



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**



**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : Biotechnologie**

**OPTION : Biotechnologie Végétale**

**Thème**

Effet de l'AIA produit par les bactéries  
rhizosphériques sur la germination de quelques  
espèces végétales de Fabaceae et Lamiaceae

**Présentée par :**

**MESSAI Salsabil et HAMLAOUI Souria**

*Soutenu le 22 / 06 / 2024*

**Devant le jury composé de :**

<b>Président</b>	<b>Dr. Benhizia. T</b>	<b>MCA</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Encadrant</b>	<b>Dr. Bouziane. Z</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>Dr. Benchelali. S</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>

**Année universitaire 2023/ 2024**

## الاهداء

من قال لها نالها وان ابنت رعم عنها اتيت بها لم تكن الرحلة قصيرة ولم تكن الطريق سهلة ولكنني فعلتها و هذا بفضل الله فالحمد لله حبا و شكرا و امتنانا الذي بفضلله ها انا اليوم انظر الى حلما طال انتظاره و قد اصبح واقعا افتخر به

في رحلتي هذه الطويلة والصعبة هناك من ساهم في مساعدتي في تخطي هذه الصعوبات والقليل من ساهم في زيادتها وهم الذين لا يستحقون الشكر ولا الاحتفال معي بهذا اليوم

اهدي تخرجي هذا الى ملاكي الطاهر وقوتي بعد الله داعمتي الاولى و الأبدية خالتي اهديك هذا الإنجاز الذي لولا تضحياتك لما كان لها وجود ممتنة لان الله اصطفاك لي من البشر يا خير سند و عوض والى زوج خالتي عثمان صالح رحمة الله الذي كان بمثابة اب لي وبعدها الى امي و ابي رحمهم الله و الى اخوي ضياء الحق و صالح و أولاده إسحاق و منيب و الى اختي حبيبيتي و أولادها انيس و اسراء و ابنت خالي منى فشكرا لدعمكم لي

الى صديقاتي العزيزات

شيماء وامال ورفيدة في هذه الحظة المميزة التي احتفل فيها بنجاحي وتخرجي لا يسعني الا ان . اشكركن على كل الدعم و المحبة التي قدمتها لي والى شريكتي في هذه الرحلة صورية و التي تخطينا هذه العراقيل معا شكرا لكل الضحكات و المساندة و الذكريات الجميلة التي شاركتني اياها

الى الاستاذة زهيرة بوزيان و الى الام الثانية لنا شكرا على دعمك لنا طوال فترة انجاز هذه المذكرة و شكرا على ثقتك بنا و على كل ما قدمته لنا ادامك الله شمعة تنير الأجيال القادمة ولا انسى أيضا الأستاذ بن حيزية توفيق الذي كان سند و داعم لنا طوال هذا العام لم تكن مجرد أستاذ لي بل كنت مرشدا و موجها لنا و في يوم تخرجي اشعر بالفخر و الامتنان العميق لكل ما تعلمته منك لا يسعني الا ان أقول شكرا جزيلاً على كل شيء

## الإهداء

لى من كان لهم الفضل بعد الله في وصولي إلى هذه اللحظة المميزة في حياتي،

إلى أمي العزيزة، نبض قلبي ومصدر قوتي، شكراً لك على دعمك المستمر، صبرك، وتضحياتك التي لا تُعد ولا تُحصى

إلى أبي الغالي، مثلي الأعلى وقدوتي، شكراً لك على إيمانك بي وتشجيعك لي طوال الطريق

إلى جدي وجدتي الحبيبين، شكراً لكم على حبكم ودعمكم الذي لا يتوقف

إلى أخوي إسحاق ويعقوب وأختي رفيف، أهدبكم تخرجي هذا بكل حب، فأنتم دائماً مصدر دعمي وإلهامي. أحبكم كثيراً

إلى ابنة عمي العزيزة ربهام، أهدبك تخرجي هذا تعبيراً عن امتناني لوجودك الدائم بجانبني ودعمك المستمر. محبتك تعني

لي الكثير

إلى عمتي العزيزة، حبك يسكن قلبي دائماً وأنت مصدر الفرح والطمأنينة في حياتي

إلى صديقتي المقربة سلسبيل، شكراً على شراكتك ودعمك في مذكرة التخرج، لم أكن لأتمكن من ذلك بدونك، احبك

إلى أصدقائي الأعزاء امال و رفيدة و شيماء ، شكراً لكم على ذكرياتنا الجميلة، وقوفكم بجانبني، ومساندتكم لي في كل

خطوة

إلى الأستاذة الفاضلة بوزيان زهيرة، لقد كان لدعمك وتوجيهاتك الأثر البالغ في تحقيق هذا النجاح. شكراً لك على كل

الجهود المبذولة. هذا الإنجاز هو ثمرة توجيهاتك السديدة وحرصك الدائم على تطويرنا علمياً وأخلاقياً

هذا الإنجاز هو ثمرة جهودكم ومحبتكم، وأهديه لكم من أعماق قلبي

صورية

## ***Remerciements***

Tout d'abord, nous remercions Dieu qui nous a aidés à terminer nos études et nous a donné le courage de réaliser ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent à notre promotrice Madame Bouziane Zahira pour ses efforts tout au long de l'année académique, pour son respect et son écoute, les mots manquent pour exprimer à quel point elle s'est sacrifiée pour nous.

Nous exprimons nos remerciements à : Madame Benchelali. S et Monsieur Benhizia. T d'avoir honoré notre demande de faire partie du jury de soutenance.

Nos vifs remerciements vont à Melle Fares R. pour son aide, sa collaboration précieuse et sa gentillesse au moment de la partie microbiologique. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Nos remerciements s'expriment également à Mr Fercha et Mr. Rahal. K, pour leurs conseils et encouragements.

Nous exprimons également nos remerciements à Mr. Yattous Salah pour les graines de l'espèce *Teucrium polium* L., fournies.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés, de près ou de loin, à l'achèvement de ce travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

## Résumé

Ce travail étudie l'effet du priming sur la germination des graines de *trifolium subterraneum* L et *Teucrium polium* L. Les surnageant de six souches d'actinobactéries (G1A, G1B, B3, C1A, C1B, C3A), à différentes concentrations en Acide indole acétique (AIA) ont été utilisées. Les graines sans priming ont montré de faibles taux de germination chez les deux espèces. Cependant, toutes les graines ont réagi positivement aux à tous les primings à base des souches d'actinobactéries utilisés. L'analyse de variance a révélé un effet significatif des primings utilisés sur la germination et la croissance chez *T. subterraneum* et uniquement significatif sur la germination chez *T. polium*. Le meilleur taux de germination (80%) a été constaté chez les graines ayant été amorcées dans le surnageant de la souche B3 chez *T. subterraneum* et 24.24% chez les graines de *T. polium* amorcées par le surnageant de la souche G1A. Résultats encourageant pour utiliser le potentiel de ses souches dans l'amélioration de la germination et la croissance des espèces et la fabrication de biostimulant.

**Mots clés :** Acide indole acétique, croissance, germination, priming, *Teucrium polium* L, *Trifolium subterraneum* L.

## **Abstract**

This study investigates the effect of priming on seed germination in *Trifolium subterraneum* L. and *Teucrium polium* L. The supernatants of six action bacteria strains (G1A, G1B, B3, C1A, C1B, C3A) at different indole acetic acid (IAA) concentrations were used. Seeds without priming showed low germination rates in both species. However, all seeds reacted positively to all priming based on the action bacteria strains used. Analysis of variance revealed a significant effect of the priming used on germination and growth in *T. subterraneum*, and only a significant effect on germination in *T. polium*. The best germination rate (80%) was observed in *T. subterraneum* seeds primed with B3 strain supernatant, and 24.24% in *T. polium* seeds primed with G1A strain supernatant. Encouraging results for using the potential of these strains to improve germination and growth of species and manufacture bio stimulants.

**Key words:** Indole acetic acid, growth, germination, priming, *Teucrium polium* L, *Trifolium subterraneum* L.

## ملخص

تبحث هذه الدراسة في تأثير التهيئة على إنبات البذور في بذرتي تريفوليوم سوبترانيوم ل وتيوكريوم بوليوم ل. استُخدمت بتركيزات (G1A، G1B، B3، C1A، C1B، C3A) سوائل طافية لست سلالات من البكتيريا الأكتينوبكتيرية أظهرت البذور بدون تحضير معدلات إنبات منخفضة في كلا النوعين ومع ذلك، فقد تفاعلت جميع البذور بشكل إيجابي مع جميع عمليات التهيئة بناءً على سلالات البكتيريا الشعاعية المستخدمة. كشف تحليل التباين عن وجود تأثير كبير *T. polium*، وتأثير كبير فقط على الإنبات في *T. subterraneum* للبرايمر المستخدم على الإنبات والنمو في *T. الطافية*، و24.24% في بذور B3 المهيأة بسلالة *T. subterraneum* ولوحظ أفضل معدل إنبات (80%) في بذور الطافية. نتائج مشجعة لاستخدام إمكانات هذه السلالات لتحسين إنبات ونمو الأنواع G1A المهيأة بسلالة *polium*. وتصنيع المحفزات الحيوية

**الكلمات الرئيسية:** حمض الإندول الأسيتيك، النمو، الإنبات، التهيئة، بذور تيوكريوم بوليوم ل، تريفوليوم سوبترانيوم .

## Table des Matières

Résumés  
Liste des Figures  
Liste des Tableaux

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

### *Chapitre 1: Synthèse bibliographique*

1. Famille des Fabaceae, genre <i>Trifolium</i> et espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	3
1.1 Famille des Fabaceae .....	3
1.2. Genre <i>Trifolium</i> .....	4
1.3 L'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L .....	4
1.3.1 Taxonomie .....	5
1.3.2 Description botanique .....	5
1.3.3 Origine géographique.....	6
1.3.4 Importance et utilisation.....	7
2. Famille des Lamiaceae, genre <i>Teucrium</i> et espèce <i>Teucrium polium</i> L.....	7
2.1 Famille des Lamiaceae .....	7
2.2 Genre <i>Teucrium</i> .....	9
2.3 L'espèce <i>Teucrium polium</i> L.....	10
2.3.1 Taxonomie.....	10
2.3.2 Description botanique .....	10
2.3.3 Utilisation médicinales et pharmacologiques .....	11
3. Les Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes .....	12
3.1 Production hormones .....	13
3.1.1 Acide Indole Acétique AIA.....	13

### *Chapitre 2: Matériel et Méthodes*

2.1 Matériel Végétal.....	15
2.2 Méthodes .....	15

2.2.1 Production de l’auxine (Acide Indole 3 Acétique, AIA).....	15
2.2.1.1 Matériel Biologique .....	15
2.2.1.2 Production et dosage de l’AIA.....	16
2.2.2 Traitement des graines (priming).....	17
2.2.2.1. <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	17
2.2.2.2 <i>Teucrium polium</i> L.....	17
2.2.3 Test de germination.....	18
2.2.4 Essai de croissance <i>In vitro</i> .....	19
2.2.5 Paramètres mesurés.....	20
2.2.6 Traitements statistiques.....	21

### ***Chapitre 3: Résultats et discussion***

3.1 Résultats	22
3.1.1 Variation du pourcentage de germination.....	22
3.1.1.1 <i>Trifolium subterraneum</i> .....	22
3.1.1.2 <i>Teucrium polium</i> .....	23
3.1.2 Variation des paramètres de croissance.....	24
3.1.2.1 Longueur des racines.....	24
3.1.2.2 Longueur de la partie aérienne .....	27
3.2 Discussion	28
Conclusion .....	31
Références.....	32
Annexe	

## Liste des Figures

N°	Titre	Pages
1	Caractéristiques botaniques de <i>Trifolium subterraneum</i> L. A, B, C, D, E: plante entière, feuilles, stipules, fleurs et infrutescences.	6
2	Répartition géographique du trèfle souterrain dans le monde.	6
3	Répartition géographique des Lamiaceae.	8
4	Quelques espèces de Lamiaceae: A, <i>Ocimum basilicum</i> 'Glycyrrhizum (Site 2); B, <i>Leonotis leonurus</i> 'Alba'.	9
5	Morphologie de l'espèce <i>Teucrium polium</i> L.	11
6	Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère.	13
7	Structure de l'acide indole acétique (AIA).	14
8	Différentes voies de biosynthèse de l'AIA.	14
9	Échantillons des espèces étudiées. A: <i>Trifolium subterraneum</i> L., <i>Teucrium polium</i> L.	15
10	Révélation de la synthèse de l'AIA par les souches d'actinobactéries.	16
11	Courbe étalon standard de l'AIA.	16
12	Synthèse de la gibbérelline par les actinobactéries étudiées	17
13	Priming des graines de <i>Teucrium polium</i> et <i>Trifolium subterraneum</i> avec les surchargeants bactériens contenant de l'AIA.	18
14	Mise en germination des graines de <i>Trifolium subterraneum</i> L.	18
15	Mise en germination des graines de <i>Teucrium polium</i> L.	19
16	Transfert des graines germées de <i>Trifolium subterraneum</i> sur milieu MS en conditions contrôlées.	19
17	Transfert des graines germées de <i>Teucrium polium</i> sur milieu MS en conditions contrôlées.	19
18	Variation du pourcentage de germination (%) en fonction des traitements à base d'AIA.	22

<b>19</b>	Germination des graines de <i>Trifolium subterraneum</i> après priming avec différentes concentrations d'AIA provenant des souches d'Actinobactéries testées après 5 jours d'incubation.	<b>23</b>
<b>20</b>	Variation du pourcentage de germination (%) en fonction des traitements à base d'AIA chez <i>Teucrium polium</i> L.	<b>24</b>
<b>21</b>	Germination des graines de <i>Teucrium polium</i> traitées avec différentes concentrations d'AIA provenant des souches d'Actinobactéries testées après 30 jours d'incubation.	<b>24</b>
<b>22</b>	Variation des longueurs des racines en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez <i>Trifolium subterraneum</i> L.	<b>25</b>
<b>23</b>	Allongement des racines et développement de racines secondaires de <i>T. subterraneum</i> sur milieu MS en conditions contrôlées.	<b>25</b>
<b>24</b>	Variation des longueurs des racines en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez <i>Teucrium polium</i> L.	<b>26</b>
<b>25</b>	Développement des racines de <i>T. polium</i> sur milieu MS en conditions	<b>26</b>
<b>26</b>	Variation des longueurs des parties aériennes en fonction des traitements à base d'AIA actinobactériens chez <i>Trifolium subterraneum</i> L.	<b>27</b>
<b>27</b>	Développement des parties aériennes et apparition la première feuille simple et première trifoliée chez quelques plantules de <i>T.subterraneum</i> .	<b>27</b>

## Liste des Tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Concentrations de l'AIA synthétisées par les souches d'actinobactéries isolées.	<b>18</b>
<b>2</b>	Composition du milieu Murashig et Skoog (1962).	<b>20</b>

# *Introduction*

## Introduction

La nécessité d'améliorer la qualité des semences est devenue un besoin nécessaire et primordial. Afin de faire face aux attentes agronomiques actuelles et futures, obtenir une levée rapide et uniforme des plantules est un point clé pour la performance des cultures, c'est une tentative qui remonte aux anciens Grecs (Everari, 1984).

Osburn et Schroth (1989) estiment que des taux de germination lents exposent souvent les plantules à des conditions environnementales défavorables. Le recours à la technique de priming peut être une bonne alternative afin de remédier aux contraintes environnementales, qui affectent négativement le processus de germination. C'est un traitement de pré-semis qui conduit à un état physiologique stable, améliore la qualité des semences et permet aux graines de germer plus efficacement (Lutts *et al.*, 2016).

Toutes graines soumises à l'amorçage présentent des taux de germination accrus qui se traduisent par des niveaux élevés de résistance aux stress biotique et abiotique et une amélioration du rendement des cultures. Aussi, le vieillissement des graines est réparé par cette technique (Butler *et al.*, 2009). L'effet du priming est directement corrélé à la vigueur des semences, considérée comme un trait agronomique complexe contrôlé par de multiples facteurs génétiques et environnementaux (Lutts *et al.*, 2016).

La zone entourant les racines des plantes, appelée rhizosphère, abrite une communauté microbienne extrêmement riche et diversifiée. Parmi ces micro-organismes, certains sont essentiels pour stimuler la croissance des plantes (Baliyan *et al.*, 2021).

Les bactéries associées aux racines des plantes, connues sous le nom de PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria », peuvent favoriser la croissance des plantes (Rehman *et al.*, 2020). Certaines de ces bactéries sont utilisées comme inoculants pour stimuler directement le développement des racines en augmentant la production de certaines phytohormones, telles que les auxines (y compris l'acide indole acétique - AIA), les cytokinines et les gibbérélines.

Les phytohormones sont des substances organiques naturelles qui exercent, à faibles concentrations, une influence majeure sur pratiquement tous les aspects physiologiques de la croissance des plantes (Arora *et al.*, 2013). Ces substances ne sont pas seulement produites par

les plantes, une grande variété de microorganismes (champignons, bactéries) peuvent les synthétiser. Ainsi, la biosynthèse des phytohormones par les bactéries du sol constitue un outil clé par lequel elles améliorent la croissance des plantes et elles régulent leurs processus physiologiques (Narayanasamy, 2013).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail et qui a comme objectif d'évaluer la capacité stimulatrice de l'AIA produit par les bactéries rhizosphériques sur la germination et la croissance des deux espèces *Trifolium subterraneum* L. et *Teucrium polium* L.

Ainsi, le mémoire est structuré en trois chapitres. Dans le premier chapitre nous effectuons une synthèse bibliographique basée essentiellement sur la présentation des étudiées, Le deuxième chapitre comporte le matériel biologique d'étude et les méthodes expérimentales appliquées. Les résultats et la discussion constituent le troisième chapitre.

*Chapitre 1*  
*Synthèse bibliographique*

## 1. Famille des Fabaceae, genre *Trifolium* et espèce *Trifolium subterraneum* L.

### 1.1 Famille des Fabaceae

La famille des Fabaceae, appelée également légumineuses, est considérée comme l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, comprenant près de 770 genres et plus de 19 000 espèces (LPWG, 2013). Cette famille comprend les plantes herbacées, des arbustes et des arbres, répandues dans le monde entier, des régions froides aux régions tropicales (Smýkal *et al.*, 2015).

La famille des Fabaceae joue un rôle économique majeur et comprend de nombreux types de plantes utiles. Elles sont appréciées pour leurs graines, considérées comme une source importante de protéines végétales pour l'alimentation humaine et animale. De plus, elles sont cultivées pour le bois, les plantes ornementales, médicinales, les oléagineux, les pâturages et les fourrages (Saslis-Lagoudakis, 2011).

D'autre part, la capacité de nombreuses espèces de légumineuses à fixer l'azote atmosphérique grâce à leur association avec des bactéries du sol du genre *Rhizobium* enrichit le sol en azote, stimule la productivité des terres agricoles et réduit l'apport des engrais azotés pour les cultures et également pour celles qui leur sont associées ou leur succédant dans une rotation (Ferreynolle & Pierre, 2016).

La famille des fabaceae est divisée en trois sous-familles:

- ✓ Les Mimosoideae, anciennement connues sous le nom de famille des Mimosaceae, se caractérisent par une fleur régulière
- ✓ Les Caesalpinioideae, anciennement connue sous le nom de Caesalpinaceae, se caractérisent par une fleur ressemblant à un papillon mais, atypique.
- ✓ Les Papilionoideae ou Faboideae, anciennement connue sous le nom des Papilionaceae, se caractérise par une fleur typique en forme de papillon (Kombi kaviriri, 2011).

Les Papilionoideae se répartissent en 31 tribus (Botineau, 2010), dont la tribu des Trifolieae à laquelle appartient le genre *Trifolium* considéré comme étant l'un des plus grands genres (Ellison *et al.*, 2006), étroitement apparenté aux genres *Medicago*, *Trigonella* et *Melilotus*, qui appartiennent également à la même tribu (Maureira-Butler *et al.*, 2008).

## 1.2 Genre *Trifolium*

Le genre *Trifolium* diffère de ces genres (*Medicago*, *Trigonella* et *Melilotus*) par la corolle généralement persistante et par ses gousses souvent indéhiscentes contenant généralement une graine Heyn (1981).

Le nom « *Trifolium* » vient du mot grec triphullon : trois, trois et « phullon, feuille, se référant aux feuilles distinctives, qui sont généralement composées de trois folioles (trifoliolée) (Smýkal *et al.*, 2015).

Le genre *Trifolium*, originaire de la région méditerranéenne, regroupe plus de 255 espèces annuelles et pérennes, généralement prostrées et rarement dépassant 50 cm de hauteur (Ellison *et al.*, 2006). Les espèces de ce genre occupent une grande diversité d'habitats: pâturages, prairies, forêts ouvertes, régions semi-désertiques, montagnes et sommets des Alpes (Smýkal *et al.*, 2015).

La plupart des espèces de *Trifolium* présentent ont une grande valeur agricole et sont utilisées pour la production de fourrages vert ou sec riches en protéines, l'amélioration de la fertilité des sols (Zohary, 1970) et enfin la production du miel (Sultana *et al.*, 2022). En outre, plusieurs espèces auraient des propriétés médicinales et sont riches en une multitude de métabolites secondaires biologiquement actifs, dont les composés phénoliques sont l'une des principales classes (Tava *et al.*, 2019).

Environ 25 espèces de *Trifolium*, destinées à l'alimentation des ruminants, sont activement cultivées dans de nombreux pays du monde, parmi lesquelles *T. pratense* L., *T. repens* L., *T. resupinatum* L., *T. incarnatum* L., *T. hybridum* L., *T. pannonicum* Jacq., *T. subterraneum* L., *T. fragiferum* L., et *T. medium* L. (Graczyk *et al.*, 2015). Près de 125 espèces de *Trifolium* sont connues pour leur capacité à former des nodules racinaires fixateurs d'azote (Sprent (2009).

## 1.3 L'espèce *Trifolium subterraneum* L.

*Trifolium subterraneum* L. (1753), communément nommé trèfle souterrain ou trèfle semeur est une espèce annuelle d'hiver caractérisée par un port prostré et sa capacité à enfouir les structures reproductives dans le sol assurant ainsi, sa propre régénération par auto-ensemencement (Masson, 1997).

Le nom « *subterraneum* » vient du latin : *sub* (dessous) ; *terraneum* (terre) (Langer, 1990).

### 1.3.1 Taxonomie

Selon Zohary & Heller (1984) et Ellison *et al.*, (2006), *Trifolium subterraneum*, suit la classification suivante:

Famille: Fabaceae

Genre : *Trifolium*

Section: Trichocephalum Koch

Espèce: *subterraneum* L.

D'un point de vue taxonomique, le trèfle souterrain appartient à la section des Trichocephalum Koch; c'est un groupe de neuf espèces annuelles présentant des mécanismes spécialisés de dispersion des graines, et tous originaires de la région méditerranéenne.

L'espèce est subdivisée en trois sous espèces: *subterraneum*, *yanninicum*, *brachycalycinum* (Nichol *et al.*, 2013). Ces sous espèces sont assez identifiables par leurs morpho-physiologies, leurs caryotypes, leurs isozymes, leurs polymorphismes pour les marqueurs moléculaires (Piluzza *et al.*, 2005), et leurs préférences édaphiques (Nichols *et al.*, 2007).

En Algérie, selon la plus récente subdivision infra spécifique de Dobignard & Chatelain (2012) et la nouvelle flore du Maghreb (eflore) (In Chatelain *et al.*, 2018), l'espèce *Trifolium subterraneum* est représentée par deux sous espèces: ssp. *subterraneum* et ssp. *oxaloides*.

### 1.3.2 Description botanique

Le trèfle souterrain est une plante herbacée, annuelle, mollement velue, de 5- 15 cm de haut, généralement à port prostré. La racine est pivotante centrale avec de nombreuses racines fibreuses de soutien, à développement prostré, ne présentant pas d'enracinement adventif au printemps (McGuire, 1985) (Fig.1).

Les feuilles sont généralement en forme de cœur, alternes, longuement pétiolées, pubescentes sur les deux faces. Elles sont trifoliées, triangulaires à obcordées, finement dentées) (Fig 1B). Les stipules sont petites et pointues, variant en pilosité et couleur des bandes, qui varie du vert pâle au rouge, avec quelques différences morphologiques entre les principaux sous-espèces et cultivars (Fig.1 C) (Frame *et al.*, 1998).

Les inflorescences sont des racèmes capituliformes, très lâches sur un pédoncule axillaire plus long que la feuille, comprenant 8 à 10 fleurs stériles, réduites au calice, apparaissant après la floraison et entourant 2 à 6 fleurs fertiles longues (Fig.1A). Le calice présente des

dents subégales, filiformes, ciliées, à tube glabre, renflé à maturité. La corolle est blanche à blanc (McGuire, 1985). Les fruits sont des gousses globuleuses souterraines contenant une seule graine plus ou moins réniforme, ovale, avec hile prononcé. Ces gousses sont enfermées dans des infrutescences globuleuses (bavures), qui sont ensuite partiellement ou totalement enfouies dans le sol où les graines mûrissent (Fig.1E). Le nombre de gousses par infrutescence est considéré comme étant une caractéristique spécifique et variétale (Frame *et al.*, 1998).

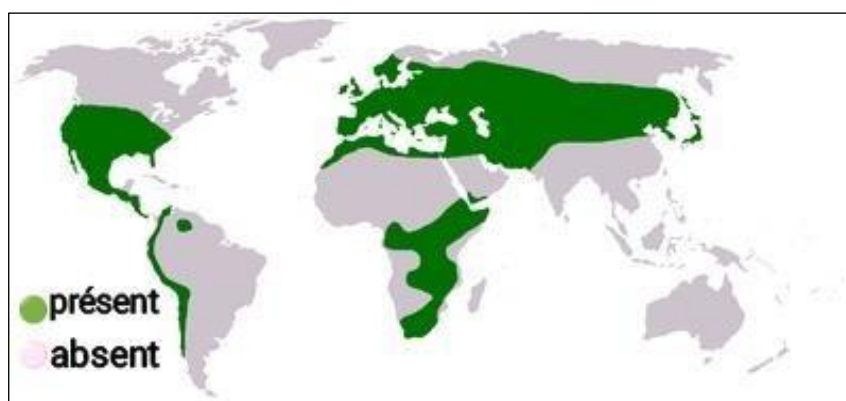


**Fig 1.** Caractéristiques botaniques de *Trifolium subterraneum* L.

A, B, C, D, E: plante entière, feuilles, stipules, fleurs et infrutescences (Mc Guire, 1985).

### 1.3.3 Origine géographique

Le trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum*) est originaire du bassin méditerranéen, de l'Asie de l'Ouest et de la côte atlantique de l'Europe de l'Ouest (Zohary & Heller, 1984). Les principales régions où le trèfle souterrain est naturellement présent sont : la Turquie, l'Espagne, le Portugal, l'Italie, la Grèce, la Baltique autour de la mer Caspienne, la Palestine, Syrie, l'Ethiopie, l'Afghanistan, les pays voisins d'Extrême-Orient, les îles de la Méditerranée, l'Afrique du Nord (Smetham, 2003). Le trèfle souterrain est également présent dans les régions à climat méditerranéen marginal, dans les landes à la pointe de la Bretagne Nord, et à l'Ouest de la France (Fig .2) Masson (1997).



**Fig 2.** Répartition géographique du trèfle souterrain dans le monde (Site 1).

### 1.3.4 Importance et utilisation

Le trèfle souterrain (*T. subterraneum*) est une légumineuse fourragère et principalement pastorale utilisée dans plusieurs régions à travers le monde pour sa grande importance agronomique et écologique. Il contribue le plus largement à la production mondiale d'aliments pour le bétail (Kaur *et al.*, 2017), et fournit des aliments saisonniers de haute qualité au bétail pendant les mois d'hiver et de printemps (Teixeira *et al.*, 2020).

Le trèfle souterrain est très apprécié pour l'élevage, la production de grains, comme source de fourrage de haute qualité pour sa teneur élevée en protéines et haute qualité nutritionnelle et pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique (Nichols *et al.*, 2013). Il couramment utilisé dans agrosylvopastoraux et agro-pastoraux extensifs dans plusieurs pays notamment l'Italie, le Portugal et l'Espagne en raison de sa capacité d'auto régénération et de sa tolérance au pâturage, souvent dans des conditions environnementales variables et sous-optimales (Aguilar *et al.*, 2012).

Actuellement, le trèfle souterrain est devenu à la base de nombreux pâturages permanents ou semi-permanents dans les zones irriguées et les zones à fortes précipitations, souvent en mélange avec des graminées vivaces et d'autres légumineuses (Enkhbat *et al.*, 2022).

Le trèfle souterrain est considéré comme la légumineuse de couverture la plus productive pour les vignobles et les vergers (Pecetti *et al.*, 2007), et a été proposé comme paillis vivant pour les céréales et légumineuses, particulièrement dans les régions chaudes des états unies.

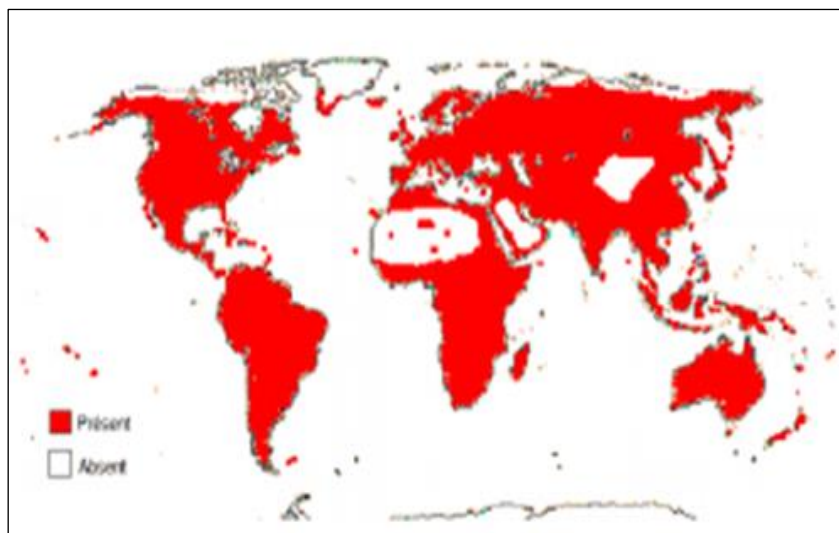
En Australie, depuis son introduction et sa naturalisation en 1900, le trèfle souterrain est devenu l'une des cultures les plus courantes notamment, dans le sud de l'Australie, où il est cultivé sur 8 millions d'hectares en Australie occidentale et 29 millions d'hectares dans le sud de l'Australie (Nichols *et al.*, 2017).

## 2. Famille des Lamiaceae, genre *Teucrium* et espèce *Teucrium polium* L.

### 2.1 Famille des Lamiaceae

Les Lamiaceae sont connues également sous le nom des Labiées (qui signifie "labié", en référence, à la forme des fleurs en lèvres) (Couplan, 2000). Cette famille est la sixième plus grande famille des Angiospermes avec environ 6000 espèces et près de 210 genres (Arab *et al.*, 2021).

Les lamiaceae représente une répartition géographique étendue à travers le monde (Fig.3), avec une prédominance dans les régions méditerranéennes, notamment pour certaines espèces comme le thym, la lavande, et le romarin (Botineau, 2010). C'est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (Pistrick, 2002), et ceci par la particularité de ses caractères.



**Figure 3.** Répartition géographique des Lamiaceae (Yahiaoui *et al.*, 2021).

Les plantes appartenant à la famille des Lamiacées se caractérisent généralement par leur nature herbacée ou leur forme de sous-arbrisseaux, souvent dotés de poils glanduleux et dégageant fréquemment des arômes. Leurs tiges sont carrées, certaines espèces se dressent tandis que d'autres sont couchées, portant des feuilles disposées de manière opposée ou verticillée.

Les fleurs sont bisexuées, irrégulières, regroupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées, ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est bilabié et présente de 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle possède un tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure. Le fruit sec se divise en quatre articles, chacun contenant une graine. Le fruit est un tétramère diversement orné, enveloppés par le calice (Botineau, 2010).

Selon Quezel et Santa (1963), la famille des Lamiaceae est très importante dans la flore Algérienne, mais certains genres sont délicatement déterminés en raison de la variabilité extrême des espèces (Fig.4).



**Figure 4.** Quelques espèces de Lamiaceae: **A**, *Ocimum basilicum* 'Glycyrrhizum' (Site 2); **B**, *Leonotis leonurus* 'Alba' (Site 3).

Les Lamiaceae possèdent également un appareil sécréteur externe, constitué par des poils sécréteurs d'huiles essentielles; l'essence élaborée s'accumule juste sous la cuticule qu'elle distend, ce qui fait qu'au moindre froissement, ces feuilles dégagent une forte odeur aromatique.

D'un point de vue économique, la famille des Lamiaceae est d'une grande importance, considérée une des principales sources de diverses herbes culinaires et arômes alimentaires tels que: *Rosmarinus*, *Origanum*, *Salvia*, *Thymus*, *Ocimum* et *Mentha*. Dans l'industrie, on trouve le bois de teck (*Tectona*), l'huile de menthe poivrée.

De nombreuses Lamiaceae sont cultivées comme plantes ornementales en raison de leur parfum et de leur aspect esthétique. Meyer *et al.*, (2004) mentionnent plusieurs espèces, notamment celles des genres *Satureja* (*Satureja hortensis*), *Ajuga*, *Monarda*, *Salvia* et *Coleus*.

En outre, la famille des Lamiaceae regroupe un grand nombre de plantes aromatiques riches en métabolites secondaires qui sont prisés pour leurs vertus thérapeutiques. Un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques sont identifiées chez les espèces de cette famille, tels que les huiles essentielles, les terpenoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes et qui ont des propriétés antibactériennes et antifongiques: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, (Sosa & Tonn, 2006) et anti-inflammatoire de *Teucrium* et antioxydante de *Marrubium globosum* (Sarikurkcu *et al.*, 2008).

## 2.2 Genre *Teucrium*

Le genre *Teucrium*, également connu sous le nom de germandrées, regroupe environ 260 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux généralement aromatiques, spontanées,

largement présent dans le bassin méditerranéen, au Sud–Ouest de l’Asie, de l’Europe et du Nord de l’Afrique.

Le nom *Teucrium* désigne en Latin “teucrion” en grec “τευκπιον” troie, ou de teucros, prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante (Couplan, 2012).

En Algérie, le genre *Teucrium* est assez commun dans la region méditerranéo-saharienne, mais plus rare au Sahara septentrional et au Tassili. Il pousse dans des environnements rocaillieux et secs, tels que les lits arides, les rochers et les sables (Ozanda, 1983). Plus, de vingt espèces de *Teucrium* ont recensées en Algérie (Quezél & Santa, 1963).

### 2.3 L’espèce *Teucrium polium* L.

Le nom *Teucrium polium*, avec les synonymes : *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* (Autore *et al.*, 1984). Appelée également : arabe, Djada, jaad, Djaida, El Khayata, Katabet ledjrah ; en français, Pouliot de Montagne, germandrée Tomenteuse, germandrée blanc-grisâtre ; en anglais, mountain germander (Abdollahi *et al.*, 2003), est un arbrisseau vivace plus ou moins feutré à poils blancs, ligneux avec une odeur poivrée au frottement (Ozenda, 1983).

#### 2.3.1 Taxonomie

Selon Quezel et Santa (1963), l’espèce *Teucrium polium* L., est classée comme suit :

Ordre : Tubiflorales

Famille : Labieae ou Lamiaceae

Genre : *Teucrium*

Espèce : *polium* L.

#### 2.3.2 Description botanique

La plante de *Teucrium polium* est de 10 et 30 cm de hauteur, les tiges sont blanches et tomenteuses, et portent des feuilles opposées sessiles. Les feuilles sont linéaires-lancéolées ou oblongues, avec une base en coin et une extrémité dentée arrondie (Fig. 5). Le système racinaire de la plante est de type pivotant, non ramifié et d'environ 20 cm de long.

L'appareil reproducteur de la plante se compose d'inflorescences compactes qui sont globuleuses ou ovoïdes et serrées. Le calice, brièvement tomenteux, présente des dents courtes, tandis que la corolle a une lèvre supérieure tronquée. Les étamines tordues en spirale après l'anthère, insérées sur le tube de la corolle. Inflorescences en capituliformes jusqu'à 1

cm, denses au sommet des tiges, avec de petites bractées florales, mais ressemblant à des feuilles (Abbas, 2019).

La floraison aura lieu à partir du mois d'avril jusqu'au mois de juin. Le fruit est constitué de quatre parties brunes et orné en réseau à sa surface.



**Figure 5.** Morphologie de l'espèce *Teucrium polium* L. (Site 4).

### 2.3.3 Utilisations médicales et pharmacologiques

*Teucrium polium* est utilisée comme plante médicinale depuis plus de 2000 ans comme diurétique, inotrope, tonique, chrono trope, tonique, antipyrétique, cholagogue et anxiolytique (Khleifat *et al.*, 2001; Niazmand *et al.*, 2008).

Une infusion des feuilles et des fleurs était ainsi consommée comme boisson régénératrice (Boulard, 2003).

En médecine traditionnelle, la Germandrée tomenteuse est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique. Cette plante peut avoir quelques intérêts d'ordre cliniques : cas de désordres stomacaux (Kaileh *et al.*, 2007) et gastro-intestinaux tels que la colite.

En médecine folklorique iranienne, *Teucrium polium* est employé comme anticonvulsant (Abdollahi *et al.*, 2003). Cette plante est largement distribuée comme agent hypoglycémiant.

L'application topique de 10% (p/p) de pommade *T. polium* a révélé une amélioration de la cicatrisation des plaies après 14 jours d'expérience. Cette plante a une grande marge de sécurité pour l'utilisation répétée et favorise de manière significative la cicatrisation des plaies en accélérant la réépithélisation.

Plusieurs études ont également démontré certains effets pharmacologiques associés à

l'utilisation de *Teucrium polium*, tels que des actions antibactériennes, anti-inflammatoires, antivirales, anti-ulcéreuses, antinociceptives, antispasmodiques, antidiabétiques, diurétiques, hypolipidémiques, antifongiques, antagonistes du calcium et cytotoxiques (Esmaceli & Yazdanparast, 2004).

### 3. Les Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes

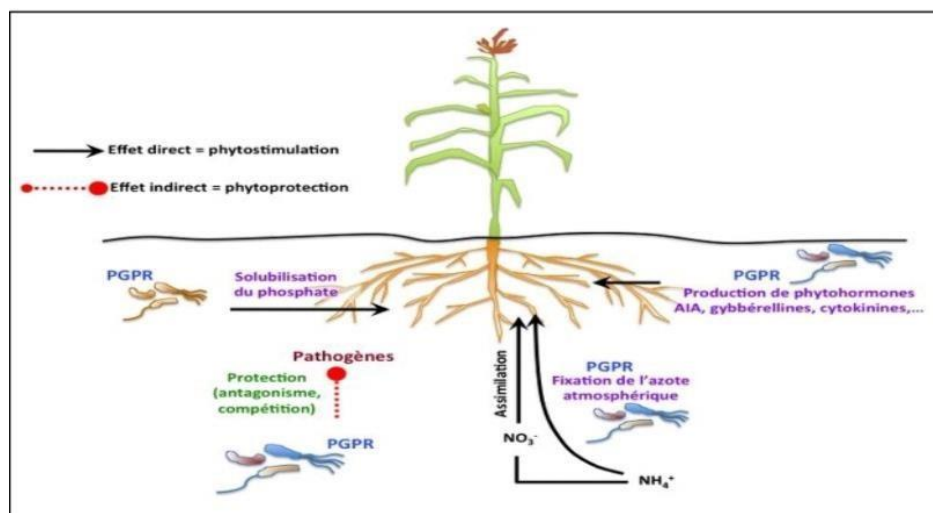
La rhizosphère est un espace où se déroulent de nombreuses interactions entre les microorganismes et les racines, pouvant être bénéfiques, nuisibles ou neutres pour la plante (Bais *et al.*, 2006). Certains microorganismes présents naturellement dans les sols favorisent la plante, contribuant ainsi souvent à une meilleure croissance végétale (Morgan *et al.*, 2005).

Le terme PGPR provenant de l'anglais (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens (Bendjida *et al.* 2019). Ce type de bactéries n'établissent pas une relation de symbiose (mutualiste), mais favorisent la croissance des plantes auxquelles elles sont associées (Morgan *et al.*, 2005).

Environ 5 % des bactéries vivant dans la rhizosphère stimulent directement la croissance des plantes en augmentant l'absorption 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 (Fig 6).

Indirectement, elles favorisent également la croissance des plantes par leurs effets antagonistes sur la microflore nuisible, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les rhizobia. Les effets antagonistes des PGPR incluent la production d'antibiotiques et la compétition nutritionnelle avec les pathogènes végétaux (Beauchamp, 1993).

Les PGPR sont généralement des bactéries à Gram négatif. Elles appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *actinomycète Frankia*... (Coineau Yves, 1995). Ces bactéries sont utilisées en agriculture pour la biofertilisation des sols en fixant l'azote atmosphérique qui pourra être par la suite utilisé par les plantes, améliorant leur croissance lorsque l'azote du sol est limitant (Glick et Bashan 1997).



**Figure 6.** Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère (Khan *et al.*, 2009).

### 3.1 Production d'hormones

Les plantes disposent de deux sources naturelles de phytohormones : une production endogène par leurs propres tissus et une production exogène par des micro-organismes associés.

Les PGPR produisent différentes phytohormones comme: Acide indole acétique ou auxines (AIA), l'acide gibbérélique et les cytokinines. Ce sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (Baca & Elmerich., 2007). Ainsi, la biosynthèse des phytohormones par les bactéries du sol constitue un outil clé par lequel elles améliorent la croissance des plantes et régulent leurs processus physiologiques (Agueniou *et al.*, 2017).

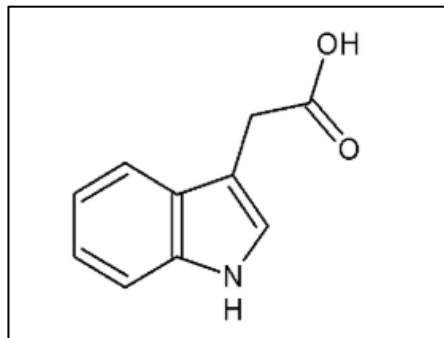
#### 3.1.1. Acide indole acétique (AIA)

L'AIA est la principale hormone de classe des auxines biologiquement active pour la croissance végétative (Bishnu *et al.*, 2021), et la plus importante des hormones de croissance des plantes.

L'auxine est impliquée dans plusieurs processus: la division cellulaire, la différenciation et la formation de faisceaux vasculaires, et elle a un effet positif sur l'initiation de la croissance et l'élongation racinaire. Elle augmente également la ramification des racines et améliore l'absorption de minéraux et d'eau (Gupta *et al.*, 2015).

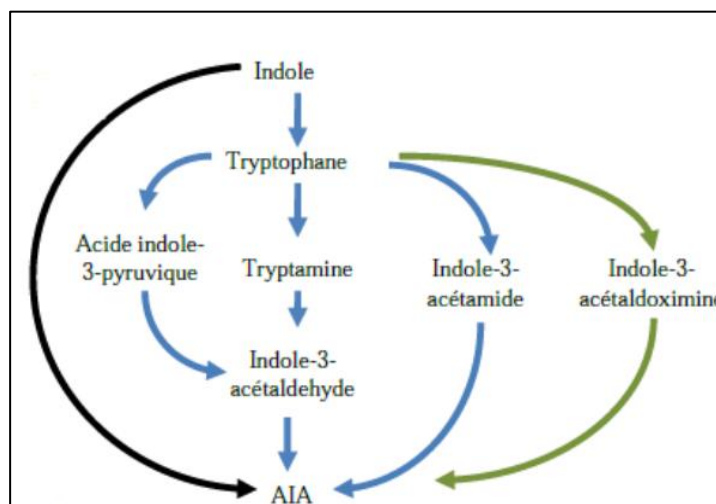
Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire de l'AIA. En fait, 80% de la flore rhizosphérique est capable de le produire, cependant, les bactéries à Gram positif sont faiblement productrices. Parmi les actinomycètes producteurs d'AIA, le genre *Streptomyces* spp est le plus dominant (Ei *et al.*, 2019).

La biosynthèse de l'AIA est affectée par plusieurs facteurs environnementaux. En particulier, il y a une augmentation de sa production dans des conditions de pH élevé et en présence de plus grandes quantités de tryptophane. L'AIA est généralement produit sous forme de métabolite secondaire par les PGPR en utilisant les substrats riches exsudés par les racines des plantes. L'AIA et ses analogues actifs dans la plupart des plantes sont synthétisés à partir du tryptophane principal précurseur (Fig.7) (Bouali, 2017).



**Figure 7.** Structure de l'acide indole acétique (Herrbach, 2013).

Selon Khan *et al.*, (2014), la biosynthèse de l'AIA par les bactéries se fait par cinq voies dépendantes du tryptophane: la voie de l'indole-3-acétamide, la voie de l'acide indole-3-pyruvique, la voie de la tryptamine, la voie de l'indole-3-acétonitrile et la voie de l'oxydase de la chaîne latérale du tryptophane (Fig.8). Il existe également une voie indépendante du tryptophane, à partir du précurseur indole sans tryptophane (Herrbach, 2013).



**Figure 8.** Différentes voies de biosynthèse de l'AIA (Herrbach, 2013).

*Chapitre 2*  
*Matériel et Méthodes*

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1 Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail comprend des graines de deux espèces : *Trifolium subterraneum* L. et *Teucrium polium* L. (Fig.9). Les graines de *T. subterraneum* ont été récoltées dans leurs habitats naturel au Nord Est de l'Algérie. Quant à *Teucrium polium*, les graines ont été recueillies en juin 2023 (par Yattous S, ancien étudiant à l'université Abbès Laghrour- khenchela) dans la commune de Babar, située au Sud-Est de la région de Khenchela.



**Figure 9.** Échantillons des espèces étudiées  
A : *Trifolium subterraneum* L., *Teucrium polium* L.

### 2.2 Méthodes

#### 2.2.1 Production de l'auxine (Acide indole 3 acétique, AIA)

##### 2.2.1.1 Matériel biologique

Dans cette étude, six isolats d'Actinobactéries (G1A, G1B, B3, C1A, C3A, et C1B) ont été utilisés, gracieusement fournis par Fares Ramila (Doctorante en Biotechnologie végétale à l'université Abbès Laghrour -khenchela), en Janvier 2024.

Ces isolats ont été prélevés à partir d'un sol semi-aride environnant la sebkha d'Ezzemoul, située dans la région de Ain M'Lila (Wilaya d'Oum El Bouaghi) (Fares & Bouchaib, 2017, étude réalisée au laboratoire de Biologie de l'Université de Constantine).

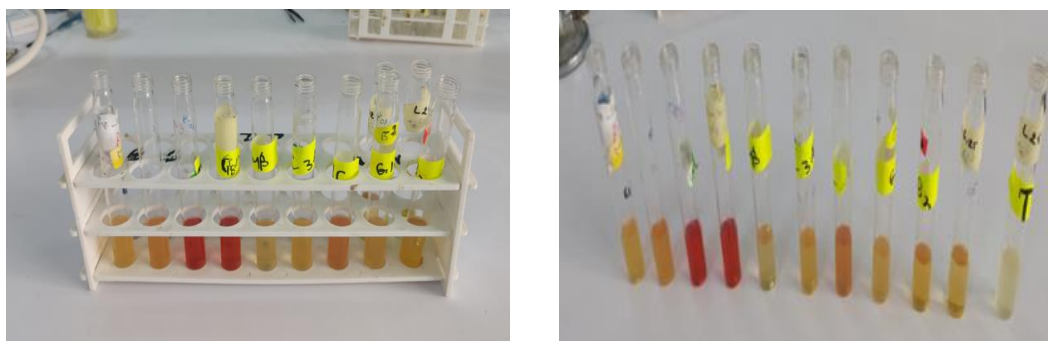
La caractérisation morphologique, macroscopique, microscopique et enzymatique de ces souches a permis de les classer dans le groupe des Actinobacteria et de les rapprocher du genre *Streptomyces*.

### 2.2.1.2 Production et dosage de l'AIA

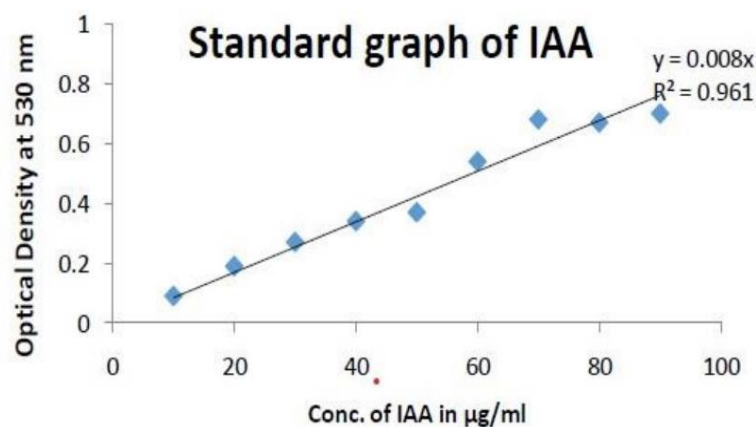
La production d'Acide Indole-3-Acétique (IAA) par les isolats d'actinobactéries (G1A, G1B, B3, C1A, C3A, et C1B) a été déterminée selon la méthode de Bano et Musarrat (2003).

Les isolats d'actinobactéries ont été cultivés sur de la gélose ISP2 (International Streptomyces Project 2), et incubés à 30°C pendant 5 jours. Ces isolats ont ensuite été transférés dans 100 ml de bouillon tryptophane (Annexe), et incubées à 30°C sous agitation à 125 tours / minute pendant 7 jours.

Les cultures ont été centrifugées à 11000 tours/minute pendant 15 minutes à 4°C. Un millilitre du surnageant a été mélangé avec 4 ml de réactif de Salkowski (Annexe) (Gordon and Weber 1951). L'apparition d'une couleur rose indique la production d'IAA (Fig.10). La densité optique (DO) a été mesurée à 530 nm. Les concentrations de l'AIA ont été déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage standard d'AIA (Fig.11) (Tableau 1).



**Figure 10.** Révélation de la synthèse de l'AIA par les souches d'actinobactéries.



**Figure 11.** Courbe étalon (Monita *et al.*, 2014).

Par ailleurs, les souches d'actinobactéries ont été testées pour la synthèse de l'hormone gibbérelline. La couleur verte des échantillons a indiqué la présence de différentes concentrations de cette hormone dans les surnageants des actinobactéries étudiées (Fig.12).



**Figure 12.** Synthèse de la gibbérelline par les actinobactéries étudiées.

## 2.2.2 Traitement des graines (priming)

### 2.2.2.1. *Trifolium subterraneum* L.

Les graines de *T. subterraneum* ont été désinfectées avec de l'éthanol à 70 % pendant 3 mn, puis avec de l'eau de Javel 5 % pendant 15 mn, avant d'être lavées quatre fois avec de l'eau distillée. Elles ont ensuite été trempées pendant 24h dans différentes concentrations d'auxines présentes dans 300 µl des surnageants des souches bactériennes G1A, G1B, B3, C1A, C3A, et C1B (Tableau 1), avec trois répétitions par traitement (Fig.13).

### 2.2.2.2 *Teucrium polium* L.

Dans un premier temps, les graines de l'espèce *T. polium*, ont été soumises à une scarification chimique dans de l'acide sulfurique (75 %, v/v) pendant 8mn afin d'éliminer la dureté de leur enveloppe externe. Après scarification, les graines ont été désinfectées avec de l'éthanol à 70 % pendant 3 minutes, puis avec de l'eau de Javel 5 % pendant 15 mn, avant d'être lavées à quatre reprises avec de l'eau distillée.

Le priming a été réalisé par trempage des graines pendant 24 h dans différentes concentrations d'auxines présentes dans 300 µl des surnageants bactériens (Tableau 1), avec trois répétitions par traitement (Fig.13). Le lot des graines non sacrifiées et non traitées est considéré comme lot témoin.

Par manque de graines de *Teucrium*, nous nous sommes limités aux primings des graines avec seulement trois souches (G1B, G1 A B3).

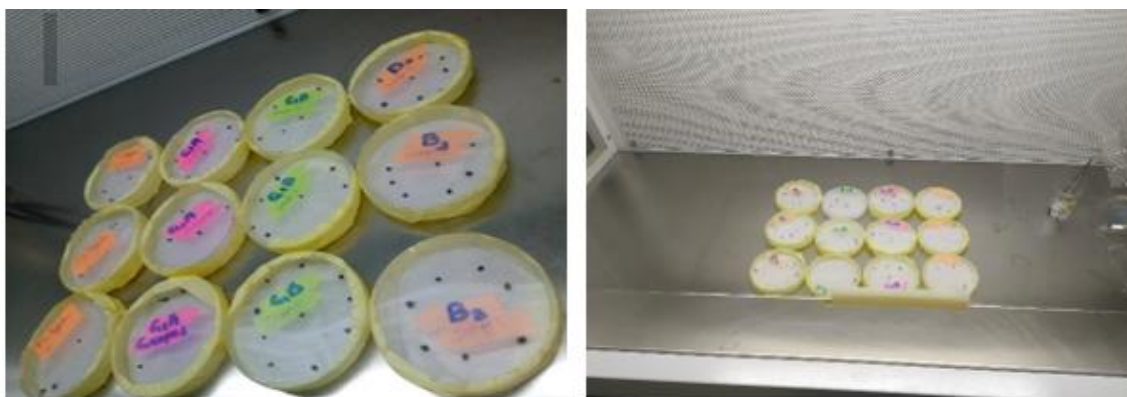
**Tableau 1.** Concentrations de l'AIA synthétisées par les souches d'actinobactéries isolées.

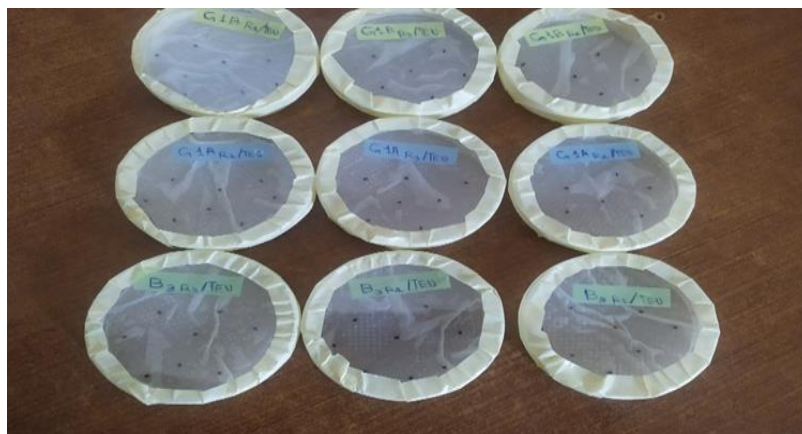
Souches d'Actinobactéries isolées	G1A	G1B	B3	C1A	C3A	C1B
Concentration de l'AIA synthétisées (µg/ml)	8.41	34.43	18.37	8.87	10.98	9.49
Concentration de l'AIA utilisées (µg/0.3ml)	2,52	10.33	5,11	2,66	3,30	2,84

**Figure 13.** Priming des graines de *Teucrium polium* et *Trifolium subterraneum* avec les surnageants bactériens contenant de l'AIA.

### 2.2.3 Test de germination

L'ensemble des graines prétraitées et non prétraitées (graines témoins) des espèces étudiées (*T. subterraneum* et *T. polium*) ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri contenant deux couches de papier filtre (papier Wattman n°1) humidifiées avec de l'eau distillée. Chaque boîte contenait 10 graines de *T. subterraneum* et 11 graines de *T. polium*, avec trois répétitions. Les boîtes ont ensuite été placées dans une chambre de culture à température ambiante (22 à 25 °C) et dans l'obscurité (Fig.14 et 15).

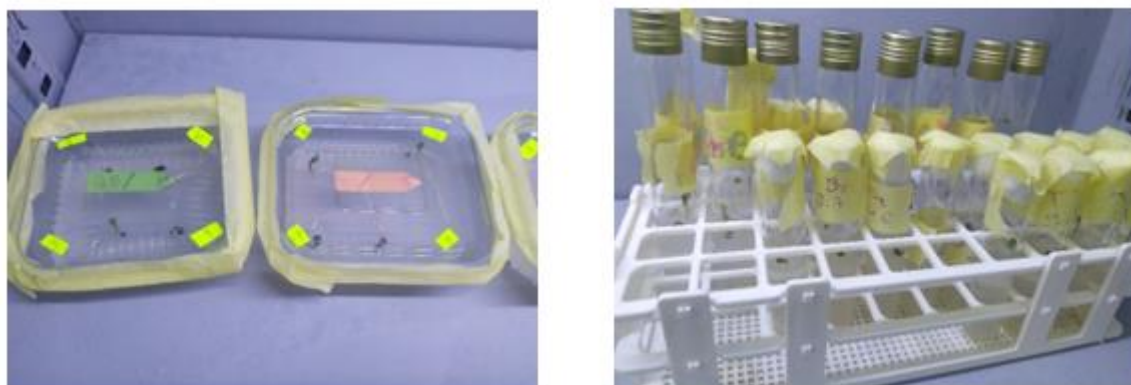
**Figure 14.** Mise en germination des graines de *Trifolium subterraneum* L.



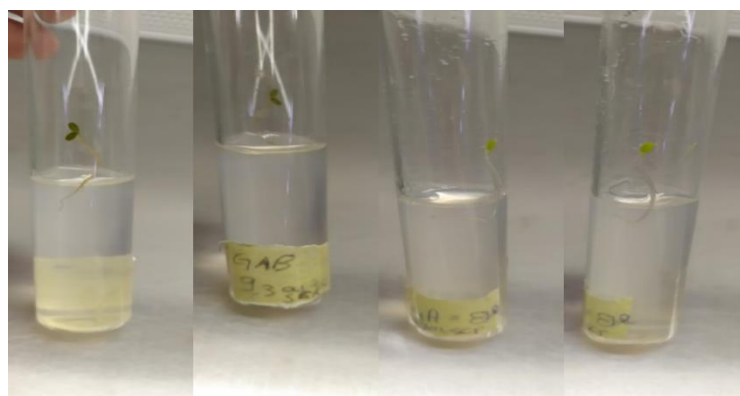
**Figure 15.** Mise en germination des graines de *Teucrium polium* L.

### 2.2.4 Essai de croissance *In vitro*

Après germination, et dans des conditions stériles (sous une hotte à flux laminaire), les graines des deux espèces (*T. subterraneum* et *T. Polium*) ont été transférées sur un milieu de culture MS (Murashige et Skoog, 1962) (Tableau 2), puis mises à croître dans une chambre de culture *in vitro* à température contrôlée (22-25 °C) avec une photopériode de 16 heures. (Fig.16 et 17).



**Figure 16.** Transfert des graines germées de *Trifolium subterraneum* sur milieu MS en conditions contrôlées.



**Figure 17.** Transfert des graines germées de *Teucrium polium* sur milieu MS en conditions contrôlées.

**Tableau 2.** Composition du milieu Murashig et Skoog, (1962).

	<b>Ingredients</b>	<b>Solution mère mg/l</b>	<b>Volume de prélèvement</b>
<b>Macroéléments</b>	K NO <sub>3</sub>	38 000	50 ml
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	33 000	
	Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	7 400	
	Ca Cl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	8 800	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 400	
<b>Micro-éléments</b>	Mn SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	16 800	1 ml
	Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	86 00	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	62 00	
	KI	83 0	
	Na MO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	25	
	Ca Cl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	25	
	Cu SO 5H <sub>2</sub> O	25	
<b>Vitamines</b>	Acide nicotique	50	10 ml
	Pyridoxine	50	
	Glycine	200	
	Thiamine	10	
<b>Fer – EDTA</b>	Fe SO <sub>4</sub>	2785	10 ml
	Na <sub>2</sub> EDTA	3725	
<b>Sucre</b>	Sucre de table	30 g/l	30 g
<b>Agar</b>	Agar	7 g/l	7 g

### 2.2.5 Paramètres mesurés

#### Pourcentage de germination (%)

Le taux de germination des graines concernant les différents primings appliqués pour les deux espèces étudiées a été déterminé comme le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines testées (Come,1970).

$$\% \text{ de germination} = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre total des graines testées}}$$

#### Longueurs des radicules

Les mesures des longueurs des radicules sont faites à l'aide d'une règle graduée.

### □ Longueur de partie aérienne

Les mesures des longueurs des parties aériennes sont prises avec une règle graduée.

#### 2.2.6 Traitements statistiques

Les résultats obtenus concernant le pourcentage de germination ont été convertis en  $\sqrt{(X/100)}$  (Snedecor, 1956 *In* Gupta, 2003), ensuite soumis à une analyse de variance à un facteur ( $p < 0.05$ ) et le test de Tukey pour déterminer les groupes homogènes. Ces analyses sont réalisées à l'aide du logiciel statistique Minitab.16.

*Chapitre 3*  
*Résultats et discussion*

### 3. Résultats et Discussion

#### 3.1 Résultats

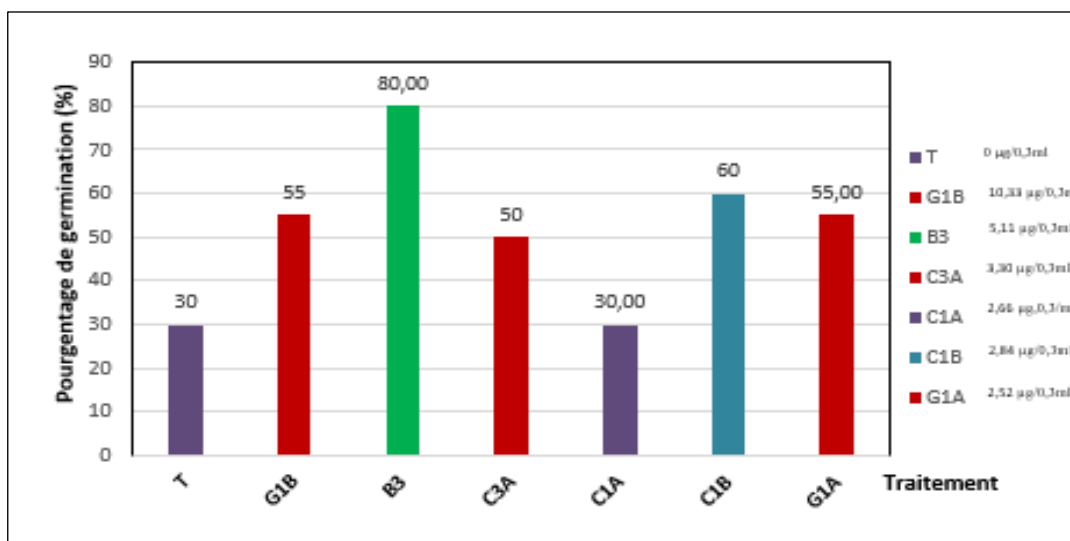
Dans cette étude, nous avons réalisé prétraitement (priming) des graines des espèces *Trifolium subterraneum* (*Fabaceae*) et de *Teucrium polium* (*Lamiaceae*), par différentes concentrations d'auxine (AIA) synthétisée par des souches d'actinobactéries afin d'étudier leur capacité à stimuler et booster le processus de germination et la croissance chez ces espèces.

##### 3.1.1 Variation du pourcentage de germination

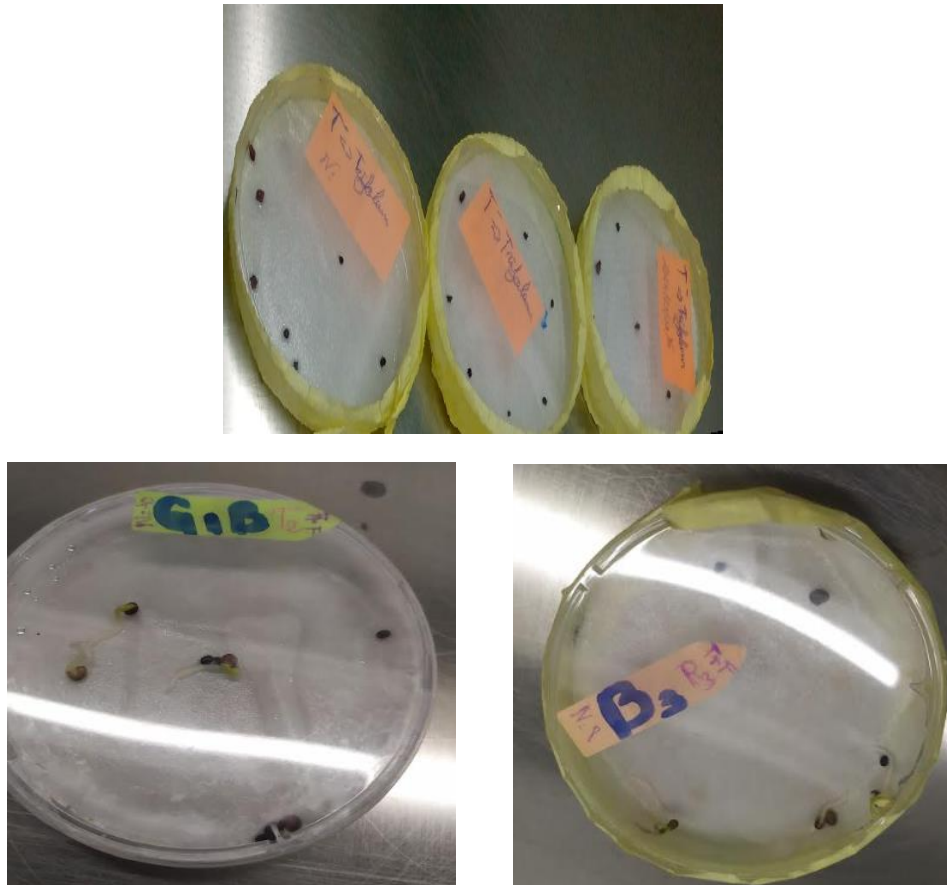
###### 3.1.1.1 *Trifolium subterraneum*

L'analyse la variance a montré que le traitement des graines par les surnageants des souches d'actinobactéries à différentes concentrations en auxine a stimulé de manière très hautement significative ( $p < 0,0001$ ) la germination des graines de *T. subterraneum* (Tableau A1, Annexe). Le test post hoc de Tukey a mis en évidence quatre groupes homogènes de souches dont deux qui se distinguent (Tableau A2, Annexe).

Le premier groupe (A) comporte une seule souche bactérienne (B3, 5.11µg/ml d'AIA), caractérisée par le pourcentage le plus élevé de germination (80%), alors que le dernier groupe (C) est représenté par le témoin (T, graines n'ayant pas subies de traitement), et la souche C1A (2.66 µg/ml d'AIA) avec les pourcentages de germination le plus faibles (30%) (Fig.18 et 19) (Tableau A2, Annexe).



**Figure 18.** Variation du pourcentage de germination (%) en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez *Trifolium subterraneum* L.

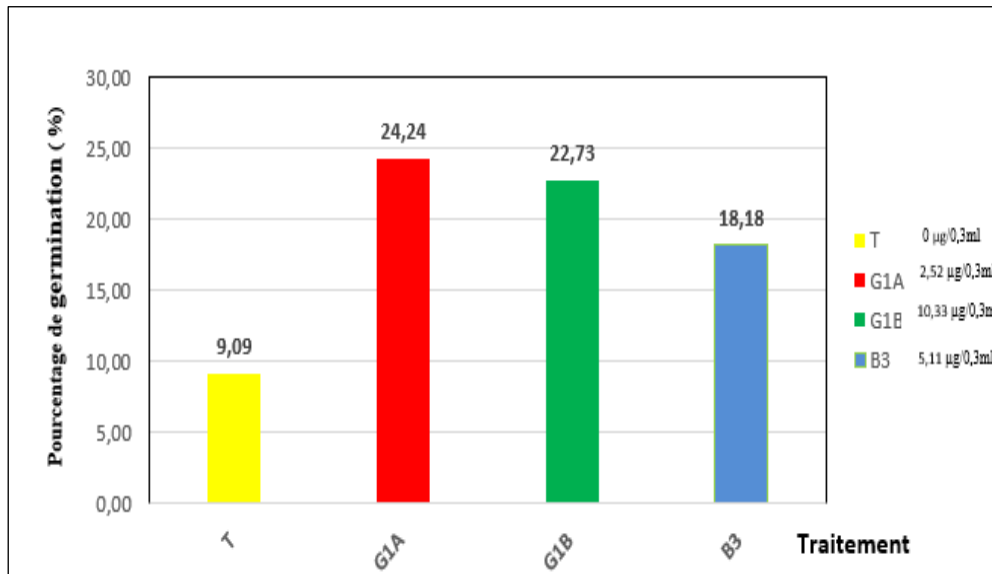


**Figure 19.** Germination des graines de *Trifolium subterraneum* après priming avec différentes concentrations d'AIA provenant des souches d'Actinobactéries testées après 5 jours d'incubation.

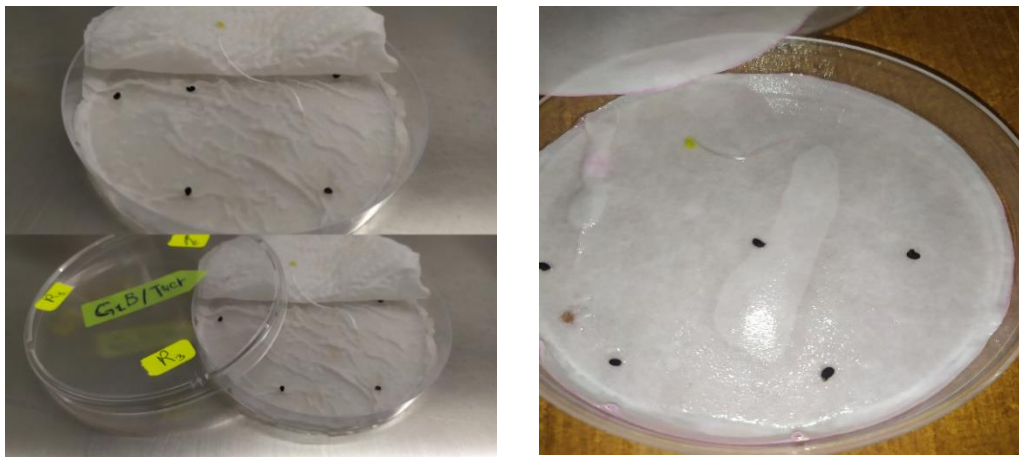
### 3.1.1.2 *Teucrium polium*

L'analyse de variance a montré que le traitement des graines par les surnageants des souches d'actinobactéries à différentes concentrations en auxine a stimulé de manière hautement significative ( $p < 0,008$ ) la germination des graines de *T. polium* (Tableau A3, Annexe).

Le test de Tukey a mis en évidence trois groupes homogènes de souches dont deux qui se distinguent (Tableau A4, Annexe). Le premier groupe (A) comporte deux souches bactériennes, G1A et G1B, produisant respectivement 2.52  $\mu\text{g/ml}$  et 10.33  $\mu\text{g/ml}$  d'AIA. Ces souches ont enregistré les pourcentages de germination les plus élevés, avec 24.24% et 22.73% respectivement. En revanche, le dernier groupe (B) est représenté par le témoin (T), avec 0  $\mu\text{g/ml}$  d'AIA (Fig.20 et 21) (Tableau A4, Annexe).



**Figure 20.** Variation du pourcentage de germination (%) en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez *Teucrium polium* L.



**Figure 21.** Germination des graines de *Teucrium polium* traitées avec différentes concentrations d'AIA provenant des souches d'Actinobactéries testées après 30 jours d'incubation.

### 3.1.2 Variation des paramètres de croissance

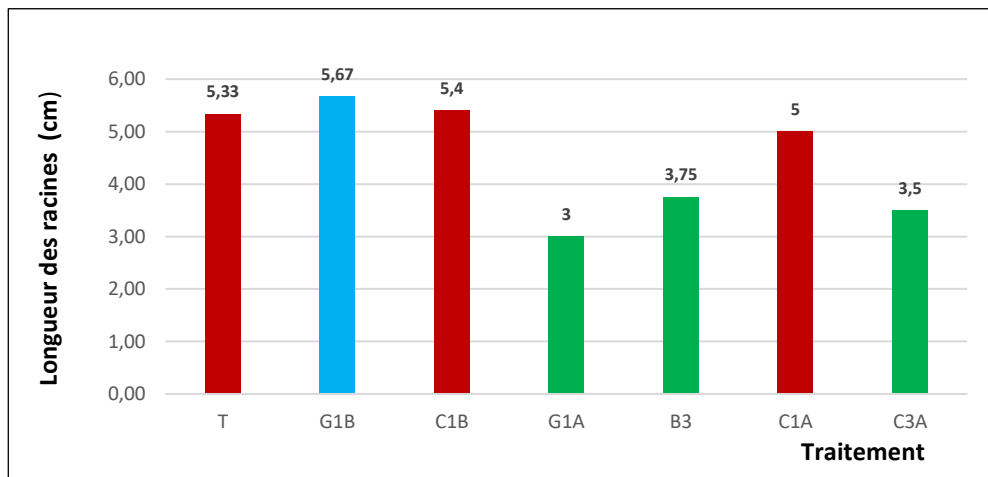
#### 3.1.2.1 Longueur des racines

Le transfert des graines appartenant aux deux espèces étudiées sur le milieu MS et en conditions contrôlées en termes de température et photopériode de la chambre de culture *In vitro* a permis l'allongement de la racine et la sortie des deux cotylédons.

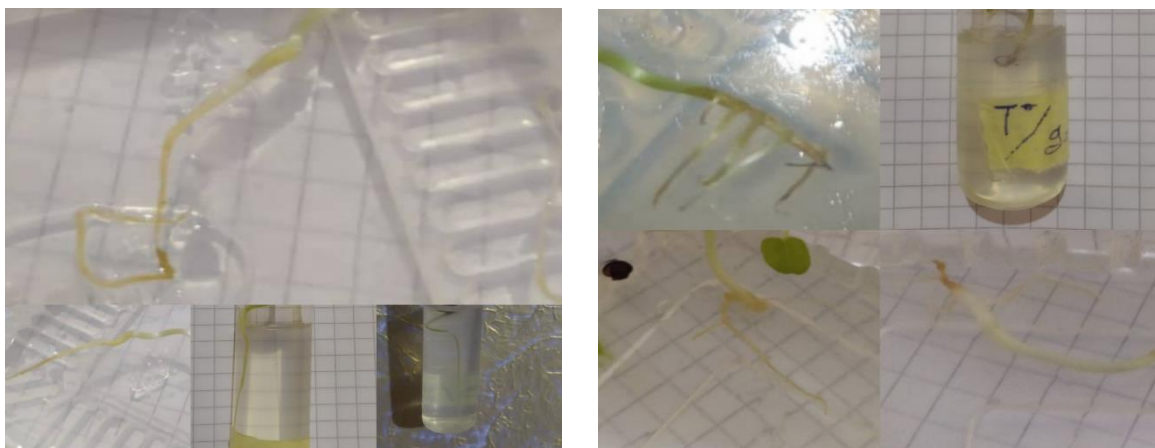
- *Trifolium subterraneum*

L'analyse de la variance a montré un effet significatif ( $p \leq 0.05$ ) des traitements aux différentes concentrations d'AIA appliquées sur les graines de *T.subterraneum* (Tableau A3, annexe).

D'après la figure 5, après un séjour de 15 jours dans les conditions expérimentales, la longueur la plus importante des racines a été observée chez les graines prétraitées avec le surnageant de la souche G1B (10.33 $\mu$ g/ml) (5.67 cm), suivie par celles traitées avec les souches C1B (5.4 cm) et C1A (5 cm) (Fig.22 et 23). Ces dernières ont enregistré des longueurs proches de celles du témoin (5.33 cm). La longueur la plus faible (3 cm) a été observée chez les graines traitées avec le surnageant de la souche G1A.



**Figure.** Variation des longueurs des racines en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez *Trifolium subterraneum* L.



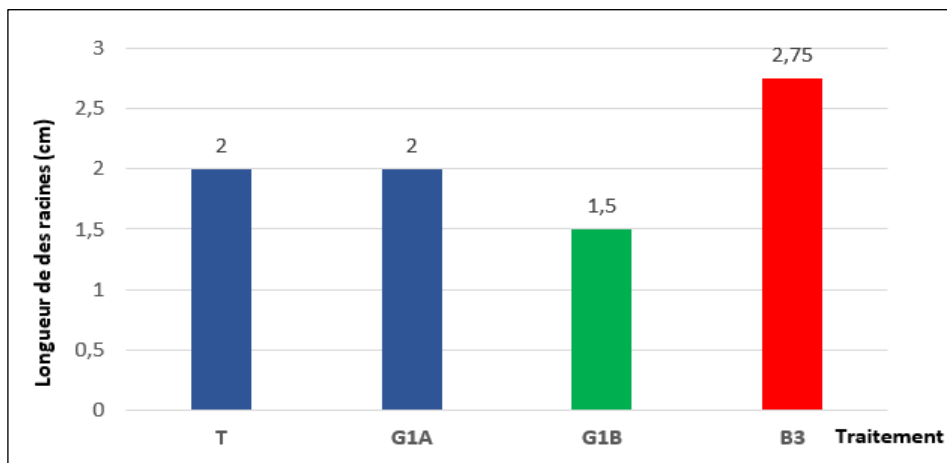
**Figure 23.** Allongement des racines et développement de racines secondaires de *T. subterraneum* sur milieu MS en conditions contrôlées.

- *Teucrium polium*

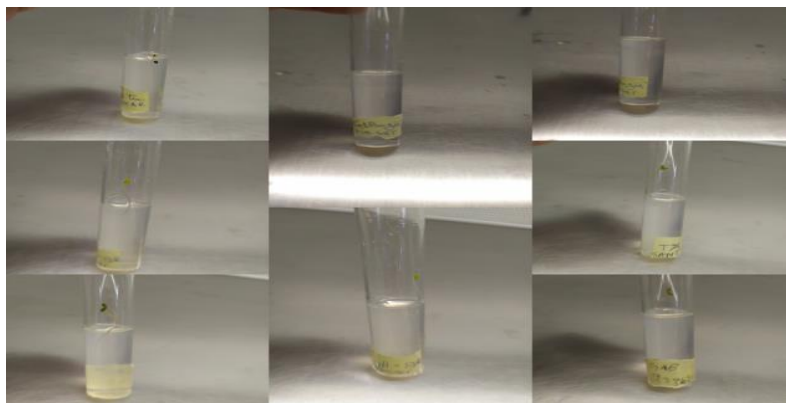
L'analyse de variance a montré une différence non significative entre les différentes concentrations d'auxine quant à l'allongement des racines de *Teucrium polium* ( $p < 0.699$ ) (Tableau A4, annexe).

Les résultats obtenus figure montre qu'après quelques jours dans des conditions contrôlées, un faible allongement des racines chez les individus de *T. polium* (Fig.24 et 25). Les longueurs des racines varient de 1.5 cm pour les graines prétraitées avec le surnageant de la souche G1B (10.33  $\mu\text{g}/0.3 \text{ ml}$ ) à 2.75 cm pour celles amorcées avec le surnageant B3 (5.33  $\mu\text{g}/0.3 \text{ ml}$ ).

Les mesures ont été prises quelques jours après le transfert des graines de *Teucrium polium* sur le milieu de culture. Cependant, le développement des racines de *T. polium* a malheureusement été interrompu en raison de conditions difficiles dans la chambre de culture pendant l'expérimentation, notamment des contaminations fongiques et bactériennes, ainsi que des variations de température.



**Figure 24.** Variation des longueurs des racines en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactérien chez *Teucrium polium* L.

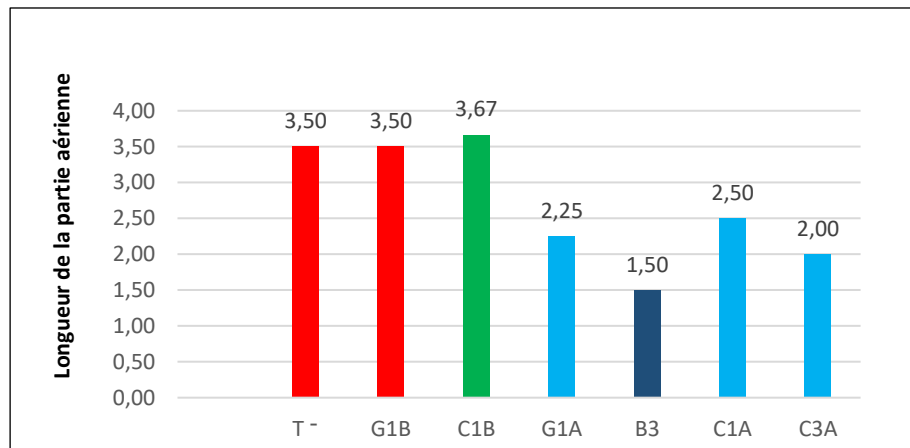


**Figure 25.** Développement des racines de *T. polium* sur milieu MS en conditions contrôlées.

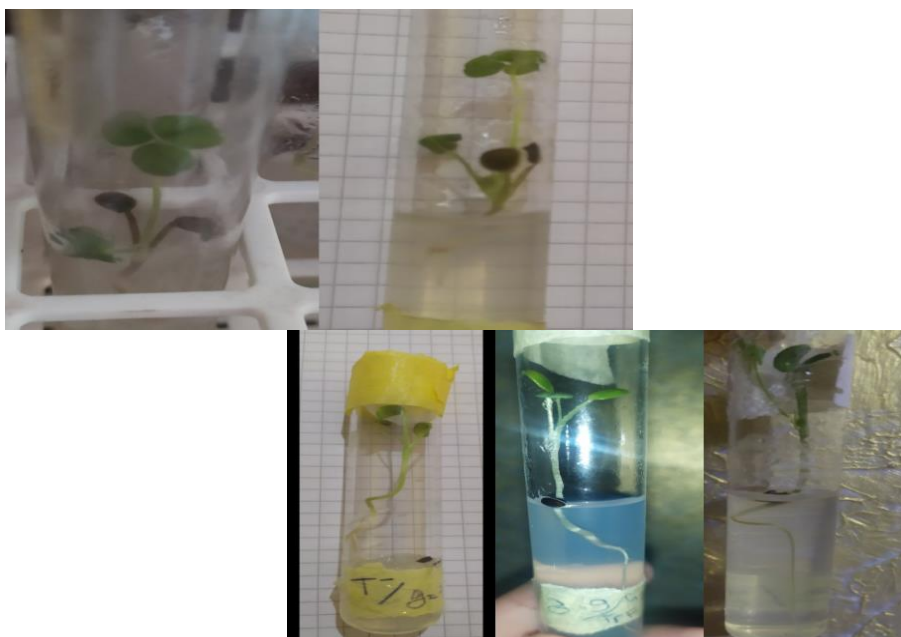
### 3.1.2.2 Longueur de la partie aérienne

L'analyse de la variance a montré des différences significatives entre les différentes concentrations d'auxine contenues dans les surnageants d'actinobactéries testées quant au développement de la partie aérienne chez les vitroplants de l'espèce *Trifolium subterraneum* ( $p < 0.038$ ) (Tableau A5, Annexe).

La lecture de la figure () révèle que la longueur la plus importante a été chez les vitroplants issus des graines prétraitées avec le surnageant de la souche C1B (2.84  $\mu\text{g}/0.3 \text{ ml}$  d'AIA), 3.67 cm. Elles sont suivies par les vitroplants prétraitées avec le surnageant de la souche G1B (10.33  $\mu\text{g}/0.3 \text{ ml}$ ) et les témoins avec 3.5 cm. La longueur la plus faible (1.5 cm) a été observée chez les échantillons prétraités avec le surnageant de la souche B3 (5.3  $\mu\text{g}/0.3 \text{ ml}$ ) (Fig. 26 et 27).



**Figure 26.** Variation des longueurs des parties aériennes en fonction des traitements à base d'AIA Actinobactériens chez *Trifolium subterraneum* L.



**Figure 27.** Développement des parties aériennes et apparition la première feuille simple et première trifoliée chez quelques plantules de *T. subterraneum*.

### 3.2 Discussion

La germination, étape transitoire entre le stade de la graine sèche et l'émergence de la radicule, est possible lorsque les conditions physiologiques et environnementales sont favorables (absence de dormance primaire, disponibilité d'oxygène, température adéquate) Bewley and Black (1994). Chaque espèce végétale a une gamme spécifique d'exigences environnementales nécessaires à la germination (Baskin et Baskin, 1998).

Les résultats de cette étude ont révélé que les taux de germination des graines non traitées chez les espèces spontanées étudiées, *Trifolium subterraneum* et *Teucrium polium*, étaient respectivement de 30 % et 9,02 %. Cela suggère que la majorité des graines semblent être affectées par un certain type de dormance.

Selon Taylor, (2005), les graines de *Trifolium subterraneum* peuvent être soit dures (généralement > 90%), soit possédant une dormance embryonnaire après la récolte d'une durée plus ou moins longue.

De même, pour *Teucrium polium*, Najafi *et al.*, (2006) suggèrent que les téguments durs des graines de cette espèce pourraient inhiber la germination, ce qui pourrait expliquer le très faible taux de germination de 2,2 % observé par Shakeri *et al.*, (2009).

Les résultats de cette étude ont montré une augmentation significative des taux de germination par rapport aux graines témoins, grâce à l'effet stimulant des prétraitements avec les surnageants bactériens des souches B3, C1B, G1B, G1A et C1B chez *T. subterraneum*, atteignant 80 % (pour la souche B3), et des souches G1A, G1B et B3 chez *T. polium*, avec 24,24 % (pour la souche G1A). Cela démontre le potentiel de ces souches qualifiées de PGPR à produire des hormones telles que l'auxine et la gibbérelline, mises en évidence dans cette étude, qui exercent un rôle biostimulant et synergique sur le processus de germination.

Le priming des graines permet d'améliorer la germination des graines ainsi que le développement des plantules en accélérant le déroulement des événements métaboliques et en surmontant les conditions défavorables grâce à l'activation d'un système de réponse au stress Johnson *et al.*, (2021).

En effet, plusieurs études ont démontré la capacité des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) dans l'amélioration de la germination des graines de tomates, poivrons, laitues, radis, maïs et soja (Kaymak *et al.*, 2009), et ont suggéré que l'application de certaines

de ces souches sous stress salin pourrait procurer un pourcentage de germination plus élevé (Kaymak *et al.*, 2009).

Selon Barassi *et al.*, (2006), les PGPR sont capables d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes par augmentation du taux de germination. Cet effet positif est attribué à la capacité de ces souches bactériennes à produire ou de modifier des hormones végétales, principalement, les gibbérellines qui jouent un rôle clé dans la germination

Kirdi et Zermane, (2010), dans leur étude ont montré la capacité de 12 souches PGPR à augmenter le taux et la vitesse de germination de graines appartenant à plusieurs espèces: *Vicia faba*, *Cicer arietinum*, *Triticum durum*, *Pisum sativum*, *Hordeum vulgare*, *Medicago sativa* et *Solanum lycopersicum*.

Les résultats de cette étude ont montré la capacité des souches G1B (10µg/0.3ml) et B3 (5.11 µg/0.3 ml) dans l'allongement des racines de *T. subterraneum* et *T. polium*, respectivement. Selon Ahmad et Kibret (2013) et Gupta *et al.*, (2015), l'auxine a un effet positif sur l'initiation de la croissance et l'élongation racinaire. Elle augmente également la ramification des racines et améliore l'absorption de minéraux et d'eau.

Dans le même contexte, Van Loon *et al.*, (1998) ont rapporté que les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruits et des graines.

Au cours de cette étude, nous avons également noté l'effet de la souche C1B sur la croissance de la partie aérienne chez le *Trifolium subterraneum*. L'AIA stimule l'élongation cellulaire, favorise la croissance des plantules et influence le développement des organes (Bishun *et al.*, 2021). De même, Van Loo (2007) ont montré l'effet de la gibbérelline à stimuler l'élongation de la tige.

Nos résultats ont indiqué aussi que la souche B3 a inhibé la croissance de la partie aérienne chez *trifolium subterraneum*. Cette diminution peut être expliquée par la présence d'autres molécules dans le surnageant de cette souche, qui ont un effet inhibiteur sur la croissance des vitoplants de cette espèce. D'autre part, l'effet inhibiteur peut être due à la concentration l'AIA dans le surnageant appliqué.

Ainsi, chez le blé, Roberto et Rodolfo (2004) ont rapporté que l'AIA peut inhiber la germination de cette espèce en agissant sur la concentration de gibbérelline qui régule la germination ce qui diminue la croissance de la plante. Par ailleurs, Chauhan *et al.*, (2009) et Roychowdhury *et al.*, (2012) ont rapporté la dépendance entre l'augmentation de la concentration de l'AIA et la diminution de germination et de croissance des plante.

# *Conclusion*

## Conclusion

Le présent travail porte sur l'étude de l'impact du priming sur le taux de germination des graines des espèces *Trifolium subterraneum* L., et *Teucrium polium* L. Il consiste à tremper les graines dans les surnageants de souches d'actinobactéries (G1A, G1B, B3, C1A, C1B, C3A), synthétisant différentes concentrations en Acide indole acétique (AIA) pendant 24H.

Les principaux résultats issus de ce travail révèlent :

- Les taux de germination des graines de *T. subterraneum* et *T. polium* n'ayant pas subi de priming ont été faibles.
- Les graines de *T. subterraneum* et *T. polium* ont montré une réponse positive à tous les primings à base des souches d'actinobactéries utilisés.
- L'analyse de variance a révélé un effet significatif des primings utilisés sur la germination chez les deux espèces.
- Une augmentation significative des taux de germination par rapport aux graines témoins, grâce à l'effet stimulant des prétraitements avec les surnageants bactériens des souches B3, C1B, G1B, G1A et C1B chez *T. subterraneum* et des souches G1A, G1B et B3 chez *T. polium*.
- Le potentiel des souches d'actinobactéries qualifiées comme PGPR à produire des hormones telles que l'auxine et la gibbérelline exerçant un rôle biostimulant et synergique sur le processus de germination et également la croissance chez les deux espèces.
- Le meilleur taux de germination (80%) a été constaté chez les graines ayant été amorcées dans le surnageant de la souche B3 chez *T. subterraneum* et 24.24% chez les graines de *T. polium* amorcées par le surnageant de la souche G1A.
- La capacité des souches G1B et B3 sur les longueurs des racines des racines de *T. subterraneum* et *T. polium*, respectivement, et le développement des racines secondaires chez *T. subterraneum*.
- L'effet stimulateur de la souche C1B et inhibiteur de la souche B3 de la croissance de la partie aérienne chez le *Trifolium subterraneum*.

Ces résultats prometteurs nécessitent des confirmations supplémentaires pour identifier les meilleures souches PGPR et les concentrations optimales en AIA afin d'améliorer davantage la germination et la croissance des deux espèces.

# *Références*

## Références

1. **Abbas, H., (2019).** Analyse de la diversité chimique de *Teucrium polium geyrii* Maire du Hoggar par les composés phénoliques et propriétés médicinales. Doctorat Sciences écobiologie et amélioration végétale, USTHB, Alger p, 200 p.
2. **Abdollahi, M., H. Karimpour and H.R. Monsef-Esfehani, (2003).** Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacological Research* 48 (1), pp. 31-35.
3. **Agueniou, F., Zeggagh, H., (2017).** Effet de la physicochimie des sols sur la diversité phénotypique et fonctionnelle des bactéries telluriques et l'interaction Bactérie-Blé dur. Mémoire de master en Sciences. Université A. MIRA, Bejaia.
4. **Aguiar, C., Rodrigues, M., Fernández-Nuñez, M.E., Domingos, T., Pires J., (2012).** The effect of soil microtopographic gradients on dry matter yields and species richness in two Mediterranean pastures. In 'New Approaches for Grassland Research in a Context of Climatic and Socio-Economic Changes. Proceedings of the 14th Meeting of the FAO-CIHEAM Subnetwork on Mediterranean Pastures and Fodder Crops'. Samsun, Turkey. (Eds Z Acar, A López Francos, C Porqueddu). 295– 298 (CIHEAM : Paris).
5. **Ahmad, M., Kibret., M., (2013).** -Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J King Saud Univer-Scien* 26(01): 1-20.
6. **Arab, R., Khalifa H., ABED EL KBIR K., (2021).** Botanique, utilisation thérapeutique de quelques lamiacées.
7. **Arora, N.K., Tewari, S., Singh, R., (2013).** Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their Mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs, in: *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. Springer, New Delhi, pp. 411–449. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4\\_16](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4_16).
8. **Autore, G., F. Capasso, R. De Fusco, M.P. Fasulo, M. Lembo and N. Mascolo., (1984).** Anti pyretic and anti bacterial actions of *Teucrium polium* (L.). *Pharmacological Research Communications* 16 (1), pp. 21-29.
9. **Baca, B.E., Elmerich C., (2007).** -Microbial Production of Plant Hormones. In: Elmerich C., Newton W.E. (Eds). *Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*, Springer, Netherlands. pp. 113-143.
10. **Bais, H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M., (2006).** -The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plnt Biol*, 57 : 233-266.
11. **Baliyan, N., Dhiman, S., Dheeman, S., Kumar, S., & Maheshwari, D. K. (2021).** Optimization of indole-3-acetic acid using response surface methodology and its effect on vegetative growth of chickpea. *Rhizosphere*, 17:100321.
12. **Bano, N, and J. Musarrat. (2003).** Characterization of a New *Pseudomonas Aeruginosa* Strain NJ-15 as a Potential Biocontrol Agent." *Current Microbiology* 46 (5): 324–28. <https://doi.org/10.1007/s00284-002-3857-8>.

13. **Barassi, C., Ayrault, G., Creus, C., Sueldo, R.J., Sobrero, M.T., (2006).** Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Sci. Hortic.* 109, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.025>.
14. **Baskin, J.M., Baskin C.C. (1998).** *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination.* Academic Press, San Diego, CA, USA.
15. **Beauchamp, C., (1993).** -Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74 (1), 19–27. <https://doi.org/10.7202/706033ar>.
16. **Benjida, H., Aouadi S., (2019).** -Effet promoteur des bactéries PGPR sur la croissance de la fève (*vicia faba* L). Mémoire de master. Université echahid hamma lakhder. El'oued. Algérie.
17. **Bewley, J.D.et Black M., (1994).** *Seeds: physiology of development and germination.* PeplumPress, New York (NY) 445P.
18. **Bishnu, M, Dhurva P, Sanjay N, Sharmila C, Janardan L. (2021).** Amelioration of growth attributes of *Bambusa nutans* subsp. *cupulata* Stapleton by indole-3-acetic acid extracted from newly isolated *Bacillus mesonae* MN511751 from rhizosphere of *Bambusa tulda* Roxburgh, Department of Biotechnology, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal b Department of Environmental Science and Engineering, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101920>.
19. **Botineau, M. (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs.* Lavoisier. 1403 p.
20. **Bouali, W., (2017).** Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bakr Belkaid, TLEMCEM.
21. **Boullard, B., (2003).** *Plantes médicinales du monde : réalités et croyances.* Paris. pp. 1092-1107.
22. **Butler, L.H., Hay F.R., Ellis R.H., Smith R.D., and Murray T.B. (2009).** Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. *Annals of Botany* 103:1261-1270. doi:10.1093/aob/mcp059.
23. **Chatelain, C., Medjahdi, B., Benhouhou, S. (2018).** eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa. *Ecol. Medi. Tome* 44 (2) (1926-2015). pp. 131-136. Flore du Maghreb (<https://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/index.html>).
24. **Chauhan, J., Tomar, Y., Indrakumar, S., Seema, A., Debarati, A., (2009).** Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *J Am Sci* 5, 79–84.
25. **Coineau Yves., (1995).** *Le sol: un milieu de vie.* Fondation pour la nature et l'homme Repères pour l'éducation à l'environnement.2, 2p.

26. **Côme D., (1970).** Ed. Masson et Cie, Paris., 162.
27. **Couplan, F. (2012).** Les plants et leur nom histoires insolite, Editions Quae, p. 224.
28. **Couplan, F. (2000).** Dictionnaire étymologie de botanique.Nestlé (Ed).Luisane. Paris.
29. **Dobignard, A. & Chatelain, C. (2012).** Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord. Vol. 4 : Dicotyledoneae : Fabaceae –Nymphaeaceae. Conservatoire et jardins botaniques, Genève. e22275. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0022275>.
30. **Ei M, Beibei G, Jinjin M, Hailan C, Binghua L, Liming S, Mingguo J and Kecheng Z. (2019).** Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth, Myo et al. : BMC Microbiology (2019) 19\_155 <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1528-1>.
31. **Ellison, N.W., Liston, A., Steiner, J.J., Williams, W.M., Taylor, N.L. (2006).** Molecular phylogenetics of the clover genus *Trifolium* (Leguminosae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 39 :688-705.
32. **Enkhbat, G., Nichols P.G.H., Foster, K.J., Ryan, M.H., Inukai, Y., Erskine, W. (2021).** Diversity for morphological traits, flowering time and leaf isoflavone content among ecotypes of *Trifolium subterraneum* L. ssp. *yannanicum* and their relationships with site of origin. *Crop and Pasture Science*. 72 (12) : A-L.
33. **Esmaili M.A., Yazdanparast R. (2004).** Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*. 95:27-30.
34. **Everari ,M (1984).** Seed physiology: its history from antiquity to the beginning of the 20th century. *Bot Rev* 50 :119–142.
35. **Fares, R., Bouchaib A. (2017).** Recherche de bactéries développant une activité antagoniste vis -à- vis des agents de la pourriture racinaire de blé dur. Mémoire de Master. Université de Constantine 1.101 pp.
36. **Ferreyrolle, J. & Pierre P. (2016).** Exploiter la diversité des légumineuses annuelles et pérennes pour des mélanges fourragers adaptés aux contraintes climatiques du sud de la France. *Fourrages*. 226 :103- 110.
37. **Frame, J., Laidlaw, A.S. (2005).** Prospects for temperate forage legumes. In 'Grasslands : Developments, opportunities, perspectives'. (Eds SG Reynolds, J Frame) pp. 1–28. (FAO : Rome).
38. **Frame, J., Charlton, J.F.L., Laidlaw, A.S. (1998).** Temperate Forage Legumes, Wallingford, UK CAB International. 327 p.
39. **Glick BR., Bashan Y., (1997).** Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phyto-pathogens. *Biotechnol. Adv.* 15 :353-378.
40. **Gordon, Solon A, and Robert P Weber., (1951).** Colorimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiology* 26 (1): 192.

41. **Graczyk, M., Andres, K., Kapkowska, E., Szwaczkowski, T. (2015).** Pedigree analyses of the Zatorska goose population. *Czech Journal of Animal Science*. 60 : 513–520. <https://doi.org/10.17221/8560-CJAS>.
42. **Gupta, G., Parihar, S.S., Ahirwar, N.K., Snehi, S.K., Singh, V., (2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J. Microb. Biochem. Technol.* 7, 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>.
43. **Herrbach, V., (2013).** Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitooligosaccharides (LCOs) symbiotiques chez *Medicago truncatula*. Toulouse 3.
44. **Heyn, C.C. (1981).** *Trifolieae*. In : *Advances in Legume Systematics*. pp. 383–385. Part 1., Polhill, R. M., and Raven, P. H., Eds., Royal Botanic Gardens, Kew, UK. <https://doi.org/10.12705/622.8>.
45. **Johnson, R., Puthur J.T., (2021).** Seed priming as a cost effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. *Plant Physiol Biochem.*,162 :247-257. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.02.034.
46. **Kaileh, M., Berghe, W.V., Boone, E., Essawi, T., Haegeman, G. (2007).** Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *J. Ethnopharmacol.* 113:510-516.
47. **Kaymak, H., Ç. Güvenç, İ.Y. Faika and D. MESUDE FİGEN., (2009).** "The Effects of Bio-priming with PGPR on Germination of Radish (*Raphanus sativus* L.) Seeds under Saline Conditions," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*: Vol. 33: No. 2, Article 9. <https://doi.org/10.3906/tar-0806-30>
48. **Kaur, P., Bayer, P.E., Milec, Z., Vrána, J., Yuan, Y., Appels, R., Edwards, D., Batley, J., Nichols, P., Erskine, W., et al. (2017).** An advanced reference genome of *Trifolium subterraneum* L. reveals genes related to agronomic performance. *Plant Biotechnology Journal*. 15 :1034–1046.
49. **Khan, M.S., Zaidi A., Wani P.A., Oves M., (2009).** -Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.
50. **Khan, A.L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., Al-Khiziri, S., Ullah, I., Ali, L., Jung, H.-Y., Lee, I.-J., (2014).** Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *J. Microbiol.* 52, 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>.
51. **Khleifat K., Shakhaneh J. & Tarawneh K., (2001).** The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in the rat. *Turkey Journal of Biology*. 26 : 65-71.
52. **Kirdi, B., Zermane, N., (2010).** Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites : *Orobanche crenata* Forsk. et *Cuscuta campestris* Yuncker / “Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: *Orobanche crenata* Forsk. and *Cuscuta campestris* Yuncker”.
53. **Kombi kaviriri D. (2011).** Inventaire et Description Des Fabaceae Arbres (Momosoidae et Faboidae) De Kinshasa et ses environs, Université De Kinshasa.

54. **Langer, R.H.M. (1990).** Pasture plants. In R. H. M. Langer (Ed.), *Pastures : their ecology and management*. 39-74. Oxford University Press, New York.
55. **LPWG, (Legume Phylogeny Working Group). (2013).** Legume phylogeny and classification in the 21st century : Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*. 62 : 217– 248.
56. **Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Kubala, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., and Garnczarska, M. (2016).** Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique. In "New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology".
57. **Masson, P. (1997).** Des prairies de très longue durée avec des espèces annuelles à ressemis spontané : les pâtures à trèfle souterrain. *Fourrages*. 153 : 139-146.
58. **Masson, P. (1997).** Des prairies de très longue durée avec des espèces annuelles à ressemis spontané : les pâtures à trèfle souterrain. *Fourrages*. 153 : 139-146.
59. **Maureira-Butler, I.J., Pfeil, B.E., Muangprom, A., Osborn, T.C., Doyle, J.J. (2008).** The reticulate history of *Medicago* (Fabaceae). *Systematic Biology*. 57 : 466–482.
60. **McGuire, W. S. (1985).** Subterranean clover. In *Clover Science and Technology* (Ed. N. L. Taylor), 515– 534. Madison, WI : American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.
61. **Meyer, S., Reeb C., Bosdeveix r., (2004).** Botanique, biologie et physiologie végétale. Ed. Moline, Paris, p.461.
62. **Morgan, J.A.W., Bending G. D., White P. J., (2005).** Biological costs and benefits to plant microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56: 1729–1739.
63. **Monita, P. V., P.K. Rajesh (2014).** Indole-3-acetic acid (IAA) production by endophytic bacteria isolated from saline dessert, the little run of kutch. *CIBTech Journal of Microbiology*. 3 : 17-28. Doi: 10.1007/s00284-013-0348-z. consulté le 05/07/2021.
64. **Nadjafi, F., Bannayan M., Tabrizi L., Rastgoo M. (2006).** Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. *J. Arid Envir.* 64 : 542–547.
65. **Niazmand, S., Erfanian Ahmadpoor M., Moosavian M. & Derakhshan M., (2008).** The positive inotropic and chronotropic effects of *Teucrium Polium* L Extract on Guinea Pig Isolated Heart. *Pharmacologyonline*. 2 : 588-594.
66. **Narayanasamy, P., (2013).** Detection and Identification of Bacterial Biological Control Agents, in: *Biological Management of Diseases of Crops, Progress in Biological Control*. Springer, Dordrecht, pp. 201–293. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6380-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6380-7_4)
67. **Nichols, P. (2017).** Subterranean clover. Western Australia Dept of primary industries and regional development, agriculture and food. <https://www.agric.wa.gov.au/pasture-species/subterranean-clover?page=0%2C2> (Consulté le 20 juillet 2022).
68. **Nichols, P. and Dear, B. (2007).** Factsheet : subterranean/sub clover (ssp. *subterraneum*). *Pastures Australia*. [http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/pastures/Html/SubterraneanSub\\_clover\\_\(ssp.\\_subterraneum\).htm](http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/pastures/Html/SubterraneanSub_clover_(ssp._subterraneum).htm).

69. **Nichols, P.G.H., Foster, K.J., Piano, E., Pecetti, L., Kaur, P., Ghamkhar, K. and Collins, W. J. (2013).** Genetic improvement of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). 1. Germplasm, traits and futures prospects. *Crop and Pasture Science*. 64 : 312–346.
70. **Osburn, R.M., Schroth, M.N., Hancock, J.G., and Hendson, M. (1989).** Dynamics of sugar beet seed colonization by *Pythium ultimum* and *Pseudomonas* species: effects on seed rot and damping-off. *Phytopathology*, 79(6): 709-716
71. **Ozenda, P., (1983).** Flore de sahra. CNRS. Éd, Paris, p.622.
72. **Pecetti, L., Tava, A., Pagnotta, M.A., Russi, L. (2007).** Variation in forage quality and chemical composition among Italian accessions of *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirt. *In : Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87 : 985-991.
73. **Piluzza, G., Pecetti, L., Bullitta, S., Piano, E. (2005).** Discrimination among subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. complex) genotypes using RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52 :193– 199.
74. **Pistrick K., (2002).** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49 : 211225.
75. **Quézel, P, Santa S, (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris: CNRS éditions.
76. **Rehman F, Kalsoom M, Adnan M, Toor MD and Zulfiqar A. (2020).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria and their Mechanisms Involved in Agricultural Crop Production: A Review. *SunText Review of BioTechnology*, 1(2).
77. **Roberto, B.-A., Rodolfo, S., (2004).** Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture, 1 edition. ed. CRC Press, New York.
78. **Roychowdhury, R., Mamgain, A., Ray, S., Tah, J., (2012).** Effect of gibberellic acid, kinetin and indole 3-acetic acid on seed germination performance of *Dianthus caryophyllus* (Carnation). *Agr Conspectus Sci* 77, 157–160.
79. **Sarikurkcu, C., Tepe B., Dafererad., PolissiouM., Harmandar M. (2008).** Studies on the anti-oxidant activity of the essential oil and me than extract of *Marrubium globosum* sub sp. *Globosum* (lamiaceae)three differentchemicalassays, *Biores. Technol.*, 99 :4239-424.
80. **Saslis-Lagoudakis, C.H., Klitgård, B.B., Forest, F., Francis, L., Savolainen, V., Williamson, E.M. & Hawkins, JA. (2011).** The Use of phylogeny to interpret cross-cultural patterns in plant use and guide medicinal plant discovery : An example from *Pterocarpus* (Leguminosae). *PLoS ONE*. 6(7).
81. **Shakeri, M., miyan abady, M., & yazdan parast, R. (2009).** Effects of different treatments on seed dormancy of *Teucrium polium*. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 17(1), 100-111.
82. **Smy'kal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M.J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M.W., Berger, J., Greene, S.L., Nelson, M.N., Besharat, N., Vymyslicky, T. (2015).** Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 34 : 43-104. doi : 10.1080/07352689.2014.897904.

83. **Sosa M. E., Tonn C. E. (2006).** Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem. Rev.*, 7(1):324.
84. **Sprent, J.I. (2009).** Legume nodulation : A global perspective. West Sussex : Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444316384>.
85. **Sultana, S., Foster, K., Lim, L.Y., Hammer, K., Locher, C.A. (2022).** Review of the Phytochemistry an Bioactivity of Clover Honeys (*Trifolium* spp.). *Foods*. 11, 1901. <https://doi.org/10.3390/foods11131901>.
86. **Taylor, G.B. (2005).** Hardseededness in Mediterranean annual legumes in Australia : a review. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56 : 645–661. doi:10.1071/AR04284.
87. **Tava, A., Pecio, L., Lo Scalzo, R., Stochmal, A. and Pecetti, L. (2019).** Phenolic Content and Antioxidant Activity in *Trifolium* Germplasm from Different Environments. *Molecules*. 24, 298. doi :10.3390/molecules24020298.
88. **Teixeira, C. S, P., Hampton, J.G. & Moot, D. J. (2020).** Reproductive development in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) : A reanalysis of Oceania datasets. *European Journal of Agronomy*. 119 : 126123. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126123>.
89. **Van Loon, L.C., (2007).** -Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J.Plant Pathol*. 119: 243-254.
90. **Yahiaoui, A., Benoune, C.H. (2021).** Étude bibliographique d’une plante appartenant au genre *Satureja*, P 4-56.
91. **Zohary, M. (1970).** *Trifolium* L. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 3, Davis PH (ed.). University Press : Edinburgh. 384–448.
92. **Zohary, M. & Heller, D. (1984).** The genus *Trifolium*. *Israel Academy of Sciences and Humanities*. Jerusalem. pp.1-606.

### Webographies

- Site1

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Tr%C3%A8fle#/media/Fichier:Trifolium Distributon.png](https://fr.wikipedia.org/wiki/Tr%C3%A8fle#/media/Fichier:Trifolium_Distributon.png).

- Site 2

<https://www.boutique-vegetale.com/wp-content/uploads/2024/01/Ocimumbasilicum-Glycyrrhizum-Feuilles-de-Basilic-reglisse-CC0.jpg>.

- Site 3

[https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.preservons-lanatu.re.fr%2Fflore%2Ftaxon%2F1149.html&psig=AOvVaw3xjovcGZh2F\\_x3UbLWOMLr&ust=1707988477896000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBIQjRxqFwoTCOD3iIe\\_qoQDFQAAAAAdAAAAABAR](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.preservons-lanatu.re.fr%2Fflore%2Ftaxon%2F1149.html&psig=AOvVaw3xjovcGZh2F_x3UbLWOMLr&ust=1707988477896000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBIQjRxqFwoTCOD3iIe_qoQDFQAAAAAdAAAAABAR).

- Site 4

<https://www.graines-baumaux.fr/272080-plante-saucisson-teucrium-polium.html>.

# *Annexes*

**Composition du bouillon de tryptophane**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone : 10,0 g
- DL-Tryptophane : 1,0 g
- Chlorure de sodium: 5,0 g

**Réactif de Salkowski**

FeCl<sub>3</sub> : 4,06 g.

Acide perchlorique : 75 ml.

Eau distillée : 75 ml.

**Tableau A1** : Analyse de variance du % de germination chez *Trifolium subterraneum* L.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6	0,383	0,064	10,694	<b>0,000</b>
Erreur	14	0,083	0,006		
Total corrigé	20	0,466			

**Tableau A2** : Test de Tukey 5% : groupes homogènes (% de germination, *T.subterraneum*)

Modalité	Moyennes estimées	Groupes			
B3	1,047	A			
C1B	0,913	A	B		
G1B	0,853	A	B		
G1A	0,828		B		
C1A	0,798		B		
C3A	0,729		B	C	
T	0,581				C

**Tableau A3**: Analyse de variance du % de germination chez *Teucrium polium* L

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	3	0,096	0,032	8,215	<b>0,008</b>
Erreur	8	0,031	0,004		
Total corrigé	11	0,127			

**Tableau A4** : Test de Tukey 5% : groupes homogènes (% de germination *T.polium* )

Modalité	Moyennes estimées	Groupes			
G1A	0,529	A			
G1B	0,474	A			
B3	0,419	A			B
T	0,289				B

**Tableau A5:** Analyse de variance pour la longueur de la racine chez *T.subterraneum* L.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6	20.975	3.496	2.377	<b>0.050</b>
Erreur	35	51.473	1.471		
Total corrigé	41	72.448			

**Tableau A6 :** Analyse de variance de la longueur de la racine chez *Teucrium polium* L.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	3	1.528	0.509	0.485	0.699
Erreur	12	12.590	1.049		
Total corrigé	15	14.118			

**Tableau A7 :** Analyse de variance de la longueur de la partie aérienne chez *T. subterraneum*

DDL	Somme des carrés	des	Moyenne des carrés	F	Pr > F
6	14.010		2.335	2.536	<b>0.038</b>
35	32.223		0.921		
41	46.233				