

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

THEME

Isolement Et Identification Caractéristiques De Quelques Souches D'azotobacter

• **le jury composé de:**

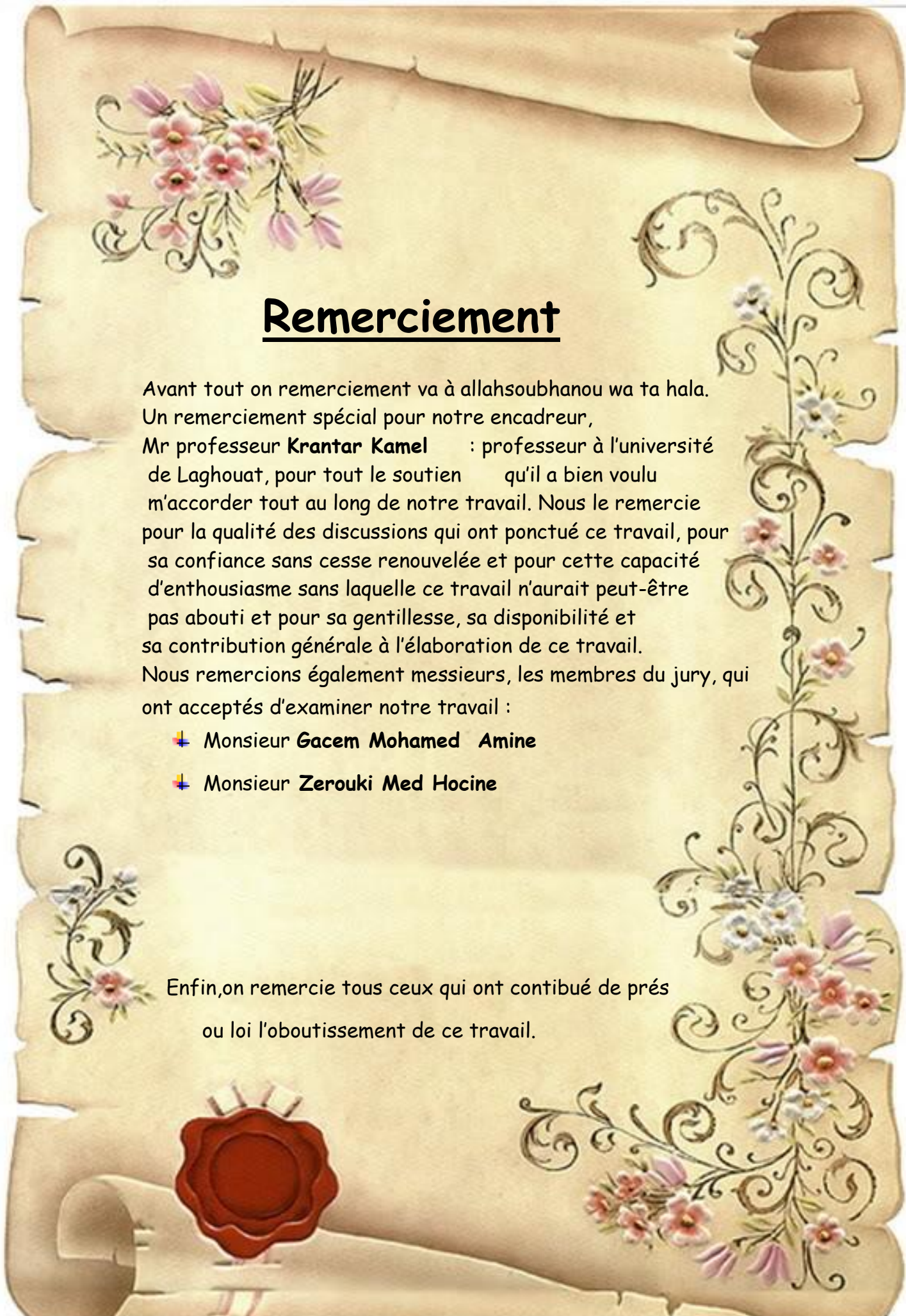
- Président :Mr. GACEM Mohamed Amine
- Examineur :Mr. ZEROUKI MED
HOCINE
- Encadreur : Mr. KRANTAR Kamel

Soutenu publiquement le :01/10/2020

Présenté par :

- Chachi Noura
- Agaag Rabiaa
- Abba Fatma

Anne :2019/2020

The background of the page is a decorative scroll with a light beige, aged paper texture. It features intricate floral and vine patterns in pink, purple, and gold. A large, ornate red wax seal is visible in the bottom left corner, and a small, dark, circular object is in the top right corner.

Remerciement

Avant tout on remerciement va à allahsoubhanou wa ta hala.

Un remerciement spécial pour notre encadreur,

Mr professeur **Krantar Kamel** : professeur à l'université de Laghouat, pour tout le soutien qu'il a bien voulu m'accorder tout au long de notre travail. Nous le remercies pour la qualité des discussions qui ont ponctué ce travail, pour sa confiance sans cesse renouvelée et pour cette capacité d'enthousiasme sans laquelle ce travail n'aurait peut-être pas abouti et pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa contribution générale à l'élaboration de ce travail.

Nous remercions également messieurs, les membres du jury, qui ont acceptés d'examiner notre travail :

✚ Monsieur **Gacem Mohamed Amine**

✚ Monsieur **Zerouki Med Hocine**

Enfin, on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loi l'aboutissement de ce travail.



Dédicace

Je présente ce travail à MES PARENTS, pour leur soutien, leur encouragement, leur confiance, leur sacrifices et leu souffrances en silence pendant toutes ces longues années.

A mes frères.

A mes sœurs .

Mes tous mes amies.

Et mas amis de ce travail Noura et fatma .

A toute la famille AGAAG et DJOUDI.



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A ma grand mère

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A mes chers frères.

A mes chères sœurs

A mes amies et mes collègues.

A tous les familles CHACHI

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du
moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.



Dédicace

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LIST DES ABREVIATIONS	III
RESUME.....	IV
INTRODUCTION.....	7
CHAPITER01 : LE SOL	10
1-DEFINITION LE SOL :	10
2. LES COMPOSITION DES SOLS :	11
2.1. <i>La phase solide du sol</i> :	12
2.2. <i>La phase liquide du sol</i> :	12
2.3. <i>La phase gazeuse du sol</i> :	12
2.4. <i>Les microorganismes du sol</i> :	13
3-PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUE DU SOL :	14
3.1- <i>Propriétés physique</i>	14
3.2- <i>les propriétés chimiques</i> :	15
4-LES TYPES DES SOLS PAUVRES D'AZOTE :	17
5-DEFICIT EN MATIERE ORGANIQUE :	17
6-LA RHIZOSPHERE :	19
6.1- <i>Étymologie</i>	19
6.2- <i>Définition</i>	20
CHAPITER 02 : L'AZOTE :	22
1-LE CYCLE DE L'AZOTE	22
2- LES RISQUES DE PERTES D'AZOTE ASSOCIES A LA VALORISATION DES ENGRAIS ORGANIQUES	24
3-LES SOURCES D'AZOTE DANS SOL	25
3.1.- <i>Une source atmosphérique</i>	25
3.2- <i>Une source organique</i>	25
3.3- <i>Une source synthétique</i>	25
4-LES DIFFERENTES FORMES DE L'AZOTE DANS LE SOL	25
5- LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE	27
6- LES MICROORGANISMES QUI FIXENT L'AZOTE ATMOSPHERIQUE.....	27
6.1- <i>Les fixateurs symbiotiques</i>	28
6.2- <i>Les fixateurs non symbiotiques</i>	28
7- LE COMPETITION ENTRE PLANTE ET LES MICROORGANISME POUR L'AZOTE	32
CHAPITER03 :LES BACTERIES FIXATRICE D'AZOTE.....	34
1-LES RHIZOBACTERIES :	34
2-LES RHIZOBACTERIES PROMOTRICES DE LA CROISSANCE DES PLANTES :	35
3- MODES D'ACTION DES PGPR :	35

Sommaire

4-DEFINITION ET MORPHOLOGIE D'AZOTOBACTER :.....	36
4.1-Les différentes espèces d' <i>Azotobacter</i> :.....	37
4.2-Caractères écologiques :	39
4.3-La nitrogénase	39
4.4-Caractères biochimique :	40
5-CLASSIFICATION D'AZOTOBACTER :	41
6-APPLICATION D'AZOTOBACTER DANS L'AGRICULTURE :	41
6.1-bio fertilisation	41
6.2- Rôle d' <i>Azotobacter</i> dans la fertilité des sols.....	42
MATERIELLES ET METHODES	44
RESULTATS ET DISCUSSION.....	50
CONCLUSION.....	53
ANNEXE	55
REFERENCES	57

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableaux	pages
Tableau 1 : Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm	14
Tableau2 : Exemples des différents types de micro-organismes fixateurs d'azote	28
Tableau 3 : Caractères phénotypiques des espèces d'Azotobacter	38

Liste des figures

Liste des figures

Figures	pages
Figure 1 : Problématique de l'évolution de la matière organique dans les zones sahariennes	19
Figure 2 : le cycle d'azote	22
Figure 3 : Représentation schématique des interactions mutualistes entre la plante (autotrophe) et les microorganismes (hétérotrophes) et entre les microorganismes eux-mêmes au sein de la rhizosphère.	31
Figure 4 : Azotobacter chroococcum (0.2µm)	36
Figure 5 : <i>Mécanisme</i> d'action de la nitrogénase	40
Figure 6 : les quatres sites de prélèvements des sols	44
figure 07 : la mesure de pH	45
Figure08 :phase d'enrichissement	46
Figure 09 : les etapes de coloration de Gram	48
Figure 10 : teste catalase	49

Liste des abréviations

List des Abréviations

PH : potentiel d'hydrogène

N : Azote

C : degré Celsius

ATP: Adénosine Triphosphate

PHP :poly-β-hydroxybutyrates

CEC :la capacité d'échange cationique

MO: matière organique

PGPR : plant Growth promoting Rhizobacteria

Zn : zinc

Fe: fer

Mn: manganèse

Al_3^+ : L'aluminium

Li^+ : lithium

H^+ :Hydrogène

Na: sodium

O_2 :dioxyde

NH_4^+ : Ammonium

NH_3 : Ammoniac

NH_2^- : Nitrite

NH_3^- : Nitrate

P : Phosphore

Mg : magnésium

CO_2 : Dioxyde de carbone

C/N : Rapport de carbone organique sur l'azote total

C : Carbone

Résumé

Résumé :

L'azote il existe dans l'atmosphère à raison de 80% sous forme de gaz ou d'azote moléculaire et dans le sol sous forme de matière organique 90 % .les deux formes ne peuvent pas être absorbées par la plante Les bactéries fixatrice d'azote jouent un rôle majeur dans la transformation du N en ammonium. Une source d'azote est utilisable par les plantes. Notre étude concerne l'isolement .l'identification et la caractérisation de certaines souches d'azotobacter dans le but de fertiliser les sols pauvres d'azote par des méthodes biologiques. On Commencer à travailler sur L'isolement d'azotobacter a partir un échenillions du sol Puis L'identification qui est basée essentiellement sur les examens macro- et microscopiques et certains caractères biochimiques. L'aspect des colonies sur milieux solides. Les résultats monter que l'azotobacter C'est une bactérie aérobie, ses cellules sont de grande taille par rapport aux bactéries du sol sont des cellules sphériques, ovales ou en bâtonnets que l'on trouve parfois seules ou par paires. , qui sont à croissance rapide, mobiles, à Gram négatif, positives pour le test de catalase.

L' Azotobacter a été universellement accepté comme un inoculum majeur utilisé dans bio fertilisant pour restaurer le niveau d'azote dans le champ cultivé.

Mots clés :

Azote , azotobacter, bio fertilisant

ملخص

يتواجد النيتروجين في الغلاف الجوي بنسبة 80% على شكل غاز أو نيتروجين جزيئي وفي التربة على شكل مادة عضوية بنسبة 90% ولا يمكن للنبات امتصاص كلا الشكلين .

تلعب البكتيريا المثبتة للنيتروجين دورًا رئيسيًا في تحويل النيتروجين إلى أمونيوم . يمكن أن تستخدم النباتات مصدرًا للنيتروجين تتعلق دراستنا بعزل وتحديد وتوصيف سلالات معينة من الأزوتوباكتر بهدف إخصاب التربة الفقيرة بالنيتروجين بالطرق البيولوجية.

نبدأ العمل على عزل الأزوتوباكتر من عينة التربة ثم التحديد الذي: يعتمد بشكل أساسي على الفحوصات الماكرو والميكروسكوبية وبعض الخصائص البيوكيميائية. ظهور المستعمرات على وسط صلب وأظهرت النتائج أنها بكتيريا هوائية ، وخلاياها كبيرة مقارنة ببكتيريا التربة وهي خلايا كروية أو بيضاوية أو عصوية توجد أحيانًا بمفردها أو في أزواج. ، وهي سريعة النمو ، متحركة ، سلبية الغرام ، ايجابية الكاتالاز تم قبول الأزوتوباكتر عالميًا باعتباره لقاحًا رئيسيًا يستخدم كسماد حيوي لاستعادة مستوى النترجين في الحقول .

الكلمات المفتاحية

. سماد حيوي , أزوتوباكتر , نيتروجين

Résumé

Abstract :

Nitrogen exists in the atmosphere at 80% as gas or molecular nitrogen and in the soil as organic matter 90%. Both forms cannot be absorbed by the plant.

Nitrogen-fixing bacteria play a major role in the transformation of N into ammonium. A source of nitrogen can be used by plants. Our study concerns the isolation, identification and characterization of certain strains of azotobacter with the aim of fertilizing nitrogen-poor soils by biological methods. We Start working on Isolation of azotobacter from a soil sucker

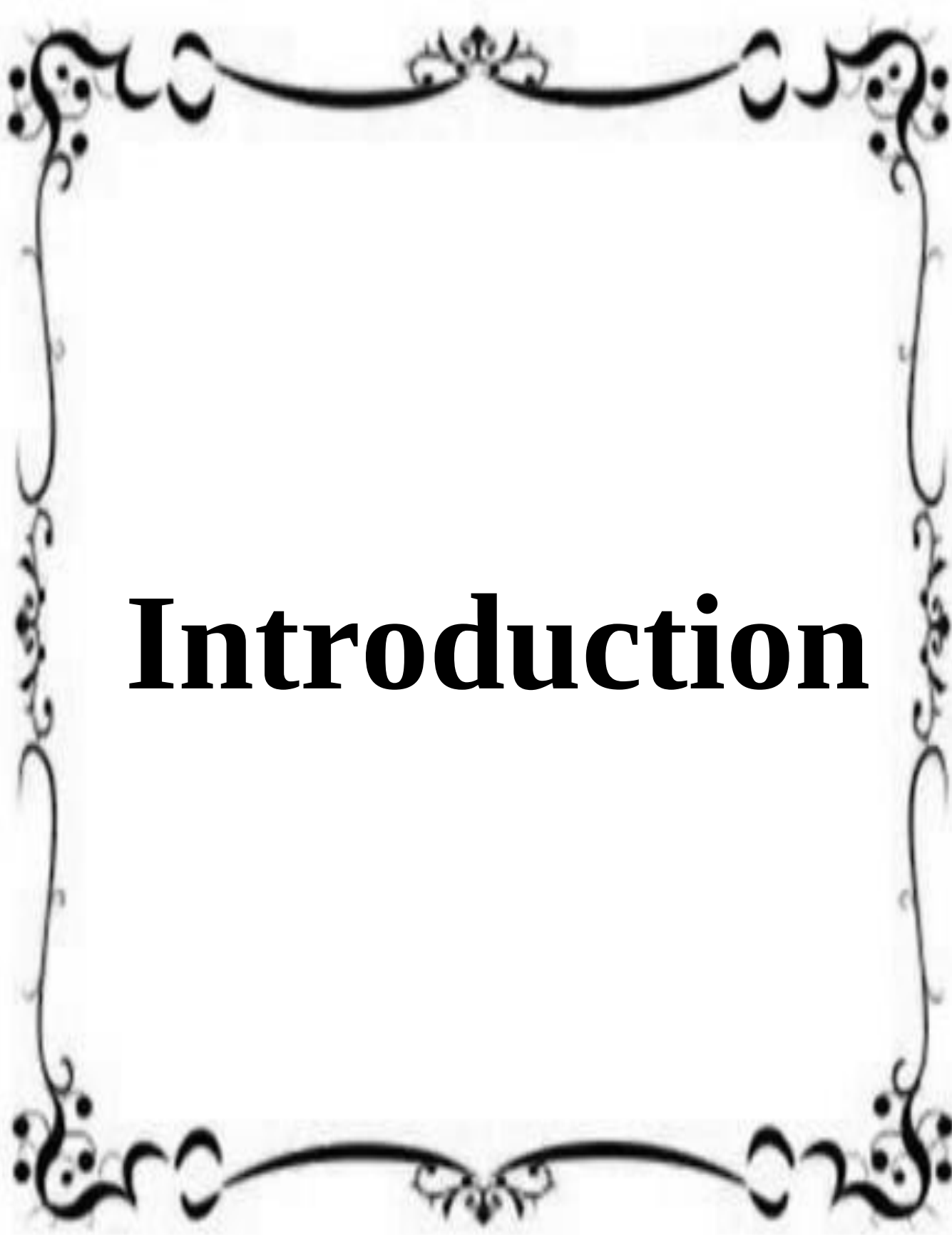
Then the identification which: is based essentially on macro- and microscopic examinations and certain biochemical characteristics.

The appearance of colonies on solid media. The result show that it is an aerobic bacterium, its cells are large compared to soil bacteria are spherical, oval or rod cells that are sometimes found alone or in pairs. , which are fast growing, motile, gram negative, catalas positive.

Azotobacter has been universally accepted as a major inoculum used in biofertilizer to restore the nitrogen level in the cultivated field

Keys words:

Nitrogen, azotobacter, biofertilizer

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns at the corners and midpoints of each side.

Introduction

INTRODUCTION

Le sol est un écosystème à part entière. Il ne remplit pas seulement des rôles physique (substrat) et chimique (nutrition), il est un formidable habitat pour de nombreux organismes. Parmi eux, les micro-organismes (champignons et bactéries principalement) représentent une majorité de cette vie du sol. L'activité et la diversité de ces micro-organismes ont des effets spectaculaires sur la qualité des sols et le cycle des éléments nutritifs comme l'azote et le phosphore

La rhizosphère, ce terme qui désigne la zone du sol dans laquelle la microflore tellurique est soumise aux influences des racines (Campbell R. Greaves M. P. (1990) c'est une zone d'intense activité microbiologique en raison des exsudats racinaires des plantes, ces activités bénéfiques peuvent être directes par les biais des relations symbiose avec les plantes, ou indirectes via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère qui modifient les taux d'approvisionnement en éléments nutritifs et la répartition des ressources (N.belaid, *et al* 2013).

L'azote est l'un des éléments nutritifs majeurs utilisés pour les plantes. C'est le quatrième constituant des plantes incorporé dans l'élaboration de molécules importantes comme les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques et la chlorophylle (Gros, 1969 ; Epstein, 1972) Il favorise l'utilisation des hydrates de carbone, stimule le développement et l'activité racinaire, favorisant ainsi l'absorption des autres éléments minéraux et la croissance des plantes (Stevenson, 1984) .il aussi essentiel pour la synthèse des enzymes de la photosynthèse (Lamaze et al., 1990) l'azote est un facteur limitant majeur de la production agricole .l'atmosphère terrestre est constituée de 79% d'azote (N_2) (Haynes, 1986 ; Foth, 1990). Cependant la concentration des formes assimilables dans le sol (ammonium, nitrate, composés organiques simples) est souvent limitante pour la croissance de la majorité des êtres vivants. L'azote moléculaire, constituant majeur de l'atmosphère mais chimiquement inerte, ne peut être utilisé que par certains micro-organismes procaryotes appelés fixateurs d'azote, qui peuvent être libres ou symbiotiques.

Il y a plus de 150 ans que l'on a constaté que le sol contenait plus d'azote que la roche mère et qu'il existait donc une importante source d'azote inexploitée. Le rôle des micro-organismes

Introduction

dans ce phénomène a été reconnu en 1888 par Hellriegel et Wilfarth en constatant que des légumineuses non ondulées étaient incapables d'incorporer l'azote moléculaire. La découverte de la fixation de l'azote par les bactéries libres est due à Beijerinck, en 1901. Depuis, de nombreux genres bactériens ont été reconnus comme fixateurs. Ces genres représentent pratiquement tous les types de comportements en ce qui concerne les relations plante-microorganisme, les relations avec l'oxygène et les modes trophiques. (Roger,1996)

La production agricole mondiale a connu une augmentation importante sur les plants quantitatifs ,qualitatifs et diversification des produits, afin de subvenir aux besoins alimentaires d'une population humaine sans cesse croissante (FAO ,2010).l'intensification des systèmes de production par la mécanisation ,l'utilisation des intrants chimiques sous forme des fertilisants et pesticides et l'utilisation des génotypes performants exigeantes davantage d'intrants ,sont à la base de l'amélioration des rendements des cultures .Néanmoins, les effets négatifs des produits chimiques de synthèse sur l'environnement (Elmholt , 1991) ,sur la biodiversité (Giller *et al*,1997) et sur la santé humaine (Huang *et al* . ,2005) ainsi que le développement des résistances chez les agents pathogènes (Ishii ,2006) ont motivé la communauté scientifique à chercher d'autres alternatives aux intrants chimiques afin d'assurer la durabilité de l'agriculture en augmentant sa rentabilité et en sauvegardant les ressources naturelles aux générations futures .

L'objet de recherches importantes. L'enjeu est de diminuer l'utilisation d'engrais azotés coûteux et polluants en céréaliculture. Le genre *Azotobacter* est un exemple pertinent dans l'amélioration de la croissance végétale du blé et de l'orge. *Azotobacter*, étant une bactérie diazotrophe vivant à l'état libre dans le sol , s'approvisionne de différents acides aminés et des sucres facilement disponibles dans la rhizosphère (Madkour *et al.*,1990) ou fournis par les exsudats racinaires (Barber et Martin, 1976). En outre, la sélection d'une souche PGPR efficace est liée à la caractérisation de ses propriétés favorisant la croissance végétale. Ces propriétés, en plus de la fixation d'azote(fixation non symbiotique).

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs at the corners and midpoints of each side.

Chapitre 1

Chapiter01 : Le Sol

Le sol supporte une large proportion de la biodiversité terrestre. Il héberge en effet une grande diversité d'organismes (microorganismes, animaux et végétaux) dont la plupart sont responsables de processus de biotransformation et de transfert des éléments ou des composés (Lynch, 1990). C'est un assemblage complexe de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, à l'intérieur du quel se déroulent simultanément des phénomènes de dégradation et de synthèse. Cette diversité biologique est associée à une importante diversité fonctionnelle et à une grande complexité des interactions écologiques. Ainsi de nombreux processus se déroulant dans le sol sont assurés par des organismes très variés (bactéries, champignons, protozoaires, racines, faune). Les organismes du sol affectent aussi la productivité végétale, que ce soit de manière directe ou indirecte (modifications des cycles du carbone et des nutriments, de la structure du sol, interactions trophiques et contrôle des parasites et pathogènes). L'activité de ces populations est influencée par divers facteurs : température, pH, profondeur du sol, humidité et présence des substances organiques et inorganiques. Les microorganismes présents dans le sol sont impliqués dans le recyclage de nombreux éléments chimiques (carbone, azote, phosphore, soufre, du fer et d'autres), surtout ceux impliqués dans la formation et la dégradation de l'humus et ceux ayant un rôle important dans la solubilisation des composants organiques et inorganiques inaccessibles aux plante (AMEUR H,2014)

1-Définition Le sol :

La définition du sol est difficile, la vision de ses fonction et de ses propriétés change d'un auteur à un autre, aussi vaudra-t-il citer bon nombre de définitions possibles.(Calvet ,R. 2013)

Le sol est une des bases essentielles de la vie humaine, le lieu de la production agricole et forestière, un endroit de stockage des matières premières et des déchets, un élément constitutif du paysage et un miroir des civilisations et des cultures. Selon (Singleton in Grubb.et Whittaker, 1999)le sol est des compartiments essentiels de l'écosystème agissant comme contrôleur et révélateur de nombreux processus écologique des caractères physiques , chimiques et biologiques à court et à long terme : « soits should be the best overall reflection of écosystem processes ».(Calvet ,R. 2013)

Chapiter01 :Le Sol

D'après (Davert, 1992) Le sol est le milieu meuble où s'encrent les racines et dans lequel elles puisent l'eau et les éléments minéraux nécessaires à la croissance et au développement des végétaux.

Le sol est un milieu poreux pour les gaz et les liquides qui peuvent y circuler. On y distinguera donc trois compartiments présentés par la phase solide, liquide et gazeuse. (Calvet, R. 2013)

Le sol est une entité naturelle considérée comme un échantillon de la couche supérieure de la croûte terrestre composée de particules minérales, de matières organiques, d'eau, d'air et d'organismes.

Le sol est un site de germination, de soutien, de décomposition en étant un site de stockage de l'eau et des nutriments de germination, de soutien, de décomposition en étant un site de stockage de l'eau et des nutriments. Pour les décomposeurs, le sol est un refuge, un égout pour les animaux. Le sol est un système écologique dynamique.

-Le sol est un milieu poreux :

Son espace poral peut contenir une phase liquide (la solution du sol) et une phase gazeuse (l'atmosphère du sol) susceptibles de se déplacer et, donc, de donner lieu à des flux de matière. De nombreux organismes vivants végétaux et animaux y trouvent un espace pour croître et se développer. La coexistence de plusieurs phases est à l'origine d'interfaces physiques et biophysiques dont les propriétés physico-chimiques déterminent en grande partie l'évolution et les processus qui s'y déroulent.

-Le sol est un milieu variable dans l'espace :

Le sol est un milieu dont les contours sont indéfinis et dont la composition et les caractéristiques présentent une double variabilité, à la fois spatiale et temporelle. La variabilité spatiale du sol se manifeste dans les trois dimensions de l'espace. Elle se traduit verticalement par la présence de couches plus ou moins épaisses, appelées « horizons », et latéralement par l'existence de sols différents (Calvet, R. 2013).

2. les Composition des sols :

Sont des milieux poreux composés de quatre compartiments qui sont les trois phases, solide, liquide, gazeuse et les organismes vivants (Guenoun, 2009).

Chapiter01 :Le Sol

2.1. La phase solide du sol :

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. La fraction minérale solide représente à elle seule 93 à 95 % du poids total du sol. Elle est composée d'éléments de tailles très diverses, provenant de la fragmentation plus ou moins poussée de la roche mère originelle. La matière organique inerte provient de l'activité de tous les organismes présents à la surface ou à l'intérieur du sol. Une partie de cette matière organique est produite par des organismes vivants, le reste est constitué par les débris des végétaux morts, les cadavres d'animaux et les cellules microbiennes lysées. L'essentiel de la matière organique parvenue dans le sol est d'origine végétale (Guenoune , 2009).

2.2. La phase liquide du sol :

Est principalement constituée par l'eau de pluie, dans laquelle sont dissous les ions minéraux et les molécules organiques, qui font varier sa composition et sa vitesse de transfert d'un sol à l'autre. La composition de l'eau du sol dépend du milieu géologique avec lequel elle interagit chimiquement. Du point de vue de la réactivité chimique et biologique, le pH de l'eau du sol constitue une propriété majeure qui met en jeu l'ensemble des réactions biologiques et chimiques qui se déroulent dans le sol. La composition chimique de la phase aqueuse est régulée par des processus chimiques à l'interface roche-eau et atmosphère-eau, ainsi que par des processus biologiques tels que la photosynthèse ou la respiration. Les processus de dissolution des roches contrôlent la présence du Ca et du Mg qui proviennent des carbonates, mais aussi du Na et du K provenant des feldspaths et des micas ou des anions HCO_3^- et NO_3^- (Sigg et al. 2001) .Ces différentes réactions permettent la libération de nutriments et oligo-éléments, essentiels aux microorganismes du sol.

2.3. La phase gazeuse du sol :

La phase gazeuse d'un sol est constituée par les mêmes composants que ceux de l'air atmosphérique. Cependant à cause de l'activité biologique présente à l'intérieur des sols, les teneurs en chacun des composants peuvent changer considérablement.

La composition de cette phase dépend aussi de la profondeur et du temps de renouvellement de l'air à l'intérieur du sol. Un exemple d'évaluation du mouvement des gaz dans les sols concerne l'estimation du transport de composés organiques volatiles sur des sites contaminés. A la surface du sol essentiellement, l'oxygène et le dioxyde de carbone ont un rôle important. En effet, la concentration en oxygène maintient les conditions d'aérobie ou d'anaérobie du sol, impliquées dans les conditions de survie des micro-organismes. L'aération des sols est très importante pour la croissance des racines des végétaux. Le dioxyde de carbone influence

Chapiter01 :Le Sol

l'acidité du sol par sa transformation chimique sous forme de carbonate en réaction avec la phase liquide du sol.

La composition de cette phase gazeuse du sol peut contrôler fortement la distribution et l'activité des communautés bactériennes des sols. (Aline ,2011).

2.4. Les microorganismes du sol :

Les organismes vivants du sol sont variés et nombreux. Un sol contient typiquement 10^{09} à 10^{10} microorganismes par gramme de sol (Stephanie et *al* , 2007)

Le sol constitue un milieu particulièrement favorable à la vie, l'humidité, l'air et les matières organiques diverses permettent le développement et la conservation d'une multitude d'organisme vivant (Diehl, 1974). La biomasse microbienne joue un rôle primordial dans la décomposition de la matière organique dans les cycles des nombreux éléments nutritifs et dans l'organisation du sol (Robert et Chenu., 1992). On peut considérer la microflore du sol comme étant à la fois transformateur d'espèces appartenant aux groupes suivants : Bactéries, actinomycètes, champignons, algues et protozoaires (Dommergues, 1977). Les sols peuvent contenir de très fortes populations microbiennes. Dans un sol de surface la population bactérienne mesurée au microscope, peut approcher les 10^8 10^9 cellules par gramme de poids sec de terre. (Prescott et *al*, 1999). Les bactéries et les mycètes des sols adoptent des stratégies fonctionnelles différentes. Les mycètes ont tendance à se développer à la surface des agrégats tandis que les micro colonies bactériennes sont communément associées avec les pores de petite taille. (Prescott et *al*, 1999). La communauté microbienne du sol contribue de façon importante au recyclage biogéochimique et aux cycles du carbone, de l'azote, du soufre, du fer et du manganèse. Parce que le sol est essentiellement un milieu oxydé. Si le sol contient des milieux localisés saturée en eau, où la diffusion de l'oxygène est plus lente, les cycles biogéochimiques se déplaceront vers les formes réduites. (Prescott et *al*, 1999).

Chapiter01 :Le Sol

-Tab.1 : Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm (Islam, K.R.et Wright, S.R., 2006).

Microorganismes	Nombre (g/sol)	Biomasse (g/m ²)
Bactéries	10 ⁸ -10 ⁹	40-500
Actinomycètes	10 ⁷ -10 ⁸	40-500
Champignons	10 ⁵ -10 ⁶	100-1500
Algues	10 ⁴ -10 ⁵	1-50
Protozoaires	10 ³ -10 ⁴	Variée

- **Les bactéries** : sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. En fonction des propriétés du sol, tous les types physiologiques bactériens sont représentés : autotrophes et hétérotrophes, mésophiles, thermophiles et psychrophiles, aérobies et anaérobies. On estime d'ailleurs que tous les groupes de bactéries connus pourraient être isolés d'un échantillon du sol, si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés. Ce qui ne signifie pas que le sol soit le milieu naturel de toutes les bactéries. Par sa nature de milieu ouvert et sensible aux facteurs de l'environnement, le sol est le réceptacle d'apport continu de microorganismes exogènes qui disparaissent ou survivent en situation de dormance, en raison des conditions défavorables d'un milieu qui n'est pas le leur. Mais certains d'entre eux peuvent ponctuellement s'implanter. (Ben Ahmed, 2017).

3-propriétés physico-chimique du sol :

3.1- Propriétés physique

➤ Organisation des particules : Structure, aération

La structure désigne le mode d'assemblage des particules ; elle s'observe et se décrit à deux niveaux : à l'échelle macroscopique observable à l'œil nu et à l'échelle microscopique (microstructure ou micromorphologie).

La structure détermine la répartition dans l'espace de la matière solide et des vides (pores) dont certains sont occupés par l'eau, d'autres les plus grossiers. Par de l'air. Cette répartition conditionne l'ensemble des propriétés physique fondamentales du sol : aération et possibilités de respiration de respiration des racines, rétention, par les forces capillaires. D'une réserve d'eau utilisable par les plantes. en période sèche, etc.(DUCHAUFOR., 1994).

Le complexe argilo humique joue un rôle structural. Ce rôle est plus ou moins important selon les teneurs en eau du sol et varie en fonction du type et la teneur en argile. La matière

Chapiter01 :Le Sol

organique augmente la stabilité des agrégats. Une mauvaise structure peut donc empêcher l'écoulement des eaux dans le sol et les échanges gazeux entre le sol et l'atmosphère (CALVET., 2003). Une bonne structure va assurer une grande facilité de circulation d'eau, donc laisse s'écouler l'excès, assure une bonne aération des racines, une bonne germination, une pénétration profond des racines et une bonne exploration par les racines des ressources nutritive du sol (SOLTNER., 2000).

➤ **La texture**

La texture du sol est à la base (presque) de toutes les autres propriétés. C'est la propriété du sol qui traduit de manière globale la composition granulomentale du sol, car elle influe sur :

➤ **La perméabilité du sol à l'eau et à l'air :**

Redlich & Verdure dans leur revue en 1975 parlent de l'indépendance du taux de la matière organique et la perméabilité. Le critère retenu pour mesurer la perméabilité est la vitesse de percolation de l'eau exprimée en cm³ / heures. Le taux élevé de matière organique n'implique pas forcément une bonne perméabilité. Cependant, son degré de décomposition aune influence sue cette dernière : plus la matière organique est décomposée, plus la perméabilité est faible et vice versa (REDLICH & VERDURE., 1975).

➤ **La rétention de l'eau :**

Sous forme de vapeur et de liquide, l'eau occupe environ un quart du volume d'un sol. Quand ce dernier est saturé, l'eau qui percole à travers une tranche du sol le fait sous l'influence de la gravité (KOLLER., 2004). La teneur en air est complémentaire de la teneur en eau, puisque ces deux fluides se partagent l'espace interstitiel. (BLANC., 1985)

3.2-les propriétés chimiques :

➤ **Le PH :**

Le pH est défini comme le logarithme décimal de la concentration d'une solution en ion H⁺ . Il permet d'approfondir les modalités d'interaction entre les ions et les surfaces absorbantes du sol. (

➤ **La capacité d'échange cationique (CEC) :**

La capacité d'échange cationique (CEC) est la capacité à fixer de façon réversible les cations échangeables (Li⁺, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Al³⁺) (BAIZE., 2004). Les cations sont liés aux feuillets d'argile par des forces de nature électrostatique et possèdent la propriété d'être échangeables. Ces cations échangeables se fixent à la surface des feuillets et assurent la

Chapiter01 :Le Sol

liaison entre eux. L'intensité de ces liaisons dépend de la valence de ces cations, qui est probablement le facteur déterminant dans capacité d'échange ou de remplacement des cations plus élevé qui peuvent remplacer facilement les cations de valeurs plus faibles (CALVET., 2003).

Par ordre de capacité de remplacement croissante, les ions se classent comme suit :

$\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{H}^+ < \text{NH}_4^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Al}^{3+}$

D'après cette série, le lithium est le plus facile à remplacer alors que l'aluminium est le plus difficile (CALVET., 2003).

➤ **Calcaire actif :**

La fraction de calcaire d'un sol capable de libérer assez facilement du calcium est appelée calcaire actif. Une terre peut être riche en calcaire total et relativement pauvre en calcaire actif. L'excès de calcaire actif nuit à certaines plantes. On considère généralement que des problèmes sérieux peuvent commencer à apparaître à partir de teneurs en calcaire actif voisines de 50 pour mille (POUSSET.,2002)

➤ **Matière organique (MO) :**

Les classes d'appréciation de la teneur du sol matière organique sont réalisées en fonction du taux d'argile. En effet, la matière organique améliore la structure et diminue l'érosion du sol, a un effet régulateur sur sa température, permet au sol de stocker davantage d'eau et représente aussi un milieu de culture pour les organismes vivants, contribuant ainsi à améliorer significativement la fertilité du sol (Benticha. M et Tamma Dj.2017).

➤ **Phosphore assimilable :**

Le phosphore (P) est un élément essentiel de tous les organismes vivants. Chez les végétaux, Il joue un rôle essentiel dans de nombreux processus biologique comme la croissance, la photosynthèse et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, il représente souvent un facteur limitant, par suite de sa faible concentration dans les sols (Pousse et. 2002).

➤ **Azote :**

Contrairement à la plupart des autres éléments présents dans le sol, l'azote ne provient jamais de l'altération des roches sur lesquelles se sont élaborés les sols au cours du temps. L'azote est souvent le nutriment limitant dans le sol, il est recyclé plusieurs fois par les organismes avant son assimilation par la plante. Lorsqu'on ajoute de l'azote dans le sol, il faut le faire pour les

Chapiter01 :Le Sol

microbes et non pour la plante. Il s'agit toujours de petites quantités (10-20 U/ha) à mettre juste avant le démarrage de l'activité des microbes (Benticha. M et Tamma Dj.2017).

➤ **Le potassium :**

Le potassium joue un rôle important dans la production, le transport et le stockage des sucres dans la plante. Le potassium n'est pas très mobile dans la plante. Il joue un rôle primordial dans l'absorption des cations, dans l'accumulation des hydrates des protéines, le maintien de la turgescence de la cellule et la régulation de l'économie en eau de la plante. C'est aussi un élément de résistance des plantes au gel, à la sécheresse et aux maladies. Il est essentiel pour le transfert des assimilés vers les organes de réserve (bulbes et tubercules). Le potassium dans le sol se trouve uniquement sous forme minérale. Il provient soit de la décomposition de la matière organique et des minéraux du sol, soit des engrais.

Le potassium est aussi un constituant de l'argile (peu disponible pour les plantes) et de la roche mère (très peu disponible pour les plantes). Le potassium utilisable par les plantes est retenu à la surface des particules d'argiles et d'humus. Durant la croissance de la plante, il est libéré dans la solution du sol en fonction des besoins (Benticha. M et Tamma Dj.2017).

4-les types des sols pauvres d'azote :

On peut regrouper les sols en quatre grands types:

Sol sableux.

- Sol limoneux.
- Sol argileux.
- Sol humifère (Duchaufour., 2001).

5-Déficit en matière organique :

La matière organique constitue un substrat indispensable à la vie biologique des sols, du fait qu'elle est la source majeure de carbone, d'énergie et d'éléments nutritifs pour les microorganismes et les plantes. Son rôle est important dans les propriétés chimiques et physiques du sol. Un faible taux de matière organique s'accompagne généralement par la destruction des propriétés du sol sur le triple plan bio-physico-chimique. Malheureusement, dans les régions désertiques, la fraction organique est très faible, généralement inférieure à

1% (Halitim, 1988 ; Robert, 1996). La combinaison des facteurs pédoclimatiques spécifiques dans ces régions (Températures élevées, humidité faible, fort potentiel d'oxydation, texture grossière, etc.) font que la minéralisation de la matière organique est très intense, ce qui est en relation avec un bilan humique généralement déficitaire. En effet, l'accumulation de la matière organique semble dépendre à la fois des conditions climatiques (la végétation étant une fonction directe de la pluviométrie) et des caractéristiques texturales du sol. Paradoxalement à la minéralisation qui se trouve très favorisée par les conditions pédoclimatiques, l'humification est fortement inhibée, que ce soit, sur le plan quantitatif par le manque d'accumulation de la matière organique, ou sur le plan qualitatif par le blocage de la polymérisation des composés humiques formés. La dégradation du tapis végétal à cause des contraintes naturelles, dont les plus marquantes sont la sécheresse et la salinisation des sols, a pour conséquence une production de matière organique bien plus faible que dans les régions humides (Rahmoune et al., 2008). Il paraît évident que sous les conditions climatiques sahariennes, un sol sableux, très pauvre chimiquement, l'accumulation de la matière organique sous une forme stable ne peut être qu'infime, et on ne s'étonnera pas des valeurs obtenues en ce qui concerne les fractions acides humiques et de l'humine, surtout des taux trop faibles d'indice de polymérisation. La nature sableuse des sols et leur pauvreté en éléments fins, limitent les surfaces minérales d'absorption et de stabilisation des composés organiques. Dans ces sols sableux, la perte de la matière organique est très importante, du fait qu'ils sont trop aérés et que la matière organique s'y décompose plus facilement. Ils renferment moins d'argile et sont alors moins protégés, ce qui pourrait induire une déprotection physique de cette matière organique (Feller et Beare, 1997). D'après Duchaufour (1985), en sols sableux, si les conditions pédoclimatiques sont favorables à la minéralisation primaire, un niveau de productivité élevé, après restitution d'amendement organique, peut être éphémère et il ne restera qu'une matière organique squelettique privée de ses groupements fonctionnels actifs, aussi bien carbonés qu'azotés. Ainsi, malgré un bilan humique relativement élevé, la présence de cette matière organique n'aura aucune signification sur le plan de fertilité du sol. D'autre part, l'ambiance chimique, très complexe des sols sahariens, notamment la présence des sels à différentes solubilités, sous forme de gypse, de calcaire et d'autres sels plus solubles, induit une évolution particulière de la matière organique. D'après Sarag (1980), l'évolution de la matière organique dans les sols des zones arides (Présence de calcaire, gypse et sels) est caractérisée par une nette dominance de la fraction extractible d'acides fulviques, avec un rapport AF/AH toujours supérieur à 1, traduisant une faible polymérisation des composés humiques formés (Duchaufour, 1980 ; Gallali, 1980). Les processus de polycondensation

physico-chimique n'offrent que de maigres possibilités d'humification par insolubilisations et de néo-synthèse et en revanche favorise l'humification par héritage et la dominance de l'humine résiduelle (Héritée) Du point de vue agronomique, ceci peut expliquer une raison importante de la fragilité de la structure des sols salés, car la faible teneur de la couche arable de ces sols en composés humiques poly condensés, empêche la formation des agrégats stables. Par conséquent, la structure reste précaire. La figure 2 synthétise le scenario d'évolution de la MO dans les sols sahariens.

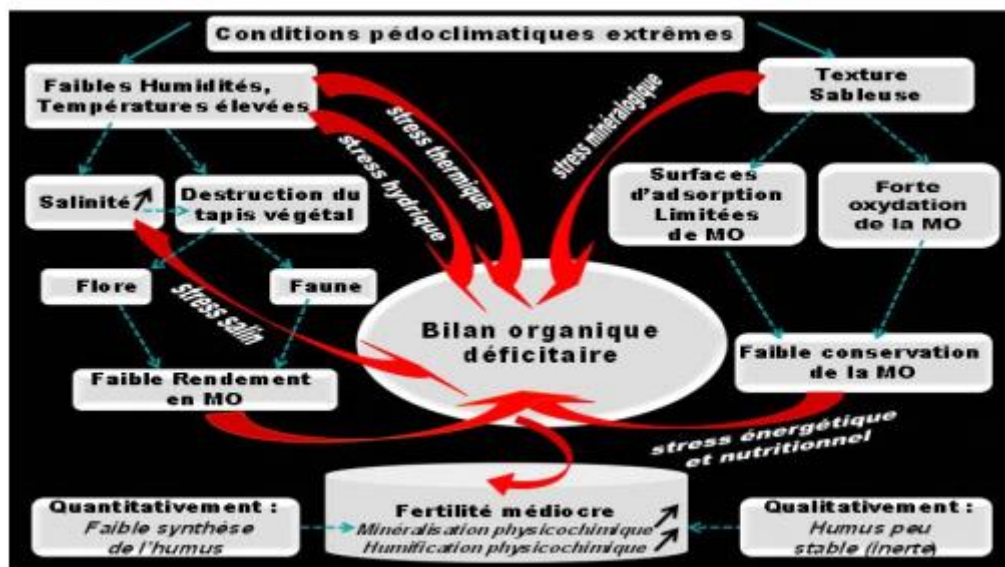


Figure 1. Problématique de l'évolution de la matière organique dans les zones sahariennes (Oustani, 2006)

6-la rhizosphère :

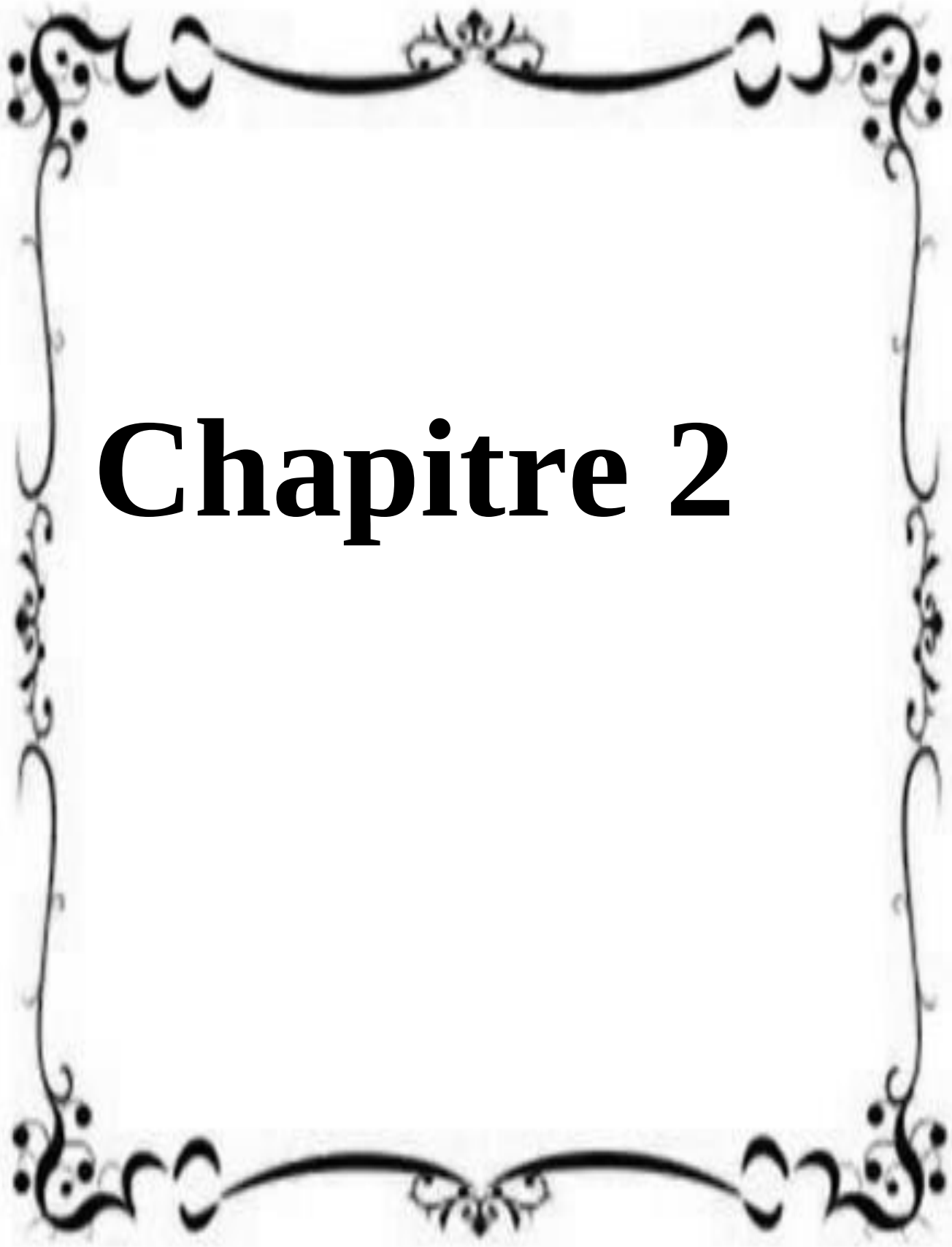
6.1-Étymologie : le terme « rhizosphère » tire son origine du grec « rhizo » ou « rhiza » signifiant racine et sphère. Le champ d'action ou d'influence. hiltner (1904) fut le premier à définir la rhizosphère comme étant la zone du sol entourant la racine qui est directement ou indirectement influencée par cette dernière et qui présente une forte activité microbienne. Elle est caractérisée par une forte activité microbienne due au renouvellement des composés organiques assimilables issus des exsudats racinaires, des mucilages et des cellules épidermiques mortes. La rhizosphère est un environnement créé par des interactions entre les exsudats racinaires et les microorganismes.

Cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire, de même la densité des bactéries est plus élevée dans la rhizosphère que dans

Chapiter01 :Le Sol

le sol distant des racines, il s'agit de « l'effet rhizosphère ». (ABDESSELAM ,N et LATACHE N, 2017)

6.2- Définition : La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes et soumise à leur influence directe. C'est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral. Qui peut être affecté par le tassement du sol, un ennoisement durable, sa salinisation, son eutrophisation ou la pollution, ou encore par des phénomènes d'aridification. Aussi elle est la région d'activité microbienne intense (Anoua et *al.* 1997). Elle joue un rôle important dans la résistance des sols à l'érosion, au gel, aux incendies, aux inondations, etc. De même pour la résilience de ces sols et des plantes cultivées (Les enjeux sont donc également agronomiques) (Krafczyket *al.*, 1984).

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner and along the sides.

Chapitre 2

Chapiter 02 : L'AZOTE :

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N_2 dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N_2 atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N_2 par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim et Rees, 1994). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote. La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racines dans le végétale, dans le quelle l'azote est fixé à L'ammoniaque et le rendre disponible pour l'hôte (M unees et Mulugeta, 2014).

1-Le cycle de l'azote

L'azote se déplace constamment entre sa forme minérale (NO_3 et NH_4), et sa forme organique (azote provenant de matières organiques azotées des organismes vivants ou morts, résidus de culture, déjections animales, matières organiques du sol). Le cycle d'azote

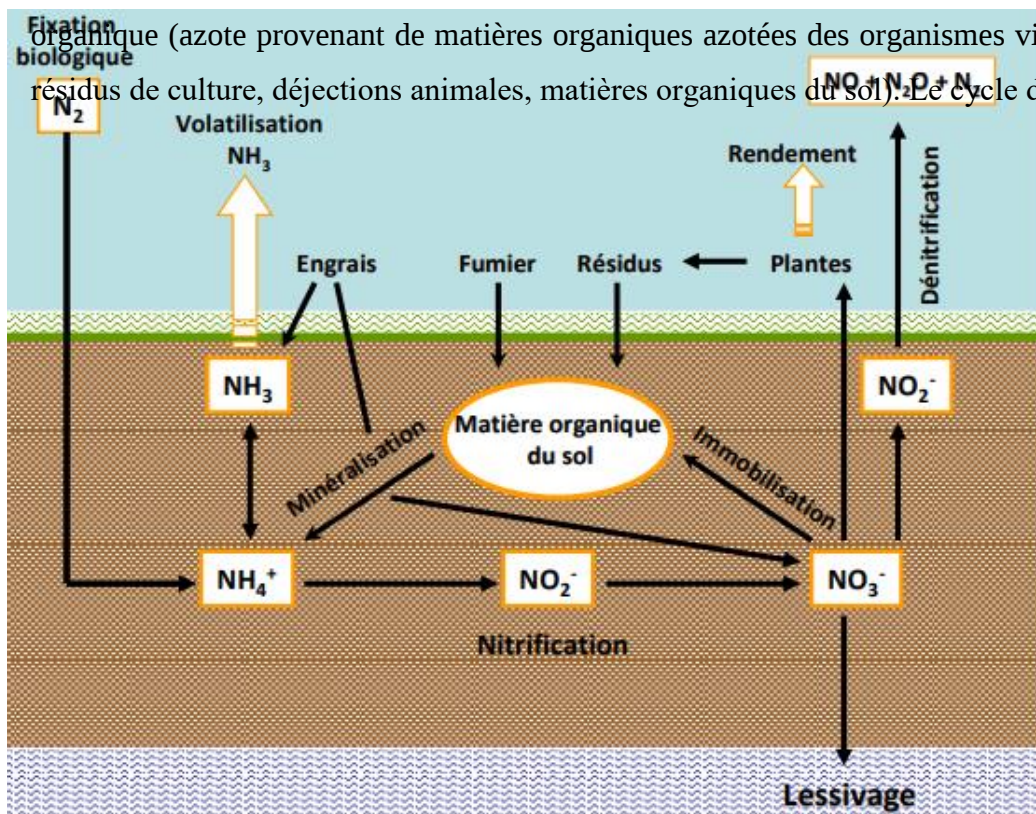


figure 02 : le cycle de l'azote d'après Hofman et Van Cleemput (2004).

comprend les étapes suivantes : Matière organique - décomposition – humification – minéralisation – **nitrification** $R-NH_2$ NH_3 / NH_4 NO_2 / NO_3

Chapiter 02 : L'AZOTE

- Les végétaux produisent leur propre matière organique azotée à partir des sucres fabriqués par la photosynthèse et des ions NO_3^- (parfois NH_4^+) dissous dans l'eau du sol.
- Les animaux utilisent à leur tour les végétaux pour fabriquer de la viande, qui est aussi une matière organique azotée. De plus, comme les animaux n'utilisent pas 100 % de l'azote consommé, ils excrètent des déjections animales contenant de l'azote minéral (surtout NH_4^+) et de la matière organique azotée (R-NH_2).
- Une fois au sol, et lorsque les conditions sont favorables, les micro-organismes décomposeurs (bactéries et champignons), par le processus de la décomposition, de l'humification et de la minéralisation, transforment la matière organique azotée provenant des végétaux, des animaux morts ou des déjections animales, en CO_2 , H_2O et ammoniac (NH_3). Cet ammoniac est rapidement transformé en ammonium (NH_4^+) au contact de l'eau. Dans le cas inverse, il est volatilisé dans l'atmosphère.
- Par le phénomène de l'échange cationique du sol, l'ion ammonium (NH_4^+) est fixé aux colloïdes du sol (chargés négativement), et par la suite, échangé à la solution de sol. Plus le complexe argilo-humique est saturé en NH_4^+ , plus la solution de sol sera concentrée en cet élément.
- Par les bactéries responsables de la nitrification, l'ammonium (NH_4^+) est transformé en nitrate(NO_3^-).
- Dans le sol, le nitrate(NO_3^-) est de nouveau réutilisé par les végétaux et les microorganismes responsables de la décomposition de la matière organique, ou encore transformé en oxyde nitreux (N_2O) et en azote atmosphérique (N_2) par dénitrification dans des conditions humides et anaérobiques. Le N_2O est un puissant gaz à effet de serre.

Les systèmes de production agricole sont conçus pour maximiser la quantité d'azote contenue dans les parties végétales sous forme de protéines ou d'énergie. Par conséquent, le cycle de l'azote est marqué par d'importants prélèvements sous forme de récolte. Donc, pour maintenir les systèmes de production, et permettre que le cycle de l'azote se poursuive, il faut importer des apports d'azote, sous forme d'engrais minéral et organique, afin de remplacer l'azote exporté sous forme de récolte. En ce qui concerne les engrais organiques, certaines caractéristiques vont influencer leur efficacité fertilisante, c'est-à-dire leur capacité à libérer de l'azote minéral disponible pour les plantes. Précisons d'abord que le contenu en azote total des engrais organiques est composé d'azote organique et d'azote minéral (NH_4^+). $N_{\text{total}} = \text{N-}$

Chapiter 02 : L'AZOTE

organique + NH_4 Ainsi, outre le contenu en azote total des engrais organiques, les caractéristiques suivantes conditionnent la capacité de l'engrais organique à fournir de l'azote disponible (azote minéral sous forme NH_4) :

- Le rapport C/N (rapport entre le contenu en carbone et azote d'une matière organique). Plus ce rapport est élevé, moins rapidement l'azote sera minéralisé; à l'inverse, plus ce rapport est bas, plus rapidement l'azote organique sera minéralisé en NH_4 dans des conditions de minéralisation favorable. (Jocelyn, M.2006). La disponibilité de l'azote est donc fortement influencée par ce ratio.

- Le rapport NH_4/N total. Un rapport élevé indique que l'engrais organique est composé d'une grande proportion d'azote minéral (NH_4). Cet azote sera transformé en nitrate (NO_3) dans des conditions favorables de nitrification. À l'inverse, il y aura accumulation de NH_4 dans le sol. Ainsi, lorsque les conditions de minéralisation sont favorables, l'épandage d'un engrais organique, caractérisé à la fois par un faible rapport C/N de sa fraction organique et un rapport NH_4/N total élevé, fournira au sol une grande quantité d'azote disponible. Épandage post-récolte des engrais organiques et risques environnementaux liés aux pertes d'azote.(Jocelyn, M.2006).

2- Les risques de pertes d'azote associés à la valorisation des engrais organiques

Sur la simple base théorique du cycle de l'azote, on peut comprendre qu'à chaque étape de ce cycle, il existe des risques de pertes d'azote. Les différents véhicules de pertes d'azote sont les suivants :

- Volatilisation de l'ammoniac (NH_3) quand celui-ci n'est pas rapidement mis au contact de l'eau.
- Lessivage du nitrate (NO_3) quand celui-ci est présent dans le sol mais n'est pas utilisé par une plante ou un micro-organisme. Par le phénomène de l'échange cationique : le NH_4 dissous dans la solution de sol peut aussi être lessivé.
- Ruissellement de l'ammonium (NH_4) et du nitrate (NO_3) dissous dans l'eau de surface.
- Érosion hydrique des particules fines de sol (argile + humus) qui sont chargées d'ammonium (NH_4), ainsi que de l'azote contenu dans la fraction solide des engrais organiques et des résidus de culture.

Chapiter 02 : L'AZOTE

- Dénitrification : production d'oxyde nitreux (N_2O) et d'azote atmosphérique (N_2), à partir du nitrate (NO_3) dans des conditions de sols humides et d'anaérobies. Peut aussi être produit durant la nitrification, en condition de faible concentration d' O_2 qui limite l'oxydation des produits intermédiaires au nitrate (NO_3).
- Immobilisation : situation qui se produit lorsque les bactéries utilisent l'azote disponible du sol pour décomposer du matériel riche en carbone ($> 40 \text{ C/N}$). Il est important de noter que l'immobilisation sous-entend une multiplication bactérienne et donc, que les conditions doivent être adéquates, notamment quant à la température et l'humidité du sol. (Jocelyn, M.2006).

3-Les sources d'azote dans sol : Contrairement au calcium, au potassium et au phosphore, l'azote que l'on trouve dans les sols sous plusieurs formes ne provient pas de la dégradation de roches mais de deux autres sources.

3.1.- Une source atmosphérique : l'azote gazeux ou dioxyde d'azote N_2 , qui constitue 78 % de l'atmosphère, mélangé à l'oxygène. C'est la source primordiale d'azote du sol, qui s'y incorpore : - par les orages synthétisants, à partir de ce gaz, de l'acide nitrique H_2NO_3 , que les pluies entraîneront dans la terre où il évoluera en nitrate (très faible quantité), - par les bactéries fixatrices d'azote libres ou associées à des plantes. Ces bactéries l'utiliseront pour la synthèse de leurs protéines, dont se nourriront à leur tour les plantes.(Huber,G ;Schub,ch 2011)

3.2-Une source organique : l'azote incorporé dans les matières organiques végétales ou animales. Cette source dérive évidemment de la première. Les bactéries qui dégradent les matières organiques libèrent l'azote sous des formes assimilables par les plantes. (Huber,G ;Schub,Ch. 2011)

3.3- Une source synthétique : l'azote des engrais azotés synthétisés à partir de l'azote de l'air mais avec une forte dépense d'énergie, celle du pétrole. Il s'agit des engrais azotés dérivant de la synthèse de l'ammoniac NH_3 , dans lequel N vient de l'air, et H des hydrocarbures pétroliers. Si, au niveau d'une parcelle, les fumures azotées à base d'engrais de synthèse peuvent sembler importantes (de 100 à 500 kg de N/ha) au niveau d'un territoire englobant de vastes surfaces non fertilisées artificiellement, les sources naturelles d'azote sont de loin les plus importantes(Huber.G,Schub.Ch 2011)

4-Les différentes formes de l'azote dans le sol CHRISTIAN et al (2005) montrent que dans la nature, l'azote est présent sous deux états : à l'état libre

Chapiter 02 : L'AZOTE

(N₂) dans l'atmosphère et à l'état combiné, sous forme minérale (ammoniacale et nitrique) ou organique.

4.1-L'azote élémentaire En phase gazeuse, la teneur en azote élémentaire (N₂) est voisine de celle de l'atmosphère 20 à 21 %. Seuls certains micro-organismes sont capables d'utiliser cet azote (VILAIN, 1997).

4.2- L'azote minéral Dans le sol, l'azote minéral peut être présent sous trois formes : l'ion ammonium (NH₄⁺) ou azote ammoniacal, l'ion nitrite (NO₂⁻) ou azote nitreux et l'ion nitrate (NO₃⁻) ou azote nitrique. Les deux formes (ammoniacal et nitrique) sont présentes dans la solution du sol et facilement extractibles au laboratoire (VILAIN, 1997 ; BAIZE, 2000 ; CHRISTIAN et al, 2005).

- **Azote ammoniacal (N-NH₄⁺)** Selon VILAIN (1997) ; MATHIEU et PIELTAIN (2003), le sol renferme peu d'azote ammoniacal, c'est une forme essentiellement transitoire, rapidement transformée en azote nitrique à la belle saison. Les plantes puissent absorber légèrement les ions ammonium (NH₄⁺). BARROIN et al (1997) in LEMAIRE et NICOLARDOT (1997), mentionnent que c'est la forme la plus réduite de l'azote. L'ammoniaque, produit de la dissolution du gaz ammoniac (NH₃) dans l'eau, se présente sous deux formes : Une forme non dissociée (NH₃) et une forme dissociée en anion hydroxyle (OH⁻) et cation ammonium (NH₄⁺). Ces deux formes sont à l'équilibre : $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$

- **Azote nitreux (N-NO₂)** C'est une forme de transition, éphémère, soit de l'oxydation d'N-NH₄⁺ en azote nitrique (N-NO₃), soit de la réaction inverse de réduction (BARROIN et al, 1997 in LEMAIRE et NICOLARDOT, 1997).

- **Azote nitrique (N-NO₃)** BARROIN et al (1997) in LEMAIRE et NICOLARDOT (1997), constatent que l'azote nitrique représente la forme la plus oxydée de l'azote ; Il est considéré comme une source de l'azote pour les organismes végétaux. L'azote nitrique très mobile est la forme principale d'absorption de l'azote par les plantes, ce surtout les ions nitrate (NO₃⁻) qu'elles utilisent (MATHIEU et PIELTAIN, 2003).

5.3-L'azote organique C'est celui qui est intégré à des molécules organiques plus ou moins complexes résultant de la décomposition des

matières végétales, animales ou microbiennes (protéines, acides nucléiques, amino-sucres, etc.). C'est également celui qui compose la biomasse vivante du sol (micro-organismes). De plus, HEBERT (1979) in BOUHIDEL (2006), note que l'azote organique représente plus de 95% de l'azote total, dans la plupart des sols. Ces

Chapiter 02 : L'AZOTE

formes ne sont pas généralement assimilables sauf les très petites molécules telles que l'urée (BAIZE, 2000). D'après CHRISTIAN et al (2005), la masse d'azote, presque exclusivement organique, contenue dans les sols cultivés, atteint souvent 3 à 5 tonnes par hectare. Elle est principalement localisée dans la couche labourée (0 à 30 cm environ). **5.4- L'azote total** C'est l'ensemble de toutes les formes d'azote minéral et organique présentent dans un échantillon du sol, excepté l'azote gazeux (essentiellement représenté par le N_2 de l'air). L'azote total représente un pourcentage variant dans de larges limites. Sa teneur en sol cultivé est comprise entre 0.1 et 0.5%. Les abaques de fertilité, que rapportent CALVET et VILLEMEN (1986) in BOUHIDEL (2006) concernant l'azote total permettent de séparer :

- Sol très pauvre avec : $N < 0.05 \%$
- Sol pauvre avec : $0.05 > N > 0.10 \%$
- Sol moyen avec : $0.10 > N > 0.15 \%$
- Sol riche avec : $0.15 > N > 0.25 \%$
- Sol très riche avec : $N > 0.25 \%$ (Lakab, R.2012).

5- La fixation biologique de l'azote : (ou « diazotrophie ») La fixation biologique de l'azote atmosphérique est l'une des premières étapes du cycle de l'azote. C'est un processus métabolique, réalisé exclusivement par des organismes procaryotes (azotobacter ou rhizobiums) possédant les enzymes nécessaires pour fixer l'azote atmosphérique (N_2), notamment une enzyme appelée la Nitrogénase. Cette enzyme permet de convertir le nitrogène (N_2) en azote ammoniacal (NH_3), qui lui est assimilable par la plante. Cette dernière peut constituer les molécules organiques nécessaires à sa croissance (notamment les protéines) .

6- Les microorganismes qui fixent l'azote atmosphérique : Les microorganismes qui fixent le nitrogène (N_2) sont tous des microorganismes diazotrophes. Ils sont réparti en deux groupes : les fixateurs libres tels que Azotobacter, Klebsiella (Tourte et al., 2005)et les fixateurs symbiotiques tels que les ont besoin de la présence d'un végétal en croissance fixer l'azote, et ceci de manière très spécifique, c'est à dire que chaque espèce de rhizobium s'associe avec une espèce particulière de légumineuses (Madigan et Martink, 2007)

Chapiter 02 : L'AZOTE

Tableau 2 : Exemples des différents types de micro-organismes fixateurs d'azote (Roger et al., 1996)

Micro-organismes libres				
Aérobies	Hétérotrophes	<i>Azotobacter spp.</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ;		
		<i>Beijerinckia indica</i> ; <i>Azospirillum lipoferum</i>		
	Phototrophes: Cyanobactéries	Hétérocystées	<i>Nostoc</i> ; <i>Anabaena</i> ; <i>Calothrix</i> ; <i>Tohyothrix</i>	
		Homocystées	<i>Trichodesmium</i> ; <i>Oscillatoria</i>	
		Unicellulaires	<i>Gloeotheca</i> ; <i>Gloeocapsa</i>	
Anaérobies	Hétérotrophes	<i>Clostridium pasteurianum</i> ; <i>Desulfovibrio vulgaris</i> ;		
		<i>Desulfotomaculum spp.</i> ; <i>Methanobacterium spp.</i>		
	Phototrophes	<i>Rhodospirillum rubrum</i> ; <i>Rhodobacter capsulata</i> ;		
		<i>Chromatium vinosum</i>		
Microorganismes symbiotiques				
Légumineuses	à nodules racinaires	<i>Rhizobium meliloti</i>		
		<i>Bradyrhizobium japonicum</i>		
	à nodules caulinaires	<i>Azorhizobium caulinodans</i>		
Symbioses actinorhiziennes		<i>Frankia</i>		
Symbioses à cyanobactéries	<i>Azolla</i>	<i>Anabaena azollae</i>		
	<i>Cycas</i>	<i>Anabaena cycadeae</i>		
	<i>Lichens</i>	<i>Nostoc</i>		
	<i>Mousses et hépatiques</i>	<i>Nostoc</i>		

6.1- Les fixateurs symbiotiques : Ganry et Domergues, (1995) ont divisé les fixateurs d'azote associées aux plantes supérieures en trois groupes distinct : Le vaste groupe des rhizobiums associés à des légumineuse; la symbiose est plus fréquente avec les espèces des sous familles des papilionacées et des mimosacées qu'avec celles des césalpiniacees. Les Frankias, bactéries filamenteuses sporulante (actinomycètes), associées aux plantes dites actinorhiziennes. Ces dernières, sauf exception, sont des arbres et des arbustes, par exemple des genres *Alanus*, *Casuarina*, *Eleagnus* et en fin les cyanobactéries, associées à des hôtes divers allant des cycades aux *Azolla* (petite fougère aquatique que l'on rencontre en particulier dans les rizières) ce troisième groupe ne concerne pas les plantes ligneuses.(DEKAK, A.2011)

6.2- Les fixateurs non symbiotiques : Les photosynthétats qui ne sont pas utilisés par la plante ou par les symbiotes sont alors utilisés par les microorganismes du sol pour leur

Chapiter 02 : L'AZOTE

croissance. Ils vont les décomposer et les minéraliser. Les produits de cette minéralisation seront ainsi directement assimilables par la plante (Loreau 2000). Ces nutriments peuvent également être stockés dans la biomasse microbienne du sol. Les microorganismes vont de ce fait influencer leur répartition spatiale et temporelle. Par exemple, l'immobilisation de l'azote par les microbes telluriques va limiter les pertes de cet élément dans les eaux souterraines (Brooks et al 1998) et ainsi le maintenir à disposition pour la plante. De plus, dans les écosystèmes pauvres en azote, la biomasse microbienne accumule cet élément de façon importante en automne, au moment de la sénescence de la plante et le retient durant l'hiver et jusqu'au printemps où il sera alors disponible pour la plante (Bardgett et al 2005). Les microorganismes telluriques peuvent également avoir un rôle de protection contre les maladies (Eparvier et al 1991). Le rôle de protection passe le plus couramment par la production d'antibiotiques. *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida* sont des bactéries capables de produire des antibiotiques permettant à la plante *Raphanus sativus*, le radis, de se défendre contre les *Fusarium*, des champignons pathogènes du sol (Brencic & Winans 2005). La protection assurée par les microorganismes non symbiotiques envers la plante peut également passer par des phénomènes de compétition entre ces microorganismes et les pathogènes. C'est le cas pour *P. fluorescens* qui permet la suppression des maladies par la compétition pour le fer. Le fer a une faible solubilité et par conséquent il est souvent en quantité limitée dans le sol et la rhizosphère. *Pseudomonas fluorescens* va sécréter des sidérophores (les pyoverdines) qui sont des composés ayant une forte affinité pour le fer et permettant à la bactérie de chélater le fer et de l'accumuler (Lemanceau 1992). Le fer n'est alors plus disponible pour les microorganismes pathogènes du sol qui en ont besoin pour leur croissance et leur activité. Certains microorganismes sont capables de produire des biosurfactants qui sont des composés pouvant endommager directement les membranes cellulaires de certains pathogènes et entraîner leur mort (Brencic & Winans 2005). En outre, des bactéries comme les *Pseudomonas* peuvent sécréter des enzymes (protéase, chitinase, lipase) capables de perturber la croissance de champignons pathogènes (Bolwerk et al 2003). Elles peuvent aussi produire des métabolites antifongiques qui vont limiter la maladie chez la plante (Bolwerk et al 2003). Les microorganismes non symbiotiques mutualistes vont donc influencer positivement la croissance de la plante en jouant un rôle sur la disponibilité et la répartition des nutriments (van der Heijden et al 2008).

Certaines espèces microbiennes comme les bactéries *Pseudomonas* (Doornbos et al 2012) ou les champignons du genre *Trichoderma* (Harman et al 2004) sont des microorganismes libres, non symbiotiques à la base, mais qui ont aussi la capacité de s'associer avec une plante

Chapiter 02 : L'AZOTE

et de s'établir dans les racines. Ils vont alors s'assurer une source de nutriments et vont être bénéfiques pour la plante hôte. Les bactéries qui sont mutualistes vis-à-vis de la plante, qu'elles soient symbiotiques ou non, sont appelées bactéries PGPR (Plant growth promoting rhizobacteria), ou Rhizobactéries promouvant la croissance de la plante. Elles ont des effets bénéfiques sur le développement et la croissance végétale, le contrôle des pathogènes et la dégradation des composés toxiques pour la plante (Bakker et al 2007). Cependant, certains microorganismes non-symbiotiques peuvent avoir un effet négatif sur la plante quand ils sont impliqués dans des phénomènes de compétition avec la plante ou quand ils sont responsables de la perte de nutriments. Par exemple, en cas de carence en azote, les microorganismes qui utilisent également une partie de l'azote minéral vont être en compétition avec la plante pour cet élément. Enfin, le processus de dénitrification, effectué par les bactéries dénitrifiantes et par quelques espèces de champignons, peut entraîner la perte de l'azote sous une forme gazeuse. Par exemple, dans les écosystèmes forestiers tropicaux, la perte d'azote minéral du sol par le processus de dénitrification peut représenter jusqu'à 50 % du pool d'azote. La croissance de la plante va alors être négativement affectée par ce type de microorganismes de par le manque de nutriments. La productivité végétale peut aussi être affectée directement par certains pathogènes entraînant la mort de la plante. C'est le cas par exemple des bactéries *Erwinia* qui libèrent des enzymes provoquant une dépolymérisation des parois cellulaires végétales et donc le pourrissement de la plante (Brencic & Winans 2005). Qu'ils soient mutualistes ou parasites, les microorganismes non symbiotiques peuvent influencer la diversité et la composition des communautés végétales, en influençant le potentiel adaptatif des plantes au milieu abiotique (apport en nutriments) ou biotique (compétition intra-règne et meilleure tolérance/résistance à des organismes pathogènes)

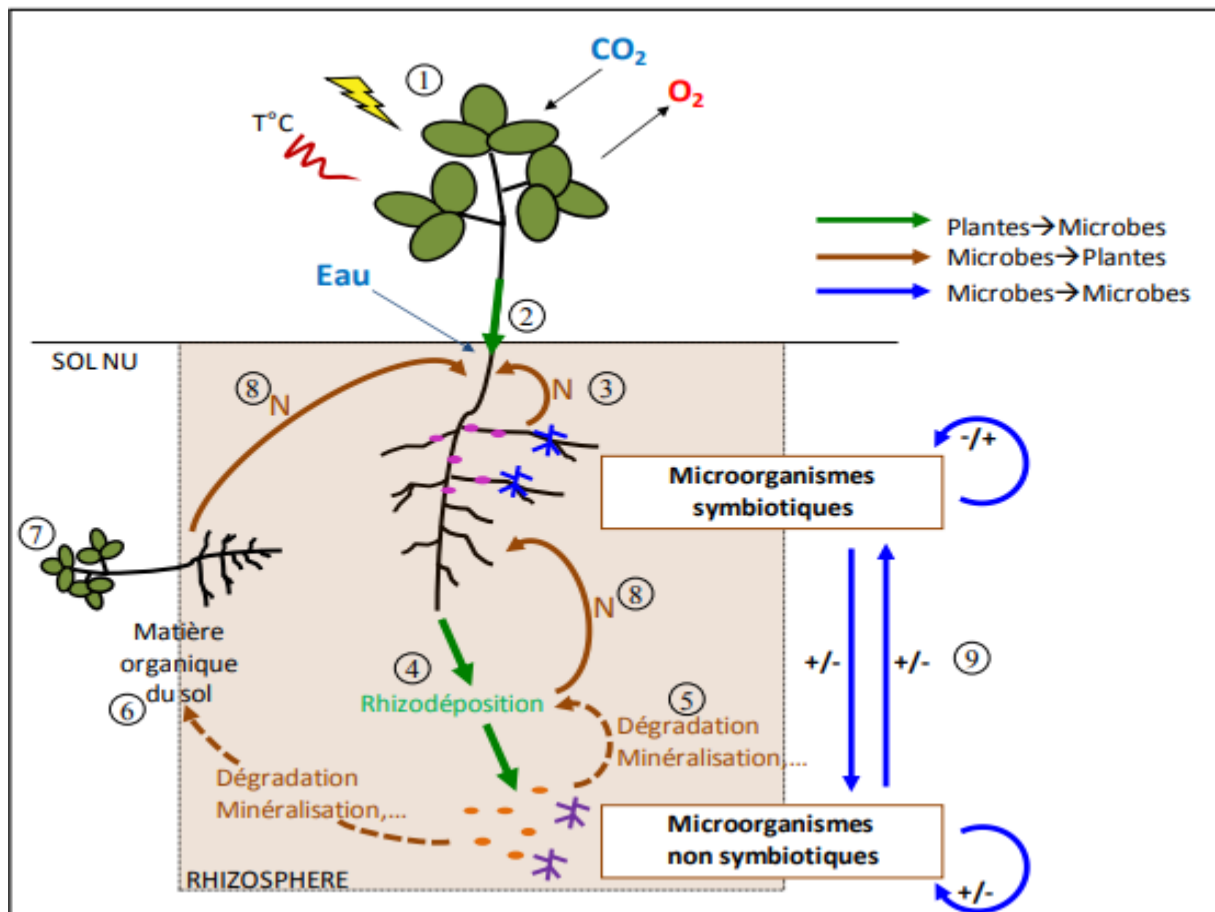
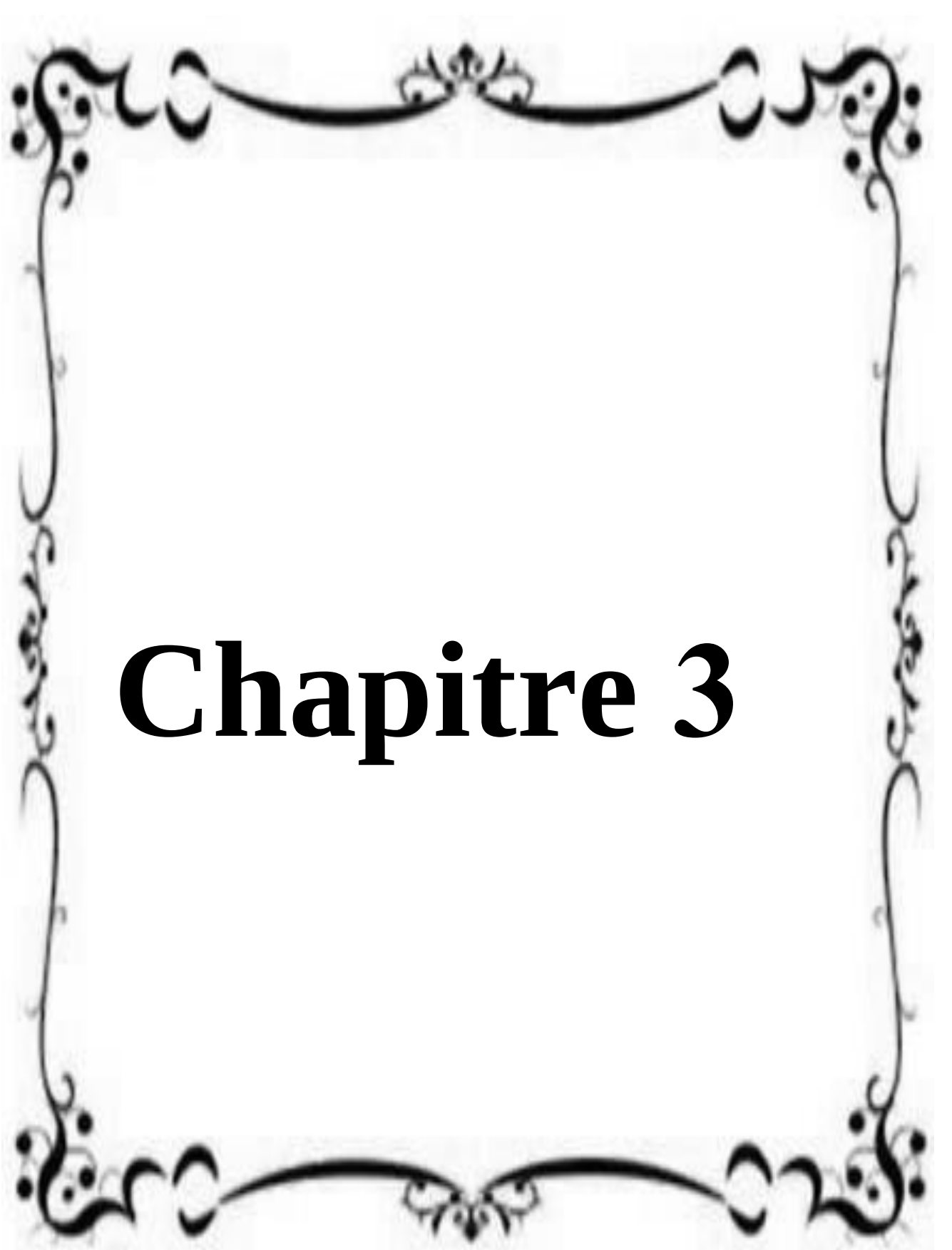


Figure 03 : Représentation schématique des interactions mutualistes entre la plante (autotrophe) et les microorganismes (hétérotrophes) et entre les microorganismes eux-mêmes au sein de la rhizosphère. (1) La plante réalise la photosynthèse grâce à l'énergie lumineuse, le CO_2 , l'eau et les nutriments ; la température est également un facteur important dans ce processus. (2) Une partie des photosynthétats produits par la plante suite à la photosynthèse va être fourni aux microorganismes symbiotiques qui (3) en échange vont fournir des nutriments (N) à la plante. (4) Le reste des photosynthétats sera libéré dans le sol, via la rhizodéposition, et disponible pour la croissance des microorganismes non symbiotiques. Ces derniers vont, en retour, dégrader la matière organique présente (5) dans la rhizosphère ou (6) dans le sol nu, ainsi que (7) la matière végétale à la mort de la plante afin de (8) fournir des nutriments à la plante. (9) Il existe aussi des interactions entre les microorganismes eux-mêmes qui peuvent intervenir dans les interactions plante-microbes. (Clémentine, L, 2013).

7- le compétition entre plante et les microorganisme pour l'azote :

La compétition entre les plantes et les microorganismes pour l'azote minéral est un phénomène commun dans le sol. Il a été souvent démontré que les microorganismes sont beaucoup plus compétiteurs par rapport aux plantes pour l'azote minéral dans le sol (Jackson et al., 1989). Les microbes ont l'avantage d'avoir une affinité plus élevée avec le substrat, un plus large rapport surface/volume et un plus rapide taux de croissance (Hodge et al., 2000). Ceci étant, « Comment les plantes peuvent elles concurrencer avec succès contre les microbes pour l'azote du sol ? », si elles sont des pauvres compétiteurs individuellement ou à l'échelle locale comment réussissent elles dans une échelle plus large de l'ensemble du sol ? Deux explications peuvent être fournies : Les mycorhizes agissent comme des mercenaires microbiens : - elles augmentent les surfaces d'absorption de la racine des plantes et par conséquent l'absorption des éléments minéraux ; - elles ont un rôle direct dans la décomposition et dans l'absorption des nutriments organiques. Donc, les mycorhizes permettent aux plantes partenaires d'être un bon compétiteur contre les microorganismes saprophytes. La seconde est l'amélioration de la compréhension des dynamiques des microsites dans le sol (Hodge et al., 2000; Korsaeth et al., 2001). Ils existent des microsites où c'est la minéralisation nette qui domine et d'autres où c'est l'immobilisation qui domine (Jackson et al., 1989; Burger et Jackson, 2003). L'azote (organique ou inorganique) disponible diffuse entre ces sites et est disponible pour l'organisme qui le rencontre en premier. Ce mécanisme permet à la racine des plantes et aux mycorhizes l'accès à l'azote qui pourrait être absorbé par les microorganismes libres vivants.

Puisque la plante retient l'azote pour un temps plus ou moins long, alors que le turnover microbien est plus rapide, même si la plante a seulement accès à une petite fraction de l'azote biodisponible dans le sol, quand on intègre le temps, les plantes deviennent plus compétitives (Kaye et Hart, 1997).

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs at the corners and midpoints of each side.

Chapitre 3

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

1-Les rhizobactéries :

Un grand nombre de microorganismes vivent dans le sol. On compte les virus, les bactéries, les champignons, les protozoaires et les algues (Paul et Clark, 1996). Les bactéries sont les organismes les plus nombreux et représentent en moyenne $6 \cdot 10^8$ cellules par gramme de sol et un poids de 10000 kg/ha équivalant à 5% du poids sec des composés organiques du sol. On définit alors les bactéries associées aux racines des plantes comme les rhizobactéries. Celles ci sont généralement des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante (Kloepper, 1993). Si la plante libère des composés organiques, à l'inverse elle prélève de l'eau et des éléments minéraux indispensables à son métabolisme. Les échanges entre la plante et le sol sont influencés par les rhizobactéries et ce d'autant plus que leur densité et leur activité sont élevées. Les rhizobactéries sont des hétérotrophes typiques, elles nécessitent donc des composés organiques comme source d'énergie. Leurs besoins sont entièrement comblés à l'intérieur même de la rhizosphère. Les rhizobactéries utilisent en effet de nombreux substrats provenant de la plante: les cellules corticales et épidermales des racines qui se détachent, les polysaccharides du mucilage racinaire, les sucres et les acides aminés et organiques des exsudats racinaires, etc. (Campbell et Greaves, 1990). L'abondance des bactéries dans le sol s'explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme sources d'énergie et d'éléments nutritifs (Glick, 1995). Les microorganismes rhizosphériques incluent les symbiotes (Rhizobia, actinobactéries et champignons mycorhiziens) et les saprophytes libres. Les microorganismes rhizosphériques en général, et les bactéries diazotrophiques en particulier, exercent sur les plantes divers effets. Par ailleurs, l'association des bactéries avec les racines a des influences importantes sur la santé de la plante, la productivité et la qualité du sol (Konate, 2007). La colonisation des racines par les bactéries est observée depuis longtemps, mais seulement dernièrement, son importance pour la croissance et le développement des plantes est devenu clair (Glick, 1995). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les antibiotiques, sidérophores, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (Voisard et *al.*, 1989; Van Peer et *al.*, 1991). Cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante et de la fréquence des infections fongiques de la racine (Kloepper,

1993). Ces rhizobactéries sont considérées comme des concurrents microbiens efficaces dans la zone racinaire. L'effet visible des associations plante-microbe sur la croissance de plantes peut être positif, neutre, ou négatif. Certaines bactéries inhibent la croissance alors que d'autres la stimulent. Ces dernières sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacteria : PGPR) (Kloepper et al., 1989; Zahir et al., 2004). Au cours des dernières décennies, un nombre très important de bactéries ont montré une capacité d'améliorer la croissance de la plante (Kloepper, 1992 ; Glick, 1995).

2-Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes :

Les rhizobactéries connues sous le terme PGPR stimulent directement la croissance de plantes en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux. Elles stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les Rhizobia. L'établissement de l'association PGPR-plante est primordial pour l'expression des effets bénéfiques. Les rhizobactéries sont les bactéries ayant la capacité de coloniser les racines de façon intense. Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*. fluorescents (Hallmann et al., 1997). Plusieurs études sur la relation PGPR/amélioration de l'absorption des nutriments ont conclu que l'application des inoculations bactériennes améliorent considérablement l'absorption du N, P, et K. En outre, le processus d'inoculation avec *Azospirillum* et *Bacillus spp*. a montré une nette accumulation de ces minéraux dans les tissus de la plante (Amir et al., 2005). Selon Dursun et al. (2008) *Burkholderia gladii*, *P. putida*, *B. subtilis*, *B. megaterium* ont donné des teneurs élevées en minéraux en particulier N, K, P, Zn, Fe, Mn, Na, Ca, et Mg dans les feuilles de la roquette (*Eruca sativa*) par rapport au témoin.

3- Modes d'action des PGPR :

Les modes d'action des PGPR sont regroupés traditionnellement en directs et indirects. Bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur métabolisme tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes. Les mécanismes directs comprennent les processus de bio fertilisation (solubilisation des

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

phosphates) et de bio stimulation (production des phytohormones : l'acide indole acétique, les cytokinines, l'acide gibbérellique...). Les processus de bio contrôle (production des métabolites antifongiques, production de composés volatiles...) constituent des mécanismes indirects. (SILINI A , 2013)

4-Définition et morphologie d'Azotobacter :

Les bactéries du genre *Azotobacter*, en plus d'être des diazotrophes, jouent un rôle important dans le cycle de l'azote. *Azotobacter* étant qualifié de PGPR synthétise des substances biologiquement actives telles que les phytohormones (les auxines) stimulant ainsi la croissance des plantes (Ahmed et *al.*, 2005). Ils facilitent également la solubilité de certains minéraux dans le sol et améliorent la biorestauration des sols (Rajaei et *al.*, 2007).

Les *Azotobacter* sont les plus abondantes, et les plus actives, ce sont des bactéries ovoïde ou en bâtonnets de 1.5 à 2 μm ou plus, groupées par paires ou en amas ou encore en chaînettes de longueur très variée, elles sont mobiles grâce à des cils pérétriches ou immobiles.([Http://dspase.univer-msl1a.dz](http://dspase.univer-msl1a.dz))

peuvent prendre plusieurs formes (cocci ou bâtonnets) non sporulés, Ce sont des bactéries aérobies à métabolisme strictement respiratoire. Contrairement au genre *Azomonas*, *Azotobacter* a la capacité de former des cystes en absence de nutriments. Ceux-ci remplis de poly- β -hydroxybutyrates (PHB) sont utilisés par les bactéries en cas de stress environnementaux comme source d'énergie. Le genre comprend plusieurs espèces (*chroococcum*, *beijerinckii*, *vinelandii*, *nigricans*, *armeniacus* , *paspali*...) qui se distinguent par leurs caractères biochimiques et la production de pigments.

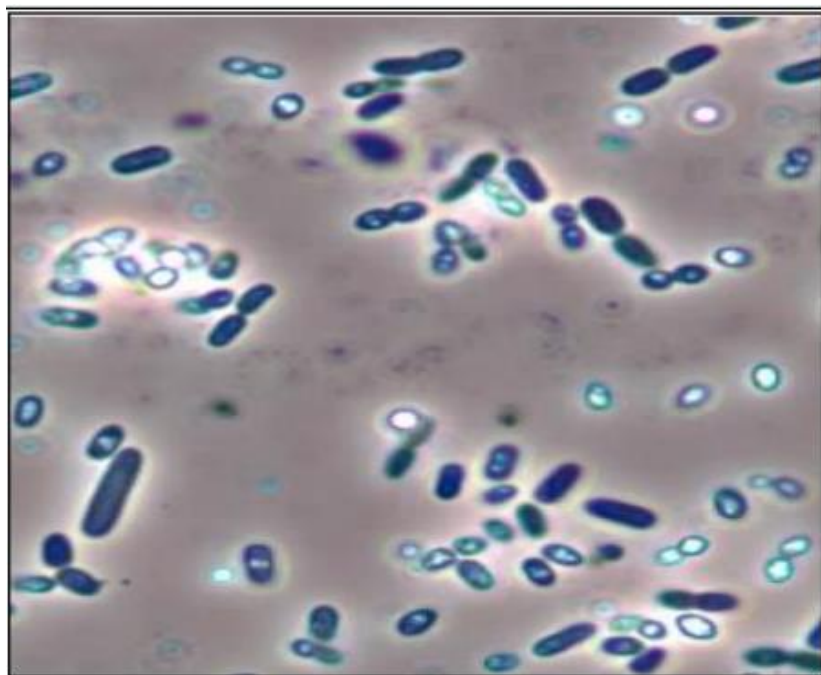


Figure 04: *Azotobacter chroococcum* (0.2 μm)

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

- Aérobic mais peu se développer dans des états réduits en l'oxygène.
- Gram négatif.
- Catalase positif.
- Fixateur non symbiotique d'azote.
- Le pourcentage : G + C = 63 % à 66 %.
- Peuvent se développer à des pH : 5.5 à 8.5 mais l'optimum est de 7 à 7.5.
- La gamme de température est de 20 à 30 C°.
- Peuvent produire des pigments hydrosolubles vert jaunâtre florissante ou rouge violet

Elles sont incapables de former les endospores, mais elles forment des kystes pour le protéger contre le séchage et le rayonnement ([Http://dspase.univer-mslla.dz](http://dspase.univer-mslla.dz)).

4.1-Les différentes espèces d'Azotobacter :

Le genre Azotobacter a six espèces qui sont les fixateurs d'azote atmosphérique mais peuvent se développer sur des sources alternatives de l'azote tel que l'ammoniaque, l'urée et le nitrate (Buchanan et Gibbons, 1974).

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

	A. chroococcum	A. .beijerinckii	A. vinelandii	A.nigricans	A. armeniacus	A. paspali
Morphologie	Bâtonnets ovales ou cocci.	Bâtonnets aux extrémités arrondies.	Bâtonnets aux extrémités arrondies.	Bâtonnets aux extrémités arrondies.	Bâtonnets long aux extrémités arrondies.	Bâtonnets aux extrémités arrondies.
Dimension	3 à 7µm de long 1,5 à 2,3µm de large.	3,2 à 5,3µm de long 1,7 à 2,7µm de large.	3 à 4,5µm de long 1,5 à 2,4 µm de large.	4,1 à 4,9µm de long 1,5 à 2,7µm de large.	5 à 5,7µm de long 1,7 à 2 µm de large.	7 à 10,9µm 1,3 à 1,7µm Mais des fois 3,2 à 4,2µm 1,6 à 1,9µm.
Disposition	En paire.	Cellules isolées ou en paires parfois en petite chainette	Cellules isolées ou en paires	Cellules isolées ou en paires	Cellules isolées ou en paires	Cellules isolées ou en paires
Mobilité	Mobile par des flagelles péritriches.	—	Mobile par des flagelles péritriches	—	Mobile par des flagelles péritriches.	Mobile par des flagelles péritriches.
Fluorescence vert jaunâtre	-	-	+	-	-	+
Fluorescence verte	-	-	+	-	-	-
Fluorescence marron – noir	+	-	-	+	-	-
Fluorescence rouge – violet	-	-	+	+	+	+
MannitoL	+	+	+	+	+	-
Rhamnose	-	-	+	-	+	-
Caprylate	-	-	+	-	+	-
Malonnat	+	+	+	+	-	-

Tab03: Caractères phénotypiques des espèces de Azotobacter (Brener et al.,2005)

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

4.2-Caractères écologiques :

Les Azotobacter sont ubiquitaires et peuvent être isolés de l'eau et du sol où ils y vivent librement. Cependant, ils sont beaucoup plus nombreux au voisinage des racelles. Bien qu'ils n'en soient pas dépendants, ils sont plus abondants près des racines et dans la rhizosphère qu'ailleurs dans le sol. Les Azotobacter préfèrent les sols neutres ou légèrement alcalins, bien oxygénés et moyennement humides. Ces bactéries fixent mieux l'azote atmosphérique dans les sols où les apports d'azote minéral sont réduits. Elles peuvent fixer au moins 10µg d'azote/g du glucose consommé. La fixation nécessite les ions molybdène. Ces bactéries exigent néanmoins des apports organiques importants probablement comme source de carbone. Il semblerait que ces bactéries aient d'importantes facultés à utiliser les apports minéraux sous forme insoluble qu'ils s'agissent de phosphates ou de nitrates (A.Boulanger. 2009) .

. Les bactéries du genre Azotobacter sp, en plus d'être des diazotrophes, jouent un rôle important dans le cycle de l'azote. Azotobacter sp étant qualifié de PGPR synthétise des substances biologiquement actives telles que les phytohormones (les auxines) stimulant ainsi la croissance des plantes. Ils facilitent également la solubilité de certains minéraux dans le sol et améliorent la biorestauration des sols (A.Boulanger. 2009).

4.3-La nitrogénase : C'est une enzyme bactérienne, responsable de la fixation de l'azote et de sa transformation en ammonium directement assimilable par la plante qui peut représenter jusqu'à 10% des protéines solubles des bactéroïdes (Ramdane et Boukarana, 2016).La nitrogénase bactériostatique catalyse la réduction à six électrons de N₂ en ammonium et à une réduction associée de 2H⁺ en H₂ qui utilise 16 à 18 molécules d'ATP (White *etal.*,2007).

La fixation de l'azote catalysée par la nitrogénase se fait selon la réaction suivante :



La nitrogénase la plus étudiée est le système contenant le molybdène et consiste en deux métalloprotéines, à savoir la dinitrogénase réductase (protéine Fe), un homo-dimère possédant un cluster "fer-soufre" (4Fe4S) et considérée comme un transmetteur d'électrons ATP- dépendant, à partir d'un donneur tel que la flavodoxine ou ferrédoxine, à la deuxième protéine dite la dinitrogénase (protéine MoFe) qui contient le site de fixation et de réduction du nitrogène (Ferguson 1998; Rees et al. 2000; Dixon et al. 2004; Cheng 2008). La protéine MoFe possède deux types de cluster: le P-cluster et le cofacteur MoFe (MoFeco) (Ferguson1998; Rees et al. 2000). La réaction requiert un donneur d'électrons en plus de

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

l'adénosinetriphosphate (ATP). Les électrons sont générés de différentes manières dépendamment du métabolisme de l'organisme (Cheng 2008). Ces électrons sont transférés directement à la flavodoxine ou à la ferrédoxine, transporteurs qui assurent le transfert des électrons de la protéine Fe de la nitrogénase et un cycle de réactions d'oxydo- réduction démarrera en conséquence (Dixon et al. 2004; Cheng 2008). En effet, la compréhension du mécanisme d'action de la nitrogénase s'est amélioré après la détermination de la structure cristallographique des protéines Fe et MoFe (Ferguson 1998; Rees et al. 2000; Dixon et al. 2004) ainsi que celle du complexe formé entre les deux protéines sous forme stabilisée (Dixon et al. 2004). Alors, deux molécules de MgATP vont se lier à la protéine Fe réduite puis elles vont être hydrolysées pour qu'il y ait un transfert d'un électron de la protéine Fe à la protéine MoFe (figure 5).

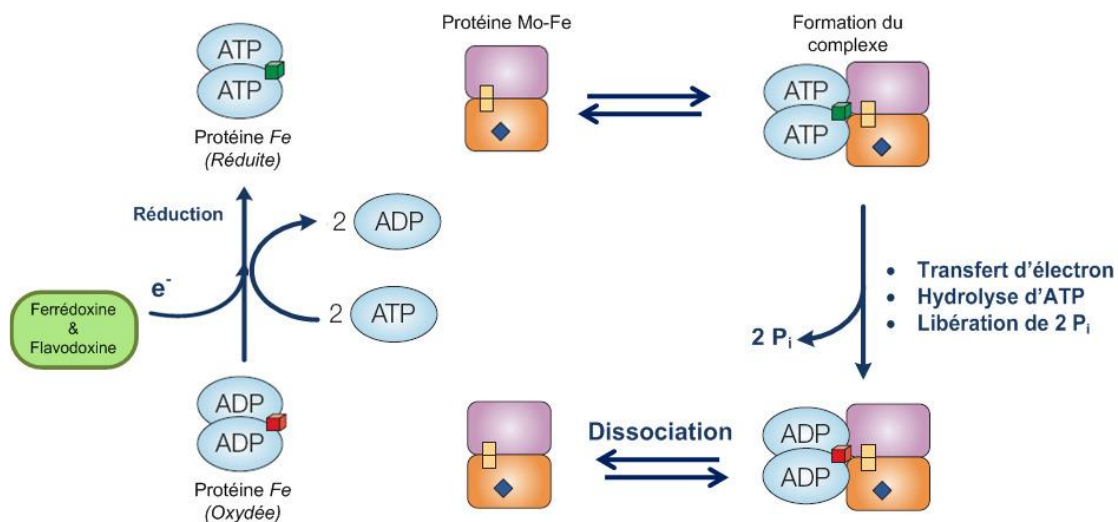


Figure 05: Mécanisme d'action de la nitrogénase (Dixon et al. 2004)

4.4-Caractères biochimique :

Azotobacteraceae sont des aérobies, hétérotrophes, micro-organismes fixateurs d'azote, et par conséquent possède toutes les enzymes oxydatives pour la dégradation de nombreuses composées organiques utilisables par différentes espèces comme seule source de carbone et d'énergie. Toutes les études montrent que les taux élevés d'oxygène, même ceux atmosphériques inhibent l'activité de la fixation de l'azote chez l'*Azotobacter*. Les expériences révèlent que chez l'*Azotobacter* un mécanisme spéciale fonctionne pour minimiser les dommages contre la nitrogénase, le haut taux de respiration d'*Azotobacter*

Chapiter03 :les bacteries fixatrice d'azote

expliqué comme un mécanisme endommageant le site de nitrogénase pour la fixation de nitrogénase, ce processus appelé « la protection respiratoire de nitrogénase » et couplé avec une multitude de cytochromes et protéines redox, ainsi la maintenance des nitrogénases dans un environnement anoxique essentiellement à l'intérieur des cellules qui néanmoins dérive l'énergie de métabolisme aérobie .Un important argument est le complexe nitrogénase qui est constitué de deux composants, elle est extrêmement sensible à l'oxygène, rapidement et réversiblement inactivé lors de l'exposition à l'air ([Http://dspase.univer-mslla.dz](http://dspase.univer-mslla.dz))

5-Classification d'azotobacter :

Le genre Azotobacter est utilisé comme biofertilisant depuis plus de un siècle. Ce genre a été décrit pour la première fois en 1901 par Martinus Beijerinck. Azotobacter appartient à la famille des Pseudomonadaceae / Azotobacteraceae et classe Gammaproteobacteria, qui est commun dans les sols échantillonnés à travers le monde. Les espèces notables du genre Azotobacter sont *A. vinelandii*, *A. chroococcum*, *A. beijerinckii*, *A. paspali*, *A. armeniacus*, *A. nigricans* et *A. salinestri*. L'espèce la plus travaillée est *A. vinelandii*, le génome dont la séquence a été déterminée par. Critiques sur les Azotobacter peut être vu (Hirendra K, (2019).

Regne :Bacteria

Embranchement :proteobactria

Classe :Gammaproteobacteria

Ordre :pseudomonadaceae

Famille :Pseudomonadaceae

Genre :Azotobacter (Hirendra K, 2019).

6-Application d'azotobacter dans l'agriculture :

6.1-bio fertilisation : Un bio-fertilisant (classé parmi les engrais biologique) est une substance utilisée comme pour ses microorganismes (bactérien, fongiques ou animaux) qui, lorsqu'ils sont appliqués sur les semences, sur des racines, sur le sol ou sur des surfaces végétales colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante en favorisant sa santé, sa croissance et en augmentant indirectement l'apport en nutriments primaires (azote, phosphore, potassium...) , vitamines et oligoéléments. C'est un concept proche de celui de l'entretien ou de la restauration du microbiote chez l'animal. (Vessey, J.k. 2003)

Chapiter03 :les bacteries fixatrise d'azote

6.2- Rôle d'*Azotobacter* dans la fertilité des sols : la présence d'*Azotobacter* sp. dans les sols a effets bénéfiques sur les plantes, mais l'abondance de ces bactéries estliés à de nombreux facteurs, physico-chimiques du sol (par exemple la matière organique,pH, température, humidité du sol) et propriétés microbiologiques (Kizilkaya ,R. 2009). Son abondance varie selon la profondeur du profil du sol . Les azotobactéries sont beaucoup plus abondantes dans la rhizosphèrede plantes que dans le sol environnant et que cette abondancedépend des espèces cultivées(Kalaigandhi V .et *al* ; 2010).

A decorative black and white border with ornate floral and scrollwork patterns framing the central text.

Matériels et Méthodes

Matérielles et Méthodes

1/caractérisation de souches de *Azotobacter* :

La première partie de l'étude a consisté en l'isolement des bactéries du genre *Azotobacter* à partir de la rhizosphère, à la caractérisation et l'identification de ces souches puis à Le dosage du L'azote total a été effectuée par la méthode Kjeldhal

2-Prélèvement des échantillons des sols :

Les sols prélevés dans les quaters sites de la région de laghouot ont été analysés selon les techniques utilisées Les sols sont soumis à plusieurs traitements :

- tamisage à travers un tamis de 2mm de diamètre
- récupération et conservation de la terre fine dans des sachets en plastique.

Les échantillons sont prélevés sur quaters sites (03) distincts. Chaque échantillon de sol composé de plantules et de sol rhizosphérique est recueilli dans des récipients stériles.

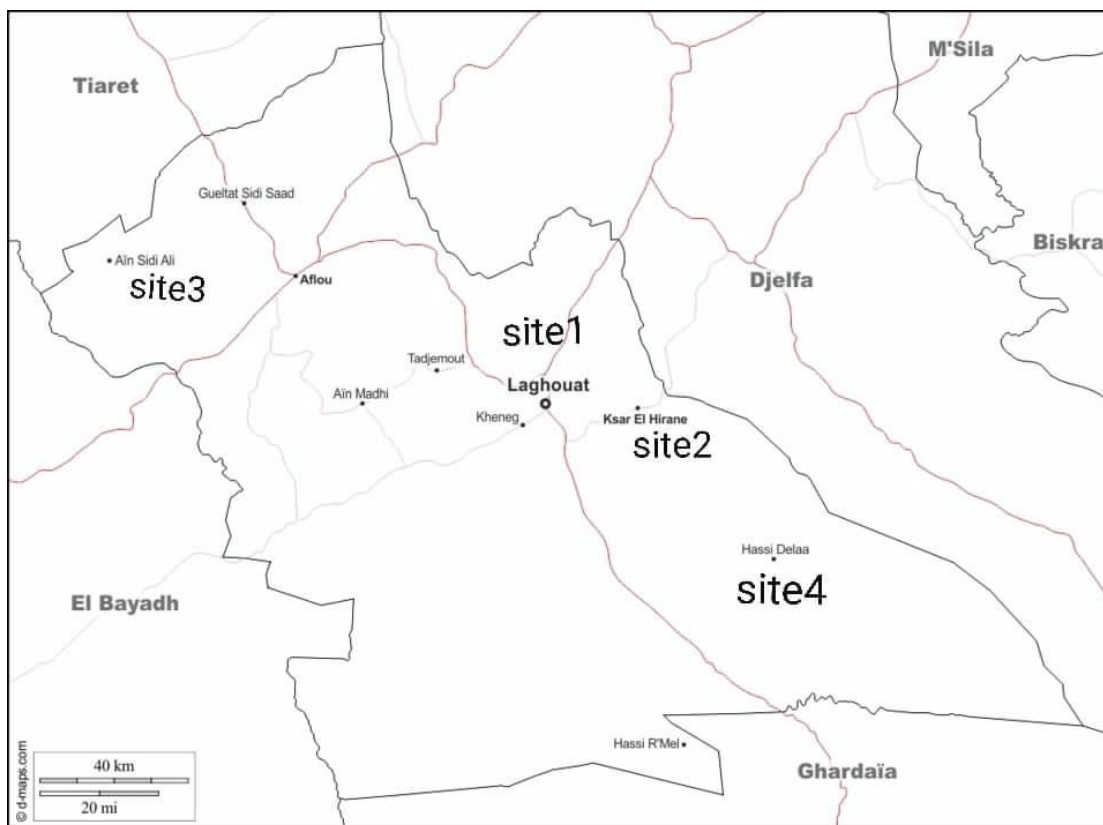


Figure 06:les quaters sites de prélèvements des sols

Matérielles et Méthodes

3- Mesure du pH :

La qualité physico-chimique du sol est importante à connaître car elle conditionne la diversité de la microflore tellurique. Dans ce cas, le pH est un paramètre à déterminer du fait de leur influence sur la composition de la communauté microbienne tellurique. La mesure du pH consiste à homogénéiser 10 g de sol dans 25 ml d'eau distillée. Après agitation, à l'aide d'un homogénéisateur pendant 15 minutes et décantation le pH du surnageant est déterminé.



figure 07: la mesure de pH

4. Phase d'enrichissement

5g de sol de surface dans 45 mL d'eau stérile. Agiter, décanté puis reprendre 5 mL de phase liquide dans 45 mL de milieu liquide de Winogradsky sans azote à 2% en glucose(Mannitol). Incuber en Erlen Meyer agité, aéré, à 30°C, avec une faible épaisseur de milieu pendant 7 jours. Voir la composition du milieu en annexe1



Figure08:phase d'enrichissement

5- méthode d'isolement :

-La première étape c'est la création d' une zone stérile par le nettoyage de la surface de travail avec l'eau de Javel. La deuxième étape est d'allumer le bec benzène et d'ajuster la flamme.

L'ensemencement est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactérienne pures à partir de la suspension enrichie .La technique la plus utilisé est la technique des stries qui consiste à étaler sur la surface de la boîte (qui contient un milieu winogradsky sans azote à 2% en glucose(mannitol)).

Les stries sont faites à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. L'étalement est réalisé selon un protocole précis. On dépose l'échantillon sur le bord de la boîte puis on étale en larges stries puis en stries serrées et à chaque fois on tourne la boîte 60 degrés et on recommence l'ensemencement. Après l'incubation des boîtes à 30°C pendant 2 à 5 jours. dans l'étuve, on observe chaque colonie bien individualisée.

Voir la composition du milieu en annexe 1

6 -méthode de purification

A partir des tubes qui contiennent les souches isolées sur le milieu PDA et GN incliné, quelques colonies sont prélevées et ensemencées à la surface du même milieu sur boîte de pétri par des

Matérielles et Méthodes

strie sérés à l'aide d'une anse de platine. Les boites sont incubées pour une durée de 2 à 5 jours à température 30°C. Voir la composition du milieu en annexe 2.

7- L'identification des *Azotobacter* : est basée essentiellement sur les examens macro- et microscopiques et certains caractères biochimiques. L'aspect des colonies sur milieux solides (forme, pigmentation et consistance) est un critère important d'identification. L'examen microscopique permet d'étudier la coloration de Gram, la forme, la taille, le mode d'association et la présence de cystes (critère fondamental dans l'identification des *Azotobacter*). Les caractères biochimiques reposent essentiellement sur la recherche de l'oxydase, de la catalase.

2.1- L'examen macroscopique :

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et la température de l'incubation.

Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

2.2- examen microscopique :

2.2.1-coloration de gram :

La coloration de Gram permet de différencier les bactéries d'après leur affinité pour les colorants. A à cet effet nous avons examiné les souches isolées par la technique classique qui consiste à :

- préparer un frottis sur une lame,
- recouvrir la lame par le violet de gentiane et laisser agir pendant 1 minute,
- verser sur la lame la solution iodée (lugol) et laisser agir pendant 30 secondes,
- décolorer la lame par l'éthanol à 95° en laissant tomber goutte à goutte l'alcool.
- laver à l'eau distillée.
- recouvrir la lame par la fuschine et laisser agir pendant 1 minute - laver à l'eau distillée.

Matérielles et Méthodes

- observer au microscope (Gx100). à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge.

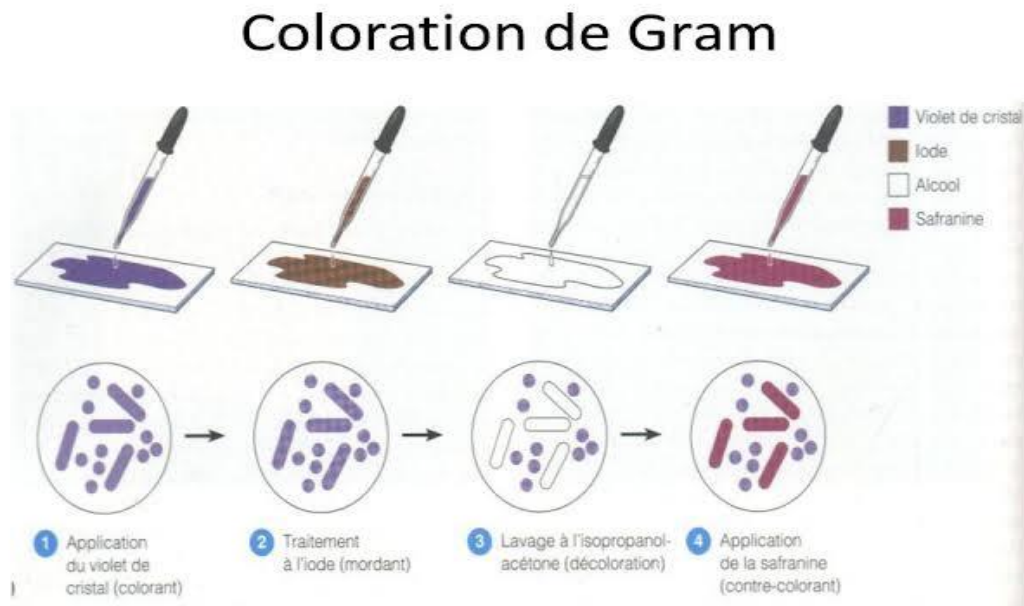


Figure 09 : les étapes de coloration de Gram

A decorative black border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns framing the central text.

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSION

caractérisation de souches de *Azotobacter* :

1-1 Analyse du sol :

Les valeurs de pH sont globalement équivalentes et de l'ordre de 7) sols cultivés semblent avoir un caractère neutre à faiblement alcalins au niveau des 04 sites.

Sites	Ph
Site01	7.94
Site02	7.52
Site03	7.34
Site04	7.23

Dans le cadre de cette étude l'analyse physico- chimique des sols a révélé que la croissance des souches de *Azotobacter* isolées de la rhizosphère est favorisée par un sol faible alcalin. Selon Dommergue et Mangenot (1970), *Azotobacter* se rencontre en grand nombre dans ces types de sol. Le nombre de cellules par gramme de sol peut atteindre des densités considérables de 10^6 à 10^7 . Leur activité est aussi favorisée par un pH élevé .(salini, 2013).

Le pH est un facteur physicochimique important dans la caractérisation des sols. En fonction du pH, les sols sont classés en sol acide, neutre ou alcalin. Les sol cultivés sont généralement caractérisés par des pH neutre , faiblement acide ou faiblement alcalin, avec des valeurs qui varient entre 4 et 9.La plupart des sols de jardin sont neutres, c'est-à-dire aux environs de pH 7(Abdslllem ,N, Latache ,N2017).

RESULTATS ET DISCUSION

2- Caractérisations morphologique et biochimique de *Azotobacter* :

La caractérisation macroscopique des colonies isolées sur gélose winogradsky montre des colonies de forme et de taille variables. Certaines sont ovales, d'autres de forme irrégulière atteignant. L'aspect des colonies est aussi différent, il peut être visqueux ou rugueux, lisse ou granulaire, les colonies sont brillantes, transparentes ou de couleur blanche, grisâtre, crème ou marron.

Examen microscopique :

coloration de gram :

Après la coloration de Gram les souches purifiées sont apparues sous forme des bacilles roses. Elles possèdent des parois à Gram négatif. Chez les bactéries à Gram négatif, l'alcool mis au contact de cellules colorées, solubilise les lipides de leur paroi. Ces derniers sont alors perdus et la paroi devenue poreuse, puis la Fushine va occuper la place des phospholipides solubilisés et donne une couleur rose .

Test catalase :

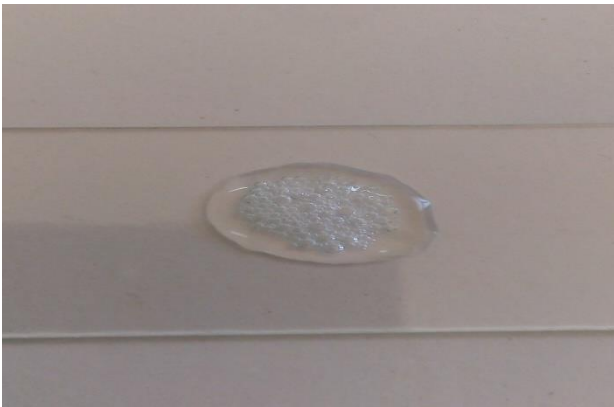
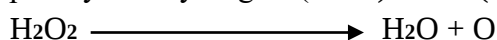
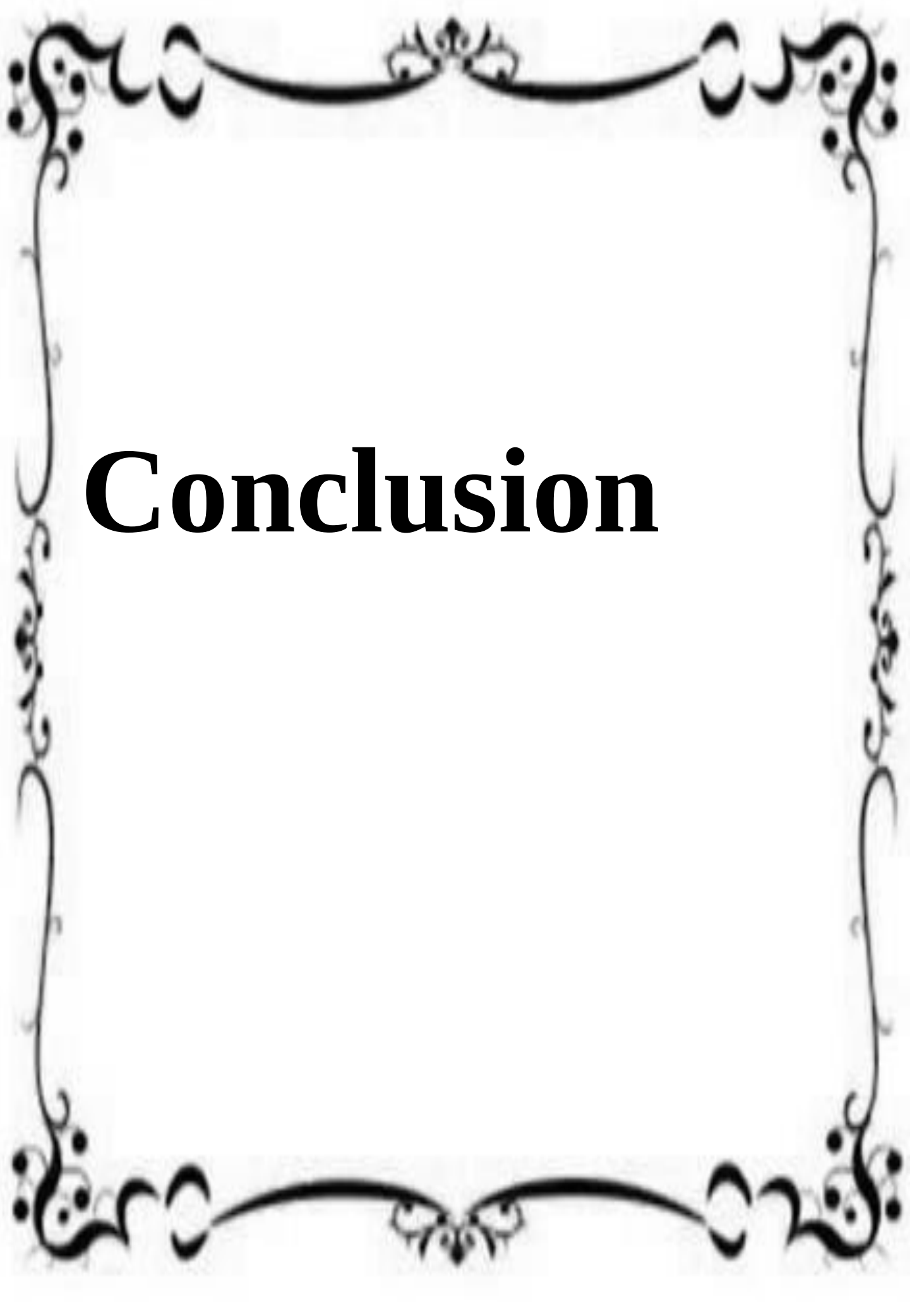


Figure 10 : teste catalase .

les bactéries d'*azotobacter* possède une catalase positive car apparue les bulles d'air. Le dégagement de bulles de gaz signifie qu'il y a une production de l'enzyme catalase et que le test est positif , la catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) en eau(H_2O) et oxygène(O_2)



A decorative black and white border with ornate floral and scrollwork patterns framing the central text.

Conclusion

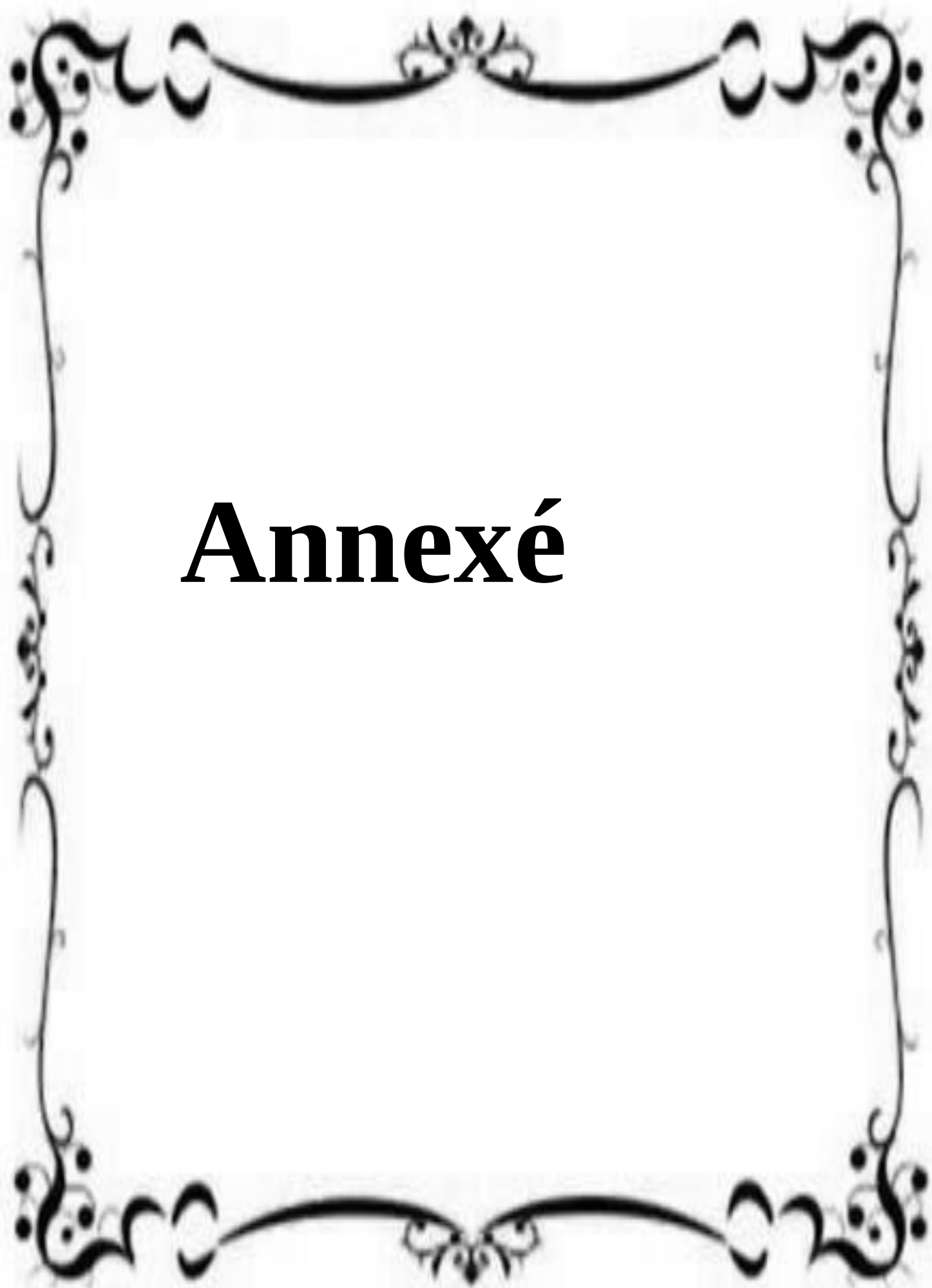
Conclusion

Conclusion

Les microorganismes (bactéries et champignons) sont essentiels dans les fonctions clés du sol. Ils sont nécessaires pour la minéralisation de la matière organique et contribuent à une meilleure structure du sol. Les matières organiques doivent être minéralisées pour être assimilables par les plantes. Les microorganismes utilisent, pour leurs ressources nutritives, les matières organiques du sol. Celles-ci dégradées et des éléments minéraux sont libérés. Ils sont ainsi accessibles aux plantes dans le sol. Cela concerne l'azote.

L'azote est un élément essentiel à la croissance et au développement des plantes. On le trouve principalement sous forme organique dans le sol et sous forme moléculaire N_2 dans l'atmosphère. La disponibilité d'azote sous forme assimilable nécessite l'introduction de microorganismes. Ces microorganismes capables de transformer l'azote atmosphérique en ammonium sont essentiellement des bactéries fixatrices d'azote par des mécanismes non symbiotiques parce qu'elles vivent librement dans le sol comme l'azotobactérie, cette bactérie utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase.

Les stratégies actuelles de gestion des sols dépendent principalement des engrais chimiques inorganiques, ce qui constitue une menace sérieuse pour la santé humaine et l'environnement. Par conséquent, l'exploitation de microbes bénéfiques comme engrais biologique est devenue primordiale dans le secteur agricole en raison de leur rôle potentiel dans la sécurité alimentaire et la production agricole durable. L'application d'*Azotobacter* spp. dans le domaine agricole comme bio-fertilisant a été multipliée par son rôle en raison de sa capacité à fixer l'azote et par la production de diverses substances de croissance dans le sol. Leurs effets sur la plante ont considérablement amélioré la production agricole et leur rôle ouvre la porte pour répondre à la demande de nourriture pour une population toujours croissante. Étant des bactéries du sol, elles synthétisent les auxines, les cytokinines et les substances de type GA, et ces matières de croissance sont les substances primaires contrôlant la croissance améliorée. Ces substances hormonales, qui proviennent de la rhizosphère ou de la surface des racines, augmentent la minéralisation des nutriments dans le sol et ainsi profitent à la culture de plusieurs manières.

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs at the corners and midpoints of each side.

Annexé

ANNEXE

base minérale concentrée de **winogradsky sans azote** :

-KH₂PO₄ 50g/L,

-MgSO₄ 7H₂O 25 g/L,

-NaCl 25 g/L,

-FeSO₄ 7H₂O 1,0 g/L,

-Na₂MoO₄ 2H₂O 1g/L,

-MnSO₄ 4H₂O 1g/L,

-0,1 g de CaCO₃ +

- pH 7,2.

ANNEX2

-Potato Dextrose Agar (PDA) :

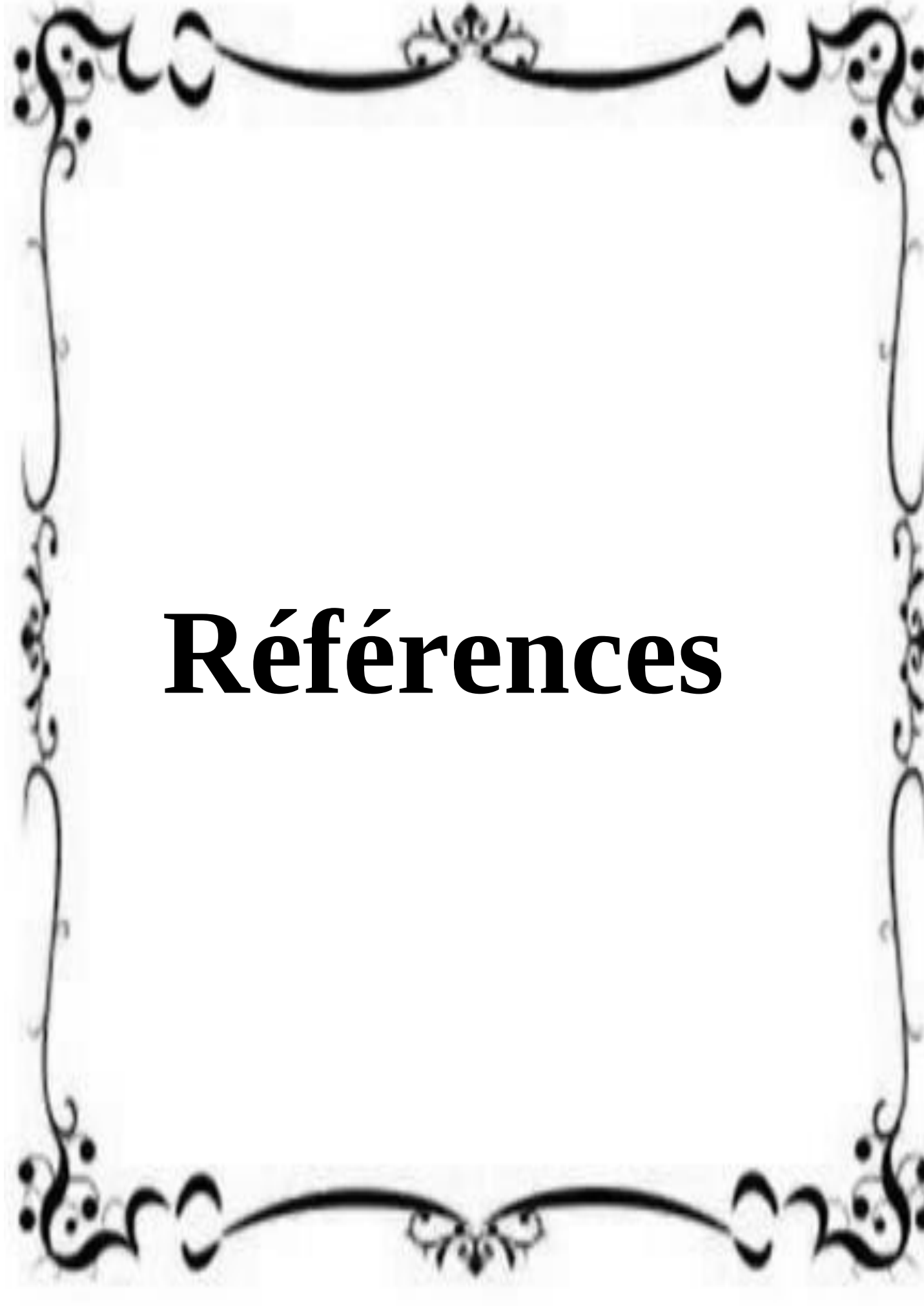
Pomme de terre :250g

Glucose :20g

Agar :15g

Eau distillée : litre

pH: 5.1 ± 0.2

A decorative black and white border with ornate floral and scrollwork patterns, framing the central text.

Références

Références

- **A.Boulanger. (2009).** Analyse d'un nouveau système CUT impliqué dans l'acquisition et l'utilisation du N-acétylglucosamine par *Xanthomonas campestris pathovar campestris* Université de Toulouse, 2-4p.
- **Abdeslam, N., Latache, N. (2017).** identifications et caractérisations des bactéries à partir de différents sols thèse master, université tlemcen .p
- **Ahmad, F., I. Ahmad et M.S. Khan (2005).** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. J. Biol.*, **29**: 29-34.
- **Ahmed, D. (2011).** isolement et caractérisation des bactéries noduleuses des légumineuses en dérivées des genres *Genista* et *Argyrolobium*, , these Magister, Université de Tébessa, p.19
- **Aline, N. (2011).** Distribution, spéciation, impact et transfert du cuivre dans un sol sous vigne : rôle de la structuration spatiale et du statut organique, Thèse ; docteur. l'université de Grenoble, p 11.12
- **Ameur, H. (2014).** Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride, thèse doctorat, université Ferhat Abbas sétif, p 3.
- **Amir, H.G., Z.H. Shamsuddin, M.S. Halimi, M. Marziah et M.F. Ramlan (2005).** Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. *Commun Soil Sci Plant Anal* **36**:2059–2066.
- **Anoua, B., Jaillard, B., Ruiz, J., Bénét, J. C., et Cousin, B. (1997).** Couplage entre transfert de matière et réactions chimiques dans un sol. Partie 2: Application à la modélisation des transferts de matière dans la rhizosphère. *Entropie*, **33**(207), 13-24.
- **BAIZE D, 2000.** Guide des analyses en pédologie. 2ème Ed. Rev et augmentée. INRA, Paris. 255p.
- **-Barber, D.A. et J.K. Martin (1976).** The release of organic substances by cereal roots to soil. *New Phytol.*, **76**: 69-80.
- **Benahm, M. (2017).** effet des précipitations sur la distribution du Zn et du Pb issus de retombées atmosphériques dans le sol : cas de la fonderie de Tiaret (Alfét), université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès. P12.

Références

- Benticha ,M ; Tamma,Dj.(2017) :Etude l'effet de bois raméal fragmenté BRF et matière organique sur évolution des propriétés microbiologiques de sol sableux (El- Oued) et sur la croissance de pomme de terre (var. Spunta). Thèse Master, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED ,
- **BLANC D.**, 1985. Les cultures hors sol. INRA. Ed louis. Paris 409 p
- **Brenner, D. J., R.N. Krieg et J.T. Staley(2005).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1st ed., Michigan State University publishers, pp. 384-402.
- **Burger, M., Jackson, L.E., (2003).** Microbial immobilization of ammonium and nitrate in relation to ammonification and nitrification rates in organic and conventional cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 29-36.
- **CALVET J., 2003.** Le sol propriétés et fonction contribution et structure, phénomènes aux interfaces (tome 1). édition France agricole. 88p
- **Calvet ,R. (2013).** le sol ,2emé Ed . edution France agricole .
- **Campbell R. and Greaves M. P. (1990).** Anatomy and community structure of the rhizosphere. In the rhizosphere. Lynch I. M. (Ed). Wiley Series in Ecological and Applied Microbiology. 11-34p.
- **Campbell, R.,et M.P. Greaves (1990).** Anatomy and community structure of the rhizosphere in The Rizosphere (ed. J.M. Lynch), John Wiley & Sons, Ltd, Essex, pp. 11–34.
- **Cheng, Q.** 2008. "Perspectives in biological nitrogen fixation research". *Journal of Integrative Plant Biology* 50(7): 786-798.
- **CHRISTIAN S, MULLER J-C, DECROUX J. 2005.** Guide de la fertilization raisonnée. Ed. France Agricole. pp105-142.
- **Clémentine, L.(2013) .** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes, au sein de larhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale,these ,doctrat ,l'université de bourgogne ecole doctorale environnements-santé. p 30.
- **Diehl, R., 1974.** Agriculture générale .Ed.J.B ,Baillère, Paris,396 p. Dingman, S.

Références

- **Dixon, R. et D. Kahn. (2004).** Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews. Microbiology*. 2:621-631.
- **Dommergues, Y., 1977.** 2ème éd La biologie des sols, Ed. Que sais-Je ?, Presse Universitaire France.
- **DOUCHAUFOR P., 1994.** Pédologie: sol, végétation, environnement. MASSON éditeur 120, boulevard saint germain 72380 paris cedex 06
- **Duchaufour, PH. (1980).** Ecologie de l'humification et pédogenèse des sols forestiers in pesson (P), Edit ,Gautiers ,Villars , pp 177-200.
- **Duchaufour, PH. (1985).** La fertilité du sol: le point de vue du forestier. Le point de vue de
- **Elmholt, S., 1991.** Side effects of propiconazole (tilt 250 ECTM) on non-target soil fungi in a field trial compared with natural stress effects. *Microbial Ecology* 22, 99-108. –
- *Encyclopedia of Soil Science.* CRC Press.
- **Epstein E., (1972) .** Mineral nutrition of plants: Principles and Perspectives. John Wiley, New York.
- **FAOSTAT, 2010.** L'alimentation et l'agriculture (FAO). *FAOSTAT* .
Disponible en ligne à : <http://faostat.fao.org/default.aspx>
- **Feller, C., & Beare, M. H. (1997).** Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma*, 79(1), 69-116.
- **Ferguson, S. J. 1998.** Nitrogen cycle enzymology. *Bio-inorganic Chemistry, Current Biology*. 2: 182-193.
- **Foth ,H.D, 1990 -** Fundamentals of soil science. Henry, D. Foth., Ed. John Wiley et Son New York. 336p.
- **Gallali, T. (1980).** Transfert sels- matière organique en zones arides méditerranéennes. Thèse Doct., INPL, Nancy, 202p
- **Giller, K. E., Beare, M. H, Lavelle P., Izac A. M. N., Swift, M. J., 1997.**
Agricultural, soil biodiversity and agroecosystem function. [Applied Soil Ecology](#) 1,316.
- **Glick, B.R., C.L. Patten., G. Holguin, et D.M. Penrose (1995).** Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria *Imperial College*

Références

Press, London.

- **Gros A.,(1967)** .Engrais –Guide pratique de la fertilisation. Ed. La maison Rustique Paris France.430 p.
- **Guenoune , S.(2009)**. Biodégradation de monochlorophénols par le microbiote tellurique de la plaine d'El Harrouch, mémoire magister, Université Mentouri Constantine, p3.
- **Halitim A., (1988)** . Sols des régions arides d'Algérie. O.P.U., Alger, 384 p.
- **Hallman, J., A. Quadt-Hallman, W.F. Mahaffee et J.W. Kloepper (1997)**. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*,43: 895-914.
- **Haynes R.J., 1986** - Origin, distribution and cycling of nitrogen in terrestrial ecosystems. In Mineral nitrogen in the plant – Soil system R.J Haynes (Ed 1 -15) Acad. Press Orlando NRA, Paris 113-121.
- Hirendra Kumar Das (2019) ,Azotobacters as biofertilizer, Jawaharlal Nehru University, New Delhi, India, Advances in Applied Microbiology, Volume 108,p3
- **Hodge, A., Robinson, D., Fitter, A., (2000)**. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trend in Plant Science* 5, 304-308.
- [Http://dspase.univer-mslla.dz](http://dspase.univer-mslla.dz)
- **Huang, J.K., Hu, R.F., Rozelle, S., Pray, C., 2005**. Insect resistant GM rice in farmers' fields: Assessing productivity and health effects in China. *Science* **308**, 688-690.
- **Huber ,Gerald , Schaub Christiane (2011)** : Guide des fertilisants azotés utilisables en bio
- **Ishii, H., 2006**. Impact of fungicide resistance in plant pathogens on crop disease control and agricultural environment. *Japan Agricultural Research Quarterly* **40**, 205-211.
- **Islam, K.R. and Wright, S.R., 2006**. Microbial communities. In: R.R. Lal (Editor), *J. Sci. Technol. Agric. Nat. Resources*, **11**: 297.).
- **J.F.,1990** – Effet d'une limitation en N sur la photosynthèse .
- **Jackson, L.E., Schimel, J.P., Firestone, M.K., (1989)**. Short-term partitioning of ammonium and nitrate between plants and microbes in an annual grassland. *Soil Biology* &

Références

- Biochemistry 21, 409-415.
- **Jocelyn ,M.(2006)**, *épandage postrécolte des engrais organiques et risques environnementaux reliés aux pertes d'azote* , agronomes du québec,p9
 - **Kalaigandhi V, Kannapiran E, Harimuraleedharan, et al.** Azotobacter population in Rhizosphere and Non–Rhizosphere sediments of Tondi Coast. *International Journal of Biological Technology*. 2010;1(1):63–65.
 - **Kaye, J.P., Hart, S.C., (1997)**. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution* 12, 139-143.
 - **-Kizilkaya R.** Nitrogen fixation capacity of *Azotobacterspp.* Strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. *J Environ Biol*. 2009;30(1):73–82.
 - **Kloepper, J W. (1993)**. Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control agents, In: *Soil Microbial Ecology*, (Ed.) F.B. Jr., Metting . Marcel Dekker inc., N.Y. p. 255-273.
 - **Kloepper, JW. et C. J. Beauchamp (1992)**. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38, 1219–1232.
 - **Kloepper, JW., R. Litshitz et R.M. Zablotowicz (1989)**. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39–43.
 - **KOLLER E., 2004**. Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol, boues). Edition DUNOD paris. PP277-347.
 - **Konate , I. (2007)** . Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier(*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Université Mohammed V-Agdal Faculté des sciences, Rabat.
 - **Korsaeth, A., Molstad, L., Bakken, L.R., (2001)**. Modelling the competition for nitrogen between plants and microflora as a function of soil heterogeneity. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 215-226.
 - **Krafczyk, I., Trollenier, G., et Beringer, H. (1984)**. Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 16(4), 315-322.
 - l'agronome. Comptes Rendus des Seances de l'Academie d'Agriculture de France.
 - **Lakhab, Riadh.2012** : effet de la fertilisation azotée sur la culture du blé dur

Références

- (*triticum durum* desf.) variété « bousselam » et sur la décomposition de la matière organique en semis direct dans la region semi-aride de sétif. ,mémoire magister université ,ferhat abbas sétif,p 19.20.21.
- **Lamaze T.; Khamis S.; Foyer C.; Farineau J.; Valadier M.H. et Morot–Gandty**
 - **Lynch, J.M. (1990).** The Rhizosphere. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
 - **Madigan M., Martink J., (2007).** Brock Biologie des microorganismes 11e edition. Edition Person Education France. p 599 - 601, 676 - 681.
 - **Madkour, M.A., L.T. Smith et G.M. Smith (1990).** Preferential osmolyte accumulation: A mechanism of osmotic stress adaptation in diazotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**:2876-2881.
 - **MATHIEU C et PIELTAIN F, 2003.** Analyse chimique des sols. Edition tech et doc. Lavoisier. Paris. pp 65-66.
 - **Munees,Ahemad.,MulugetaKibret ,(2013).**Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of King Saud University – Science, January Volume 26, Issue 1, P 1–20.
 - **N.belaid, M.cherifi, L.tebani. (2013).** Etude de la production de l’acide-3-indole acétique et de l’activité antifongique d’une souche de *Pseudomonas fluorescens* isolée à partir de la rhizosphère du blé de la wilaya de Guelma, 1p.
 - **Oustani, M., (2006).**Contribution à l’étude de l’influence des amendements organiques (fumier de volailles et fumier de bovins) sur l’amélioration des propriétés microbiologiques des sols sableux non salés et salés dans les régions Sahariennes (Cas de Ouargla), Mémoire de Magister en Agronomie, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 187p.
 - **Paul, E.A., et F.E. Clark (1996).** Soil Microbiology and Biochemistry, 2nd Edition. Academic Press, New York
 - **POUSSET J., 2002.** Engrais vert et fertilité des sols, 2émé ed . Agri-décisions, paris.
 - **Prescott, C.E., Chappell, H.N. and Vesterdal. L., 1999.** Nitrogen turn- over in

Références

- forest floors of coastal Douglas-fir along a gradient in soil nitrogen capital. Ecology (In press).
- **Rahmoune, C., Maalem, S., Kadri, K., & Bennaceur, M. (2008).** Etude de l'utilisation des eaux fortement salées pour l'irrigation des plantes du genre *Atriplex* en zones semi arides. *Revue des régions arides*, (21), 924-929.
 - **Rajaee, S., H.A Alikham et F. Raiesi (2007).** Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat.
 - **Ramdane, Iman. Boukarana, Iman.K. 2016.** Sélection des souches rhizobiennes efficaces, autochtones de la région de Ghardaïa, nodulant la luzerne (*Medicago sativa* L.). Mémoire Master Académique. Université Kasdi Merbah. Ouargla. p.95
 - **Rees, D. C. et J. B. Howard. (2000).** Nitrogenase: standing at the crossroads, Elsevier Science. 4: p559-566.
 - **Robert M., 1996 .** Le sol : Interface dans l'environnement, ressource pour le développement. Masson, Paris, 241 p.
 - **Robert, M., Chenu, C., 1992.** Inter-actions between microorganisms and soil minerals, In :
 - **Roger P., (1996).** La fixation biologique de l'azote: quelles potentialités pour le développement? Conférence débat de l'ORSTOM. Paris Xe France.
 - **ROGER P., DOMMERGUES Y., BALANDREAU J., DREFUS B., SOUGOUFARA B. 1996.** La fixation biologique de l'azote, quelles potentialités pour le développement ? 2.
 - **Sarag, H. (1980).** Essai de caractérisation de la matière organique dans quelques sols du nord de l'Algérie, Ann, agro, (El harrach), Vol VI, N° 2, pp: 33-35
 - **Sigg, L., Behra, P. & Stumm, W. (2001).** Chimie des milieux aquatiques chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. 3^{edn}. Dunod, Paris.
 - **Silini, A. (2013).** Effets des molécules Osmoprotectrices sur la survie et l'activité de *AZOTOBACTER* et sur la croissance de blé dur en milieu salin, Thèse de Doctorat En Sciences, université ferhat Abbas sétif. P22.

Références

- **Stephanie A. E., John A. B., Thomas M. S., (2007).** Isolation and characterization of soil Bacteria That Define Terriglobus gen. nov; in the phylum Acidobacteria *Applied and environmental microbiology*, 73: 2708-2717.
- **Stevensen J.F., (1984)** -Humus chemistry, genesis, composition, reactions, John Wiley et Son, New York. is In : Physiologie et production du maïs.
- **Stotzky, G., Bollag, J.M. (Eds.),** Soil Biochemistry. Marcel Dekker, New York, pp. 307-404.
- **Tourte Y., Bordonneau M.,et Tourte C., (2005).** Le monde des végétaux. Edition Dunod, Paris.
- **Van Peer, R., G.J. Niemann et B. Schippers (1991).** Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*, 81: 728–734.
- **Vessey, J.k. (2003),** Plant growth promoting rhizobacteria as bio-fertilizers. *Plant Soil* p255, 571-586.
- **Vilain.M(1997).** Production végétale. Vol 2. Ed. Lavoisier. Tech et doc. 449p.
- **Voisard, C, C. Keel, D Haas, et G. Defago (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO J.*, 8: 351-358.
- **White, J., Prell, J., James, E.K., Poole, P., 2007.** Nutrient sharing between symbionts. *Plant Physiology*.144(2): 604–614.
- **Zahir, ZA, M.Arshad et WT. Frankenberger (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Adv. Agron.*, 81, 97-168.