

**Nom et Prénom : BENJELLOUN IMANE**

**Date de soutenance : 05/06/2021**

**Directeur de Thèse : DOUIRA ALLAL**

**Sujet de Thèse :**

**Diversité phénotypique et moléculaire des bactéries endophytes nodulaires du pois chiche (*Cicer arietinum*) au Maroc, et effet de la co-inoculation de *Mesorhizobium* sp. et de PGPRs sur la nodulation et le rendement du pois chiche cultivé sous conditions de déficit en phosphore**

**Résumé :**

Un total de 135 isolats endophytes ont été isolés des nodosités du pois chiche et étudiés pour leur diversité phénotypique, symbiotique et moléculaire, afin de sélectionner les candidats indigènes les plus performantes pour des essais d'inoculation sous-serre et aux champs. La caractérisation phénotypique a décelé une large variabilité de réponse aux différents pH, températures, salinité et stress hydrique. De même, un large éventail de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds a été constaté. L'analyse des séquences de l'ADNr16S a montré que les nodules sont occupés par une grande diversité de bactéries. L'ensemble des bactéries nodulantes ont été classées dans le genre *Mesorhizobium* alors que les autres bactéries endophytes ont été classées dans les genres *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Brevibacterium* et *Bacillus*. Au sein du genre *Mesorhizobium*, l'analyse MLSA des gènes *recA*, *atpD*, *glnII* et *dnaK* a classé les microsymbiotes du pois chiche dans 5 géno-espèces différentes : *M. ciceri*, *M. opportunistum*, *deM. quingshengii*, *M. plurifarum* et d'autres isolats qui représente une nouvelle géno-espèce de *Mesorhizobium*. En se basant sur cette diversité, deux souches rhizobiennes ont été sélectionnées afin d'évaluer leur performances en co-inoculation avec des bactéries solubilisatrices du phosphore sous conditions de déficit en phosphore sur la nodulation, le développement et le rendement du pois chiche à travers des essais sous-serre et aux champs. Les résultats obtenus ont révélé que la co-inoculation du pois chiche a permis une augmentation de la nodulation, du poids sec des biomasses aériennes et racinaires et du rendement en grains.

**MOTS-CLES:**

*Mesorhizobium ciceri*, pois chiche, biodiversité, MLSA, PGPR, inoculation, fertilisants biologique, fixation d'azote, solubilisation de phosphore, déficit en phosphore.

**Abstract :**

Chickpea (*Cicer arietinum*) in arid and semi-arid environments is frequently affected by harsh environmental stresses which limit its growth and productivity and affect biological nitrogen fixation ability of rhizobia. Inoculation with appropriate stress tolerant rhizobia is necessary for an environmentally friendly and sustainable agricultural production. Phenotypic characterization of 135 endophytic bacteria from chickpea nodules showed a variable response to abiotic stresses and showed desirable physiological characteristics such as tolerance to extreme temperatures, pH and salinity and environmental toxicity. These provide a basis for selecting rhizobia or potential plant growth promoting bacteria that can be further used as candidates for formulating appropriate inoculum to improve nitrogen fixation and eventually chickpea yield and soil fertility in stressed areas. Sequencing of 16S rRNA gene of endophytic bacteria from chickpea nodules revealed that 55% of isolated bacteria belong to *Mesorhizobium* genus. Based on MLSA of core genes (*recA*, *atpD*, *glnII* and *dnaK*), tested strains were distributed into six clades and were closely related to *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium opportunistum*, *Mesorhizobium quingshengii*, and *Mesorhizobium plurifarum*. Most of nodulating strains were belonging to a group genetically distinct from reference *Mesorhizobium* species. Other isolates that belong to beta-proteobacteria and gamma- proteobacteria were present in chickpea nodules.

Based on this phenotypic and molecular diversity, two rhizobial strains were selected to test their symbiotic potential in combination with bacteria solubilizing phosphate in greenhouse and field trials under low phosphate conditions. Obtained

results revealed a significant enhancement of chickpea nodulation, biomass production, yields and nitrogen, phosphate and protein content in grains as compared to single inoculation or single application of nitrogen or phosphate.

**Keywords:**

Mesorhizobium ciceri, chickpea, diversity, MLSA, PGPR, inoculation, bio-fertilizers, nitrogen fixation, phosphate solubilization, phosphate deficiency.