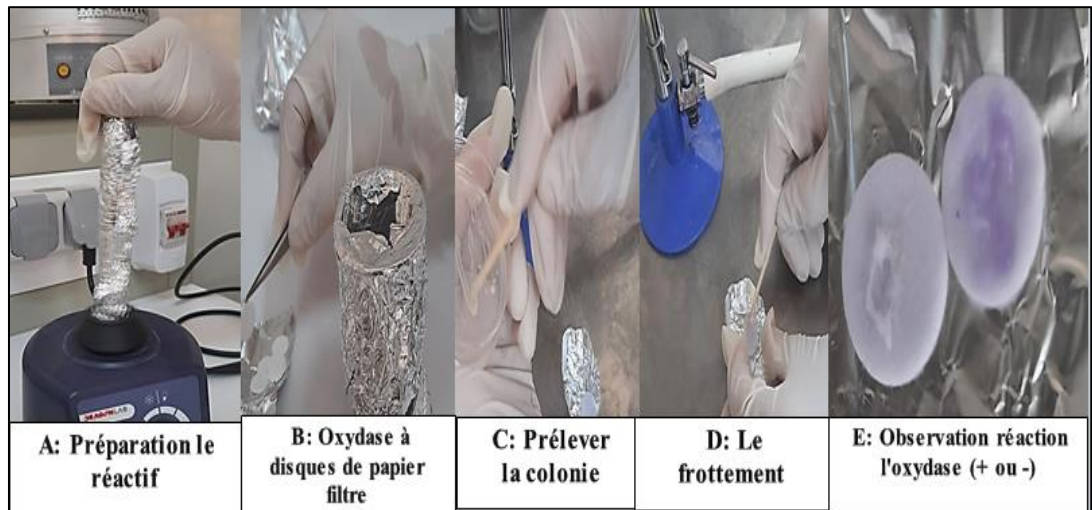


Figure 5 : Test d'oxydase (Originale).

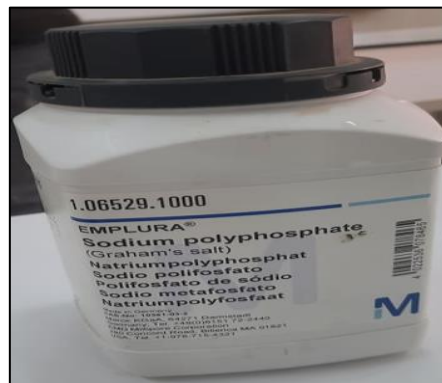


Figure 6 : Hexamétaphosphate de sodium( $\text{NaPO}_3$ )<sub>n</sub>.

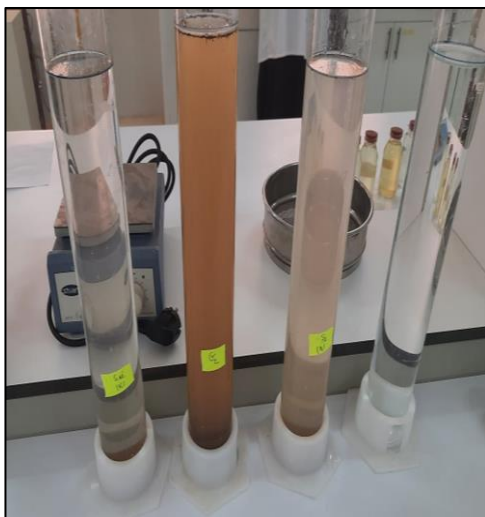


Figure 7 : Les extraits de détermination de la texture (Originale ).



Figure 8 : Les extraits de mesure de PH et CE (Originale).

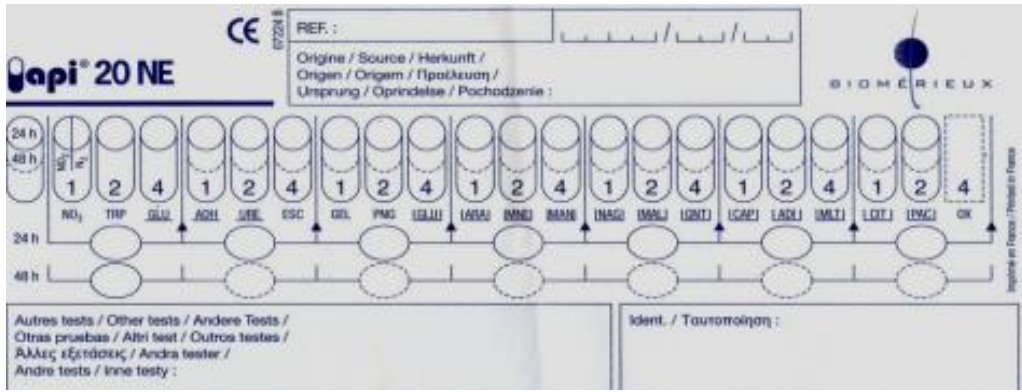


Figure 9 : Fiche de lecture des résultats API 20 NE (Benyoub, 2011).

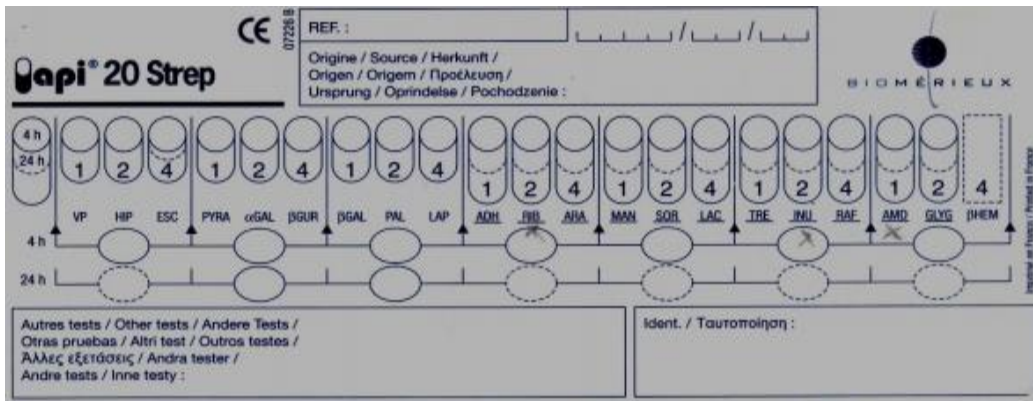


Figure 10 : Fiche de lecture des résultats Api 20 Strep (Benyoub, 2011).

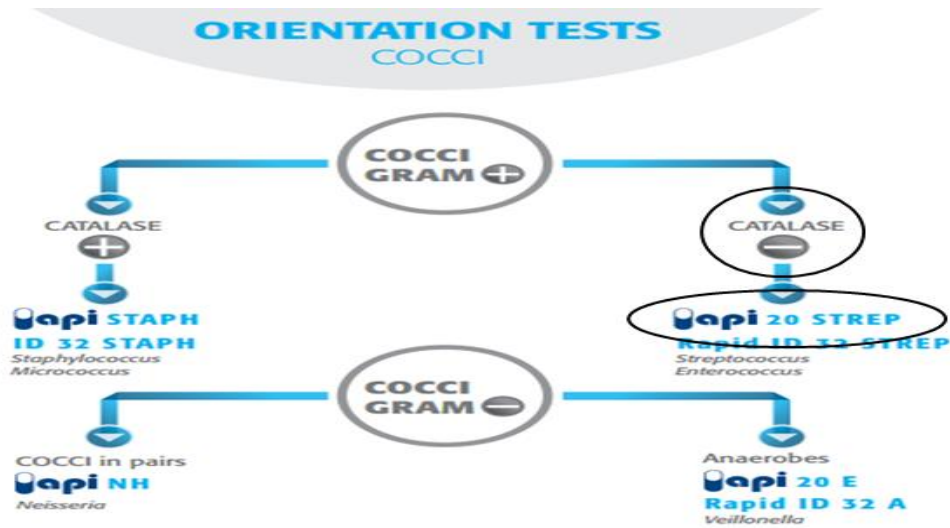


Figure 11 : Test d'orientation d'API Strep .

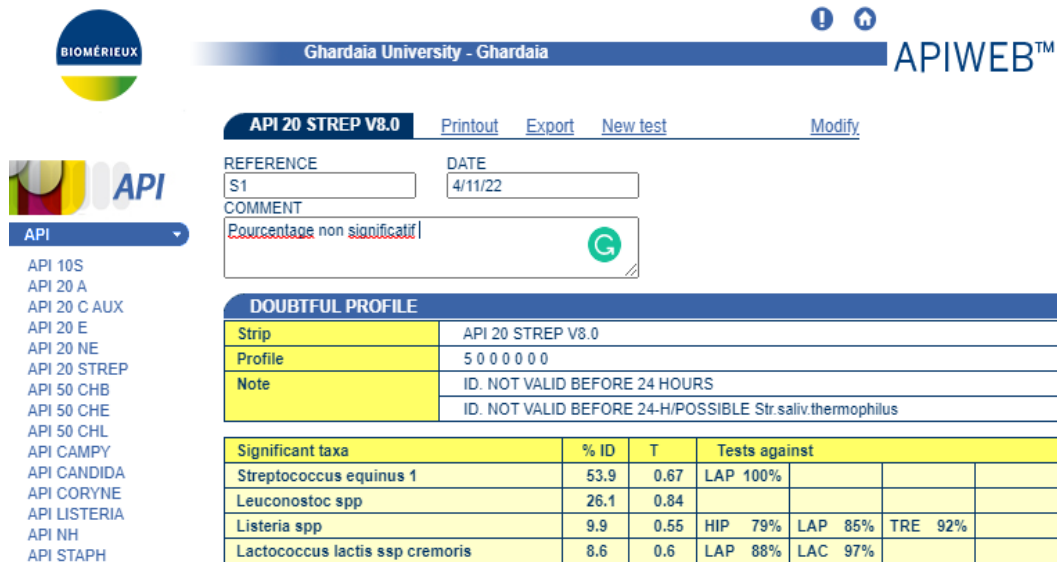


Figure 12 : Profil d'API Strep d'isolat S1.

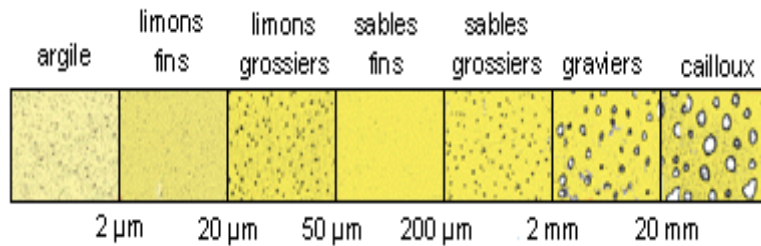


Figure 13 : L'échelle granulométrique.

Annexe 5 : Les tableaux.

Tableau 1 : Résultats microbiologiques des isolats.

Isolats	Croissance	Gram	Forme	Oxydase	Catalase	BTB
S1	Rapid	Positif	Cocci	Négatif	Négatif	Acidifiant
S2	Rapid	Positif	Bacille	Négatif	Négatif	Acidifiant
S4	Rapid	Positif	Bacille	Négatif	Positif	Acidifiant
S5	Rapid	Positif	Bacille	Positif	Négatif	Acidifiant
S6	Rapid	Négatif	Bacille	Négatif	Négatif	Acidifiant
S7	Lent	Positif	Bacille	Négatif	Négatif	Alcalinisant
S8	Lent	Positif	Bacille	Négatif	Positif	Alcalinisant
S9	Rapid	Négatif	Bacille	Positif	Négatif	Acidifiant
S11	Rapid	Positif	Bacille	Négatif	Négatif	Acidifiant
S12	Rapid	Négatif	Bacille	Positif	Négatif	Acidifiant
S13	Rapid	Positif	Bacille	Négatif	Négatif	Acidifiant
S14	Rapid	Négatif	Bacille	Négatif	Négatif	Acidifiant
S15	Lent	Négatif	Bacille	Négatif	Positif	Alcalinisant
S16	Rapid	Négatif	Bacille	Positif	Positif	Acidifiant
G1	Rapid	Positif	Bacille	Positif	Négatif	Acidifiant
G2	Rapid	Positif	Bacille	Positif	Positif	Acidifiant

**Tableau 2 :** Résultats de l'Api 20 E.

Isolats	S6	S14	S15
TEST			
OPNG	-	-	-
ADH	-	-	+
LDC	-	-	-
ODC	-	-	-
CIT	-	-	+
H2S	-	-	-
URE	-	-	-
TDA	-	-	-
IND	-	-	-
VP	-	-	-
GEL	+	+	-
GLU	-	-	-
MAN	-	-	-
INO	-	-	-
SOR	-	-	-
RHA	-	-	-
SAC	-	-	-
MEL	-	-	-
AMY	-	-	-
ARA	-	-	-

+: présence de réaction enzymatique.

- : absence de réaction enzymatique.

**Tableau 3 :** l'indice de similarité entre tous les isolats dans API 20 E.

	S6	S14	S15
S6	1	1	0
S14	1	1	0
S15	0	0	1

Tableau 4 : Résultats de l'Api 20NE.

Isolats	S2	S4	S5	S7	S8	S9	S11	S12	S13	S16	G1	G2
TEST												
NO3	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
TRP	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
GLU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
ADH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESC	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+
GEL	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
PNPG	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-
GLU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MNE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NAG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CAP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ADI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: présence de réaction enzymatique.

- : absence de réaction enzymatique.

Tableau 5 : l'indice de similarité entre tous les isolats dans API 20 NE.

	S2	S4	S5	S7	S8	S9	S11	S12	S13	S16	G1	G2
S2	1	0	0	0	0	0,30769231	0	0,30769231	0,33333333	0,2	0,30769231	0
S4	0	1	0,22222222	0,5	0,4	0	0,5	0	0,46153846	0,28571429	0	0,28571429
S5	0	0,22222222	1	0,28571429	0,5	0,58823529	0,28571429	0,58823529	0,25	0,5	0,58823529	0,58823529
S7	0	0,5	0,28571429	1	0,66666667	0	1	0	0,18181818	0,10526316	0	0
S8	0	0,4	0,5	0,66666667	1	0,15384615	0,66666667	0,15384615	0,33333333	0,2	0,15384615	0,15384615
S9	0,30769231	0	0,58823529	0	0,15384615	1	0	1	0,66666667	0,75862069	0,63636364	0,81818182
S11	0	0,5	0,28571429	1	0,66666667	0	1	0	0,18181818	0,10526316	0	0
S12	0,30769231	0	0,58823529	0	0,15384615	1	0	1	0,66666667	0,75862069	0,63636364	0,81818182
S13	0,33333333	0,46153846	0,25	0,18181818	0,33333333	0,66666667	0,18181818	0,66666667	1	0,71428571	0,28571429	0,66666667
S16	0,2	0,28571429	0,5	0,10526316	0,2	0,75862069	0,10526316	0,75862069	0,71428571	1	0,75862069	0,75862069
G1	0,30769231	0	0,58823529	0	0,15384615	0,63636364	0	0,63636364	0,28571429	0,75862069	1	0,45454545
G2	0	0,28571429	0,58823529	0	0,15384615	0,81818182	0	0,81818182	0,66666667	0,75862069	0,45454545	1

**Tableau 6 :** Résultats de l'Api Strep d'isolat S1.

TEST	VP	HIP	ESC	PYRA	$\alpha$ GAL	$\beta$ GUR	$\beta$ GAL	PAL	LAP	ADH
Isolat S1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	$\beta$ HAEM
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: présence de réaction enzymatique.      - : absence de réaction enzymatique.

**Tableau 7 :** Analyse de la variance de la solubilisation des phosphates.

Modalité	Moyenne	Groupes
S2	295,4500	A
G1	278,8867	A
S16	247,2200	A
S9	236,2500	A
S6	219,4433	A
S4	214,4400	A
S15	181,5600	A
S7	177,7733	A
S14	175,0000	A
S12	166,6667	A
S8	162,1167	A
S5	159,0467	A
G2	151,0033	A
S1	150,0000	A
S13	109,5233	A
S11	57,2200	A

**Tableau 8 :** Analyse de la variance de la solubilisation des phosphates.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	15	166914,9517	11127,6634	1,4126	0,2004
Erreur	32	252077,3707	7877,4178		

**Tableau 9 :** Valeurs d'interprétation du sol (pH) (Mathieu *et al.*, 2003).

Valeurs de pH	Interprétation
0 – 3	Extrême acide
3 – 4	Très forte acidité
4 – 5	Forte acidité
5 – 6	Modéré acidité
6 – 7	Faible acidité
7	Neutre
7 – 8	Faible alcalinité
8 – 9	Modéré alcalinité
9 – 10	Forte alcalinité
10 - 11	Très forte alcalinité

**Tableau 10 :** Résultats de pH.

Statistique	PH
Minimum	8,4000
Maximum	8,8900
Moyenne	8,6775
Ecart-type (n)	0,1658
Coefficient de variation	0,0191

**Tableau 11 :** Classe de la conductivité électrique des sols( Durand,1983).

Classe du sols	CE en $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C
Non salé	0 à 500
Légèrement salé	500 à 1000
Salé	1000 à 2000
Très salé	2000 à 4000
Extrêmement salé	Plus de 4000

**Tableau 12 : Résultats de de conductivité électrique.**

Statistique	Conductivité (µs)
Minimum	311,0000
Maximum	3320,0000
Moyenne	1107,8125
Ecart-type (n)	825,7322
Coefficient de variation	0,7454

**Tableau 13 : Résultats physico-chimiques.**

Isolats	Altitude	PH	CE (µm)	Texture
S1	474 m	8,89	383	Sable
S2	493 m	8,50	908	Argile
S4	466 m	8,81	694	Sable
S5	472 m	8,73	859	Sable
S6	471 m	8,44	763	Sable
S7	483 m	8,70	926	Sable
S8	484 m	8,61	1857	Sable
S9	470 m	8,40	2740	Sable
S11	488 m	8,51	1265	Sable
S12	492 m	8,64	1325	Argile
S13	486 m	8,46	3320	Sable
S14	469 m	8,87	689	Sable
S15	467 m	8,86	379	Sable
S16	468 m	8,87	311	Sable
G1	538 m	8,75	573	Sable
G2	552 m	8,80	733	Argile



Tableau 14 : Tableau de lecture de la galerie Api 20 E (Benyoub, 2011).

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DeCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DeCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
[CIT]	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (3)
H <sub>2</sub> S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H <sub>2</sub> S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	jaune	TDA / Immédiat marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	incolore vert pâle / jaune	JAMES / Immédiat rose
[VP]	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	incolore	VP 1 + VP 2 / 10 min rose / rouge (5)
[GEL]	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUCose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOSitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARABinose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.  
 (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 H d'incubation doit être considérée négative.  
 (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).  
 (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.  
 (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.  
 • Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.  
 • Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Tableau 15 : Tableau de lecture de la galerie Api 20 NE(Benyoub, 2011).

TABLEAU DE LECTURE				
TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	nitrate de potassium	réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min incolore / rose-rouge	
		réduction des nitrates en azote	Zn / 5 min rose / incolore	
TRP	tryptophane	formation d'indole	JAMES / immédiat incolore / rose vert pâle / jaune	
GLU	glucose	fermentation	bleu à vert	jaune
ADH	arginine	arginine dihydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	uréase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine	hydrolyse (β-glucosidase)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (à l'encre de chine)	hydrolyse (protéase)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	β-galactosidase	incolore	jaune
[GLU]	glucose	assimilation	transparence	trouble
[ARA]	arabinose	assimilation	transparence	trouble
[MNE]	mannose	assimilation	transparence	trouble
[MAN]	mannitol	assimilation	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	assimilation	transparence	trouble
[MAL]	maltose	assimilation	transparence	trouble
[GNT]	gluconate	assimilation	transparence	trouble
[CAP]	caprate	assimilation	transparence	trouble
[ADI]	adipate	assimilation	transparence	trouble
[MLT]	malate	assimilation	transparence	trouble
[CIT]	citrate	assimilation	transparence	trouble
[PAC]	phényl-acétate	assimilation	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

**Tableau 16 : L'indice de similarité entre tous les isolats.**

	S1	S2	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S11	S12	S13	S14	S15	S16	G1	G2
S1	1	0,78571429	0,94117647	0,83870968	0,69230769	0,90322581	0,84848485	0,84848485	0,90322581	0,83870968	0,86666667	0,82758621	0,61538462	0,78787879	0,91428571	0,88235294
S2	0,78571429	1	0,8	0,81481481	0,72727273	0,74074074	0,68965517	0,75862069	0,88888889	0,81481481	0,84615385	0,8	0,81818182	0,75862069	0,77419355	0,8
S4	0,94117647	0,8	1	0,84848485	0,71428571	0,90909091	0,91428571	0,85714286	0,90909091	0,84848485	0,875	0,83870968	0,71428571	0,85714286	0,91891892	0,94444444
S5	0,83870968	0,81481481	0,84848485	1	0,8	0,8	0,75	0,875	0,93333333	0,8	0,96551724	0,92857143	0,64	0,75	0,88235294	0,84848485
S6	0,69230769	0,72727273	0,71428571	0,8	1	0,64	0,59259259	0,74074074	0,8	0,64	0,83333333	0,86956522	0,6	0,59259259	0,68965517	0,64285714
S7	0,90322581	0,74074074	0,90909091	0,8	0,64	1	0,9375	0,8125	0,86666667	0,8	0,82758621	0,78571429	0,72	0,75	0,88235294	0,84848485
S8	0,84848485	0,68965517	0,91428571	0,75	0,59259259	0,9375	1	0,82352941	0,8125	0,75	0,77419355	0,73333333	0,74074074	0,82352941	0,88888889	0,85714286
S9	0,84848485	0,75862069	0,85714286	0,875	0,74074074	0,8125	0,82352941	1	0,875	0,875	0,83870968	0,86666667	0,66666667	0,88235294	0,94444444	0,85714286
S11	0,90322581	0,88888889	0,90909091	0,93333333	0,8	0,86666667	0,8125	0,875	1	0,8	0,96551724	0,92857143	0,72	0,75	0,88235294	0,84848485
S12	0,83870968	0,81481481	0,84848485	0,8	0,64	0,8	0,75	0,875	0,8	1	0,75862069	0,78571429	0,72	0,9375	0,88235294	0,90909091
S13	0,86666667	0,84615385	0,875	0,96551724	0,83333333	0,82758621	0,77419355	0,83870968	0,96551724	0,75862069	1	0,96296296	0,66666667	0,70967742	0,84848485	0,8125
S14	0,82758621	0,8	0,83870968	0,92857143	0,86956522	0,78571429	0,73333333	0,86666667	0,92857143	0,78571429	0,96296296	1	0,69565217	0,73333333	0,8125	0,77419355
S15	0,61538462	0,81818182	0,71428571	0,64	0,6	0,72	0,74074074	0,66666667	0,72	0,72	0,66666667	0,69565217	1	0,74074074	0,62068966	0,71428571
S16	0,78787879	0,75862069	0,85714286	0,75	0,59259259	0,75	0,82352941	0,88235294	0,75	0,9375	0,70967742	0,73333333	0,74074074	1	0,88888889	0,91428571
G1	0,91428571	0,77419355	0,91891892	0,88235294	0,68965517	0,88235294	0,88888889	0,94444444	0,88235294	0,88235294	0,84848485	0,8125	0,62068966	0,88888889	1	0,91891892
G2	0,88235294	0,8	0,94444444	0,84848485	0,64285714	0,84848485	0,85714286	0,85714286	0,84848485	0,90909091	0,8125	0,77419355	0,71428571	0,91428571	0,91891892	1