

# BIOCONTROLE DE LA POURRITURE RACINAIRE CAUSEE PAR *Bipolaris sorokiniana* ET PROMOTION DE LA CROISSANCE DU BLE DUR (*Triticum durum*. DESF) PAR DES ACTINOBACTERIES RHIZOSPHERIQUES

**ALLALI K.<sup>1,2</sup>, BOUKAYA N.<sup>1,2</sup>, GOUDJAL Y.<sup>1,2</sup>, ZAMOUM M.<sup>1,2</sup>, BOUZENADA K.<sup>1</sup>, SABAOU N.<sup>1</sup>, ZITOUNI A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie.

<sup>2</sup>Département d'agronomie, Faculté des Sciences, Université Amar Telidji, Laghouat, Algérie.  
[allalikhadidjaagro@gmail.com](mailto:allalikhadidjaagro@gmail.com)

**Résumé :** ce travail vise l'utilisation de six isolats d'actinobactéries rhizosphériques isolés de sols sahariens dans le biocontrôle de *Bipolaris sorokiniana* et dans la promotion de la croissance des plantules de blé dur. La détermination in vitro de l'activité antifongique vis-à-vis de *B. sorokiniana* et des caractéristiques physiologiques et enzymatiques (la production de l'acide indole-3-acétique, des siderophores, et la solubilisation des phosphates inorganiques) ont permis de sélectionner deux isolats d'actinobactéries (MB 29 et ZS1) pour un essai de biocontrôle in vivo en sol stérilisé et non stérilisé et ce en comparaison avec un fongicide systémique (Difenoconazole). Les résultats obtenus montrent que la souche *Saccharothrix longispora* MB29 présente l'activité antifongique la plus élevée. En outre, elle a diminué significativement ( $P < 0.05$ ) l'incidence de la maladie comparativement à la souche *Streptomyces* sp. ZS1. Cependant, une différence non significative a été observée en comparaison avec le Difenoconazole. La souche *S. longispora* MB29 montre une capacité de promouvoir la croissance des plantules de blé dur.

**Mots clés :** actinobactéries, biocontrôle, *Bipolaris sorokiniana*, *Saccharothrix longispora* MB29, blé dur.

## المكافحة البيولوجية لمرض تعفن الجذور المتسبب بـ *Bipolaris sorokiniana* وتعزيز نمو نبات القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) بواسطة بكتيريا هيفية معزولة من تربة صحراوية جزائرية

**ملخص :** الإنتاج الوطني للقمح الصلب هو أقل من إمكاناته، ويتم تحقيق التحسن من خلال السيطرة على الأمراض الرئيسية خاصة مرض تعفن الجذور المتسبب بـ *Bipolaris sorokiniana* بواسطة طرق مكافحة فعالة و تحترم البيئة. تهدف هذه الدراسة لاختبار ستة أنواع من البكتيريا الهيفية معزولة من تربة صحراوية جزائرية من أجل المكافحة البيولوجية لمرض تعفن الجذور المتسبب بـ *Bipolaris sorokiniana* وتعزيز انبات بذور ونمو نبات القمح الصلب. تعيين النشاط البكتيري المضاد للفطر والخصائص الفيزيولوجية و الانزيمية للبكتيريا في المختبر (إنتاج حمض الإندول 3-أسيتيك، مخلبيات الحديد و القدرة على إذابة الفوسفات الغير ذائب) سمحت لنا باختيار معزولين من البكتيريا الهيفية ( MB29 و ZS1) من أجل اختبار المكافحة البيولوجية في البيت البلاستيكي في تربة معقمة و اخرى غير معقمة مقارنة بمبيد الفطريات (Difenoconazole). النتائج المحصل عليها اثبتت ان المعزولة *Saccharothrix longispora* MB29 كان لها نشاط مضاد للفطر اكبر و انقصت الاصابة بمرض تعفن الجذور ( $P < 0.05$ ) مقارنة بالمعزولة *Streptomyces* sp. ZS1 و لا يوجد هناك فرق بينها و بين Difenoconazole. المعزولة *Saccharothrix longispora* MB29 اثبتت قدرتها على تعزيز نمو نبات القمح الصلب.

**كلمات دالة :** بكتيريا هيفية، المكافحة البيولوجية، *Bipolaris sorokiniana*، *Saccharothrix longispora* MB29، القمح الصلب.

## 1. INTRODUCTION

L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives [1]. Les microorganismes pathogènes et surtout les champignons telluriques, sont difficiles à contrôler, parce qu'ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes [2]. L'utilisation répétée des fongicides entraîne souvent la pollution de l'environnement et l'apparition de souches résistantes, et augmente la quantité des résidus pesticides sur les fruits en provoquant un risque d'apparition des maladies graves pour l'être humain [3]. Une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueux à l'environnement [4]. Les actinobactéries sont connus pour leur production de métabolites bioactifs. Leur capacité à coloniser la rhizosphère et les racines des plantes, à

contrôler les microorganismes phytopathogènes et à former des spores adaptées pour la formulation de produits stables, sont des caractères important pour la réussite du biocontrôle [5].

L'objectif de notre étude vise l'étude des isolats d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques dans le biocontrôle de *Bipolaris sorokiniana* et dans la promotion de la croissance des plantules de blé dur variété vitron.

## 2. MATERIELS ET METHODES

Les souches d'actinobactéries utilisées dans cette étude ont été isolées de plantes spontanées sahariennes [6] et de sols sahariens (collection de LBSM de Kouba, Alger, Algérie).

- L'activité antifongique des souches des souches d'actinobactéries a été évalué par la méthode des stries croisées vis-à-vis le champignon cible sur le milieu ISP2.
- Les souches d'actinobactéries les plus actives ont été choisies pour une étude plus détaillée de ses caractéristiques physiologiques et enzymatiques: la production de l'acide indole-3-acétique, de l'acide cyanhydrique (HCN), des sidérophores, l'activité chitinolytique, et la solubilisation des phosphates inorganiques.
- Les souches d'actinobactéries retenues à l'issu de l'activité antifongique ont fait l'objet d'un screening in vivo en sol stérilisé et non stérilisé et ce en comparaison avec un fongicide systémique de synthèse chimique (Difeconazole).

## 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

### 3.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antifongique des souches d'actinobactéries

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 1, les isolats MB29, ZL2 et PT2 ont une action inhibitrice sur le champignon testé, avec une zone d'inhibition supérieure à 20 mm, l'isolat *Saccharothrix longispora* MB29 présente l'activité antifongique la plus élevée où la zone d'inhibition était de 29 mm.

### 3.2. Caractéristiques physiologiques et enzymatiques des souches d'actinobactéries retenues

Les souches	Production de l'AIA	Production de chitinase	Production des sidérophores	Production de l'HCN	Solubilisation des phosphates inorganique		
					PVK a Ca (Po) <sub>3 4 2</sub>	PVK a Al(Po) <sub>4 2</sub>	PVK a Fe(Po) <sub>4 2</sub>
MB29	65.8 ± 1.2	+	+	+	++++	+++	-
ZS1	53.3 ± 1.0	+	+	+	+++	++	-

### 3.3. Biocontrôle in vivo de *Bipolaris sorokiniana*

Les résultats obtenus montrent que la bactérisation des graines de blé dur par les spores de *S. longispora* MB29, a permis de diminuer significativement l'incidence de la pourriture racinaire ( P < 0,05) avec des valeurs allant de 38 % (en sol stérilisé ) et de 26,4% (en sol non stérilisé), des différences non significatives sont observées entre et le Difeconazole et les l' isolat *S. longispora* MB29, la bactérisation des graines par les spores de *S. longispora* MB29 améliore le poids sec, la longueur des tiges et des racines des plantules de blé dur.

## 4. CONCLUSION

La souche *S. longispora* MB29 isolée de sols sahariens ouvre des perspectives prometteuses pour une exploration possible dans le domaine du biocontrôle de la pourriture

racinaire causée par *B. sorokiniana* et dans la promotion de la croissance du blé dur.

## RÉFÉRENCES

- [1] Alderman S.C., Coats D.D. and Crowe F.J. (1996). Impact of ergot on Kentucky bluegrass grown for seed in northeastern Oregon. *Plant Dis.* 80, 853-855.
- [2] Tshen J.S.M. (1985). Biological control of plant Diseases by Microorganisms. *Chinese Bioscience.* 26, 33-39.
- [3] Ozbay N. and Newman S. E. (2004). Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathol. J.*, 3, 9-18.
- [4] Prapagdee B., Kuekulvong C. and Mongkolsuk S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 330-337.
- [5] Yuan W.M. and Crawford D.L. (1995). Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC 108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Appl. Environ. Microb.* 61, 3119-3128.
- [6] Goudjal Y., Toumatia O., Yekkour A., Sabaou N., Mathieu F. and Zitouni A. (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiol. Res.*, 169: 59-65.

# BIODIVERSITE PHENOTYPIQUE ET POTENTIALITE SYMBIOTIQUE DES RHIZOBIA NODULANT *l'Arachis hypogaea* L. CULTIVÉ DANS LES SOLS SAHARIEN.

**ATTAB S., BISSATI S., AZIB S.**

*Université KASDI Merbah Ouargla, Laboratoire des Bioressources Sahariennes, Valorisation et Pr serva on, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Ouargla 30000 Algérie.*

[saraatt@yahoo.fr](mailto:saraatt@yahoo.fr)

**Résumé :** L'évaluation de la biodiversité symbiotique de 48 bactéries isolées à partir des nodosités de *l'Arachis hypogaea* L. cultivée   Gharda ia, a permis d'une part, de déterminer le niveau de variabilité phénotypique des souches isolées et d'autre part, d'évaluer le comportement des bactéries face aux différentes conditions environnementales prédominantes dans les sols sahariens.

L'analyse de la vitesse de croissance des souches isolées, a révélé une variabilité entre elles ; celles à croissance rapide, moyenne et lente. Ce résultat explique qu'il s'agit probablement d'espèces rhizobiennes différentes.

La caractérisation phénotypique a mis en évidence une limite de tolérance de ces souches variant respectivement de 160 à 640 mM pour le NaCl et de 4 à 45 C pour la température. L'antibiogramme a révélé une importante résistance des souches aux 12 antibiotiques testés avec (86,20%), (87,93 %) (62,06%) et pour Amp, Peni Chl respectivement. Cette antibiorésistance intrinsèque est un signe de compétitivité des souches avec d'autres populations microbiennes dans le sol.

En revanche, l'évaluation de l'efficacité symbiotique des isolats testés, en association avec l'arachide, a permis d'identifier 45 souches particulièrement infectives. Parmi ces dernières 44 souches effectives dont 14 classées comme hautement symbiotiques.

**Mots clés :** rhizobia, caractérisation phénotypique, inoculation, fixation d'azote, archide, Sahara.

## التنوع البيولوجي والقدرات التكافلية الريزوبيا المتعايشة في العقد الجذرية للفاول السوداني المزروع في التربة الصحراوية.

**ملخص :** سمح تقييم التنوع البيولوجي التكافلي لـ 48 بكتيريا معزولة من عقيدات للفاول السوداني المزروع في غرداية، من ناحية، لتحديد مستوى التباين المظهري للسلاطات المعزولة ومن ناحية أخرى، لتقييم سلوك البكتيريا فيما يتعلق بالظروف البيئية المختلفة السائدة في التربة الصحراوية. أظهر تحليل معدل نمو السلاطات المعزولة وجود تباين فيما بينها. تلك ذات النمو السريع والمتوسط والبطيء. وتفسر هذه النتيجة أنه من المحتمل أن تكون أنواع بكتيرية مختلفة.

أظهر التوصيف المظهري لهذه السلاطات أنه باستطاعتها النمو في وسط يحتوي على كمية تتراوح ما بين 160-640 ميلي مول من كلوريد الصوديوم ودرجة الحرارة 4-45.

في حين بينت الدراسة مقاومة كبيرة من السلاطات لـ 12 مضاد حيوي مختبر بنسبة (86.20%) (87.93%) (62.06%) لكل من البنيسيلين، الأميسيلين و الكلوروفينيكول على التوالي. هذه المقاومة الجوهرية المضادات الحيوية هي علامة على القدرة التنافسية للسلاطات مع السكان الميكروبات الأخرى المتواجدة في التربة. في حين، أن اختبار تقييم كفاءة العزلات التكافلية في التعاتيش مع الفاول السوداني، بين وجود 45 سلاطات المعدية بشكل خاص. من هذه 44 سلالة فعالة من بينها 14 تصنف على أنها جد فعالة في تثبيت الأزوت.

**كلمات دالة:** ريزوبيا، التوصيف المظهري، التلقيح، تثبيت النيتروجين، الصحراء

## 1. INTRODUCTION

Les zones arides et semi arides couvrent approximativement quatre dixième des régions terrestres du monde. Selon la FAO (1993), 66% de ces zones écologique se situent sur le continent Africain. En Algérie, l'étage bioclimatique saharien couvre 89.5% de la superficie globale [1].

Le sol constitue un support pour différents cycles d'échanges d'énergie et de transfert de substances entre les différentes entités qu'il abrite. Les sols sahariens, généralement pauvres en matière organique, été considérés comme des milieux stériles, mais les travaux d'exploitation ont montré qu'il existe des espèces microbiennes, qui s'adaptent aux différents

systèmes culturaux [2, 3]. Dans ces sols, la production agricole et les rendements des cultures sont largement tributaires de la disponibilité en eau et en azote.

Les associations symbiotiques fixatrices d'azote sont très diversifiées et sont responsables de près de la moitié de la fixation biologique d'azote moléculaire du globe [4]. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote, bien que constituant sur le plan morphologique et écologique, un groupe assez homogène, offrent cependant une certaine variation dans l'aptitude à réaliser la symbiose avec les différentes Fabaceae [5].

L'exploitation de cette symbiose dépend de nos connaissances, non seulement sur le couple plante-bactérie, mais aussi sur le couple bactérie-sol, dont l'identification de la bactérie symbiotique constitue un préalable à toute application de ces microorganismes telluriques dans ces milieux [6, 7].

L'arachide (*Arachis hypogaea* L.) est l'une des plus importantes oléagineuses cultivées dans le monde, notamment dans les régions arides et semi-arides de l'Afrique. Son succès est lié à ses nombreuses utilisations alimentaires et fourragères [8]. Sa culture prend de l'ampleur en Algérie où elle est cultivée dans plusieurs wilayas de l'Est (Taref, Guelma et Skikda), Sud Est (Guardaia et El oued) et le Sud Ouest (Adrar) [9]. C'est une légumineuse qui peut utiliser l'azote atmosphérique en association symbiotique avec les rhizobiums, pouvant fournir jusqu'à 30% de l'azote nécessaire à la plante, ce qui permet en effet de limiter les apports d'engrais azotés, coûteux et polluants, dans les écosystèmes cultivés mais aussi assurer le maintien de la fertilité des sols dans les milieux naturels. Cependant, la quantité d'azote fixé est influencée par plusieurs facteurs : la souche bactérienne, la plante hôte et les conditions du milieu [8].

L'introduction d'inoculum n'a souvent été d'aucun effet sur l'augmentation du rendement de certaines cultures de légumineuses à cause de la grande compétitivité avec les souches des rhizobia indigènes. Ces derniers représentent donc un réservoir important dans un environnement donné grâce à la résistance qu'ils ont développée au fil du temps pour survivre et persister [10].

Ainsi, l'exploitation effective de la fixation symbiotique de l'azote pour l'amélioration de la production agricole exige non seulement la sélection du meilleur cultivar hôte mais également que la population des rhizobia natifs soit correctement et suffisamment caractérisée.

## **2. MATERIEL ET METHODES**

### **2.1. Isolement des bactéries**

La collecte des nodules est réalisée par deux méthodes soit directement à partir des racines de l'arachide cultivée dans wilaya de Ghardaïa, principalement les régions de Sebseb et El Mansoura, soit par piégeage des rhizobia présente dans le sol cultivé par l'arachide, selon les techniques préconisées par [11, 12].

L'isolement a été réalisé selon la méthode de [11], sur milieu Yeast-Mannitol-Agar. Les boîtes sont incubées de 3 à 7 jours à 28°C.

### **2.2. Caractérisation phénotypique et physiologique des isolats**

Afin d'identifier les bactéries isolées, nous avons procédé à une coloration de Gram permettant de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne.

Après purification des bactéries selon la technique de [11] et incubation à 28°C pendant 4 à 7 jours, une analyse visuelle de l'aspect des colonies a été faite [13]. Les critères choisis sont relatifs à la forme, la taille et la consistance des colonies.

En vue d'évaluer la vitesse de croissance et absorption du rouge Congo, les isolats, après purification, ont été cultivés sur milieu YMA + bleu de bromothymol 0,005% et sur YMA + rouge Congo 0,0025% et incubés à l'obscurité à 28°C jusqu'à 7 jours selon [12].

Les tolérances aux facteurs de stress à savoir la température et la salinité ont été effectués par culture des souches en milieu liquide dans des tubes contenant 5 ml d'une solution YEM liquide et inoculée par une pré-culture en phase exponentielle. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque type de stress.

La tolérance des souches à la salinité, a été testée sur YMB avec différentes concentrations de NaCl [0], [40], [80], [160], [230], [640], [1286]. La capacité des souches à tolérer la température a été réalisée par la mise en culture des isolats aux différentes températures : 4°C, 25°C, 28°C, 37°C, 40°C, 45°C.

Après une incubation à 28°C pendant 3 jours en agitation (150 rpm), la limite de tolérance aux différents stress a été évaluée par mesure de la densité optique (DO) à 600 nm.

### **2.3. Résistance intrinsèque des isolats aux antibiotiques**

La méthode utilisée est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence des antibiotiques, par diffusion, à partir des disques dans un milieu gélosé. Les différents diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés.

Les antibiotiques testés sont : Acide nalidixique , Acide pipemidique , Amikacine, Amoxiciline, Cefataxine, Gentamycine, Lincomicyne, Erythromycine, Oxacilline, Pénicilline, Tétracycline , Streptomycine, Kanamycine, Vancomycine. Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 07 jours.

### **2.4. Caractérisation symbiotique**

L'habileté des microorganismes à noduler et à fixer l'azote avec la plante-hôte est un caractère important pour les rhizobia ou bactéries nodulant les Légumineuses (B.N.L.) [14]. Les tests de nodulation ont été conduits dans des jarres traditionnelles de Leonard [11, 15].

Les graines d'Arachide, stérilisées et imbibées ont été semées dans les jarres à raison de 3 graines par jarre à 3cm de profondeur. L'irrigation a été pratiquée 3 fois par semaine par l'eau distillée jusqu'à la germination. Les jarres ont été ensuite inoculées avec 2ml de la suspension bactérienne cultivée sur milieu YMB de 3 jours à 28°C, puis placées sous serre.

L'irrigation des jarres a été effectuée aseptiquement avec la solution nutritive Fåhrens [15]. Plusieurs paramètres ont été évalués à savoir : la nodulation, la hauteur des tiges, biomasse sèche aérienne, la teneur en azote total par la méthode Kjeldhal.

## **3. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### **3.1. La caractérisation phénotypique**

Les 48 isolats obtenus ont formé sur le milieu YEM solide des colonies circulaires à ovoïdes de diamètre variable et d'aspect différents. La vitesse de prolifération est variable et les premières colonies apparaissent au bout de 2 jours. Un mucus de consistance coulante et d'aspect translucide a été observé chez les souches à croissance rapide ; alors que celles à croissance plus lente avaient développé une consistance épaisse avec une teinte blanchâtre.

La coloration de Gram a montré que les isolats testés sont des Gram- en forme de bâtonnets de l'ordre de 0,5 à 1 µm de long, ce qui confirme leur appartenance à la Famille des Rhizobiaceae.

L'acidification et l'alcalinisation du milieu YMA a été utilisée comme un outil pour indiquer le caractère général des Rhizobiums. L'acidification du milieu de culture est due à l'excrétion des polysaccharides. En effet, les rhizobiums à forte production de cette gomme acidifient le milieu tandis que les rhizobiums qui en produisent peu, ont tendance à l'alcaliniser [16].

L'acidification, la taille et la forme des colonies nous ont permis de regrouper les isolats en 3 catégories : 27 souches à croissance rapide, 11 souches à croissance lente et 10 souches à croissance intermédiaire. Les souches à croissance rapide sont considérées,



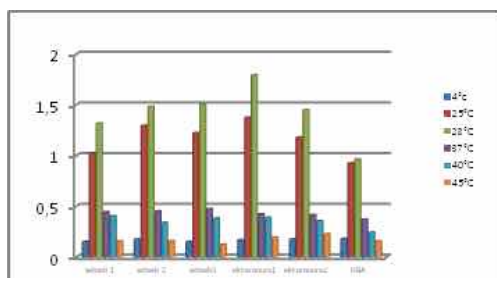
généralement, comme des bactéries acidifiantes. Par conséquent, elles devraient changer la coloration du BTB vers le jaune contrairement aux souches à croissance lente qui sont considérées comme des bactéries qui alcalinisent le milieu de culture. [13,17] ont rapporté que 80% des souches testées de *Rhizobium* et d'*Agrobacterium* ont pu donner des réactions positives avec le YEM + BTB, alors que les souches de *Bradyrhizobium* ont toutes donné des réactions négatives.

### 3.2. Effet de la température et de la salinité

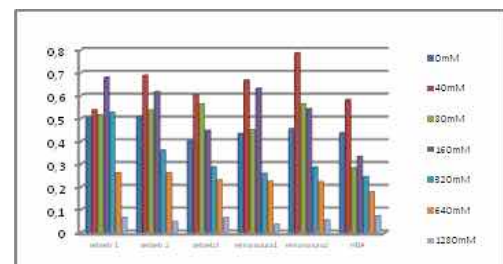
La plupart des souches de la collection tolèrent des températures variant de 4 à 45°C. La majorité des souches se sont développées aux températures 37 et 40°C. Cependant, nous avons enregistré une baisse de la croissance des souches à 45°C.

La figure 1 montre que toutes les souches présentent une bonne croissance entre 25°C et 37°C. Les souches thermo-tolérantes peuvent ne pas croître à une température élevée déterminée (40 et 45°C) mais peuvent plutôt survivre à un rythme très ralenti. La température 28°C est considérée comme une température optimale pour l'obtention d'une croissance potentielle avec un temps de génération rapide. [18,19] suggèrent que la température idéale pour la croissance rhizobienne est de 28°C pour la croissance de l'espèce *Mesorhizobium ciceri*. Les souches rhizobiales isolées par [20] peuvent également croître à 4°C et à résistent des températures très élevée de 40°C à 44°C.

Plusieurs études ont rapporté que les rhizobia d'arbres légumineux ont l'aptitude de tolérer une température de 40°C [21, 22]. Néanmoins, [23] ont montré que quelques souches de *Rhizobium phaseoli* peuvent tolérer des températures de 45°C à 47°C. Ces mêmes auteurs [24] ont rapporté que même si ces souches peuvent bien tolérer les hautes températures, elles perdent en revanche leur capacité infective.



**Figure 1.** Variations de la tolérance des souches à différentes températures (°C)



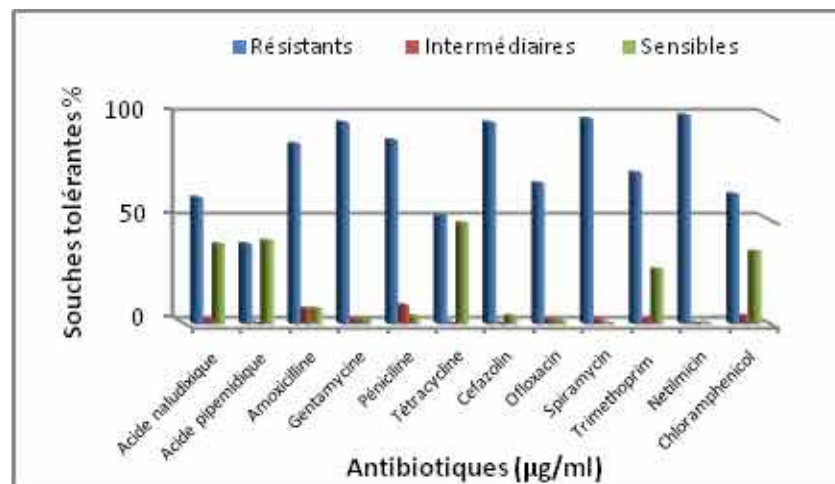
**Figure 2.** Variations de la tolérance des souches à différentes concentrations de NaCl

La majorité des souches présentent une bonne tolérance à la salinité. Les isolats ont montré une large variabilité d'halotolérance d'une station à une autre et d'une souche à une autre. Les meilleures valeurs de croissances ont été obtenues pour les concentrations 0, 40, 80 et 160 mM d'NaCl. Pour les concentrations 320 et 640 mM d'NaCl, la croissance des souches a diminué progressivement en fonction de l'augmentation de la concentration en sel.

Cependant, la croissance a été fortement affectée par la concentration de 1280 mM d'NaCl, pour toutes les souches. Ces résultats vont avec ceux de [25] qui ont montré que la sensibilité des souches de rhizobium à la salinité varie d'une souche à une autre. Ainsi, la tolérance au sel qui caractérise les souches étudiées pourrait être en rapport avec le taux de salinité du site d'isolement. Un résultat similaire a été rapporté par [26], pour des souches de *Mesorhizobium nodulant* le pois chiche au Maroc et par [27] pour des souches nodulant l'*Acacia* en Libye.

### 3.3. Résistance intrinsèque aux antibiotiques

De manière générale, les isolats ont exhibé une grande résistance aux antibiotiques testés.



**Figure 3.** Résistance intrinsèque des isolats nodulant l'arachide aux différents types d'antibiotiques

Il ressort des résultats ( Fig. 3) que les isolats ont montré une résistance bien marquée aux antibiotiques de la famille des  $\beta$  lactame: Pénicilline ( 90%) et Spiramycine ( 98%). Les souches se sont montrées plus résistantes au Netilmicine, à Cefazolin et à la Chloramphénicol, avec des pourcentages de résistance de 100%, 96.55% et 62.06% respectivement. Par ailleurs, une sensibilité a été plus marquée avec l'Acide pipemidique et l'acide naludixique. [14] ont rapporté que l'effet inhibiteur d'un antibiotique dépend de sa nature et de sa concentration dans le milieu et que le degré d'inhibition est variable d'une espèce à une autre et d'une souche à une autre. [13] a montré que les souches à croissance rapide sont plus sensibles à la tétracycline et à la streptomycine alors que les Bradyrhizobia sont plus résistants aux antibiotiques. Le même résultat a été rapporté par [28].

### 3.4. Caractérisation Symbiotique

Cette caractérisation a été effectuée afin d'évaluer la diversité des souches, associées à l'arachide par leur potentiel infectieux et fixateur, afin de repérer les souches les plus efficaces. La capacité symbiotique d'une souche de rhizobiums est évaluée par deux paramètres: son infectivité et son efficacité.

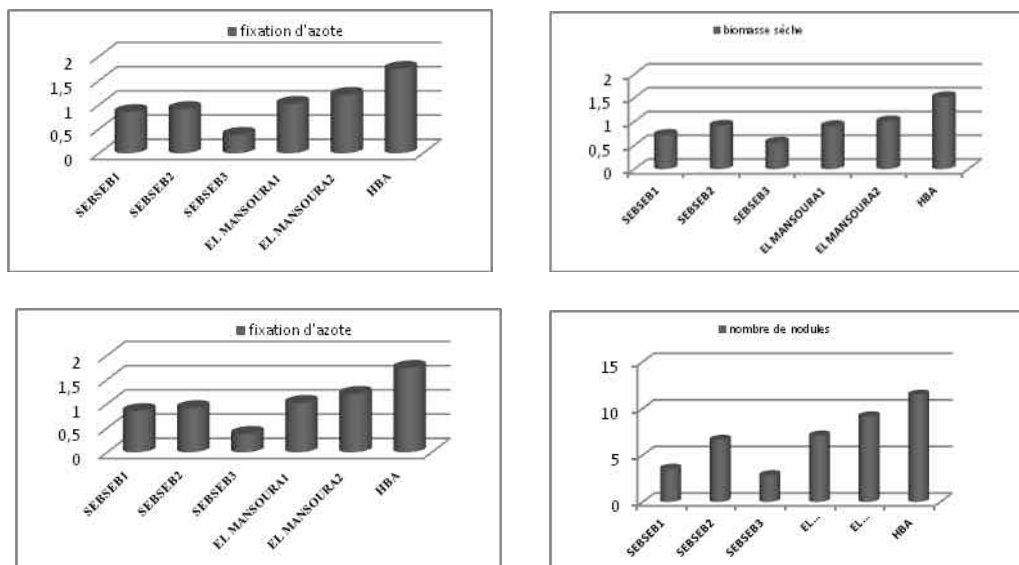
Les résultats obtenus montrent que l'*Arachis hypogaea L.* a pu être nodulé par 45 souches sur 48 souches testées.

La localisation des nodosités sur le système racinaire de la plante a montré également une grande variabilité. Certaines nodosités ont été localisées sur la racine principale alors que la grande majorité ont été plus dense sur les racines latérales. La forme déterminée des nodosités s'est révélée pour toutes les souches.

Une large variabilité de la capacité infective des souches a été mise en évidence. En effet, même si l'inoculation des plantes par les différentes souches rapportait un nombre moyen de bactéries de l'ordre de  $10^8$  b/ml, le nombre moyen des nodosités formées par plante est variable d'une souche à l'autre. La souche la plus infective est la EMA1 de la station d'El Mansoura avec 30 nodosités formées par plante. La souche EP 42, la moins infective, a pu induire la formation de 1 nodule.



Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par [29] dans une étude visant à évaluer la diversité et l'efficacité symbiotique des rhizobiums de l'arachide région du sud-est du Brésil.



**Figure 3 :** Variations de la réponse de l'arachide à l'inoculation par les souches des différentes stations

L'effet de l'inoculation sur la croissance des plantes hôtes varie en fonction des souches bactériennes. Les résultats obtenus s'accordent avec ceux trouvés par [10] qui montrent qu'avec toutes les souches, l'inoculation a amélioré favorablement le développement des parties aériennes par rapport aux témoins. Cette augmentation a été constatée également par [30] pour l'arachide et [26] chez le pois chiche.

Les isolats étudiés montrent une grande variabilité par rapport à leur efficacité symbiotique. La biomasse sèche aérienne des plantes varie selon l'inoculant de 0,501 à 2,023 g/plante. Toutefois, les résultats suggèrent un effet positif de la nodulation sur la croissance. En effet, la comparaison des résultats de croissance végétale et de nodulation montre qu'en moyenne la station où la nodulation des plantes est la plus élevée est également celle pour laquelle la biomasse aérienne est la plus importante.

Toutes les souches testées ont permis un gain en matière sèche supérieur à celui de T0 (0,501g/plante). En moyenne, les souches de HBA et celles d'El Mansoura sont les plus efficaces avec (1,517 g/plante) et (1,013 g/plante). La variabilité de l'efficacité symbiotique entre les isolats a été notée aussi lors de l'évaluation des cultures de rhizobium de diverses espèces de légumineuses tropicales [31, 32]. L'ensemble des données obtenues montre que les rhizobia testés ont pu fixer l'azote, qui se traduit par un apport en moyenne de 0,94% du poids sec chez toutes les souches par rapport au témoin non inoculé T0 (0,14%). Les teneurs moyennes les plus élevées sont marquées par les souches de HBA et El Mansoura.

#### 4. CONCLUSION

La caractérisation phénotypique des différentes souches nodulant l'arachide permet de démontrer l'existence de variations phénotypiques entre les souches rhizobiales et de sélectionner celles qui présentent une bonne capacité de fixation de l'azote atmosphérique en conditions de culture stressantes, comme la salinité, la sécheresse et la température pour la production d'inoculum.

## REFERENCES

- [1] Nedjraoui D., 2001.- Profil fourrager en Algérie. <http://www.fao.org/AG/AGP/agpc/doc/counprof/Algeria/Algerie.htm>.
- [2] Karabi M., Hamdi Aissa B., Zenkhri S., 2016.- Microbial diversity and organic matter fractions under two arid soils in Algerian Sahara. AIP Conference Proceedings 1758, 030006, doi: 10.1063/1.4959402.
- [3] Bazzine M., Hamdi Aissa B., 2014.- Etude des croûtes biologiques de quelques sols gypseux et salins du milieu saharien: cas de la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien). *Algerian journal of arid environment*. vol. 4, n° 1, Juin 2014: 45-52p.
- [4] de Faria S.M., Lewis G.P., Sprent J.I., Sutherland J.M., 1989. - Occurrence of nodulation in the leguminosae. *New Phytologist*, 111: 607-619.
- [5] Dupuy N., 1993.- Contribution à l'étude de la symbiose fixatrice d'azote entre *Acacia albida* et *Bradyrhizobium* sp. Thèse de Doctorat de l'Université de Lille - Flandres Artois. pp 158.
- [6] Dommergues Y., Duroux E., Diem H.G., 1999.- Les arbres fixateurs d'azote: caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Editions espaces 34(CIRAD, FAO,IRD). 499p.
- [7] Franco A. A., de Faria S. M., 1997.- The contribution of N<sub>2</sub> fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil Biol. Biochem.* 29: 897-903.
- [8] Wani S.P., Rupela O P., Lec K.K., 1995.- Sustainable Agriculture in the semi-arid tropic through biological nitrogen fixation in grain legumes. *Plant And Soil* 174, 29-49.
- [9] M.A.D.R., 2007- Ministère d'Agriculture et Développement Rural. Statistiques agricoles. Série B 2006 -2007.
- [10] El Hilali I., Brhada F., Thami Alami I., Filali-Maltouf A., 2003.- Characterization of *Lupinus rhizobia* isolated from Moroccan soils. In "Lupin-high protein plant of XXI century", Sciences Academy of Wroclaw, Pologne N° 495.
- [11] Vincent J. M., 1970. - A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. IBP handbook, no. 15. Blackwell Scientific Publications, Ltd., Oxford, England.
- [12] Somasegaran P., Hoben H.J. 1994.- Handbook for Rhizobia :Methods in legume-Rhizobia technology . Springer-Verlag.new York, p 450.
- [13] Jordan D.C., 1984.- Family III. Rhizobiaceae. In: N.R. Krieg and J.H. Holt .Ed. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol1, the Williams & Wilkins Co. Baltimore p234-254.
- [14] Graham P. H., Sadowsky M. J., Kersters H. H., Barnett Y. M., Bradley R. S., Cooper J. E., de Ley D. J., Jarvis B. D.W, Roslycky E. B., Strijdom B. W., and Young J. P. W., 1991.- Proposed minimal standards for the description of new genera and species of root-and stem-nodulating bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41: 582-587.
- [15] Jensen H. L., 1967 -Mutual host plant relationships in two groups of legume root nodule bacteria (*Rhizobium* spp.). *Arch. Microbiol.* 59: 174-179.
- [16] Zakhia F., de Lajudie P., 2006 - La taxonomie bactérienne moderne : revue des techniques-application à la caractérisation des bactéries nodulants les légumineuses (BNL).*Can.J. Microbio* 152 (3) : 169-181.
- [17] Xu L. M., Ge C., Cui Z., Li J., Fan H., 1995.- *Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov. isolated from the root nodules of soybeans. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 706-711.
- [18] Nour, S. M., Cleyet-Marel, J. C., Normand, P., and Fernandez, M. P. 1995.- Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 640-648.

- [19] Jarvis, B. D. W., P. van Berkum, W. X. Chen, S. Nour, M. P. Fernandez, J. C. CleyetMarrel, and M. Gillis. 1997.- Transfert of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*, and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 895-898.
- [20] Wei, G. H., Z. Y. Tan, M. E. Zhu, E. T. Wang, S. Z. Han, and W. X. Chen. 2003.- Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium Loessense* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53: 1575-1583.
- [21] Zahran H. H., Räsänen L. A., Karsisto K., Lindström K., 1994.- Alteration of lipopolysaccharide and protein profiles in SDS-Page of rhizobia by osmotic and heat stress. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* 10: 100-105.
- [22] De Lajudie P., Willems A., Pot B., Dewettinck D., Maestrojuan G., Neyra M., Collins M., Dreyfus B., Kersters K., Gillis M., 1994.- Polyphasic taxonomy of rhizobia : emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. Nov., *Sinorhizobium saheli* sp. Nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* pp. 44: 715- 733.
- [23] Karanja N. K., Wood M. 1988.- Selecting *Rhizobium* phaseolistrains for use with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya. Tolerance of high temperature and antibiotic resistance. *Plant Soil*, 112: 15-22.
- [24] Raza S., Jorngard B., Abou-Taleb H., Christiansen J. 2001.- Tolerance of Bradyrhizobiumsp. (Lupini) strains to salinity, pH, CaCO<sub>3</sub> and antibiotics. *Lett. Appl. Microbiol.* 32: 379-83.
- [25] Serraj R., Abu-Gyamfi J. 2004.-Role of symbiotic nitrogen fixation in the improvement of legume productivity under stresses environment , *West African journal of applied ecology.*6: 95-109.
- [26] Maâtallah J., E. B. Berraho., S. Munoz., J. Sanjuan, and C. Lluch., 2002.- Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) growing in Moroccan soils. *Agronomie* 22: 321-329.
- [27] Mohamed S. H., Smouni A., Neyra M., Kharchaf D., Filali-Matouf A. 2000.- Phenotypic characteristics of root-nodulating bacteria isolated from *Acacia* spp. grown in Libya. *Plant & Soil.*224: 171-183.
- [28] Elkan. G. H., 1992-Taxonomy of the rhizobia. *Can J. Microbiol.* 38, 446-450.
- [29] Torres-Júnior, JaksonLeite, Carolina Etienne, de Rosália, Silva Santos, Paulo Ivan, Fernandes-Júnior, Jerri Édson, Zilli Norma, GouvêaRumjanek, Gustavo Ribeiro., Xavier., 2014- Diversity and symbiotic performance of peanut rhizobia from Southeast region of Brazil, *academic journal*, 8(6): 566-577.
- [30] Patel S R., Thakur D S., 1998.- Effet of phosphorus and bacterial inoculation on yield and quality of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Indian journal of agricultural sciences.* (2) : 119-120.
- [31] Florentino LA, Sousa PM, Silva JS, Silva KB, Moreira FMS (2010).-Diversity and efficiency of bradyrhizobium strains isolated from soil samples collected from around sesbaniavirgataroots using cowpea as trap species. *Revista Brasileira de CiênciasAgrárias*, 34, Solo: 1113-1123.
- [32] Lima A .A., FernandesJúnior P., Passos S.R., Paulo F.S., Nosoline S.M., Faria S.M., Guerra J.G.M., Rumjanek N.G., Xavier G.R., 2012.- Diversidade e capacidade simbiótica de Rizóbios isolados de nódulos de mucunacinja e mucunaanã. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 36, Solo: 337-348.