



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université de Tissemsilt



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Matière

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en

Filière : **Science Agronomique**

Spécialité : **Production Végétale**

Présentée par : **BERBER Fatima**

CHAKER Halima

Thème

**Effet du Thiram sur le complexe symbiotique
bactéries-petit pois (*Pisum sativum*): Impact sur
la nodulation et la fixation biologique de l'azote**

Soutenu le,

Devant le Jury :

BOUNACEUR Farid

Président

Prof.

Univ-Tissemsilt

LAABAS Saadiya

Encadreur

M.C.B.

Univ-Tissemsilt

ZEMOUR Kamel

Examinatrice

M.A.B.

Univ-Tissemsilt

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENT

Après avoir remercié ALLAH le tout puissant, *Dieu des cieux et de terre, qui nous a permis de réaliser ce Modest travail.*

Nous tenons à remercier très respectueusement les membres du jury d'avoir accepté l'évaluation de ce travail.

Nous tenons à adresser l'expression de nos profonds remerciements à notre encadreur Melle Laabas Saadiya qui nous a fait l'honneur d'assurer la direction de ce mémoire. Nous la remercions pour son soutien, la pertinence de ses conseils, sa grande disponibilité, sa patience et son aide précieuse pour l'élaboration de ce travail.

Nous remercions infiniment Monsieur Zerari A pour son aide, ses conseils et sa gentillesse, sans oublier toute l'équipe de de laboratoire agronomique FERTIAL (Annaba) pour les analyses du sol.

Un remerciement spécial s'adresse à tout le personnel de Centre de Formation Professionnel et d'Apprentissage (CFPA) de la commune de Lardjem (Tissemsilt).

Finalement, nous exprimons notre plus profonde gratitude à tous ceux qui nous ont encouragés et soutenus de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Merci à tous *et /à toutes*

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance et de respect:

À mes très chers parents

À mes chers enfants

À tous mes amis

À toute ma famille.

À tous ce qui ont participé de près ou de loin

Berber.f

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance et de respect:

À mes très chers parents

À mes chers enfants

À tous mes amis

À toute ma famille.

À tous ce qui ont participé de près ou de loin

Chaker .h

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	----------

CHAPITRE I : Etude bibliographique

1. Le petit pois (<i>Pisum sativum</i> L.)	02
1. 2. Répartition géographique	02
1. 3. La production de petit pois.....	02
1. 3. 1. La production mondiale	02
1. 3. 2. Production nationale.....	03
1. 4. Classification botanique	04
1. 5. Les variétés de petit pois	04
1. 6. Les caractères morphologiques du petit pois (<i>Pisum sativum</i> L.).....	05
1. 7. Les principales maladies fongiques du pois	06
2. La Symbiose <i>Rhizobium</i> -légumineuses.....	08
2. 1. La fixation biologique de l'azote	08
2. 2. Les étapes de la nodulation	08
2. 2. 1. Pré-infection	08
2. 2. 2. Phase d'infection et de formation des nodules.....	09
2. 2. 3. Maturité du nodule	09
2. 2. 4. Phase de dégénérescence.....	10
2. 3. La spécificité d'hôte	10
2. 4. Les rhizobia nodulant le petit pois	11
3. La rhizosphère	11
3. 1. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).....	12
3. 1. 1. Rôle des PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria»	12
4. Les pesticides	13
4. 1. Utilisation des pesticides en agriculture.....	13
4. 2. Les fongicides	14
4. 2. 1. Traitement des semences par les fongicides.....	14
4. 2. 2. Les fongicides appliqués pour le traitement des semences	14
4. 2. 3. Le thirame	15
4.2.3.1. Description de la matière active de thirame	15
4. 3. Effet des fongicides sur l'activité des rhizobia et les PGPR dans sol	16

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage de sol	17
2. Matériel végétal.....	18
3. Essai sous serre (essai sous des conditions semi contrôlées)	19
3. 1. Mise en place de semis.....	19
3. 2. Estimation de la fixation biologique de l'azote.....	20
4. Etude statistiques	21
5. Dénombrement de la microflore de sols rhizosphériques	21

CHAPITRE III : Résultats et discussion

1. Analyse Physico-chimiques des sols.....	23
2. Estimation de la fixation biologique de l'azote.....	23
2.1. Le nombre de nodules	24
2. 2. Poids frais des parties aériennes et racinaires	26
2. 3. Poids sec des parties aériennes et racinaires	28
3. Dénombrement de la microflore de sols rhizosphériques	29
Conclusion	31

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01: Structure de la plante de petit pois.....	06
Figure 02 : Les étapes de la nodulation.....	10
Figure 03 : Racine de pois nodule.....	11
Figure 04 : Les différents rôles des PGPR.....	13
Figure 05 : Localisation géographique de la zone d'échantillonnage de sol.....	17
Figure 06 : Les graines de petit pois <i>Pisum sativum</i> utilisées dans l'essai.....	18
Figure 07: Dispositif expérimental.....	19
Figure 08 : Mise en place de l'essai sous serre.....	20
Figure 09 : Les nodules de petit pois obtenus.....	21
Figure 10 : Conservation des nodules.....	21
Figure 11: Technique de dénombrement.....	22
Figure 12 : Dispositif expérimental après 22 jours de semis.....	24
Figure 13 : Aspect de nodules formés au niveau des racines de petit pois (<i>Pisum sativum</i>) variété GROS VERT.....	25
Figure 14 : Nombre de nodules sur les racinaires de deux variétés de petits pois (<i>Pisum sativum</i>) avec et sans traitement par le thirame.....	26
Figure 15 : Poids frais de la partie aérienne et racinaire de deux variétés de petits pois (<i>Pisum sativum</i>) avec et sans traitement par le thirame.....	27
Figure 16 : Aspect des plantes après 45 jours de semis.....	27
Figure 17 : Poids sec de la partie aérienne et racinaire de deux variétés de petits pois (<i>Pisum sativum</i>) avec et sans traitement par le thirame.....	28
Figure 18 : Aspect macroscopique des bactéries rhizosphérique après 24 h d'incubation à 30 °C.....	29
Figure 19 : Concentration bactérienne dans les sols rhizosphériques des plantes (ONWARD et GROS VERT avec et sans traitement par le thirame).....	30

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principaux pays producteurs du pois sec dans le monde.....	03
Tableau 02 : Evolution des superficies de la culture du petit pois dans la wilaya de Tissemsilt.....	04
Tableau 03 : Les variétés de petit pois et de pois mange-tout	05
Tableau 04 : Effet des fongicides sur la symbiose et l'activité des PGPR	16
Tableau 05 : Les variétés de petit pois <i>Pisum sativum</i> utilisées dans l'essai.....	18
Tableau 06 : Résultats des analyses chimiques de sol échantillonné (Lardjem, wilaya de Tissemsilt.....	23
Tableau 07 : Dénombrement des microorganismes rhizosphériques	29

Liste des abréviations

BNL : Bactéries Nodulant les Légumineuses

CE : Conductivité Electrique.

CFPA : Centre de Formation Professionnel et d'Apprentissage

DSA : Direction de Service Agricole

FAO: Food and Agriculture Organization.

ha : Hectare.

MO : Matière Organique.

N₂: l'azote atmosphérique

NH₃ : l'ammoniac

P : phosphore assimilable.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria

pH : Potentiel hydrogène

ppm: Partie pour million

qx : Quintal

Introduction

Les légumineuses alimentaires sont devenues une composante essentielle de l'alimentation humaine et animale pour le monde entier et en particulier pour les populations à faible revenu (l'Asie et l'Afrique) (Pachico, 2005). Parmi ces légumineuses, le petit pois est un légume apprécié, et constitue un aliment de base, et sa consommation est liée à sa vertu diététique. D'autre part, les légumineuses alimentaires constituent une voie pour améliorer la fertilité des sols et les rendements des cultures qui leur sont associées (Baudoin, 2001), grâce à leur caractère de fixation symbiotique de l'azote avec les BNL (Bactéries Nodulantes des Légumineuses) (Graham et Vance, 2003), ce qui lui a valu une place prépondérante comme culture de choix pour l'agriculture durable (Babar *et al.*, 2009).

Cependant, ce processus naturel et même la communauté microbienne du sol dont les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) sont affectés par plusieurs contraintes qui réduisent leurs efficacités via l'inhibition de leurs actions, la perturbation de processus de nodulation et par conséquent sur la fixation naturelle de l'azote. Parmi ces contraintes, les facteurs édaphiques (Hatimi, 2001), et la toxicité due à certains produits phytosanitaires (Wani *et al.*, 2005), dont les fongicides qui semblent être très efficaces pour traiter les maladies fongiques (Rocher, 2004).

Un essai comparatif a été conduit sous serre au niveau de Centre de Formation Professionnel et d'Apprentissage (CFPA) de l'Ardjem (Tissemsilt) sur deux variétés de petit pois (ONWARD et GROS VERT) avec et sans traitement par le fongicide (thirame).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de traitement des semences de petit pois par ce fongicide et sur la mise en place de la symbiose via la comparaison de nombre de nodules formées sur les racines, et la comparaison de poids sec et frais des parties aériennes et racinaires de deux variétés testées.

Des analyses physico-chimiques de sol utilisé ont été effectuées au laboratoire agronomique FERTIAL (Annaba), afin d'estimer sa fertilité naturelle et de rechercher d'éventuelles corrélations entre la présence, l'absence et l'abondance des bactéries fixatrices d'azote et les PGPR.

Un dénombrement de la microflore bactérienne a été réalisé afin d'évaluer la concentration des microorganismes présente dans les sols rhizosphériques des plantes issues de deux variétés testées avec et sans traitement par le thirame.

CHAPITRE I

Etude Bibliographique

1. Le petit pois (*Pisum sativum* L.)

Le petit pois (*Pisum sativum* L.) est une plante annuelle de la famille de Fabacée, il est originaire de l'Asie centrale (Afghanistan et Inde) et sa culture est très ancienne. C'est une plante essentiellement autogame (Free, 1993 ; Pouvreau, 2004). Le pois est l'un des principaux légumes au monde, il est couramment utilisé dans l'alimentation humaine vu leur richesse en protéines (21-25 %), hydrates de carbone, vitamine A et C, Ca, phosphore (Bhat *et al.*, 2013) ; c'est pour cette raison que le petit pois a toujours occupé une place importante dans l'ensemble des légumes secs (Chaude et Foury, 1994).

1. 2. Répartition géographique

La FAO « *Food and Agriculture Organization* » considère l'Ethiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversification, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne. Actuellement, on trouve *Pisum sativum* dans tous les pays tempérés et dans la plupart des hautes terres tropicales comme exemple l'Afrique (centrale partie est) et orientale (en Ethiopie) (Brink et Belay, 2006).

1. 3. La production de petit pois

1. 3. 1. La production mondiale

Le petit pois est la quatrième légumineuse au plan mondial, après le soja l'arachide et le haricot; selon les statistiques de la FAO « *Food and Agriculture Organization* » en 2019, la production mondiale de pois secs s'est élevée à 14,184249 millions de tonnes pour une surface ensemencée de 7,166876 millions hectares, soit un rendement de 19791 hg/ha. Dans même année, la production de pois frais est de 200025 tonnes, avec une surface cultivée de 38959 hectares, soit un rendement de 51342 hg/ha.

Les trois principaux pays producteurs de cette légumineuse alimentaire sont Canada, Fédération de Russie, et la chine (tableau 01).

Tableau 01: Les principaux pays producteurs du pois sec dans le monde selon la
FAO (2019)

<http://www.fao.org/statistics/fr/>.

Les Pays	Productions (Tonnes)	Superficie récoltée (ha)
Canada	4236500	1711000
Fédération de Russie	2369479	1209971
Chine	1458858	978320
Etats-Unis d'Amérique	1013600	425730
Inde	811690	606720
France	709380	175570
Ethiopie	390564	223657
Allemagne	228200	74600
Australie	218500	225000
Espagne	163840	145400
Colombie	151138	34172
Kazakhstan	108130	88021

1. 3. 2. Production nationale

En Algérie le pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (Laumont et Chevassus, 1960), la culture a pris un développement important en 1945, elle a connue par la suite un essor remarquable de 1947 à 1952. Les statistiques actuelles de la FAO (2019) montrent que la production nationale est de 12125 tonnes, pour une surface cultivée de 9952 hectares, soit un rendement de 12183 hg/ha. Les principales wilayas en Algérie productrices du petit pois sont Mascara, Boumerdes, Biskra et Tlemcen.

La production de petit pois dans la willaya de Tissemsilt est modeste en comparaison avec les autres cultures telles que pois chiche, lentille et la fève. Mais cette culture a connue un développement remarquable au cours de dernières années d'après les données de la Direction de Service Agricole (DSA) de la willaya (tableau 02).

Tableau 02: Evolution des superficies de la culture du petit pois dans la wilaya de Tissemsilt.

Année	2015	2016	2017	2018	2019
Superficie (ha)	04	10	0	60	64
Production (qx)	24	24	0	801	463

Source (D.S.A. Tissemsilt 2020/2021)

1. 4. Classification botanique

Le petit pois est classé comme suit (USDA, 2008).

Règne:	Plantae
Sous règne:	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement:	Spermatophyta (plantes à graines)
S/ Embranchement:	Magnoliophyta (Angiospermes, phanérogames ou plantes à fleurs).
Classe:	Magnoliopsida (ou Dicotylédones)
Sous classe:	Rosidae
Ordre:	Fabales
Famille:	Fabaceae : fabacées, papilionacées ou légumineuses
Genre:	<i>Pisum</i>
Espèce:	<i>Pisum sativum</i> L.
Nom commun:	Petit pois

1. 5. Les variétés de petit pois

Trois principales variétés cultivées. Les petits pois à grains lisse, ils sont plus résistants au froid, moins sucrés et plus farineux ; les petit pois à grains ridé, ils sont plus sucrés que les premiers ; et le pois Mangetout, sont des pois que l'on récolte plus jeune et que l'on mange avec la cosse (tableau 03). Ces cultivars de petits pois peuvent aussi être des variétés « naines » ou « à rames », les pois nains dont les plantes ne dépassent pas 50 cm de hauteur et les pois à rames dont les plants peuvent atteindre 2 m 50 et nécessitent plus d'espace (Messiaen, 2010).

Tableau 03 : Les variétés de petit pois et de pois mange-tout (Messiaen, 2010).

Variétés	Hauteur (cm)	Couleur du grain	Durée de végétation (jours)	Caractères variétaux
Express à longue cosse	90	Vert rond	71	Gousses longue A 10 grains
Cadoz	Nain	Blanc rond	80	Grains très petits
Douce provenance	Nain	Vert rond	69	Gousses longues, 7 à 9 grains
Proval	Nain	Vert rond	65	Le plus précoce
Arkel	Nain	Vert rond	70	Gousses longues, pointues
Merveille de Kelvidon	78	Vert ridé	68	Gousses fines, très longues
Onward	Nain	Vert ridé	79	Grosses gousse, résistant Oïdium
Surgévil	Nain	Vert ridé	85	Grain très Sucrés
Cone de bélier	150	Vert Blan	90	Mange –tout à rames

1. 6. Les caractères morphologiques du petit pois (*Pisum sativum* L.)

Le petit pois est une plante grimpante herbacée annuelle, c'est une espèce diploïde avec $2n=14$ chromosomes (Benachour, 2008). La tige peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1 m (Benachour, 2008) (figure 01), elle est creuse, de section cylindrique (Elzebroek et Wind, 2008); les feuilles sont composées-pennées, et se composent de deux grandes stipules foliacés, un à plusieurs paires de folioles ovales, et des vrilles terminaux (McGee, 2012) ; les fleurs sont blanches, avec une taille de 3 à 4 cm de long, elles naissent à l'aisselle des feuilles, les pédoncules de longueur variable supportent une à trois fleurs (Elzebroek et Wind, 2008).

Les inflorescences se produisent dans l'aisselle des feuilles, et consistent en des racèmes avec une à quatre fleurs ; les fleurs ont cinq sépales fusionnées vert, et pétales blanc de différentes tailles. Le pétale haut est appelé 'standard', les deux petits pétales dans le milieu sont fondus ensemble et appelé 'quille" à cause de leur apparence en bateau, et le bas des deux pétales conicité vers la base et sont appelés les "ailes" (Elzebroek et Wind, 2008).

Le fruit est une gousse fermé, 1 à 4 pouces de long qui a souvent une membrane intérieure rugueuse, et les graines mûres sont ronds, lisses ou froissées, et peut être verte,

jaune, beige, brun, rouge orange, bleu-rouge, violet foncé à presque noir, ou tachetée (Elzebroek et Wind, 2008).

L'appareil souterrain du petit pois est formé d'un système racinaire à pivot relativement peu développé avec des racines secondaires voir tertiaires. L'enracinement du pois est assez développé et peuvent atteindre 60 cm de profondeur jusqu'à 80 cm en fin floraison. Sur les racines de pois se développent des nodosités, le résultat d'une association avec les bactéries fixatrices d'azote, qui convertissent l'azote (N_2) à l'ammoniac (NH_3) (Clark, 2007).

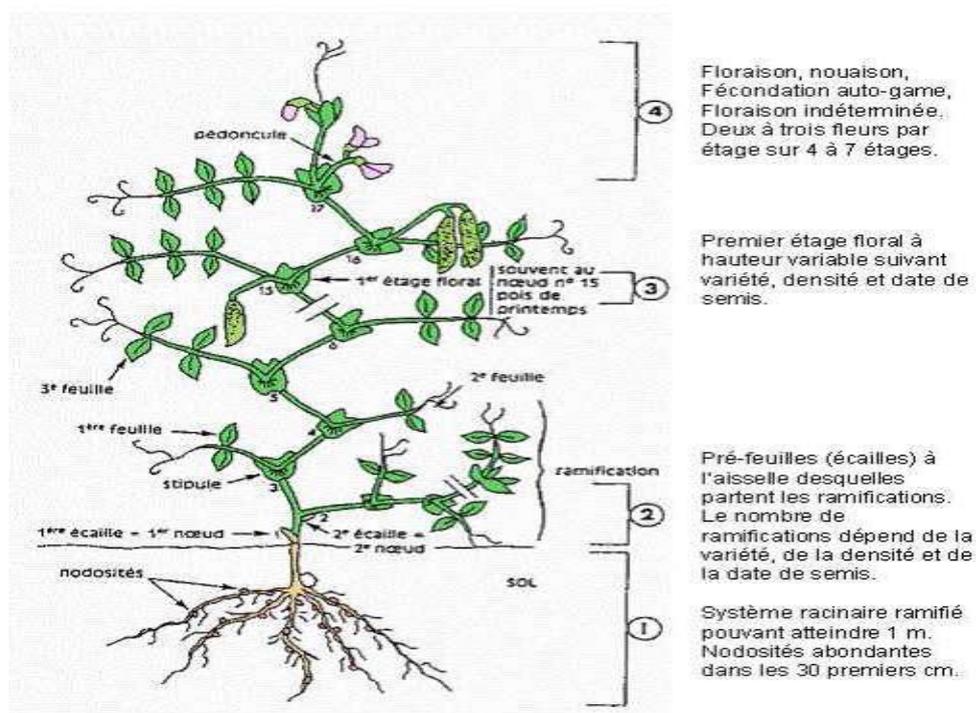


Figure 01 : Structure de la plante de petit pois (Boyeldieu, 1991).

1. 7. Les principales maladies fongiques du pois

- Le mildiou du pois

Le mildiou du pois est provoqué par *Peronospora pisi*, il fructifie en général à la face inférieure des feuilles sous la forme d'un duvet d'abord blanc, puis violacés. La face supérieure jaunit puis se nécrose à l'emplacement des taches. Les tiges et les gousses peuvent également être envahies et ces dernières peuvent montrer des déformations importantes.

Pernospora pisi produit des oospores en abondance dans les tissus infectés, surtout tiges et gousses. Les oospores peuvent se conserver soit dans le sol, (parcelle ayant porté une culture malade), soit dans les lots de semences où des débris de gousses malades mêlés aux graines. De tels lots de semences peuvent introduire la maladie dans de nouveaux terrains. Les plantes infectées précocement montrent des symptômes systémiques. Les conidies de *Peronospora pisi* sont produites la nuit, entre 4 et 16 °C (optimum 8°C).

Les contaminations secondaires sur tiges, feuilles et gousses, par les conidies ont lieu entre 8 et 16°C (l'incubation de douze jours à une température supérieures à 18°C stoppe l'évolution de la maladie). Il est recommandé d'utiliser des semences saines produites dans des zones sans mildiou à Printemps chaud et sec (Lafon *et al.*, 1970).

- La rouille

On peut rencontrer au moins trois rouilles sur le pois et *Uromyces pisi* et *Uromyces Viciae craccae*, espèce hétéroïques dont les écidies se forment sur *euphorbia cyparissias*, et *Uromyces viciae fabae*, la rouille autoïques de la fève et du pois. (Lafon *et al.*, 1970).

- L'oïdium du pois

L'oïdium du pois est provoqué par *Erysiphe polygoni* son comportement ne diffère de celui des autres oïdiums que par un détail : sa possibilité de transmission par la semence. A l'inverse du Mildiou, l'oïdium en séchant prématurément le feuillage nuit à la qualité des pois destinés à la surgélation ; la lutte fongique contre l'oïdium du pois a été peu étudiée (Lafon *et al.*, 1970).

- L'anthracnose

Le pois est sensible à trois espèces appartenant au genre *Ascochyta* : *Ascochyta pisi*, *Ascochyta pinodella* et *Ascochyta pinodes*. En raison de la ressemblance superficielle des dégâts sur gousses avec ceux provoqués par *Colletotrichum lindemuthianum* sur haricot, on les désigne souvent improprement sous le nom d'Anthracnose. L'espèce la plus redoutable semble être *Ascochyta pinodes* qui attaque aussi bien les organes aériens que le collet. Ce champignon peut se perpétuer sur les semences. Les périthèces formés sur les débris de plantes jouent également un rôle dans la dissémination de la maladie. Ils sont capables de projeter des ascospores au printemps suivant, transporté par le vent à des distances plus grandes que les conidies produites par les pycnides. (Lafon *et al.*, 1970).

2. La Symbiose *Rhizobium*-légumineuses

La symbiose fixatrice d'azote est un processus complexe déterminé par deux partenaires, les bactéries du sol (les Rhizobia) avec les eucaryotes photosynthétiques de la famille des Fabaceae (légumineuses) (Ibanez *et al.*, 2009), décrite pour la première fois par Frank (1889), cette association est à bénéfice réciproque permettant aux bactéries de profiter d'un micro-habitat exceptionnellement favorable, les légumineuses leur procurant un apport en substrats carbonés issus de la photosynthèse. En échange, les bactéries vont fixer et réduire l'azote atmosphérique en forme assimilable par les plantes hôtes (Broughton *et al.*, 2003).

2. 1. La fixation biologique de l'azote

Le nodule est le résultat de l'infection des racines des légumineuses par les bactéries fixatrices d'azote, ces bactéries possèdent le complexe enzymatique de la nitrogénase, responsable de la réduction d'azote moléculaire en ammoniac (Udvardi et Poole, 2013). En conditions de faible teneur en oxygène, cette enzyme catalyse la réduction de l'azote atmosphérique N_2 en ammoniac NH_3 (Day *et al.*, 2001 ; Downie, 2005). Cette fixation biologique de l'azote contribue approximativement à 16 % de l'apport total d'azote dans les terres cultivées (Ollivier *et al.*, 2011).

2. 2. Les étapes de la nodulation

L'établissement de l'association symbiotique, la formation des nodules et la fixation de l'azote sont les conséquences d'une série d'interactions contrôlées par signaux moléculaires entre la plante et son hôte bactérien. L'organogénèse des nodosités, depuis l'infection jusqu'au développement, est aujourd'hui parfaitement bien connue (Madigan *et al.*, 2007).

2. 2. 1. Pré-infection

Les rhizobia sont attirés vers les poils racinaires par une large gamme de substances de type flavonoïdes et isoflavonoïdes, principalement par les phénylpropanoïdes exsudés par la racine (Kape *et al.*, 1991). Une production plus importante de ces composés est observée en condition de carence azotée (Coronado *et al.*, 1995).

Les flavonoïdes présents dans les exsudats racinaires induisent l'expression des gènes nod bactériens qui gouvernent la production des facteurs Nod, des lipochitooligosaccharides (Perret et col, 2000).

Les facteurs Nod induisent des événements morphologiques, physiologiques et moléculaires chez la plante hôte ; La déformation du poil racinaire est observée environ 12 à 24 heures ; les poils absorbants changent leur direction de croissance et forment une structure en croc de berger, courbés, renflés, entrelacés, déformés, branchés ou joints qui enferme les *Rhizobium* (Wais *et al.*, 2002).

2. 2. 2. Phase d'infection et de formation des nodules

L'infection consiste à la pénétration des rhizobia en différents points du système racinaire, après avoir pénétré dans les poils absorbants (figure 02), les bactéries sont entourées par un filament d'infection (Hopkins, 1999). Un méristème nodulaire est donc à former dans la racine pendant que les rhizobia entrent à travers le filament formé pour faciliter l'entrée du rhizobia aux couches les plus profondes. Le cordon (filament) d'infection poursuit sa progression en se ramifiant et déverse les bactéries dans les cellules du méristème nodulaire (Franche *et al.*, 2009).

2. 2. 3. Maturité du nodule

Le stade final du processus infectieux est atteint lorsque les bactéries sont déversées dans la cellule hôte. Les rhizobia se libèrent du filament d'infection et sont enveloppées dans une membrane dérivée de la plante, appelé symbiosome (Franche *et al.*, 2009). Les bactéries finalement arrêtent de se diviser et se transforment en bactéroïdes entourés d'une membrane, nommée membrane péribactéroïdienne qui a pour rôle de stabiliser le système hôte/bactéroïde ; si elle est endommagée, les bactéries vont se libérer dans le cytoplasme et considérées comme des corps étrangers et donc détruits par la cellule hôte (Jordan 1982 ; Franche *et al.*, 2009 ; Masson-Boivin *et al.*, 2009).

D'autres mécanismes d'infection sont aussi décrits tel que : l'infection par *crack entry* et la pénétration entre cellules épidermiques (Franche *et al.*, 2009).

2. 2. 4. Phase de dégénérescence

Chez les nodosités âgées, les cellules végétales dégèrent. Les membranes des symbiosomes seront désagrégées, les bactéroïdes se transforment en bactéries, ces dernières sont libérées dans le sol, et la plante résorbe les produits (Mergaert *et al.*, 2001).

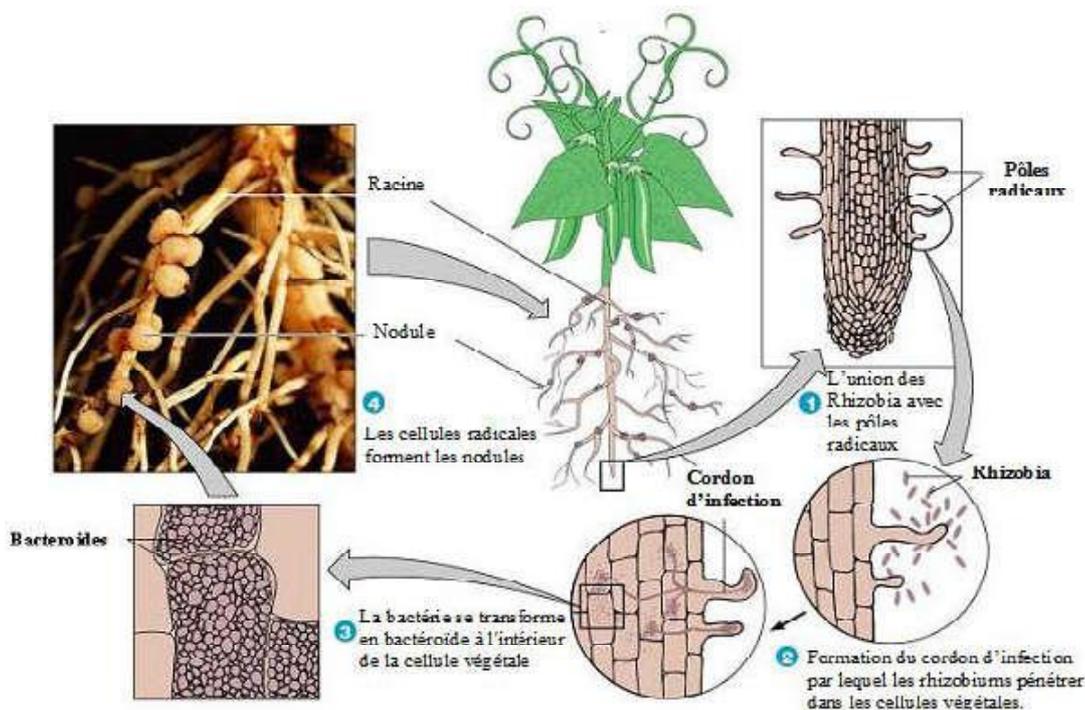


Figure 02 : Les étapes de la nodulation (Tortora *et al.*, 2003).

2. 3. La spécificité d'hôte

La spécificité d'hôte est l'une des caractéristiques majeures de la symbiose *Rhizobium*-légumineuses. Chaque espèce bactérienne possède un spectre d'hôte bien défini dont l'amplitude est très variable (Broughton *et al.*, 2003). Certaines souches bactériennes ont un spectre d'hôte très large, comme la souche *Ensifer* sp. NGR 234 isolée de *Lablab purpureus*, capable de s'associer à près de 120 genres de légumineuses et au genre *Parasponia*, ou celles du haricot qui s'associent à diverses légumineuses tropicales. Inversement, le spectre d'hôte est étroit chez *Sinorhizobium meliloti* qui ne s'associe qu'aux espèces végétales de genres *Medicago*, *Melilotus* et *Trigonella* ainsi que chez *Mésorhizobium huakuii*. La spécificité est très forte pour le partenaire bactérien *Azorhizobium caulinodans* qui s'associe à *Sesbania*

rostrata et à d'autres *Sesbania* sp. Alors que certaines espèces de b-rhizobia ont un spectre d'hôte étroit, par rapport à des rhizobia à large spectre d'hôtes (Wang *et al.*, 2012).

2. 4. Les rhizobia nodulant le petit pois

Plusieurs travaux ont montré une grande diversité génétique dans les populations naturelles des rhizobia nodulant les genres *Pisum*, *Vicia* et *Lathyrus* (figure 03), en particulier *Rhizobium leguminosarum* (Laguerre *et al.*, 2003 ; Depret *et al.*, 2008). *R. fabae* (Tian *et al.*, 2008) et *R. pisi* (Ramirez-Bahena *et al.*, 2009) ont été décrits par la phylogénie de ARNr, *atpD* et *rec A*. *R. fabae*, isolé de *Vicia faba* en Chine et est capable de noduler le pois (Tian *et al.*, 2008), et son gène *nodC* est similaire à celui du symbiovar *viciae* (Rogel *et al.*, 2011). *R. pisi* nodulant le pois a été découvert pour reclasser une souche supposée correspondant à l'espèce *R. leguminosarum* (Ramirez-Bahena *et al.*, 2008). Des souches isolées du *Pisum* au Pérou étaient phylogénétiquement proches de *R. leguminosarum* et *R. etli* (Santillana *et al.*, 2008).



Figure 03 : Racine de pois nodule. (source personnelle).

3. La rhizosphère

La rhizosphère est définie comme étant la zone du sol en association avec la racine ou principalement influencée par la racine de la plante et les substances qu'elle produit (Bhattacharyya et Jha, 2012). Elle est extrêmement riche en nutriments et est colonisée naturellement par un grand nombre de microorganismes tels que les bactéries et les champignons (bénéfiques ou pathogènes) qui peuvent avoir un effet considérable sur le développement et le rendement des plantes (Hilali *et al.*, 2001).

C'est le lieu de multiples interactions entre microorganismes et racine, ces interactions étant bénéfiques, nuisibles, ou neutre pour la plante (Bais *et al.*, 2006). Certains microorganismes naturellement présents dans les sols sont bénéfiques pour la plante, ce qui améliore souvent la croissance végétale (Morgan *et al.*, 2005).

3. 1. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)

Les PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactérie qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effet on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey *et al.*, 2004). Elles représentent environ 5% des bactéries vivant dans la rhizosphère. Les PGPR sont généralement des bactéries à Gram négatif. Elles appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques : *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhizobium*,... (Coineau Yves, 1995). Ces bactéries sont utilisées en agriculture comme des bio fertilisation (Glick et Y Bashan 1997).

Les PGPR s'établissent aisément dans l'écosystème du sol car ils sont dotés d'une grande adaptabilité pour différents types d'environnements. Ils ont également un taux de croissance rapide et une polyvalence en termes de réactions biochimiques pour métabolisme des composés naturels et xéno biotiques (Bhattacharyya et Jha, 2012). Certains critères contribuent également à la caractérisation des PGPR notamment la stimulation de la croissance de la plante-hôte et le bio contrôle (Weller *et al.*, 2002 ; Vessey, 2003).

3. 1. 1. Rôle des PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria»

Certaines souches de PGPR des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium* ont récemment été décrites pour leur effet direct positif sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement de la culture (Vessey, 2003). Les bactéries de la rhizosphère (PGPR) peuvent améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes (figure 04) par exemple la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores, la fixation biologique de l'azote, la production des phytohormones, présentant une activité antifongique...etc. (Weller *et al.*, 2002).

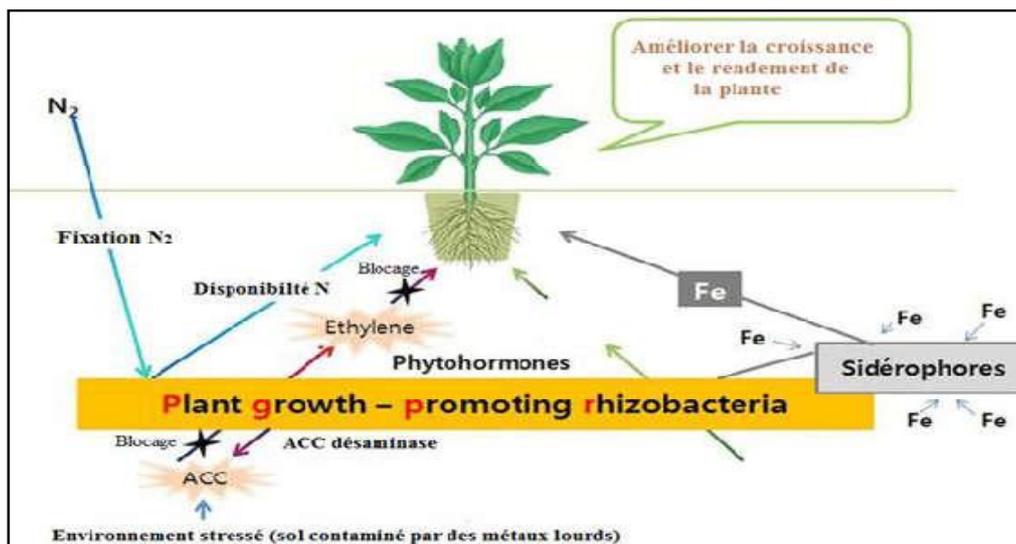


Figure 04 : Les différents rôles des PGPR (Macking, 2007).

4. Les pesticides

Les pesticides sont des substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles, ces produits sont utilisés dans le secteur agricole et ont d'autres applications. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de «formulants» (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005). Le premier pesticide organique synthétique important était le DDT, synthétisé en 1873 mais, dont l'effet insecticide fut découvert en 1939 (Calvet *et al.*, 2005).

4. 1. Utilisation des pesticides en agriculture

Une large gamme de pesticides utilisée en agriculture qui diffèrent par leur structure chimique, leur fonction et leur mode d'action. Leur classification est basée sur les caractéristiques chimiques, la nature de l'organisme nuisible sur lequel ils doivent agir, ou leurs modes et période d'action (Anne-Antonella, 2015). Selon le ministère de l'environnement du Québec (1997), 80% des ventes de pesticides sont destinées à la production agricole, l'utilisation des herbicides vient au premier rang représentant 60% des ventes totales suivi des insecticides avec 18% et enfin des fongicides avec 14%.

4. 2. Les fongicides

Les fongicides représentent l'ensemble des substances chimiques qui tuent ou inhibent la croissance des champignons pathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes (Rocher, 2004). L'utilisation des fongicides en agriculture remonte à l'antiquité. Avec le progrès de la chimie minérale et la découverte de la bouillie bordelaise (fongicide à base de sulfate de cuivre et de chaux), la protection des cultures est rentrée dans un nouvel air (Anonyme, 1999). Aujourd'hui, les traitements fongicides offrent aux utilisateurs une gamme variée de produits ainsi que de nouvelles substances actives qui présentent une protection prolongée, un large spectre d'activité et un contrôle systémique des maladies. Certains fongicides perturbent aussi les processus respiratoires (cas du chlorothalonil), ou inhibent la synthèse des microtubules (cas du propamocarbe) (Calvet *et al.*, 2005). On distingue deux grands groupes : les fongicides minéraux et les fongicides organiques.

4. 2. 1. Traitement des semences par les fongicides

Le traitement des semences par les fongicides est une pratique courante dans l'agriculture moderne pour le contrôle des agents pathogènes. Ce traitement vise à protéger la semence ou la plantule contre un large groupe de champignons transmis par les semences ou par le sol (Görtz *et al.*, 2008 ; Abessolo-Meye *et al.*, 2013 ; Dhanamanjuri *et al.*, 2013). Dan *et al.*, (2012) ont montré que cette méthode permet également la répression de certains parasites foliaires. Dans ce contexte, Santaveč et Kocjan ačko (2011) ont rapporté que le traitement de semences est la mesure de base pour assurer un bon état sanitaire des cultures à la levée et durant les différents stades de développement de la plante.

4. 2. 2. Les fongicides appliqués pour le traitement des semences

Plusieurs fongicides peuvent être appliqués pour le traitement de semences, à dose homologuée ou recommandée (dose maximale répondant aux exigences de la loi) qui est exprimée par quintal ou par kilogramme de semences et selon le type de traitement, en gramme de poudre ou en volume de bouillie par quintal (Couvreur, 2002). Les principales groupes chimiques des fongicides appliqués sont : les Benzimidazoles, Carbendazimes, Thiophanateméthyle, et le Thirame (Simon *et al.* 1994 ; Leroux 2003a).

4. 2. 3. Le thirame

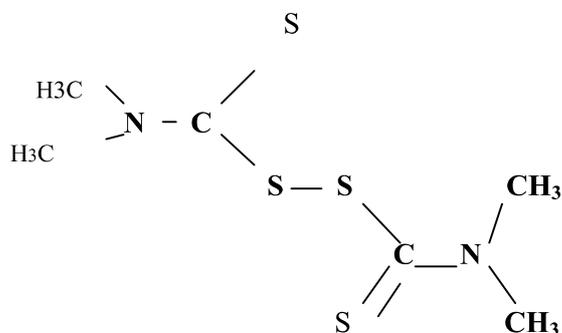
Le thirame est un fongicide de contact à action préventive dont le mode d'action agit sur plusieurs sites, il est homologué pour supprimer les maladies par traitement des semences (céréales, oléagineux, légumineuses à grain, légumes, fruits et cultures destinées à la consommation animale) (Anonyme, 2016) ; C'est un produit compatible avec les produits antiparasites de synthèse (Lhoste et Ravault, 1952).

Sous forme de poudre cristalline, grisâtre ou jaunâtre. Soluble dans l'eau et il ne se vaporise pas lorsqu'il est pulvérisé sur les cultures, et on ne prévoit pas qu'il se retrouve dans l'atmosphère et soit transporté sur de grandes distances à partir de son point d'utilisation (Anonyme, 2016).

4. 2. 3. 1. Description de la matière active de thirame (Anonyme, 2016).

Nom commun	Thirame
Fonction	Fongicide
Famille chimique	Diéthylthiocarbamate de sodium
Nom chimique	
1. Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC)	Disulfure de tétraméthylthiurame; disulfure de bis(N,N-diméthylthiocarbamyle)
2. Chemical Abstracts Service (CAS)	Diamide tétraméthylthiopéroxydicarbonique
N° CAS	137-26-8
Formule moléculaire	C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₄

Formule développée



Masse moléculaire 240,4

4. 3. Effet des fongicides sur l'activité des rhizobia et les PGPR dans sol

Divers facteurs influencent les structures des communautés microbiennes du sol (Widmer *et al.*, 2006 ; Rousseaux *et al.*, 2003). Parmi les facteurs appartenant aux traitements du sol, plusieurs fongicides dont le thirame peuvent diminuer la diversité bactérienne du sol et affect le développement et les activités des rhizobia et les PGPR (Torsvik *et al.*, 2002 ; Ahmed *et al.*, 2009) (tableau 04).

Tableau 04: Effet des fongicides sur la symbiose et l'activité des PGPR (Ahmed *et al.* 2013).

Pesticides	Effets	Référence
Tebuconazole	Entrave le développement de Greengram- <i>Bradyrhizobium</i> avec une réduction de la biomasse végétale, la nodulation, l'absorption des nutriments et du rendement en grains.	- Ahmed et khan, (2012)
Thiram	Affect de manière significative la croissance de <i>Rhizobium japonicum</i> . Effet négative sur les performances de <i>Mesorhizobium ciceri</i> dans le champ, et entraînant une réduction de la biomasse des racines et du rendement en grains du pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>).	- Tu, (1977) - Gaind <i>et al.</i> , (2007)
Captan, mancozeb	- Inhibe la croissance et diminue le nombre et des souches de <i>Rhizobium</i> , <i>Mesorhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i> et <i>Bradyrhizobium</i> .	- Drouin <i>et al.</i> , (2010)
Hexaconazole	- Inhibition du système de déshydrogénase chez <i>rhizobium</i> .	- Kalam et Mukherjee, (2001)
Brassical, thiram, orthocide75, vitavax 75, agrosan	Réduit le nombre de rhizobia à zéro dans les 10 jours dans les graines inoculées.	- Hamdi <i>et al.</i> , (1978)

CHAPITRE II

Matériels

Et Méthodes

1. Echantillonnage de sol

L'échantillon de sol a été prélevé en mois de mars 2021, à une profondeur comprise entre 10-20 cm d'un terrain agricole réservé pour la jachère, ayant comme culture précédente le blé dur (figure 05) dont les coordonnées GPS ont été prises (50° 35' 62.23''N 27°1' 54.04''E).

Les analyses physico-chimiques de sol (granulométriques) et chimiques (carbone, pH, conductivité, matière organique, Azote, phosphore, ...) ont été effectuées au laboratoire agronomique FERTIAL (Annaba). Ces analyses physico-chimiques permettant d'estimer la fertilité naturelle de sol étudié (Soltner, 2005), et de rechercher d'éventuelles corrélations entre la présence, l'absence et l'abondance des bactéries fixatrices d'azote et les PGPR.

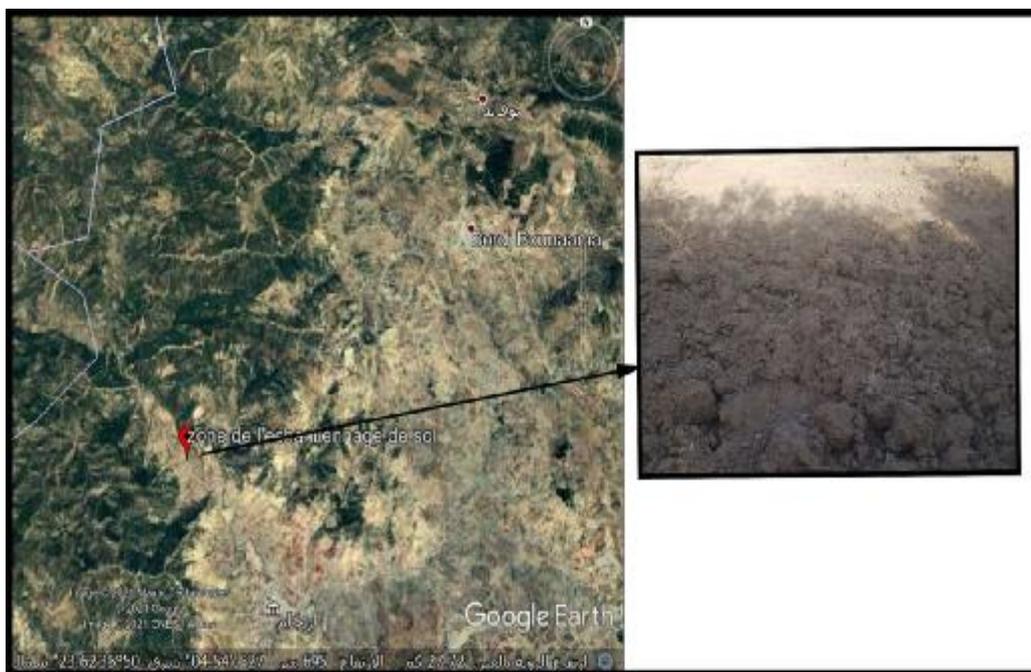


Figure 05: Localisation géographique de la zone d'échantillonnage de sol

Image2021CNES Airbus (Google Earth).

2. Matériel végétal

Les semences de petit pois (*Pisumsativum*) utilisées dans cette expérience (figure 06) ont été délivrées par SARL CASAP (Alger), leur origine et les informations nécessaires sont mentionnées dans le tableau 05.

Tableau 05: Les variétés de petit pois *Pisumsativum* utilisées dans l'essai.

	Variété 01	Variété 02
Nom	Pois ONWARD	GROS VERT
Année de récolte	2019	2020
Traitement	THIRAME	THIRAME
Pays d'origine	New Zealand	France

Source : SARL CASAP (Alger)



ONWARD traitée

ONWARD sans traitement



GROS VERT traitée

GROS VERT sans traitement

Figure 06: Les graines de petit pois *Pisumsativum* utilisées dans l'essai.

3. Essai sous serre (essai sous des conditions semi contrôlées)

3. 1.Mise en place de semis

L'expérience a été réalisée dans une serre en plastique au niveau de Centre de Formation Professionnel et d'Apprentissage (CFPA) de la commune de Lardjem (Tissemsilt). Les graines sont semées dans des pots d'une capacité de 1Kg contenant de sol échantillonné chaque pot est ensemencé avec 3 graines de petit pois utilisées (ONWARD et GROS VERT), six répétitions ont été effectuées pour chaque variété testées, (les mêmes variétés utilisées sans traitement avec le thirame considéré comme témoin)(figure 07). L'expérience est arrangée en un bloc randomisé(figure 08), et les plantes sont arrosées avec 100 ml d'eau par pot pratiqué trois fois par semaine, jusqu'au stade levée puis à 250 ml/ pots jusqu'au stade floraison.

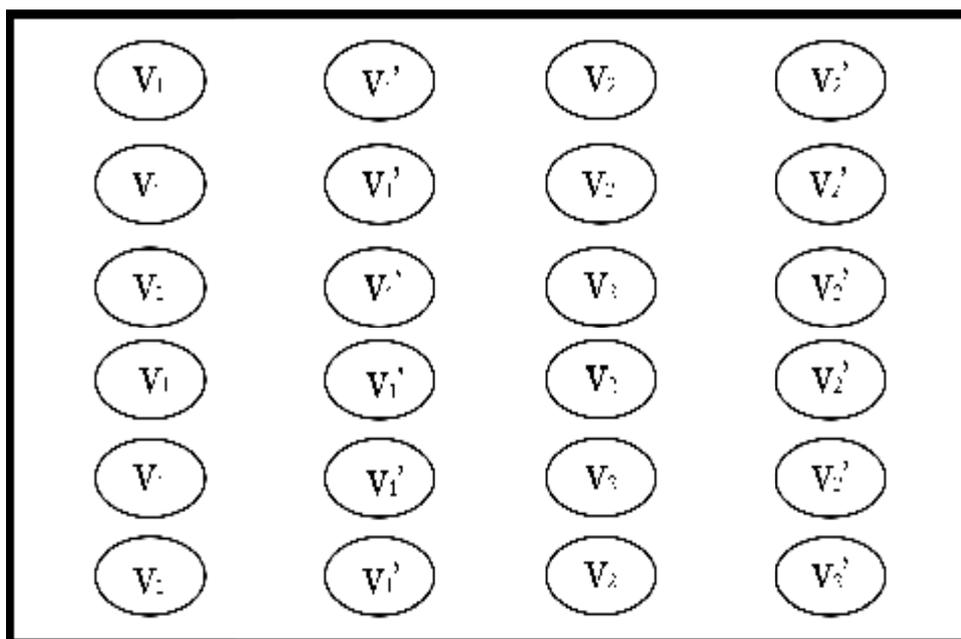


Figure 07: Dispositif expérimental

V₁: variété ONWARD traitée

V₂: variété GROS VERT traitée

V₁' : variété ONWARD non traitée

V₂' : variété GROS VERT non traitée



Figure 08:Mise en place de l'essai sous serre (Mars 2021)

3. 2. Estimation de la fixation biologique de l'azote

Au stade de la floraison, les plantes de petit pois, qu'elles soient traitées avec des thirameou non traitées, sont déterrés, les mottes de terre sont éliminées, et les sols rhizosphériques ont été récupérés puis stockés à -20°C pour une ultérieure utilisation (dénombrement de la microflore native des sols). la partie racinaire avec les nodules sont nettoyées doucement afin d'éviter autant que possible d'abimer le système racinaire, et même éliminer les débris de sol.

Les nodules formés au niveau des racines, ont été détachés et comptés (figure 09) afin d'estimer le pouvoir symbiotique, puis conservés sec (figure 10) dans des tubes contenant du CaCl_2 (Vincent, 1970).

La fixation biologique de l'azote est aussi estimés par la comparaison du poids frais et sec des parties aérienne et racinaires des plantes traitées avec le thirame et les témoins sans traitement, les plants sont séchés 24 h à 70°C puis pesés.

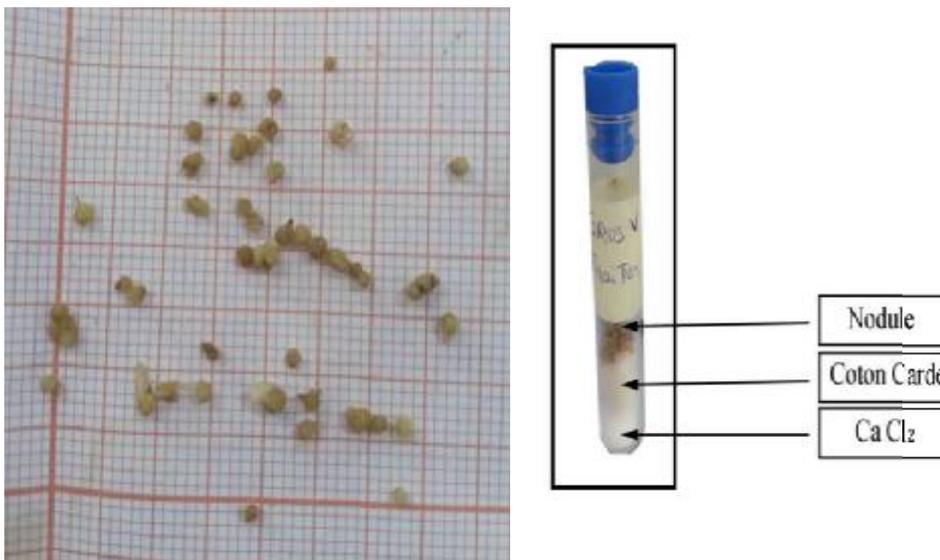


Figure 09: Les nodules de petit pois obtenus **Figure 10:** Conservation des nodules

4. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel SAS (version 09). Analyse de la variance à un facteur (effet variétale et l'effet de traitement par le thirame sur le nombre de nodules, et le poids frais et sec des parties aériennes et racinaires), le seuil de la probabilité utilisé pour déterminer la significativité est $F \leq 0.05$.

5. Dénombrement de la microflore de sols rhizosphériques

Le sol rhizosphérique est le sol adhérent aux racines des plantes, c'est une zone d'une intense activité microbienne. Le but est d'évaluer la concentration de cette microflore présente dans les solsrhizosphérique des plantes issus de deux variétés testées (ONWARD et GROS VERT avec et sans traitement par le thirame). Dix grammes de sol sont mis en agitation dans 90 ml d'eau physiologique pendant 30 minutes. A partir de cette suspension mère, des dilutions en cascade de 10^{-1} à 10^{-4} ont été réalisées (figure 11), 0.1 ml de chaque dilution est étalée sur milieu solide (Gélose Nutritive) (Annexe 04), puis les échantillons sont incubés à 30°C pendant 24h. Les boites qui contiennent un nombre de colonies entre 30 et 300 sont prises en considération, et le nombre de cellules est calculé selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{ml}} \times Fd$$

N : nombre de cellules /ml

∑ colonies: Somme de colonies des boîtes interprétables

V_{ml}: Volume de solution du produit déposé dans les boîtes en millilitre

Fd : Facteur de dilution de la première dilution retenue

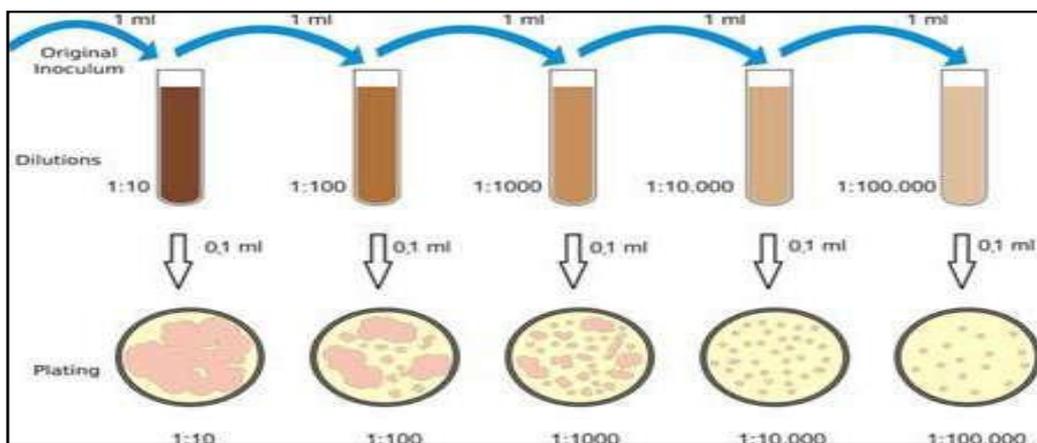
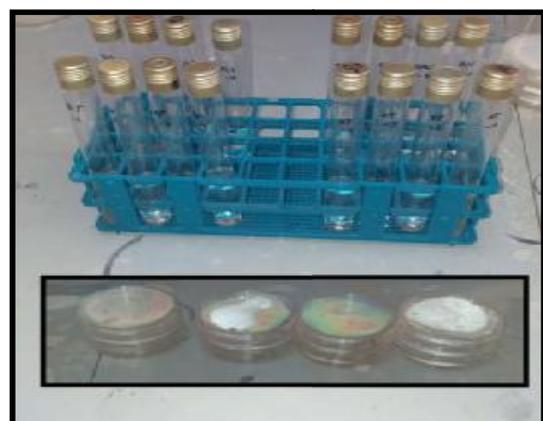


Figure 11: Technique de dénombrement

CHAPITRE III

Résultats

Et discussion

1. Analyse Physico-chimiques des sols

L'ensemble des paramètres physico-chimiques a été inclus dans le (tableau 06). Ces analyses permettant d'estimer la fertilité naturelle de sol étudiée (Soltner, 2005), et d'étudier d'éventuelles corrélations entre la présence, l'absence et l'abondance des bactéries fixatrices d'azote et les PGPR.

Les résultats montrent que le sol échantillonné est un sol argileux (72 %) d'après le triangle de texture (Annexe 01), Il s'agit d'un sol très lourd, avec un drainage interne très mauvais et une capacité de rétention de l'eau très élevée. Et d'après les données analytiques interprétées par le système Siddra de laboratoire agronomique FERTIAL à Annaba (Annexe 02), le sol testé présente une teneur en azote total faible (0,1%), et de concentration très faible en phosphore (8,4 ppm). C'est un sol non salé (0,21 ms/cm), à un pH alcalin (8,44). Le taux de calcaire est élevé (20,58 %), et sa teneur en matière organique est très faible (1,34 %), d'après Robert, (1996) c'est un indice de sa faible fertilité, et ne favorisant pas les activités microbiennes.

Tableau 06 : Résultats des analyses chimiques de sol échantillonné (Lardjem, wilaya de Tissemsilt).

Granulométrie	N (%)	P (ppm)	CE (ms/cm)	MO (%)	Rapport (C/N)	CaCO₃ (%)	pH_{eau}
Sable 08 % Limon 20 % Argile 72 %	0.1	8.4	0.21	1.34	7.79	20.58	8.44

N : azote total **P** : phosphore assimilable **CE** : Conductivité Electrique **MO** : Matière Organique

2. Estimation de la fixation biologique de l'azote

Un essai a été conduit sous des conditions semi contrôlées (serre en plastique) (figure 12) au niveau de CFPA de l'Ardjem (Tissemsilt), le but est d'estimer la fixation biologique de l'azote via la comparaison de nombre de nodules, et la comparaison de poids sec et frais des parties aériennes et racinaires de deux variétés de petit pois (ONWARD et GROS VERT), avec et sans traitement par le thirame.



Figure 12 : Dispositif expérimental après 22 jours de semis.

2.1. Le nombre de nodules

Les différences de réponse des systèmes racinaires à propos de la mise en place de la symbiose sont envisagées par le nombre de nodules formés au niveau des racines. Une faible nodulation est observée au cours de cette expérience pour les deux variétés testées (traiter ou sans traitement par le thirame), statistiquement l'effet variétal sur la nodulation n'est pas significatif ($F= 0,15$) (annexe 03), néanmoins le taux de nodulation le plus élevé a été enregistré sur les racines de la variété GROS VERT (figure 13) comparativement à la variété ONWARD ; selon Ardrade et Hungria, (2002) le taux de nodulation varie selon la variété semée et aux facteurs génétique de la plante, où le potentiel de la fixation symbiotique de l'azote dépend de partenaires symbiotiques ; d'après Maj *et al.*, (2010) lorsqu'une légumineuse est en présence d'une population de rhizobia qui lui est spécifique, celle-ci sélectionne préférentiellement certains génotypes pour former des nodosités racinaire.

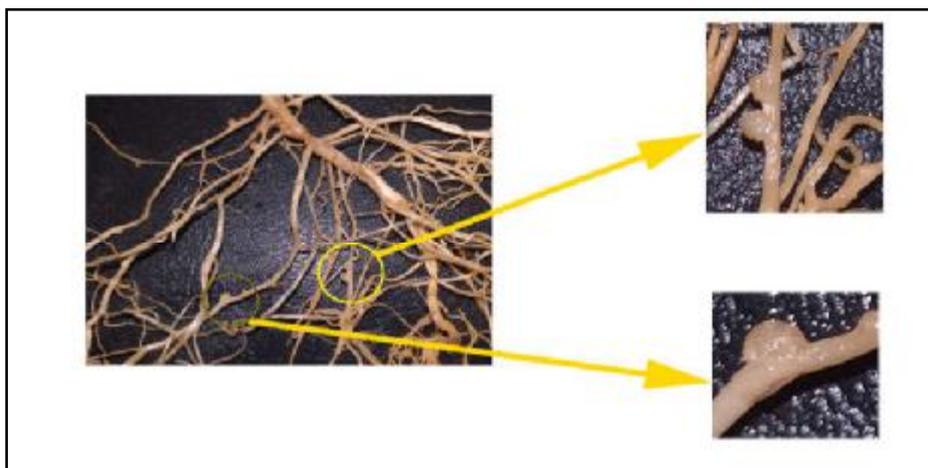


Figure 13 : Aspect de nodules formés au niveau des racines de petit pois (*Pisum sativum*) variété GROS VERT

La faible nodulation voire même leur absence totale chez certains plants peut être due à une faible population de rhizobies natifs dans le sol, ou due à l'inhibition de développement des deux partenaires symbiotiques par des facteurs défavorables du milieu tels que les propriétés physiques et chimiques du sol (salinité, sol argileux, ...) qui semblent influencer clairement les processus de fixation de l'azote (O'hara *et al*, 1988 ; Peoples et Crawell, 1992).

D'après Tibaoui et Zouaghi, (1989), le phosphore améliore la fixation symbiotique de l'azote via l'augmentation de la nodulation. Une carence en cet élément affecte la croissance de la plante et aussi l'activité nodulaire impliquant par conséquent la réduction de la fixation symbiotique de l'azote (Christiansen et Graham, 2002).

Il est bien connu que certains facteurs tels que les engrais chimiques, les métaux lourds et les pesticides compromettent la survie, la croissance et la capacité de fixer l'azote des souches des rhizobies (de Lajeudie, 2004). Le traitement par le thirame a un effet sur l'inhibition de la nodulation dans le cas de la variété ONWARD lors de cette expérience (figure 14) mais cet effet n'est pas significatif statistiquement ($F= 0,65$) (annexe 03) ; Lal et Lal (1988), ont prouvé que les pesticides influencent la symbiose *Rhizobium*-légumineuses, ainsi la fixation d'azote via une action directe sur la population bactérienne qui vit librement dans le sol ; ce qui affecte par la suite le degré d'infection et la quantité de nodules formés.

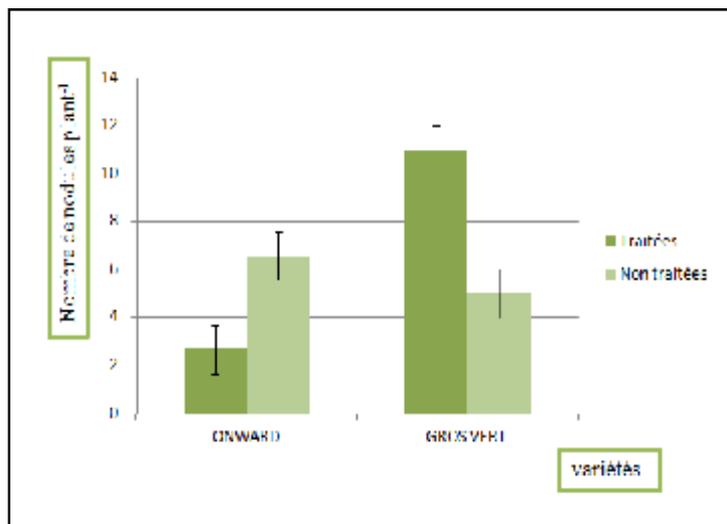


Figure 14 : Nombre de nodules sur les racinaires de deux variétés de petits pois (*Pisum sativum*) avec et sans traitement par le thirame.

2. 2. Poids frais des parties aériennes et racinaires

Le poids frais des parties aériennes et racinaires le plus élevé a été enregistré pour la variété ONWARD comparativement à la variété Gros vert (figure 15), mais statistiquement cette réponse n'a aucun effet significatif dans cette étude ($F > 0.05$) (annexe 03). McMichael et Quisenberry (1993) suggèrent que la croissance et le développement du système racinaire et de la plante de manière générale sont sous contrôle génétique et peuvent être modifiés par certains facteurs tels que la composition du sol.

Des résultats opposés ont été obtenus par d'autres chercheurs qui ont montré que le choix variétal, aura des conséquences importantes sur le fonctionnement du système racinaire et aérien ; ce résultat susceptible d'expliquer les différences de la performance entre les types variétaux. La différence de réponse entre variétés d'une même espèce a été observée chez le maïs et le soja (Bushamuka et Zobel, 1998), et le pois (Tsegaye et Mullins 1994).

La structure de sol a aussi un effet sur le développement du système racinaire et aérien, et au jaunissement des feuilles chez les deux variétés testées (Figure 16), ce résultat peut être dû à la faible concentration de phosphore (8,4 ppm), ou à la carence en azote (0,1%) dans le sol utilisé (Kolef, 1974).

Le traitement des semences avec le thirame n'a pas influencé d'une façon significative sur le poids frais aérien et racinaire ($F > 0.05$) (annexe 03) ; ce résultat est en accord avec Lal et Lal (1988), qui ont montré que le traitement par le fongicide peut ne provoquer aucun effet sur la croissance de la plante, et leur influence diffère selon la classe, la formulation chimique, et la dose appliquée. Par contre, d'autres études ont montré l'effet négatif remarquable de l'application de fongicides en particulier le thirame sur la performance des bactéries fixatrices d'azote, et par conséquent sur la biomasse racinaire (Gaind *et al.*, (2007), la biomasse végétale, la chlorophylle, l'absorption d'azote, la teneur en protéines, et le rendement en grains du pois chiche (*Cicer arietinum*) (Aamil *et al.*, 2004), l'haricot (*Phaseolus vulgaris*) (Guene *et al.*, 2003) et le pois (*Pisum sativum*) (Ahemad *et al.*, 2006).

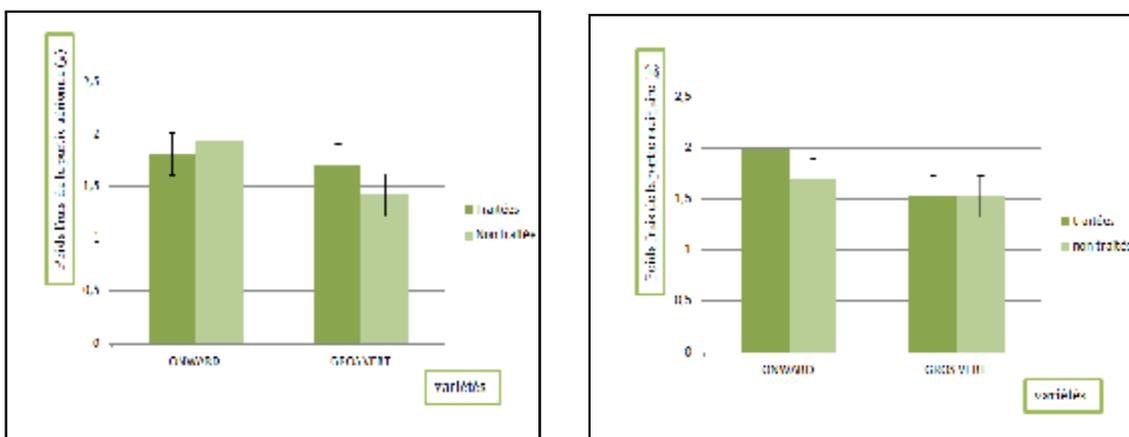


Figure 15: Poids frais de la partie aérienne et racinaire de deux variétés de petits pois (*Pisum sativum*) avec et sans traitement par le thirame.



Figure 16: Aspect des plantes après 45 jours de semis.

2. 3. Poids sec des parties aériennes et racinaires

La variété ONWARD traitée a montré un poids sec racinaire légèrement élevé par rapport à la variété GROS VERT (figure 17), néanmoins, cet effet statistiquement n'est pas significatif ($F=0,88$) (annexe 03). La même remarque a été constatée sur le poids sec aérien des plantes traitées et sans traitement ($F=0,44$) (annexe 03), ce qui explique que le choix variétal, n'a aucun effet sur le développement et le comportement de la plante lors de cette étude. Le résultat obtenu confirme la suggestion de McMichael et Quisenberry (1993), qui montre que le développement et la croissance de la plante sont contrôlés génétiquement, et peuvent être modifiés, par certains facteurs de sol tels que la texture argileuse (72 %), la faible concentration en phosphore (8,4 ppm) et en l'azote (0,1%), et la faible teneur en matière organique (1,34 %) qui est un indice de sa faible fertilité, et qui favorise l'activité microbienne d'après Robert (1996).

Une légère réduction du poids sec aérien a été observée chez les deux variétés traitées par le fongicide en comparaison avec les témoins sans traitement ; l'étude statistique confirme ce résultat et l'effet de thirame sur le poids sec aérien n'est pas significatif ($F=0,60$) (annexe 03). En revanche, le poids sec racinaire est mieux développé chez la variété ONWARD traitée par le thirame par rapport au témoin non traité, mais sans aucun effet significatif statistiquement ($F=0,66$) (annexe 03) ; le même constat a été fait lors de la mesure de poids frais racinaire, et ce résultat a été attribué à la différence de l'influence de fongicide utilisé (Lal et Lal, 1988).

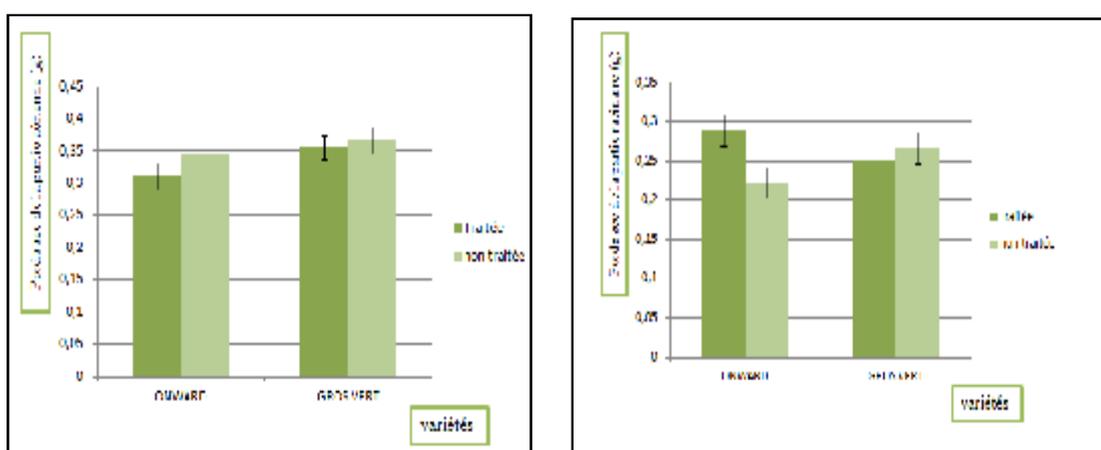


Figure 17 : Poids sec de la partie aérienne et racinaire de deux variétés de petits pois (*Pisum sativum*) avec et sans traitement par le thirame.

3. Dénombrement de la microflore de sols rhizosphériques

Cette étape consiste à déterminer et d'évaluer la concentration bactérienne dans chaque échantillon de sol rhizosphérique des plantes (issues de deux variétés testées : ONWARD et GROS VERT avec et sans traitement par le thirame). Une faible concentration bactérienne est observée dans les sols testés (tableau 07), le type de sol peut être à l'origine de tels résultats comme il a été suggéré par Hatimi, (2001), qui a constaté que les facteurs édaphiques tels que la faible teneur en matière organique (1,34 %) le pH alcalin, la texture de sol (sol Argileux) affectent significativement le développement de la flore microbienne du sol indispensable pour la croissance et la nutrition des plantes (PGPR) et les bactéries fixatrice d'azote.

Tableau 07: Dénombrement de microorganismes rhizosphériques

Sols	variétés	Traitement	Nombre de cellules /ml
1	ONWARD	Thirame	$3,01 \times 10^5$
2	ONWARD	Sans traitement	$2,98 \times 10^5$
3	GROS VERT	Thirame	$1,40 \times 10^5$
4	GROS VERT	Sans traitement	$1,21 \times 10^6$

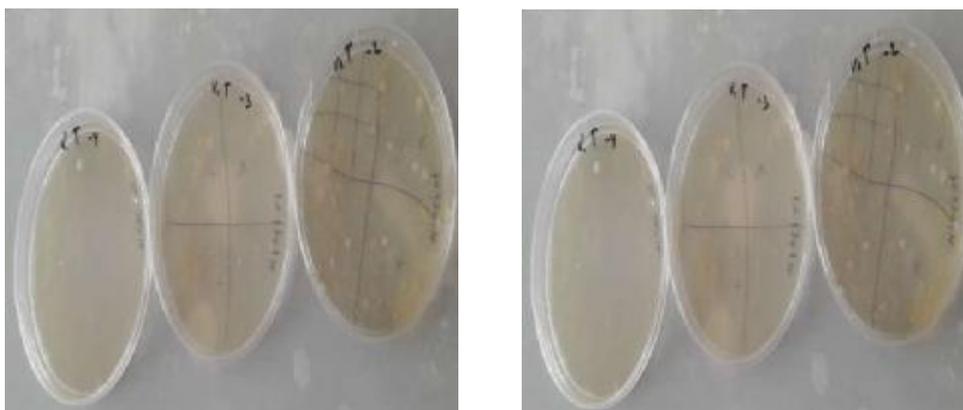


Figure 18 : Aspect macroscopique des bactéries rhizosphériques après 24 h d'incubation à 30 °C.

La plus faible concentration bactérienne est constatée dans le sol rhizosphérique de la variété GROS VERT traitées par le thirame (figure 19), avec une concentration de $1,40 \times 10^5$ cellules/ml (10%), par rapport au témoin non traité où la concentration est de $1,21 \times 10^6$ cellules/ml (90 %) ; ce résultat peut être dû au traitement des semences par le thirame qui affecte l'abondance de la microflore dans le sol. Le développement et l'inhibition des activités des bactéries fixatrice d'azotes et les PGPR par les fongicides, y compris le thirame a été prouvée par plusieurs chercheurs, Drouin *et al.*, (2010) ont montré que les fongicides tels que le thirame, le captane, et mancozeb réduisent significativement le nombre, la croissance, et la survie des souches de *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* (Dunfield *et al.*, 2000).

Contrairement à la variété GROS VERT, le traitement par le thirame n'a aucun effet sur la microflore bactérienne de sol rhizosphérique de la variété ONWARD, et leur concentration était presque égale à celle enregistrée dans le témoin (50%) (figure 19), d'après Ahemad et Khan, (2012), les fongicides à des doses recommandées ont un effet réducteur mineur sur la microflore bactérienne bénéfique.

Une différence remarquable de la concentration bactérienne entre les sols rhizosphériques des cultivars testées (ONWARD, GROS VERT), ce résultat explique la différence de réponse entre les variétés d'une même espèce, selon Khan *et al.*, (2009), la croissance des plantes et les microorganismes dans la rhizosphère, dépend réciproquement de leurs molécules sécrétées tels que les glucides, les acides aminés, les vitamines, et les régulateurs de croissance des plantes. La plupart d'entre eux agissent comme des attractifs pour héberger les diverses communautés microbiennes. La composition de ces exsudats dépend de l'état physiologique et des espèces de plantes et de micro-organismes de sol (Zaidi *et al.*, 2009).

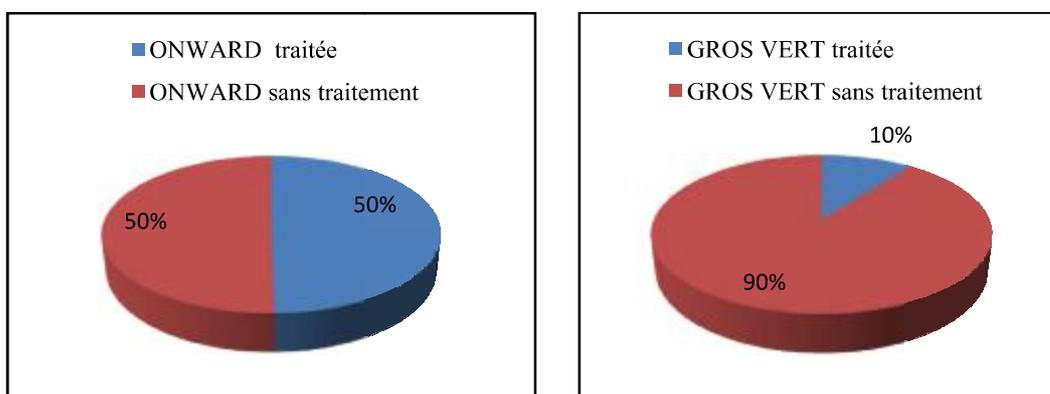


Figure 19 : Concentration bactérienne dans les sols rhizosphériques des plantes (ONWARD et GROS VERT avec et sans traitement par le thirame).

Conclusion

L'utilisation massive de produits phytosanitaires en agriculture s'est révélée très efficace et fiables pour augmenter la productivité des cultures. Malheureusement, l'application de ces produits, y compris divers fongicides de différentes familles chimiques dans les pratiques agricoles, a un effet nocif sur les microorganismes bénéfiques comme les bactéries fixatrices de l'azote et les PGPR, en limitant leurs activités physiologiques importantes pour la fertilité des sols, et par conséquent sur la croissance des plantes.

Un essai comparatif a été réalisé sous des conditions semi contrôlées (serre en plastique) sur deux variétés de petit pois (ONWARD et GROS VERT) avec et sans traitement par le thirame, afin d'évaluer l'effet de ce fongicide sur la mise en place de la symbiose, et les communautés microbiennes des sols rhizosphériques.

Au cours de cette étude, une faible nodulation a été observée pour les deux variétés testées ; ce résultat suggère, la présence d'une faible population de rhizobia natifs dans le sol, ou due à l'inhibition de développement des deux partenaires symbiotiques par des facteurs défavorables du milieu tels que la structure du sol (texture argileuse, la faible concentration en phosphore et en l'azote, et la faible teneur en matière organique).

D'un autre côté, le traitement par le thirame a un effet léger sur l'inhibition de la nodulation dans le cas de la variété ONWARD lors de cette expérience, ce qui confirme plusieurs hypothèses qui montrent que les pesticides influencent la symbiose *Rhizobium*-légumineuses, ainsi la fixation d'azote, et par la suite sur le degré d'infection et la quantité de nodules formés.

Le traitement par le fongicide et le choix variétal n'a aucun effet significatif sur le poids frais et sec des parties aériennes et racinaires des plantes, ce résultat montre que l'influence de fongicide diffère selon la classe, la formulation chimique, et la doses appliquée, et que le développement et la croissance de la plante sont contrôlés génétiquement, et peuvent être modifiés, par certains facteurs défavorables.

Une différence remarquable a été constatée entre les concentrations bactériennes des sols rhizosphériques issus des cultivars testées, ce qui explique la différence de réponse entre les variétés, qui dépend réciproquement de dialogue moléculaire établi entre la variété et la communauté microbienne présente dans le sol. D'un autre côté, la plus faible concentration

bactérienne est observée dans le sol rhizosphérique de la variété GROS VERT traitées par le thirame, par rapport au témoin non traité; ce qui montre que le fongicide affecte l'abondance de la microflore dans le sol.

Il serait donc souhaitable d'approfondir cette étude sur l'effet de ces intrants chimiques sur la fixation symbiotique de l'azote et la communauté bactérienne bénéfique en complétant ce travail par :

- L'amélioration de processus fixatrice d'azote via l'utilisation des bactéries symbiotique infective et efficiente.
- L'utilisation des souches à effet PGPR tolérantes aux fongicides comme bioinoculants.
- L'utilisation de différentes concentrations de fongicide afin d'évaluer le degré de la toxicité vis-à-vis des activités des PGPR et les bactéries fixatrices d'azote.

Référence
Bibliographique

- ❖ **Aamil M., Zaidi A., Khan M S. 2004.** Effects of herbicide dose rate on nodule bacteria and growth, nodulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.), Ann. Pl. Protec. Sci. 12, 186-191.
- ❖ **Abessolo-Meye C., Morosini J., Supply A., Batoqui A. 2013.** Quelles perspectives pour les techniques de traitement des semences? Séminaire : Traitements des semences : quels enjeux pour la filière semencière française. INRA.
- ❖ **Ahemad M., Khan M S. 2012.** Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere, Chemosphere. 86, 945-950.
- ❖ **Ahemad M., Khan M S. 2012.** Productivity of greengram in tebuconazole-stressed soil, by using a tolerant and plant growth-promoting *Bradyrhizobium* sp. MRM6 strain, Acta Physiol. Plantarum. 34, 245-254.
- ❖ **Ahemad M., Khan M S. 2013.** Pesticides as Antagonists of Rhizobia and the Legume-Rhizobium Symbiosis: a Paradigmatic and Mechanistic Outlook. Biochemistry & Molecular Biology Vol. 4, 63-75.
- ❖ **Ahmad M S A., Javed F., Ashraf M., Hafeez F Y. 2006.** Effect of fungicide seed treatments on N₂ -fixation and nodulation in pea, *Pisum sativum* L., Bull. Environ. Contam. Toxicol. 77, 896-904.
- ❖ **Andrade D S., Hungria M. 2002.** Maximizing the contribution of biological nitrogen fixation in tropical legume crops. In: Finan, T.M., O'Brian, M.R., Layzell, D.B., Vessey, J.K., Newton, W. (Eds.), Nitrogen Fixation, Global Perspectives. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 341–345
- ❖ **Anne-Antonella. 2015 .** Réponses écophysiological et moléculaires des plantes aux stress xénobiotiques complexes de faible intensité : implications dans les capacités de protection environnementale des bandes enherbées . thèse de doctorat de préparation à l'unité de recherche UMR CNRS 6553 ECOBIO UNIVERSITE'DE RENNES 1 ,France, 302 p.
- ❖ **Anonyme. 1999.** Le traitement de semences : un outil pour l'agriculture durable. La Commission pour le traitement des semences et l'environnement de la Fédération internationale du commerce des semences (FIS), principes directeurs de l'industrie des semences pour les normes de bonnes pratiques d'application de traitements de semences, PP 8.

- ❖ **Anonyme . 2016.** Thirame, Projet de décision de réévaluation, PRVD 2016-07.
- ❖ **Babar B M., Shah T M., Abbas G., et Ahsanul haq M. 2009.** Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes developed through mutation breeding. Pakistan Journal of Botany. 4, 1883-1890.
- ❖ **Bais H P., Weir T L., Perry L G., Gilroy S., Vivanco J M. 2006.** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annu. Rev. Plnt Biol. 57, 233-266.
- ❖ **Baudoin J. P. 2001.** Contribution des ressources phytogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 5(4), 221–230.
- ❖ **Bhat T A., Gupta M., Ganai M A., Ahanger R A and Bhat H A . 2013.** Yield, soil health and nutrient utilization of field pea (*Pisum sativum* L.) as affected by phosphorus and Biofertilizers under subtropical conditions of Jammu, International journal of modern plant and animal science. 1(1), 1-8.
- ❖ **Bhattacharyya P N., et Jha., DK. 2012.** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 28, 1327–1350.
- ❖ **Boyardieu. 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris Lavoisier Tec & Doc.
- ❖ **Brink et Belay. 2006.** Céréales et légumes secs, ressources végétales de l' Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P: 102.
- ❖ **Broughton WJ., Zhang F., Perret X., and Staehelin C. 2003.** Signals exchanged between legumes and Rhizobium: agricultural uses and perspectives. Plant Soil. 252, 129–137.
- ❖ **Bushamuka V N et Zobel R W. 1998 .** Differential Genotypic and Root Type Penetration of Compacted Soil Layers. Crop Sci. 38, 776-781.
- ❖ **Calvet R., barriuso E., bedos C., benoit P., charnay MP., coquet Y. 2005 .** Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Ed : France Agricole, pp. 49-50-637
- ❖ **Chaude et Foury. 1994.** Productions légumières, tome 3, légumineuses potagères, légumes fruits, chapitre 2 Petit pois ou pois potager, Paris, Lavoisier Tec & Doc, coll. « Agriculture d'aujourd'hui ». 563 p.

- ❖ **Christiansen I., et Graham P H. 2002.** Variation in di-nitrogen fixation among Andean bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes grown at low and high of phosphorus supply. Field Crops Resherch. 73, 133-142.
- ❖ **Clark A . 2007.** Managing cover crops profitably. 3 rd ed. Sustainable agriculture research and education program handbook series, bk 9. Sustainable Agriculture Research and Education, College Park, MD.
- ❖ **Coineau Y. 1995.** Le sol: un milieu de vie. Fondation pour la nature et l'homme Repères pour l'éducation à l'environnement. 2, 02p.
- ❖ **Coronado C., Zuanazzi J., Sallaud C., Quirion JC., Esnault R., Husson H P., Kondorosi A et Ratet P. 1995.** A laflaf. Root. flavonoid production Is Nitrogen Regulated. Plant physiol. 108, 533-542.
- ❖ **Couvreur. 2002 .** fongicides des céréales et des protéagineuse. Edition ITCF ,PP. 216, 2355-2362
- ❖ **D.S.A.** Direction des Statistique Agricoles et des Systèmes d'Information Tissemsilt 2020/2021
- ❖ **Dan L G D M., Dan H D A., Braccini A L., Barroso A L D L., Ricci T T., Piccinin G G., Scapim C A. 2012.** Insecticide treatment and physiological quality of seeds. Insecticide-Advances in integrated pest management, Dr Farzana perveen (Ed), Tech ISBN: 953-978.
- ❖ **Day DA., Poole PS ., Tyerman SD., Rosendahl L. 2001.** Ammonia and amino acid transport.
- ❖ **De Lajudie P. 2004.** Taxonomie des microsymbiotes des légumineuses : historique et dernier développement, 2eme conférence Méditerranéenne de rhizobiologie, 23-25 Mai. Oran Algérie,2p.
- ❖ **Depret G. 2008.** Importance de la variabilité génétique bactérienne sur le fonctionnement de la symbiose *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae avec le pois (*Pisum sativum* L.). Thèse. Dijon.
- ❖ **Dey R., Pal K K., Bhatt D M., Chauhan S M., 2004.** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbio.Res. 159, 371-394.
- ❖ **Dhanamanjuri W., Thoudam R., Dutta B K D., 2013.** Effect of pesticides (fungicide) on the germination and growth of seeds seedlings of some crop plants (*Cicer artienum* and *Zea mays*).Middle-East Journal of Scientific Research. 17(5), 627-632.

- ❖ **Downie J A. 2005.** Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Current biology* : CB. 15, R196-198.
- ❖ **Downie J A. 2005.** Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules.
- ❖ **Drouin P., Sellami M., Prévost D., Fortin J., Antoun H. 2010.** Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae, *J. Environ. Sci. Health B.* 45, 757-765.
- ❖ **Drouin P., Sellami M., Prévost D., Fortin J., Antoun H. 2010.** Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae, *J. Environ. Sci. Health B.* 45, 757-765.
- ❖ **Duchaufou P h. 1997.** Abrégé de pédologie sol ,végétation envirenement .Masson, Paris, 291 p.
- ❖ **Dunfield K E., Siciliano S D., Germida J J. 2000.** The fungicides thiram and captan affect the phenotypic characteristics of *Rhizobium leguminosarum* strain C1 as determined by FAME and Biolog analyses, *Biol. Fertil. Soils.* 31, 303-309.
- ❖ **Elzebroek T., et Wind K. 2008.** Guide to cultivated plants. CAB International, Oxfordshire, UK. enzymology. New York: Academic Press. (1), 149-158.
- ❖ **Food and Agriculture Organization. 2019.** <http://www.fao.org/statistics/fr/>.
- ❖ **Franche C., Lindström K., et Elmerich C. 2009.** Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil.* 321, 35–59.
- ❖ **Frank B. 1889.** Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. *Berichte der Deutschen*
- ❖ **Free J B .1993 .** Insect pollination of crops. 2nd ed. Academic Press. London, 152 p.
- ❖ **Gaind S., Rathi M S., Kaushik B D., Nain L., Verma O P. 2007.** Survival of bio-inoculants on fungicides-treated seeds of wheat, pea and chickpea and subsequent effect on chickpea yield, *J. Environ. Sci. Health B.* 42, 663-668.
- ❖ **Glick B R., Bashan Y. 1997.** Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phyto-pathogens. *Biotechnol. Adv.* 15, 353-378.
- ❖ **Görtz A., Oerke E C., Puhl T., Steiner U. 2008.** Effect of environmental conditions on plant growth regulator activity of fungicidal seed treatment of barley. *Journal of Applied Botany and food quality.* 82, 60-68.
- ❖ **Graham P H., Vance C P. 2003.** Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131, 872–877.

- ❖ **Guene N F D., Diouf A., Gueye M. 2003.** Nodulation and nitrogen fixation of field grown common bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by fungicide seed treatment, African J. Biotechnol. 2, 198-201.
- ❖ **Hamdi, Y A., Moharram A A., el-Samie M E. 1978.** Survival and efficiency of cowpea rhizobia on pelleted and non-pelleted peanut seeds, treated with fungicides, Zentralbl Bakteriол. Naturwiss. 133, 204-210.
- ❖ **Hatimi A. 2001.** Caractérisation de souches de Rhizobiums autochtones des dunes: effet sur la croissance et la nutrition azotée d'*Acacia cyanophylla* Lindl. *Acta Bot. Gallica*. 148 (3), 191-199.
- ❖ **Hilali A., Prévost D., Broughton W J., et Antoun H. 2001.** Effects of inoculation with *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* on wheat cultivated in clover crop rotation agricultural soil in Morocco. Can. J. Microbiol. 47, 590–593.
- ❖ **Hopkins. 2003.** Physiologie végétale .université des sciences et technologie de lille Edition de boeck pp, 99-119
- ❖ **Horner Devine M C., Leibold M A., Smith V H., Bohannon B J M. 2003 .** Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. Ecology Letters, 6, 613-622.
- ❖ **Ibáñez F., Angelini J., Taurian T., Tonelli M.L., Fabra A. 2009.** Endophytic occupation of peanut root nodules by opportunistic Gamma-proteobacteria. Syst. Appl. Microbiol. 32, 49–55
- ❖ **Jordan D C. 1982.** Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 32, 136–139.
- ❖ **Kalam A., Mukherjee A K. 2001.** Influence of hexaconazole, carbofuran and ethion on soil microflora and dehydrogenase activities in soil and intact cell, Indian J. Exp. Biol. 39, 90-94.
- ❖ **Kape R., Parniske M., Werner D. 1991.** Chemotaxis and *nod* gene activity of *Bradyrhizobium japonicum* in response to hydroxycinnamic acids and isoflavonoids. *Applied and Environmental Microbiology*. 57, 316–319.
- ❖ **Khan M S., Zaidi A., Wani P A., Ahemad M., Oves M. 2009.** Functional diversity among plant growth-promoting rhizobacteria. In: Khan, M.S., Zaidi, A., Musarrat, J. (Eds.), Microbial Strategies for Crop Improvement. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 105–132.

- ❖ **Kolef N. 1974.** Culture maraichère. Fam. Légumineuses, Haricot. FAO. Alger. pp. 15-71.
- ❖ **Lafon R. Messian C M. 1970.** Les maladies des plantes maraichères .INRA,paris, pp.67,193,194,195,196
- ❖ **Laguerre G., Louvrier P., Allard M R., et Amarger N. 2003.** Compatibility of Rhizobial Genotypes within Natural Populations of *Rhizobium leguminosarum* Biovar viciae for Nodulation of Host Legumes. Appl. Environ. Microbiol. 69, 2276–2283.
- ❖ **Lal R et Lal S. 1988.** Pesticides and nitrogen Cycle. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida. Vol. III : 48-119.
- ❖ **Laumont et Chevassus A. 1960 .** Note sur l'alimentation de lentille en Algérie; ANN, INRA el Harrach, tome 2 pp, 3-37.
- ❖ **Leroux P. 2003.** Mode d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. Biologie et pathologie végétales, PP 326. Couvreur. 2002. Fongicides des céréales et des protéagineuse. Edition ITCF, PP 216.
- ❖ **Lhoste J et Ravault L. 1952.** Données sur llaction fongicide du Thirame. C.R. Ille Congrès Phytopharmacie 1954, 609-613.
- ❖ **Macking H. 2007.** Phytoremediation of contaminated soil on plant efficiency, rhizosphere bacteria and the physical effects of chemical agents. Korea society for Applied Microbiology and Biotechnology. 35, 26-271.
- ❖ **Madigan M., Martink J. 2007.** Brock Biologie des microorganismes 11e edition. Edition Person Education France. pp 599 - 601, 676 – 681.
- ❖ **Maj D., Wielbo J., Marek Kozaczuk M., Skorupska A. 2010.** Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of *Rhizobium leguminosarum* . Microbiol. Res.165, 50-60.
- ❖ **Masson Boivin C., Giraud E., Perret X., et Batut J. 2009.** Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? Trends Microbiol. 17, 458–466.
- ❖ **McMichael B L et Quisenberry J E .1993.** The impact of the soil environment on the growth of root systems. Env. Exp. Bot. 33(1), 53-61.
- ❖ **Messiaen. 2010.** Le potager familial méditerranéen. Edition Versailles, 191 p
- ❖ **Mergaert P.,Vaubert D., GyorgeyJ., Maunoury N., Chaparro Egana C., Villarroel R., Kelmen Z., Kelemen K., Vinardell J M., Kondorosi A., Kondorosi E. 2001.** Utilisations d'arrays d'ANDc pour l'étude du développement des nodosités symbiotiques chez *Medicago truncatula*.Ecole thématique Biologique végétale :1-7

- ❖ **Morgan J A W., Bending G D., White P J. 2005.** Biological costs and benefits to plant microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56, 1729–1739.
- ❖ **O'hara G., Boonkerd N., Dil Worth M J. 1988.** Mineral constraints to nitrogen fixation plant and Soil. 108, 93-110.
- ❖ **Ollivier J., We, S T., Bannent A., Hai B., kASTL E M., Meger A., Su M X., Kleineidam K., Schloter M. 2011.** Nitrogen turnover in soil and global change. *FEMS Microbiol Ecol.*78, 3-6.
- ❖ **Pachico D H. 2005.** Towards a conceptual model of optimal investment in the conservation of agricultural genetic resources. In: *International conference on Agricultural Biotechnology: International trade and Domestic production*. Rome, Italy. p19.
- ❖ **Peoples M B., et Craswell E T. 1992.** Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contributions to agriculture. *Plant Soil*. 141, 13-39.
- ❖ **Perret X., Staehle Lin., C., et Selander R K. 2000.** Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Mol.Biol. Rev.* 64, 180-201.
- ❖ **Pouvreau A. 2004.** les insectes pollinisateurs. Delachaux & Niestlé, 157 p.
- ❖ **Ramírez Bahena M H., Velázquez E., Fernández-Santos F., Peix A., Martínez-Molina E., Mateos P F. 2009.** Phenotypic, genotypic and symbiotic diversity in strains nodulating clover in different soils in Spain. *Can. J. Microbiol.* 55, 1207-1216.
- ❖ **Robert M. 1996.** Le sol interface dans l'environnement, ressource pour l'environnement. Dunod. Masson, Paris. 240 p.
- ❖ **Rocher F. 2004.** Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : Evaluation de la systémie phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense. Thèse de Doctorat de l'Université de Poitiers. 163 pages
- ❖ **Rocher F. 2004.** Lutte chimiques contre les champignons pathogènes des plantes : evaluation du systémier pholoémienne de nouvelle molécules à effet fongiques et d'activateurs de réaction de défense .université de poitiers .thèse de doctorat .faculté de sciences fondamentales et appliquées .Ecole doctorale :ingénierie chimique, biologie et géologie ,163 p.
- ❖ **Rogel M A., Ormeño-Orrillo E., et Martinez Romero E. 2011.** Symbiovars in rhizobia reflect bacterial adaptation to legumes. *Syst. Appl. Microbiol.* 34, 96–104.

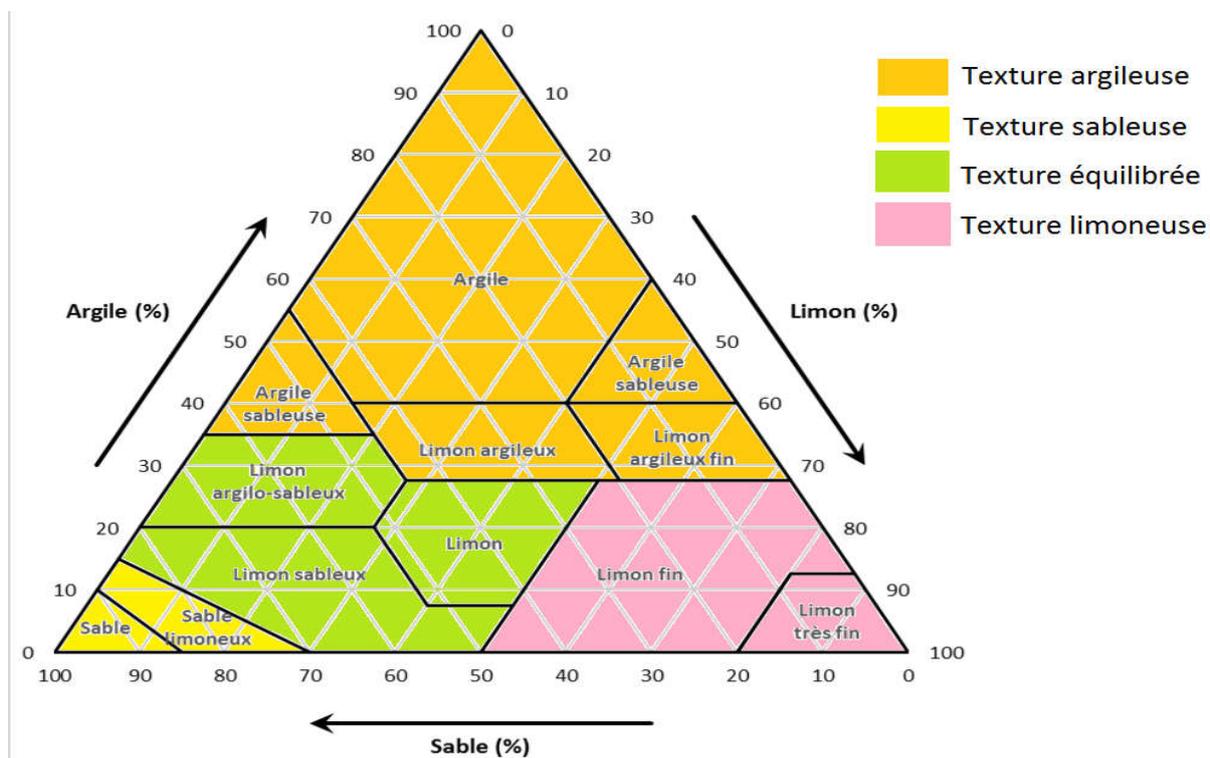
- ❖ **Santaveč I., Kocjan DA. 2011.** Impact of fungicide and other préparations for seed treatment and différent cultivations technique on seed contamination of winter wheat (*T.aestivum* L.emend.Fiori et poal). *Acta agriculturae slovenica*. 97(3), 267-273.
- ❖ **Santillana N., Ramirez-Bahena M H., Garcia-Fraile P., Velazquez E., Zuniga D. 2008.** Phylogenetic diversity based on *rrs*, *atpD*, *recA* genes and 16S–23S intergenic sequence analyses of rhizobial strains isolated from *Vicia faba* and *Pisum sativum* in Peru. *Archives of microbiology*. 189, 239–247
- ❖ **Soltner D. 2005.** Les bases de la production végétale. Tome I (Le sol et son amélioration). Sciences et techniques agricoles. 472 p.
- ❖ **Tian CF., Wang E T., Wu L J., Han T X., Chen W F., Gu C T., Gu J G., et Chen WX. 2008.** *Rhizobium fabae* sp. nov., a bacterium that nodulates *Vicia faba*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58, 2871–2875.
- ❖ **Tibaoui G., Zouaghi M. 1989.** Rôle de l'inoculation dans l'amélioration des rendements des légumineuses fourragères dans la région de Mateur. *Revue de l'I.N.A.T.*, 4: 2.
- ❖ **Torsvik V., Øvreas L., Thingstad T F. 2002.** Prokaryotic diversity-magnitude, dynamics and controlling factors, *Science* 296, 1064-1066.
- ❖ **Tortora G J., Funke, B R., C L. 2003.** Introduction à la microbiologie. Ed. Renouveau. pédagogique Inc. 945p.
- ❖ **Tsegaye T et Mullins C E. 1994.** Effect of mechanical impedance on root growth and morphology of two varieties of pea (*Pisum sativum* L.). *New Physio.*126, 707-713.
- ❖ **Tu CM. 1977.** Effects of pesticide seed treatments on *Rhizobium japonicum* and its symbiotic relationship with soybean, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 190-199.
- ❖ **Udvardi M., et Poole P S. 2013.** Transport and Metabolism in Legume-Rhizobia Symbioses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 781–805.
- ❖ **USDA. 2008.** Plants profile of *Pisum sativum* L. (garden pea). United States Department of Agriculture (USDA),Natural Ressources Conservation Service (NRCS), Plants database.
- ❖ **Vessey J K. 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil.* 255, 571- 586.
- ❖ **Vincent J M. 1970.** A manual for the practical study of root-nodule bacteria. In: International Biological Programme Handbook n°. 15. Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford. pp. 73-97.

- ❖ **Wais R J., Keating D H., Long S R. 2002.** Structure-function analysis of nod factor-induced root hair calcium spiking in *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Physiology*, 129, 211-24.
- ❖ **Wang D., Yang S., Tang F., et Zhu H. 2012.** Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism. *Cell. Microbiol.* 14, 334–342.
- ❖ **Wani P A., Zaidi A., Khan A A., Khan M S. 2005.** Effect of phorate on phosphate solubilization and indole acetic acid releasing potentials of rhizospheric microorganisms. *Ann. Pl. Protect. Sci.* 13, 139–144.
- ❖ **Weller D M., Raaijmakers J M., Mespden Gardener B B., Thomashow L S. 2002.** Microbial populations responsible for specific suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology.* 26,379-407.
- ❖ **Widmer F., Rasche F., Hartmann M., Fließbach A. 2006.** Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment, *Appl. Soil Ecol.* 33, 294-307.
- ❖ **Zaidi A., Khan M S., Ahemad M., Oves M. 2009.** Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 56, 263–284.

Annexes

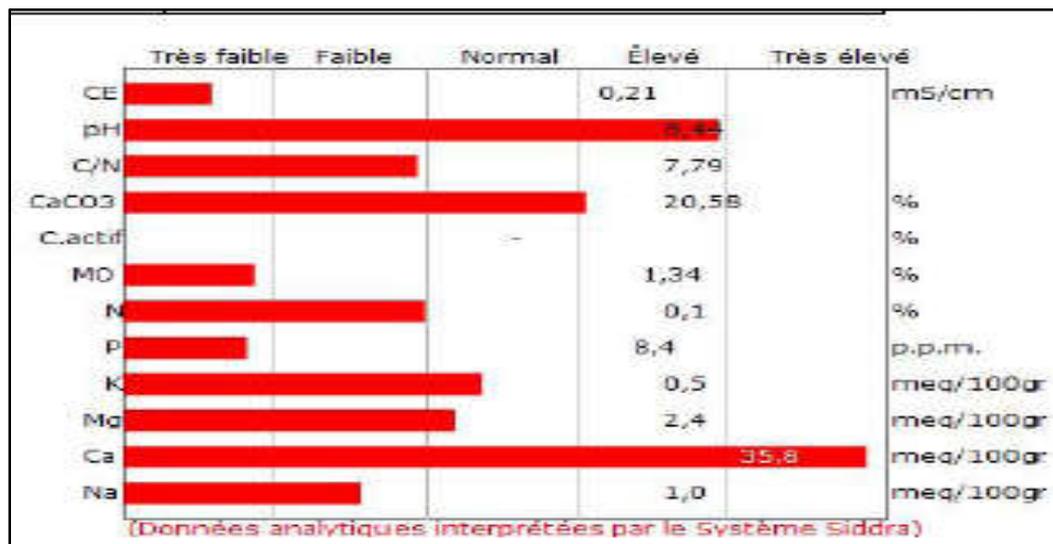
Annexe 01

Triangle texturale (Duchaufour, 1997)



Annexe 02

Analyse physico chimiques du sol, laboratoire agronomique FERTIAL (Annaba).



Annexe 03

Analyse statistique avec le logiciel SAS

Effet variétal et le traitement des semences par le thirame sur le nombre de nodules.

Dependent Variable: NNOD						
Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
Model	6	183.166667	30.527778	0.63	0.7013	
Error	29	1394.472222	48.085249			
Corrected Total	35	1577.638889				
	R carré	Coeff Var	Racine MSE	NNOD Moyenne		
	0.116102	109.9721	6.934353	6.305556		
Source	DDL	Type I SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
VAR	1	103.3611111	103.3611111	2.15	0.1534	
TRAIT	1	10.0277778	10.0277778	0.21	0.6513	
POT	2	60.3888889	30.1944444	0.63	0.5408	
PLANT	2	9.3888889	4.6944444	0.10	0.9073	
Source	DDL	Type III SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
VAR	1	103.3611111	103.3611111	2.15	0.1534	
TRAIT	1	10.0277778	10.0277778	0.21	0.6513	
POT	2	60.3888889	30.1944444	0.63	0.5408	
PLANT	2	9.3888889	4.6944444	0.10	0.9073	

Effet variétal et le traitement des semences par le thirame sur le poids frais des parties aériennes.

Le Système SAS						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: pffrais Aérien						
Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
Model	6	2.32722222	0.38787037	0.75	0.6141	
Error	29	14.98916667	0.51686782			
Corrected Total	35	17.31638889				
	R carré	Coeff Var	Racine MSE	pffrais Moyenne		
	0.134394	41.81206	0.718935	1.719444		
Source	DDL	Type I SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
var	1	0.84027778	0.84027778	1.63	0.2124	
traitement	1	0.06250000	0.06250000	0.12	0.7305	
pots	2	0.45722222	0.22861111	0.44	0.6468	
plant	2	0.96722222	0.48361111	0.94	0.4039	
Source	DDL	Type III SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F	
var	1	0.84027778	0.84027778	1.63	0.2124	
traitement	1	0.06250000	0.06250000	0.12	0.7305	
pots	2	0.45722222	0.22861111	0.44	0.6468	
plant	2	0.96722222	0.48361111	0.94	0.4039	

Effet variétal et le traitement des semences par le thiramesur le poids frais des parties racinaires.

Le Système SAS 00:00 Saturday, March 13, 2004 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: **pfraisR**

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
Model	6	2.83666667	0.47277778	0.54	0.7704
Error	29	25.20638889	0.86918582		
Corrected Total	35	28.04305556			

	R carré	Coeff Var	Racine MSE	pfraisR Moyenne
	0.101154	55.29300	0.932301	1.686111

Source	DDL	Type I SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.84027778	0.84027778	0.97	0.3336
traitement	1	0.17361111	0.17361111	0.20	0.6583
pots	2	0.72222222	0.36111111	0.42	0.6639
plant	2	1.10055556	0.55027778	0.63	0.5381

Source	DDL	Type III SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.84027778	0.84027778	0.97	0.3336
traitement	1	0.17361111	0.17361111	0.20	0.6583
pots	2	0.72222222	0.36111111	0.42	0.6639
plant	2	1.10055556	0.55027778	0.63	0.5381

Effet variétal et le traitement des semences par le thiramesur le poids sec des parties aériennes.

Le Système SAS 00:00 Saturday, March 13, 2004 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: **psecA**

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
Model	6	0.07555556	0.01259259	0.77	0.5986
Error	29	0.47333333	0.01632184		
Corrected Total	35	0.54888889			

	R carré	Coeff Var	Racine MSE	psecA Moyenne
	0.137652	37.09073	0.127757	0.344444

Source	DDL	Type I SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.01000000	0.01000000	0.61	0.4401
traitement	1	0.00444444	0.00444444	0.27	0.6058
pots	2	0.00055556	0.00027778	0.02	0.9831
plant	2	0.06055556	0.03027778	1.86	0.1745

Source	DDL	Type III SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.01000000	0.01000000	0.61	0.4401
traitement	1	0.00444444	0.00444444	0.27	0.6058
pots	2	0.00055556	0.00027778	0.02	0.9831
plant	2	0.06055556	0.03027778	1.86	0.1745

Effet variétal et le traitement des semences par le thiramesur le poids sec des parties racinaires.

Le Système SAS		00:00 Saturday, March 13, 2004		2	
The GLM Procedure					
Dependent Variable: psecR					
Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
Model	6	0.05222222	0.00870370	0.67	0.6756
Error	29	0.37750000	0.01301724		
Corrected Total	35	0.42972222			
	R carré	Coeff Var	Racine MSE	psecR Moyenne	
	0.121526	45.13574	0.114093	0.252778	
Source	DDL	Type I SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.00027778	0.00027778	0.02	0.8849
traitement	1	0.00250000	0.00250000	0.19	0.6645
poté	2	0.02055556	0.01027778	0.79	0.4636
plant	2	0.02888889	0.01444444	1.11	0.3433
Source	DDL	Type III SS	Carré moyen	Valeur F	Pr > F
var	1	0.00027778	0.00027778	0.02	0.8849
traitement	1	0.00250000	0.00250000	0.19	0.6645
poté	2	0.02055556	0.01027778	0.79	0.4636
plant	2	0.02888889	0.01444444	1.11	0.3433

Annexe 04

La composition de milieu de culture (Gélose nutritive)

Peptone 05g/l

Extrait de viande de bœuf 03 g/l

Chlorure de sodium 05g/l

Agar 15g/l

pH (7,3)

Résumé

L'agriculture Algérienne comme beaucoup de pays en voie de développement a développé des systèmes de production fondés sur l'utilisation de produits phytosanitaires. Mais aujourd'hui l'utilisation de ces produits est remise en question, avec la prise de conscience des risques qu'ils peuvent générer pour l'agriculture, l'environnement, voire pour la santé humaine. Un essai a été conduit sous des conditions semi contrôlées, sur deux variétés de petit pois (*Pisum sativum*), avec et sans traitement par le thirame, afin d'estimer l'effet de ce dernier sur la mise en place de la symbiose et la fixation biologique de l'azote. Les résultats obtenus montrent que le traitement par le fongicide et le choix variétal n'ont aucun effet sur le nombre de nodules et le poids frais et sec des parties aériennes et racinaires, et la faible nodulation peut être attribuée à la faible population de rhizobia natifs dans le sol. En outre, un dénombrement de la microflore de sols rhizosphériques a été effectué afin de déterminer et d'évaluer la concentration bactérienne y compris les PGPR dans chaque échantillon issu de deux variétés testées avec et sans traitement par le thirame. Une faible concentration bactérienne est constatée dans le sol rhizosphérique de la variété GROS VERT traitées par le fongicide par rapport au témoin non traité, ce résultat peut être dû au traitement des semences par le thirame qui affecte l'abondance de la microflore dans le sol.

Mots clés: *Pisum sativum*, thirame, PGPR, nodulation, sol rhizosphérique

Abstract

Algerian agriculture, like many developing countries, has developed production systems based on the use of phytosanitary products. But today the use of these products is being questioned, with the awareness of the risks they can generate for agriculture, the environment, and even for human health. A test was conducted under semi-controlled conditions, on two varieties of peas (*Pisum sativum*), with and without thiram treatment, in order to estimate the effect of the latter on the establishment of the symbiosis and the biological nitrogen fixation. The results obtained show that the treatment with the fungicide and the variety choice have no effect on the number of nodules and the fresh and dry weight of the aerial and root parts, and the low nodulation can be attributed to the low population of native rhizobia in soil. In addition, a count of the microflora of rhizospheric soils was carried out in order to determine and assess the bacterial concentration including PGPRs in each sample from two varieties tested with and without thiram treatment. A low bacterial concentration was observed in the rhizospheric soil of the GROS VERT variety treated with the fungicide compared to the untreated control, this result may be due to the seed treatment with thiram which affects the abundance of microflora in the soil.

Key words: *Pisum sativum*, thiram, PGPR, nodulation, rhizospheric soil.

ملخص

طورت الزراعة الجزائرية، مثل العديد من البلدان النامية، أنظمة إنتاج تعتمد على استخدام منتجات الصحة النباتية. لكن اليوم، يتم التشكيك في استخدام هذه المنتجات، مع الوعي بالمخاطر التي يمكن أن تولدها على الزراعة والبيئة وحتى على صحة الإنسان. تم إجراء اختبار في ظل ظروف شبه خاضعة للرقابة، على نوعين من البازلاء (*Pisum sativum*) مع وبدون معالجة بالثيرام، من أجل تقدير تأثير هذا الأخير على إنشاء التعايش والتثبيت البيولوجي للنيتروجين. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن العلاج بمبيد الفطريات واختيار الصنف ليس لهما تأثير على عدد العقيدات والوزن الطازج والجاف للأجزاء الهوائية والجذرية، ويمكن أن يعزى انخفاض العقيدات إلى انخفاض عدد بكتيريا الريزوبيا في الأرض. بالإضافة إلى ذلك، تم إجراء إحصاء للكائنات الدقيقة لتربة الجذور من أجل تحديد وتقييم تركيز البكتيريا بما في ذلك PGPR في كل عينة من الصنفين التي تم اختبارهما مع العلاج بالثيرام وبدونه. لوحظ وجود تركيز بكتيري منخفض في تربة الجذور من صنف GROS VERT المعالج بمبيد الفطريات مقارنة بمجموعة الشاهد الغير المعالجة، وقد تكون هذه النتيجة بسبب معالجة البذور بالثيرام الذي يؤثر على وفرة الكائنات الدقيقة في التربة.

الكلمات المفتاحية: *Pisum sativum*، الثيرام، PGPR، العقد، تربة ريزوسفير.