



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسنطينة
الطبيعة الحياة كلية

Département : Biologie et Ecologie Végétale : بيولوجيا إيكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et génomique végétale

Intitulé :

**Etude des PGPR “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*”
des plantes actinorhiziennes :
cas de *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnus angustifolia***

Présenté et soutenu par : M^{elle} AOUANE Maroua
M^{elle} HAMANI Hanen

Le : 20 juin 2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid (Professeur – UFM Constantine I).

Encadrante : BENABDOUN Faiza Meriem (M.C.B – UFM Constantine I).

Examinatrice : MAOUGAL Rim Tinhinen (M.C.B – INATAA UFM Constantine I).

*Année universitaire
2016 - 2017*



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسنطينة
الطبيعة الحياة كلية

Département : Biologie et Ecologie Végétale : بيولوجيا إيكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et génomique végétale

Intitulé :

**Etude des PGPR “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*”
des plantes actinorhiziennes :
cas de *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnus angustifolia***

Présenté et soutenu par : M^{elle} AOUANE Maroua
M^{elle} HAMANI Hanen

Le : 20 juin 2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid (Professeur – UFM Constantine I).

Encadrante : BENABDOUN Faiza Meriem (M.C.B – UFM Constantine I).

Examinatrice : MAOUGAL Rim Tinhinen (M.C.B – INATAA UFM Constantine I).

*Année universitaire
2016 - 2017*

Remerciements



Nos vifs remerciements vont au Pr. M. AbdelHafid HAMIDECHI, qui nous a fait le très grand honneur d'accepter de présider ce jury, et Dr. Rim Tinhinen MAOUGAL, de nous avoir fait l'honneur de juger ce travail et pour le temps qu'elle a consacré pour l'examiner.

Nous remercions notre Dieu tout Puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

On aimerait exprimer nos plus sincères remerciements à notre encadrante, Dr. Faiza Meriem BENABDOUN, maitre de conférences à l'Université Mentouri-Constantine I, qui nous a guidées tout au long de la réalisation de ce travail, mais aussi pour la formation scientifique que nous avons acquise.

Nous tenons à remercier toute l'équipe des laboratoires de « Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales », en particulier, Mr. Nadir BELBEKRI pour son assistance et ses conseils, ainsi que M^{me} ZAHRAOUI Chafika qui a été très patiente et bienveillante avec nous.

Notre gratitude va tout particulièrement à Mr. Mahmoud TEMAGOULT, au Pr. M. AbdelHafid HAMIDECHI, à Mr. Kamel KELLOU et à M^{me} Adra MOUELLEF. Merci de nous avoir conseillées et aidées.

Nous adressons nos remerciements à tous nos enseignants. Nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience, tout au long de notre cursus universitaire.

Un grand merci à nos collègues de promotion ainsi qu'à toute personne qui a aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail

A ma mère,

A la mémoire de mon père,

A mes frères et sœurs,

A toute ma famille,

A mon binôme et sœur,

A Gregory,

A mes amis et collègues de BTGV,

A tous mes enseignants,

Sans qui tout cela n'aurait pas été possible.

Maroua

Je dédie ce mémoire

*A mes parents, qui ont toujours cru en moi et
n'ont jamais cessé de m'encourager,
A ma très chère sœur Imène,
A mon très cher frère Housseem Eddine,
A ma nièce chérie Meriem,
A mon binôme et sœur Maroua,
A mes amis et mes collègues BTGV,
Et à tous ceux qui étaient présents pour moi*

Hanen

Résumé

Dans la rhizosphère peuvent cohabiter différents microorganismes qui interfèrent avec la plante sur un continuum allant du parasitisme au mutualisme. Dans le cas des plantes actinorhiziennes, la symbiose mutualiste fixatrice d'azote avec la bactérie *Frankia* est parmi les plus étudiées en écologie des interactions. Parmi ces plantes, on trouve le Filao (*Casuarina equisetifolia*) et l'Olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*), deux arbres ayant un intérêt fondamental en agro-écologie. Les rhizobactéries peuvent également avoir un effet bénéfique sur la plante. Ces symbioses associatives concernent les bactéries « PGPR » (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*).

Dans le cadre de notre travail, nous avons analysé deux types de données. Le premier type de données englobe les caractéristiques phénotypiques et biochimiques, obtenues à partir des rhizobactéries de *C. equisetifolia* et d'*E. angustifolia*. Les résultats obtenus nous ont orientés vers le groupe taxonomique des *Pseudomonas* fluorescents. Le deuxième type de données est basé sur l'évaluation du potentiel PGP des bactéries (phytostimulation, biofertilisation et biocontrôle), et nous a servi à classer puis à sélectionner les bactéries les plus performantes. Nous avons conclu que 100% des bactéries sont des PGPR pour au moins l'un des caractères, mais seulement 31% des isolats ont montré des scores favorables pour les trois qualités testées, représentant ainsi des candidats exploitables pour de profondes expertises.

Une étude prolongée dans le futur, nécessite une identification génotypique précise des isolats par le séquençage du gène ARNr 16S, suivi par l'observation directe des effets PGPR sélectionnées, sur la croissance des plantes.

Mots clés : Plantes actinorhiziennes, agro-écologie, PGPR, phytostimulation, biofertilisation, biocontrôle.

Summary

Within the rhizosphere, there can be different microorganisms that interact differently with plants on a continuum scale, going from parasitism to mutualism. In the case of actinorhizal plants, the nitrogen-fixing mutualism symbiosis with actinomycetes bacteria *Frankia* is the most studied in the ecology of interactions. Among these plants, we have the Australian Pine (*Casuarina equisetifolia*) and Russian Olive (*Elaeagnus angustifolia*): two pioneer trees with a fundamental role in agro-ecology. Other rhizobacteria in the soil can also have a beneficial effect on the plant. These associative symbioses concern the bacteria "PGPR" (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*).

The goal of the present study was to collect and analyze two types of phenotypic data obtained from bacteria from the rhizospheres of the two actinorhizal trees: *C. equisetifolia* and *E. angustifolia*. The first data encompass the macroscopic and microscopic characteristics of each isolate. The results obtained have oriented us towards the taxonomic group of fluorescent *Pseudomonas* due to their specific pigment, "pyoverdine". This character is a common point of the two rhizospheres confirming the ubiquitous nature of *Pseudomonas* spp. The second type of data is based on the evaluation of their PGPR potential (phytostimulation, biofertilization and biocontrol) and has been used to classify and select the most efficient PGPR. We concluded that 100% of the bacteria are PGPR for at least one of the studied characters, but only 31% of the isolates showed favorable scores for the three qualities tested, thus representing exploitable candidates for profound expertise.

A prolonged study in the future on these bacteria require a precise identification of the isolates by the RNAr 16s sequencing followed by direct application and observation of selected PGPR effects on plant growth..

Keywords: Actinorhizian plants, agro-ecology, PGPR, phytostimulation, biofertilization, biocontrol.

تأثير ريزوسفير هي انتشار بيولوجي أين يش كائنات حية دقيقة بإمكانها الجذرية (Actinorhizal plants) التعايش التكافلي الاكتينومييسيتس (*Frankia*) هو التفاعلات البيئية الأكثر دراسة. ومن بين هذه النباتات نجد كازارينا كنبائية الاوراق (*Casuarina equisetifolia*) الزيتون الروسي (*Elaeagnus angustifolia*) التي لها مصلحة أساسية في إيكولوجيا الزراعة. الكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في الريزوسفير يمكنها أيضا تأثير ايجابيا التعايش التعاوني البكتيريا « PGPR » (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*)

الهدف هذه تحليل نوعين من البيانات المظهرية تم الحصول عليها من بكتيريا ريزوسفير الشجرتين *C. equisetifolia* *E. angustifolia*. البيانات العيانية والمجهريية بكتيرية. المتحصل عليها وجهتنا إلى المجموعة التصنيفية « *Pseudomonas* » (fluorescents) الخاصة بها «البيوفيردين» ما يؤكد طابع *Pseudomonas*. ويستند النوع الثاني من البيانات على تقييم إمكانات « PGPR » (التحفيز و التسميد الحيوي والمكافحة الحيوية) لتصنيف وتحديد البكتيريا الأكثر كفاءة. استنتجنا من هذا التقييم أن 100 في المائة من البكتيريا تصنف « PGPR » 31 في المائة فقط من العزلات أظهرت نتائج جيدة للمعايير الـ المقاسة و وهي بالتالي مرشحة وصالحة للاستعمال لدراسات عميقة. يتطلب تحديد وراثي دقيق للعزلات ARNr 16s, تليها الملاحظة لـ « PGPR » النباتات تطبيقها على

الكلمات المفتاحية : العقد الجذرية (Actinorhizal plants), PGPR, إيكولوجيا الزراعة, التحفيز, التسميد الحيوي, المكافحة الحيوية.

Table des matières

<i>Liste des figures</i>	<i>i</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>iii</i>
<i>Liste des abréviations et des acronymes</i>	<i>iv</i>
<i>Introduction générale</i>	1
 <i>Synthèse bibliographique</i>	
I. Les plantes actinorhiziennes	3
1. Généralités	3
2. Classification	3
3. Données écologiques	5
4. Utilisation	6
II. L'Olivier de Bohême (<i>Elaeagnus angustifolia</i>)	6
1. Généralités et classification	6
2. Description botanique	6
3. Origine et distribution	9
4. Interaction biotique et capacité à fixer l'azote	9
5. Usage et comportement	10
III. Le Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>)	10
1. Origine et classification	10
2. Description botanique	11
3. Plasticité du système racinaire	11
4. Potentiel de fixation d'azote	13
5. Usage et comportement	14
IV. La relation intime « sol-système racinaire »	15
1. L'interaction « sol-plante »	15
2. La rhizosphère : zone de transition	17
3. Les bactéries rhizosphériques	19
V. Les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)	19
1. Généralités	19
2. Potentiel biotechnologique	21
3. Modes d'action	21
 <i>Matériel et méthodes</i>	
I. Matériel biologique	26
II. Méthodes	26

1. Mode et conditions de culture.....	26
2. Etude macroscopique	26
3. Etude microscopique	27
3.1. Coloration différentielle de Gram.....	27
3.2. Examen à l'état frais	27
3.3. Observation microscopiques	27
4. Etude biochimique et physiologique	27
4.1. Production de pigments	27
4.2. Etude des enzymes respiratoires.....	28
5. Analyse des caractères PGPR.....	28
5.1. Phytostimulation et biofertilisation	28
5.2. Biocontrôle	30
6. Analyse statistique	30

Résultats et discussion

I. Etude macroscopique.....	31
II. Etude microscopique	32
III. Etude biochimique et physiologique	35
1. Production de pigments	35
1.1. Détection de pyoverdine	35
1.2. Détection de pyocyanine.....	35
2. Etude des enzymes respiratoires	37
IV. Analyse factorielle des résultats de l'étude macroscopique microscopique et biochimique	39
V. Analyse des caractères PGPR	41
1. Phytostimulation et biofertilisation	42
1.1. Production d'acide indole 3-acétique (AIA)	42
1.2. Fixation d'azote	45
1.3. Solubilisation du phosphate inorganique.....	45
2. Biocontrôle	48
2.1. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)	48
2.2. Production d'ammoniac (NH ₃)	49
3. Analyse en Composantes Principales des caractères PGP	49
3.1. ACP des isolats de la rhizosphère d'Elaeagnus angustifolia	49
3.2. ACP des isolats de la rhizosphère de Casuarina equisetifolia	51
3.3. Sélection des PGPR les plus performantes.....	52
<i>Conclusion et perspectives</i>	56
<i>Références bibliographiques</i>	59
<i>Annexes</i>	68

Liste des figures

Figure 1 : Aspect morphologique de quelques plantes actinorhiziennes	4
Figure 2 : Quelques espèces du genre <i>Elaeagnus</i>	8
Figure 3 : L'arbre tropical <i>Casuarina equisetifolia</i>	12
Figure 4 : Plantation et utilisation des Casuarinacées	16
Figure 5 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère	18
Figure 6 : L'effet biofertilisant des PGPR (<i>Bacillus subtilis</i> et <i>B. amyloliquefaciens</i>) sur la croissance et la vigueur des plants de poivrons.....	22
Figure 7 : Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère	22
Figure 8 : Aspect macroscopique des rhizobactéries sur milieu « King B ».....	33
Figure 9 : Coloration différentielle de Gram	34
Figure 10 : Forme et arrangement des bactéries vues au microscope optique.....	34
Figure 11 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.....	36
Figure 12 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A ».....	38
Figure 13 : Réaction de la catalase positive	38
Figure 14 : Réaction de l'oxydase	38
Figure 15 : Distribution des isolats bactériens d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> donnée par l'Analyse Factorielle 1 (AF1).....	40
Figure 16 Distribution des isolats bactériens de <i>Casuarina equisetifolia</i> donnée par l'Analyse Factorielle 2 (AF2).....	40
Figure 17 : Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu solide	43
Figure 18 : Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu liquide	43
Figure 19 : Croissance des rhizobactéries sur milieu nutritif exempté d'azote	46

Figure 20 : Solubilisation du phosphate inorganique sur le milieu « PVK » par les rhizobactéries	46
Figure 21 : Production d'HCN par les rhizobactéries sur milieu solide	50
Figure 22 : Production de NH ₃ par les rhizobactéries sur milieu liquide	50
Figure 23 : Distribution des isolats bactériens d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> pour leurs activités PGPR (phytostimulation et biofertilisation), donnée par l'ACP	53
Figure 24 : Distribution des isolats bactériens d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> pour leurs activités PGPR (biocontrôle), donnée par l'ACP	53
Figure 25 : Distribution des isolats bactériens de <i>Casuarina equisetifolia</i> pour leurs activités PGPR, donnée par l'ACP	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>Casuarina equisetifolia</i>	7
Tableau 2 : Classification taxonomique d' <i>Elaeagnus angustifolia</i>	12
Tableau 3 : Qualités phytobénéfiques de quelques PGPR	25
Tableau 4 : Estimation de la production de l'AIA par les rhizobactéries	44
Tableau 5 : Estimation de la croissance des rhizobactéries sur un milieu nutritif exempté d'azote.....	47
Tableau 6 : Screening des isolats rhizobactériens pour les traits PGPR étudiés	55

Liste des abréviations et des acronymes

°C	degré <u>C</u> elsius
16S	gène de l'ARN ribosomique
ACP	<u>a</u> nalyse en <u>c</u> omposantes <u>p</u> rincipales
AF	<u>a</u> nalyse <u>f</u> actorielle
AIA	<u>a</u> cide <u>i</u> ndole 3- <u>a</u> cétique
ARNr	<u>a</u> cide <u>r</u> ibonucléique <u>r</u> ibosomique
C	<u>C</u> asuarina
DO	<u>d</u> ensité <u>o</u> ptique
h	<u>h</u> eure
HCN	<u>c</u> yanure d' <u>h</u> ydrogène
LB	<u>l</u> ysogeny <u>b</u> roth
M	<u>m</u> olaire
min	<u>m</u> inute
N₂	diazote
NH₃	ammoniac
O	<u>O</u> livier de <u>B</u> ohème
PGP	<u>p</u> lant growth <u>p</u> romoting
PGPR	<u>p</u> lant growth <u>p</u> romoting <u>r</u> hizobacteria
PVK	<u>p</u> ikovsakaya
rpm	<u>r</u> otation par <u>m</u> inutes
UV	<u>u</u> ltraviolet

Introduction générale

Le sol est un fantastique réservoir de microorganismes, en termes de diversité et de densité. Il a été estimé qu'un gramme de sol contenait de 10^{10} à 10^{11} bactéries, et de 6 000 à 5 000 espèces bactériennes (Curtis *et al.*, 2002 ; Horner-Devine *et al.*, 2003). Certains de ces microorganismes jouent un rôle clé dans un grand nombre de processus incluant : l'acquisition d'éléments nutritifs pour les plantes, les cycles géochimiques comme celui de l'azote, et la structure du sol (Kowalchuk et Stephen, 2001 ; Rillig et Mummey, 2006 ; Pivato *et al.*, 2009).

Parmi les plantes qui interagissent avec les microorganismes présents dans leur environnement, on cite l'exemple des « plantes actinorhiziennes ». Ces dernières sont capables d'établir une forte interaction symbiotique avec des rhizobactéries du genre *Frankia* formant des nodules fixateurs d'azote. Ces procaryotes sont dotés d'une capacité à transformer l'azote atmosphérique sous une forme assimilable par la plante et pallier de ce fait la carence azotée dans le sol (Wall, 2000).

Afin de lutter contre la désertification en Algérie, le programme du « barrage vert » a été lancé dans les années 70, consistant en une bande boisée de 1200 kilomètres de long sur 20 kilomètres de large. Parmi les espèces actinorhiziennes choisies, on trouve : l'Olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*) et le Filao (*Casuarina equisetifolia*) (Bensaïd, 1995). *E. angustifolia* est un arbre pionnier connu pour sa tolérance à la sécheresse et à la salinité mais aussi utilisé contre l'érosion des sols. Quant aux Casuarinas, ils sont souvent utilisés comme brise-vent associés aux cultures maraîchères, pour la réhabilitation des anciennes carrières, pour prévenir les glissements de terrains grâce à leur système racinaire, et aussi comme plantes ornementales en zone urbaine. Ces arbres présentent un rôle écologique fondamental grâce à leur association avec la bactérie tellurique *Frankia* (Hocher *et al.*, 2009 ; Benabdoun, 2012).

Cependant, d'autres bactéries rhizosphériques sont présents mais qui restent à l'état libre dans le sol, souvent proches des racines, et parfois localisées à l'intérieur des racines (Gray et Smith, 2005). Ces bactéries établissent une relation facultative à bénéfices réciproques appelée « coopération » ou « symbiose associative ». Les bactéries PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) font partie de ce type de microorganismes, car elles n'établissent pas une relation de symbiose mutualiste, mais favorisent la croissance des plantes auxquelles elles sont associées (Kloepper et Beauchamp, 1992). La sélection d'une souche PGPR efficace est liée à la caractérisation de ses propriétés favorisant la

croissance végétale comme : la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores et de phytohormones, la capacité à fixer l'azote, et la lutte biologique contre les maladies des plantes (Cattelan *et al.*, 1999).

Objectifs du travail :

Notre travail s'est effectué au niveau des laboratoires de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) de l'Université des frères Mentouri-Constantine I. Afin de sélectionner les bactéries les plus performantes au potentiel d'auxiliaires de la croissance des plantes actinorhiziennes : *C. equisetifolia* et *E. angustifolia*, nous avons procédé à la :

- pré-identification des bactéries préalablement isolées de la rhizosphère de deux arbres actinorhiziens, en se basant sur leurs caractères morphologiques : macroscopiques, microscopiques, biochimique et physiologique ;
- évaluation du potentiel PGP de ces rhizobactéries, en s'appuyant sur le screening de leur capacité à produire des métabolites particuliers : production de cyanure d'hydrogène (HCN), la solubilisation du phosphate, la production d'auxines (AIA), la fixation d'azote et la production d'ammoniac (NH₃).

Notre mémoire se présente en trois grands chapitres :

- le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les recherches effectuées dans notre domaine de recherche ;
- le deuxième chapitre présente le matériel biologique, et les méthodes d'analyses suivies lors de cette expérimentation ;
- le troisième chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus ;
- et enfin, le mémoire se conclura en dégageant quelques perspectives de ce travail.

Synthèse bibliographique

I. Les plantes actinorhiziennes

1. Généralités

Les plantes susceptibles d'établir une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote sont appelées « plantes actinorhiziennes » (Baker et Mullin, 1992). Cette symbiose implique le développement d'un nouvel organe, « le nodule » (ou actinorhize), site de fixation d'azote atmosphérique par la bactérie *Frankia*, et qui est généralement localisé au niveau des racines de la plante hôte. Une seconde originalité de cette symbiose réside dans la structure de l'actinorhize qui s'apparente à celle d'une racine adventive induite en réponse aux signaux émis par le microsymbiote. Ces nodules fixateurs d'azote constituent donc un modèle alternatif original, considéré comme moins complexe que les nodules des Légumineuses (Duhoux *et al.*, 1996). Cependant, la majorité des plantes dans les huit familles ne forment pas de nodules fixateurs d'azote comme pour le cas de quelques espèces de la famille des : *Betulaceae*, *Myricaceae*, *Rhamnaceae* et *Rosaceae* (Bargali 2011).

Les plantes actinorhiziennes constituent, après les Légumineuses, le deuxième groupe de plantes capables de fixer biologiquement l'azote atmosphérique (Berry, 1994), et sont à deux exceptions près, des plantes ligneuses. Elles se présentent sous la forme d'arbre, d'arbuste ou d'arbrisseau plus ou moins bas. Ces espèces peuvent atteindre une taille imposante comme certains *Casuarina* ou diverses espèces d'aulne. Parmi les espèces à port d'arbrisseau, on trouve celles vivant dans les zones semi-désertiques (Moiroud, 1996). L'aspect morphologique de quelques plantes actinorhiziennes est représenté sur la **Figure 01**.

2. Classification

Contrairement aux Légumineuses qui constituent une seule famille de plantes, les plantes actinorhiziennes regroupent de 260 à 280 espèces appartenant à 24 genres, et regroupés en huit familles, elles-mêmes réparties en huit ordres différents, parmi lesquelles on trouve le Filao (*Casuarina equisetifolia*), l'Olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*), le myrte des marais (*Myrica gale*) et l'aulne (*Alnus* spp.) (Benson et Silvester, 1993).

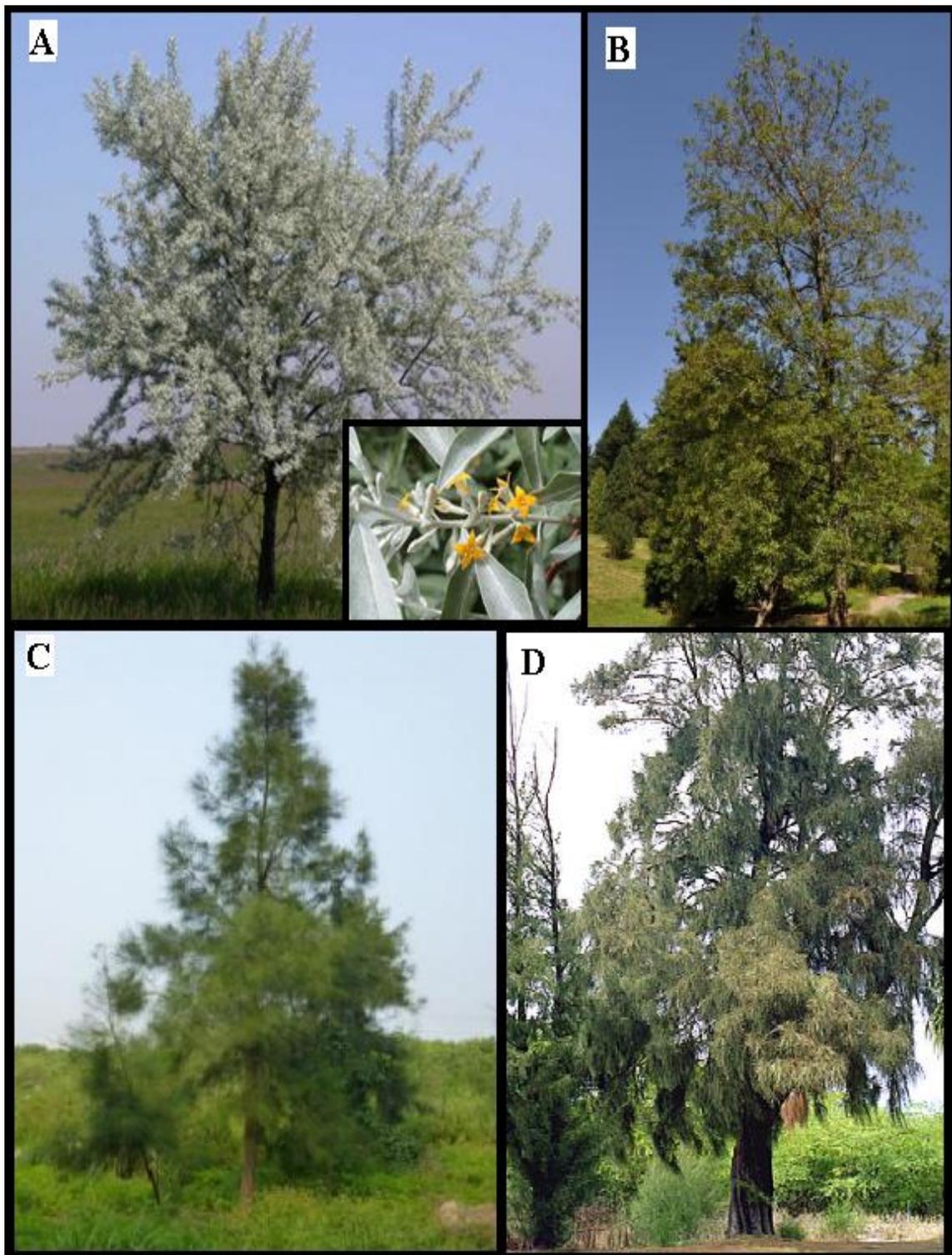


Figure 01 : Aspect morphologique de quelques plantes actinorhiziennes.

A : *Elaeagnus angustifolia* (par H. Schön) ; **B** : *Alnus cordata* (par Ritter, Mark et Reimer) ;

C : *Casuarina glauca* (par Froussart) ; **D** : *C. equisetifolia* (par M.G).

Le nombre d'espèces considérées comme actinorhiziennes varie souvent. Ces différences sont liées aux incertitudes concernant la systématique de bon nombre de ces plantes et au fait que certaines d'entre elles ont été, à tort, considérées comme fixatrices d'azote (Baker et Schwintzer, 1990 ; Baker et Mullin, 1992).

3. Données écologiques

Les plantes actinorhiziennes sont des plantes pionnières par excellence qui sont capables de pousser sur des sols pauvres en azote ou dans des sites relativement sévères, y compris : le till glaciaire, les nouveaux sols volcaniques, les dunes de sable, les coupes à blanc, et le désert chaparral (Benson *et al.*, 2004). En étant parmi les premières espèces à coloniser l'environnement perturbé, ces plantes jouent un rôle critique, enrichissant le sol et permettant la mise en place d'autres espèces dans une succession écologique (Wall, 2000).

En outre, les différentes espèces actinorhiziennes ont la capacité de croître bien sous une gamme de stress environnementaux tels que : la salinité très élevée, les métaux lourds, et le pH extrême (Ngom *et al.*, 2016). Ce sont des plantes que l'on peut qualifier « d'édificatrices », car jouant un rôle très marqué au cours des premiers stades d'évolution de la roche-mère vers un sol véritable.

Ces espèces ont vu leur aire naturelle largement étendue par l'homme, celui-ci les ayant fait entrer depuis des siècles dans ses pratiques culturelles et culturelles. Elles, considérées dans leur ensemble, présentes à l'état spontané sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. Chacune des huit familles actinorhiziennes a un parcours naturel qui varie de très limité à l'échelle mondiale. On peut donc rencontrer ce type de plantes fixatrices d'azote sous pratiquement tous les climats, du climat arctique au climat subtropical. Elles sont cependant plus fréquentes dans les zones tempérées froides (Moiroud, 1996).

La richesse en plantes actinorhiziennes varie notablement d'un continent à l'autre. Ainsi, le continent américain, avec 19 genres le rendant le plus riche. A l'opposée, l'Afrique, avec seulement un à deux genres serait parmi les plus pauvres. Les espèces actinorhiziennes indigènes en Europe sont peu nombreuses. On compte en effet dix espèces réparties en six genres (Wheeler et Miller, 1990).

4. Utilisation

Si, sauf exception, les plantes actinorhiziennes présentent peu d'intérêt sur le plan de la production de bois, elles n'en sont pas moins remarquablement efficaces pour prévenir contre l'érosion des sols, protéger et améliorer la fertilité des sols, contribuant ainsi à l'instauration d'une agroforesterie et d'une foresterie durable, à la mise en valeur de zones désertiques à la réhabilitation de toutes sortes de sites dégradés par les activités humaines, mais aussi utilisées en horticulture (Prin et Duhoux, 1996).

II. L'Olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*)

1. Généralités et classification

L'Olivier de Bohême, plante actinorhizienne, appelée « arbre d'argent », « arbre du paradis » ou « chalef » est du genre botanique *Elaeagnus* appartenant à la famille des Eléagnacées et regroupant une soixantaine d'espèces comme : *E. commutata* et *E. angustifolia* (voir **Tableau 01** pour la classification taxonomique).

Le terme « *Elaeagnus* », désigne en grec un arbrisseau, et « *angustifolia* » veut dire, à feuilles étroites. Quant à « chalef », ce mot vient de « Kalef » qui désigne le saule (*Salix* spp.) en arabe. En effet, les feuilles du chalef ont la forme de certaines espèces de saules (Brosse 2000).

2. Description botanique

E. angustifolia est un arbuste ou petit arbre, à feuilles caduques à ramilles épineuses. Il peut pousser jusqu'à 10 mètres de hauteur (**Figure 02, A**). La plante a des épines brun-rouge brillant, et les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits sont couverts d'écailles blanc argenté. La cime d'arbre est constituée de grandes branches très feuillues quand l'arbre est jeune et diminue quand l'arbre est plus âgé. Les feuilles sont discrètement veinées, étroites, linéaires, de 4 à 8 cm de longueur (**Figure 02, B**). La surface supérieure de ses feuilles est d'un vert grisâtre et couverte de poils en forme d'étoiles argentées.

Tableau 01 : Classification taxonomique d'*Elaeagnus angustifolia* (D'après Linné, 1753).

Classification classique		Classification phylogénétique	
Règne :	<i>Plantae</i>	Règne :	Archéplastides
Sous-règne :	<i>Viridaeplantae</i>	Clade :	Angiospermes
Division :	<i>Magnoliophyta</i>	Clade :	Dicotylédones vraies
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>	Clade :	Rosidées
Sous-classe :	Rosidées	Clade :	Fabidées
Ordre :	Protéales	Ordre :	Rosales
Famille :	Eléagnacées	Famille :	Eléagnacées
Genre :	<i>Elaeagnus</i>	Genre :	<i>Elaeagnus</i>
Espèce :	<i>angustifolia. L</i>	Espèce :	<i>angustifolia. L</i>

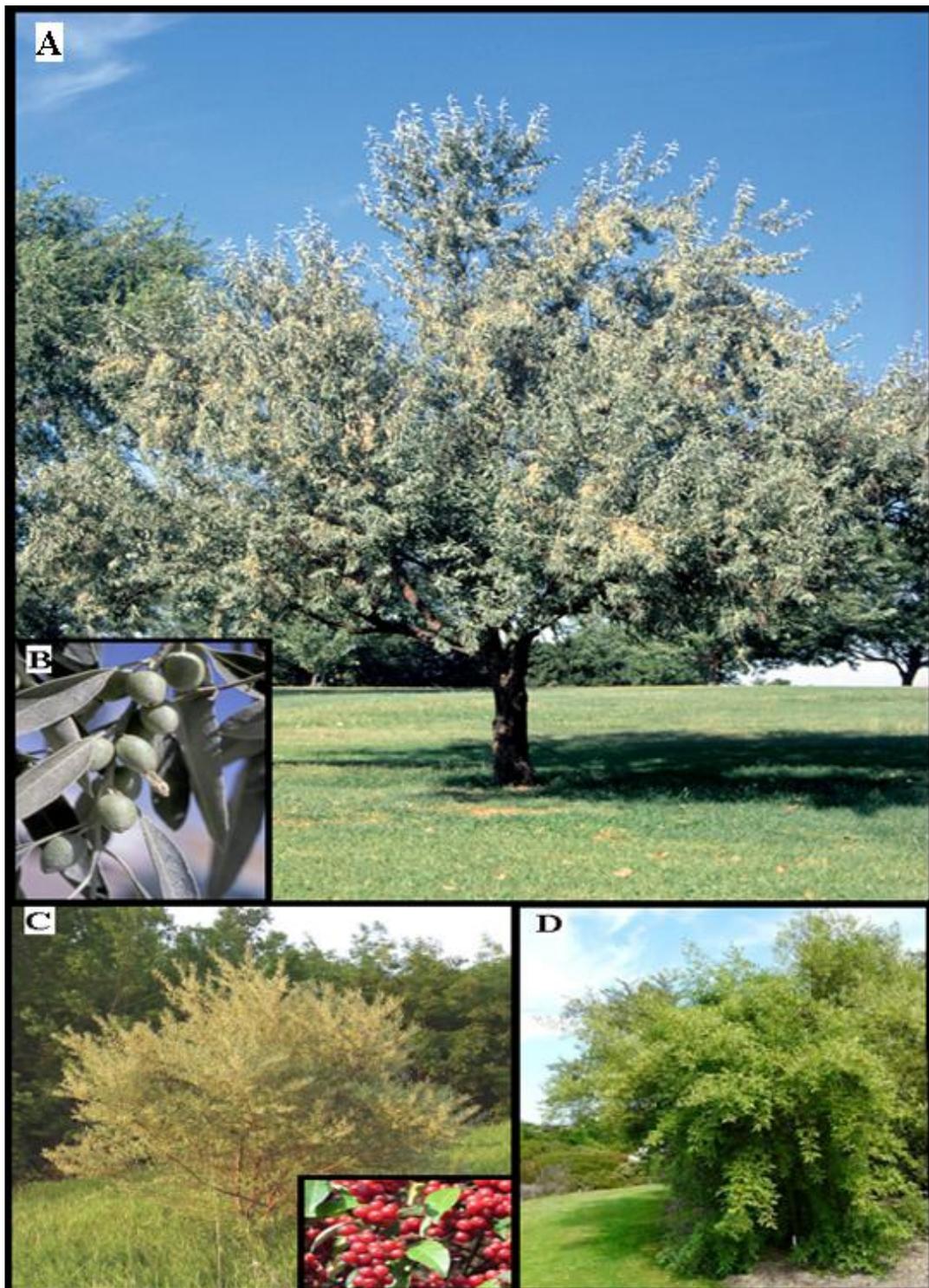


Figure 02 : Quelques espèces du genre *Elaeagnus* (Tonelli et Gallouin).

A : *E. angustifolia* ; **B :** Fruits et feuillage d'*E. angustifolia* ;

C : *E. umbellata* ; **D :** *E. multiflora*.

Quant à la face inférieure de ses feuilles, elle est d'un blanc argenté (Deiter, 2000). Sa racine pivotante présente un système racinaire latéral bien développé. Sur les zones steppiques, ses racines traçantes sont peu profondes et ne pénètre pas plus de deux mètres. En période de mai à juin, de nombreuses petites fleurs tubulées apparaissent, de couleur jaune citron, répandent leur parfum de miel.

Les fleurs de l'Olivier de Bohême sont, d'ailleurs, très mellifères, elles sont dites monoïques ou hermaphrodites. Ses fruits sucrés, avec une texture farineuse apparaissent à la fin de l'été ou à l'automne. Ils mesurent de 0,7 à 2,5 cm de long pour 0,5 à 1,3 cm de large, avec la forme d'une petite olive ou d'une petite datte, couverte d'écailles blanc argentées qui deviennent moins nombreuses tandis que la maturité augmente. Sous les écailles, la peau du fruit devient jaune-orangé ou orange, tirant souvent vers le brun-rouge à maturité (Zoltán *et al.*, 2008).

En tant qu'espèces fixatrices d'azote, *E. angustifolia* fonctionne potentiellement aussi comme une soi-disant espèce envahissante en raison de sa capacité à modifier les écosystèmes terrestres et d'éléments nutritifs benthiques dans les zones ripariennes (D'Antonio *et al.*, 2004).

3. Origine et distribution

L'Olivier de Bohême a un vaste aire d'habitat, y compris les régions montagneuses, les plaines, les sables bitumineux, et le désert, avec peu de préférence quant à la nature du sol, la température, ou à l'humidité. Originaire de l'Asie tempérée et tropicale (de la Chine et la Mongolie jusqu'aux frontières de l'Europe au Nord et jusqu'en Iran et Turquie au Sud) et de l'Europe de l'Est (Russie, Biélorussie et Moldavie). Son aire de répartition commence de l'Est du bassin Méditerranéen (l'Égypte, l'Algérie, l'Italie, l'Espagne et le Sud de la France), et à travers l'Asie occidentale et centrale s'étend jusqu'aux montagnes d'Altai et le désert de Gobi. D'abord cultivé en Allemagne depuis 1736, il s'est ensuite développé dans toute l'Europe, et en Amérique du Nord (Zoltán *et al.*, 2008).

4. Interaction biotique et capacité à fixer l'azote

E. angustifolia vit en symbiose avec l'actinomycète *Frankia* développant des nodosités racinaires qui permettent à l'arbre de pousser sur des sols pauvres en azote (Zoltán *et al.*, 2008). Cette espèce a été classée par l'USDA (*United States Department of Agriculture*)

comme étant un arbre fixateur d'azote moyen, avec un rendement estimé à 39-72 kg/4050 m² (Alfrey, 2014).

5. Usage et comportement

L'Olivier de Bohême est utilisé largement et depuis longtemps, pour le bien de ses nombreuses caractéristiques avantageuses. Très rustique, sa croissance est rapide, mais il est peu longévif (50 ans environ). Ses drageons peuvent être gênants dans les massifs ou sur les surfaces minéralisées perméables. Il supporte bien l'atmosphère urbaine, mais il vieillit mal en alignement. Il est bien adapté aux plantations sur le littoral (tolère les embruns) (Buteau, 2009).

En raison de ses racines buissonnantes et volumineuses, et plus précisément en raison de sa fonction tolérant la sécheresse, cet arbre est utilisé pour fixer le sol des talus, en haie épineuse ou haie brise vent. On peut même le rencontrer sur sols maigres sableux en raison de ses faibles besoins en nutriments. Sa tolérance à la salinité le rend une des espèces les plus utilisées dans le reboisement des terres salines, planté avec des espèces du genre *Tamarix*. En vertu de sa capacité à fixer l'azote, il est souvent cultivé sur des sols rudéraux dans la lutte contre l'érosion (Dénes et Csiszár, 2008).

III. Le Filao (*Casuarina equisetifolia*)

1. Origine et classification

Le Filao (pin australien ou arbre de fer) est un arbre actinorhizien de la famille des *Casuarinaceae* et de l'ordre des Casuarinales (**Tableau 02**). Ce nom donné par Linné en 1759, fait référence au casoar (*Casuarinus*), car son port retombant et l'allure du 'feuillage', fait songer au plumage de cet oiseau. La famille des Casuarinas regroupe environ 90 espèces d'arbres et d'arbustes dont l'aire d'origine s'étend de l'Australie aux îles du Pacifique et au sud-est de l'Asie.

Cette famille de plantes comprend des essences tropicales, subtropicales ou méditerranéennes, adaptées à différents climats (arides à humides), à différentes altitudes (0 à 3000 m) et à différents types de sols (acides à alcalins) (Hoher *et al.*, 2010). L'ensemble de ces propriétés facilite l'introduction de ces arbres en zone tropicale, en

dehors de leur aire d'origine. En association avec *Frankia* et des champignons mycorrhiziens, les Casuarinas peuvent croître sur des sols marginaux carencés en azote et en phosphore (Hocher *et al.*, 2010).

2. Description botanique

C. equisetifolia est un arbre sempervirent avec un port élancé de type pleureur à couronne conique symétrique ou irrégulière. Vu de loin, on peut facilement le confondre avec un pin (**Figure 03, A**) (National Research Council, 1984). Cette ressemblance avec les plantes conifères est due à leurs rameaux qui ressemblent aux feuilles ou aiguilles des conifères et leurs feuilles, semblables à ceux des Prèles (*Equisetum*). Elles sont réduites à de petites écailles en verticilles au niveau des nœuds de jeunes rameaux verts cylindriques ou quadrangulaires, creusés de sillons et en partie caducs, limitant les pertes en eau et leur permettant de survivre dans des climats chauds et secs (**Figure 03, B**) (Orwa *et al.*, 2009).

Les fleurs de *C. equisetifolia* sont unisexuées (monoïques), en forme de petites grappes axillaires pour les femelles. Quant aux fleurs mâles, elles se présentent sous forme de petits épis terminaux. Ses fruits capsulaires sont groupés en sortes de cônes, libérant des graines sans albumen. L'écorce est lisse, de teinte claire sur les jeunes troncs, et rougeâtre ou brune, rugueuses, s'exfoliant en bandes longitudinales sur les arbres plus âgés. L'écorce interne est rose clair, à goût amer (Orwa *et al.*, 2009).

Cette espèce peut atteindre une hauteur de 50 mètres de haut, avec l'élagage naturel du tronc, qui mesure jusqu'à un mètre de diamètre laissant souvent subsister à faible hauteur du sol de nombreuses petites branches (National Research Council, 1984).

3. Plasticité du système racinaire

L'environnement de la racine est un déterminant majeur de l'architecture racinaire. Comme toutes les plantes, les racines des Casuarinacées sont soumises à de nombreux stress abiotiques et interagissent avec des microorganismes du sol. Cependant, le système racinaire de ces plantes pionnières présente une aptitude particulièrement remarquable à adapter son programme de développement en fonction de son environnement :

Tableau 02 : Classification taxonomique de *Casuarina equisetifolia*
(D'après Linné, 1759).

Classification classique	Classification phylogénétique
Règne : <i>Plantae</i>	Clade : Angiospermes
Division : <i>Magnoliophyta</i>	Clade : Dicotylédones vraies
Classe : <i>Magnoliopsida</i>	Clade : Rosidées
Sous-classe : <i>Hamamelidae</i>	Clade : Fabidées
Ordre : Casuarinales	Ordre : Fagales
Famille : <i>Casuarinaceae</i>	Famille : <i>Casuarinaceae</i>
Genre : <i>Casuarina</i>	Genre : <i>Casuarina</i>
Espèce : <i>Casuarina equisetifolia</i> , L.	Espèce : <i>Casuarina equisetifolia</i> , L.

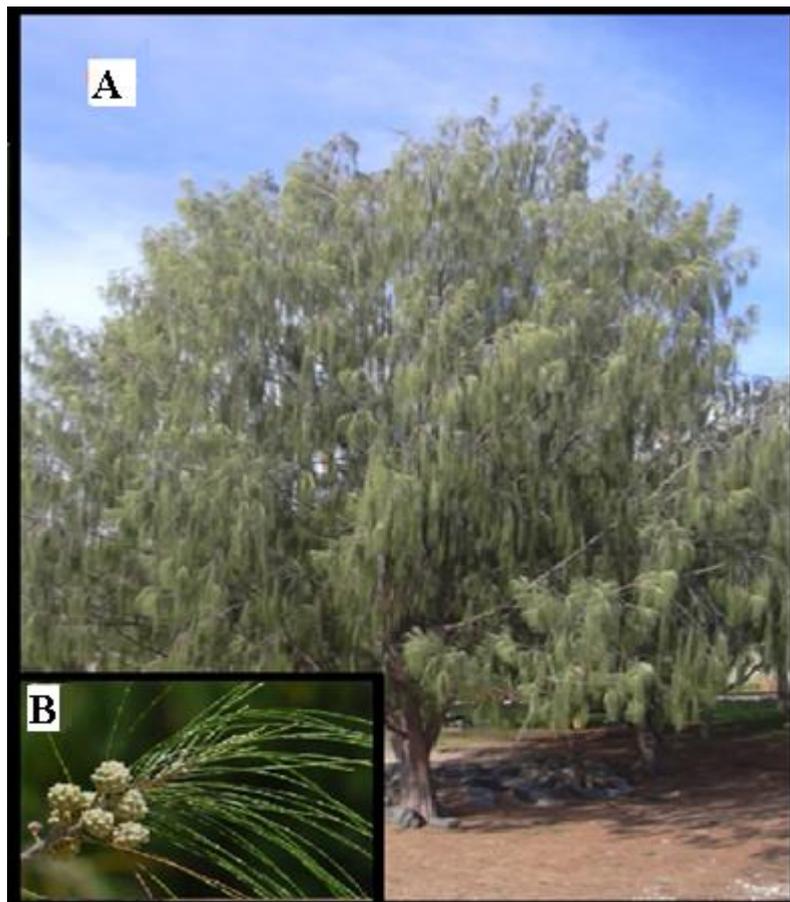


Figure 03 : L'arbre tropical *Casuarina equisetifolia* (Fraser-Smith).

A : Vue générale de l'arbre ; **B :** Fruits et feuillage de l'arbre.

- *C. equisetifolia* participe dans le processus de fixation de l'azote biologique par la formation de nodules en association avec *Frankia* (Hardman *et al.*, 2012) ;
- l'arbre tropical s'associe également avec des champignons endomycorhiziens arbusculaires et ectomycorhiziens dont les rôles sont multiples : fournir des nutriments tels que le phosphore, améliorer l'absorption de l'eau dans le sol, protéger le système racinaire des pathogènes. Cette association est bénéfique, à la fois, à la fixation d'azote en augmentant la biomasse des nodules et à la croissance de la plante hôte (Hoher *et al.*, 2010) ;
- enfin, en condition de carence en phosphore ou en fer, un nouveau type racinaire se différencie sur *Casuarina* : les racines « protéoïdes » ou « racines touffes » ; structures qui peuvent représenter jusqu'à 5% de la biomasse racinaire, sont constituées de touffes de radicelles à croissance limitée (2 à 50 mm de long). Leur rôle est d'améliorer l'absorption des éléments peu solubles dans le sol. On a pu montrer que plus on a de racines protéoïdes, plus la teneur en phosphore et en fer est augmentée (Neumann et Martinoia, 2002).

Cette plasticité racinaire joue un rôle majeur dans l'adaptation des Casuarinacées aux sols carencés en minéraux (phosphate, phosphore et fer en particulier) ou en azote combiné. L'étude approfondie des mécanismes moléculaires qui permettent la mise en place de ces différents programmes de développement, actinorhize, mycorhize et racine protéoïde, présente donc un intérêt évident au plan écologique et agronomique.

4. Potentiel de fixation d'azote

La contribution de la productivité du sol pour les plantes actinorhiziennes dépend non seulement des propriétés trouvées dans un certain nombre d'arbres fixateurs d'azote (N₂) (redistribution des éléments nutritifs dans le sol, protection contre l'érosion, amélioration des conditions des sols, ombrage et modification du microclimat, suppression de mauvaises herbes), mais aussi sur l'apport de N₂ qui est ensuite transféré dans le sol à des cultures associées ou à des arbres non fixateurs d'azote (Prinsley et Swift, 1986).

Par conséquent, il est essentiel d'estimer la quantité de N₂ fixé dans chaque situation. Il faut noter qu'une distinction doit être faite entre le potentiel d'un système de fixation de N₂ et le taux réel de fixation. Par le potentiel de fixation, nous désignons la quantité d'azote fixée dans un environnement sans contrainte. Une telle évaluation a été tentée dans le cas

de *C. equisetifolia* en inoculant cette plante avec *Frankia* dans un sol ayant une faible teneur d'azote disponible, avec l'ajout de potassium, de magnésium et d'oligo-éléments, et une irrigation et des conditions climatiques appropriées. Le potentiel de fixation de N₂ de cet arbre était estimé à environ 84,8 kg/2 ans d'azote fixé dans une plantation de 2000 arbres /hectare /an (Dommergues, 1995).

Une prévision approximative du potentiel de fixation de N₂ peut être basée sur l'hypothèse que la biomasse de nodule la plus élevée observée reflète le potentiel de fixation d'azote. Cependant, une diminution de la fixation d'azote est observée suite à des maladies et aux attaques des phytopathogènes, ainsi qu'à d'autres facteurs tels que l'âge de la plante. Le taux de fixation de N₂ augmente chaque année chez les jeunes plantations, puis, après quelques années (10 à 20 ans), il diminue à cause de plusieurs raisons comme l'accumulation d'azote dans le sol (Dommergues, 1996).

5. Usage et comportement

Le Filao est surnommé « arbre de fer » pour la dureté de son bois qui est utilisé dans la construction navale, la confection de meubles et d'objets divers. Il est d'ores et déjà employé dans diverses régions du monde pour la production de biomasse et de bois de chauffage, pour la restauration de la fertilité des sols et pour la lutte antiérosive.

Cet arbre est un bon fixateur de dunes et est utilisé pour la reforestation, grâce à sa croissance rapide. Son bois très dur est fendu et débité en tuiles de bois, et ces toitures peuvent durer plus de 100 ans. Son bois est également très résistant à l'eau de mer et son écorce fournit est riche en tannin (Lisan, 2012).

Les plantes sélectionnées pour la grande muraille verte (rideaux biologiques), locales ou importées, doivent faire preuve d'une faculté d'adaptation au milieu sahélien et posséder des qualités écologiques appropriées à la lutte contre la désertification. Parmi les essences choisies, les experts préconisent notamment l'arbre tropical *Casuarina*. Ce dernier a en effet acquis au cours de son évolution des qualités remarquables qui lui permettent de pallier les carences des sols dégradés ou pauvres en éléments minéraux et de les revégétaliser. Il doit cette faculté exceptionnelle à une association symbiotique avec *Frankia*. En plus de cela, *Casuarina* tolère bien la sécheresse pendant une longue période allant de 6 à 8 mois (Courcoux, 2010). L'espèce a été introduite pour l'aménagement

paysager. Il est maintenant l'un des arbres les plus communs sur les plages à l'échelle mondiale. La **Figure 04** représente les différentes utilisations du Filao.

IV. La relation intime « sol–système racinaire »

1. L'interaction « sol-plante »

Le sol est le biomatériau le plus complexe de la planète (Young et Crawford, 2004). Il est le support de la vie terrestre et un réservoir de matières organiques et minérales, et représente un carrefour multifonctionnel, contrôleur et révélateur de nombreux processus écologiques. Il renferme un habitat à diversité très élevée, conditionnées par ses propriétés tels que : la texture, la structure, la micromorphologie, la porosité, le régime hydrique et la température. Avec son organisation systémique interne, le sol régule les échanges et les flux des écosystèmes et met en place des systèmes d'épuration et de transformation de matières (Gobat *et al.*, 2010).

Pour les végétaux, le sol joue le rôle d'un « berceau » où ils puisent les ressources indispensables à leur croissance et leur prospérité (Balesdente *et al.*, 2015). Il y a 2000 ans, Aristote croyait que les plantes ne se formaient qu'à partir des éléments du sol : quand une plante pousse, c'est la terre, en quelque sorte, qui se transforme en matière végétale. Son hypothèse a été réfutée par Vont Helmont puis par Hales et Theodore de Saussure qui ont démontré les rôles que jouent les facteurs essentiels comme ; l'eau et le gaz carbonique (Bourbonnais, 2010). Mais l'hypothèse d'Aristote reste proche de la réalité ; même si l'homme a appris à développer des plantes hors sol malgré l'organisation trophique double des végétaux : la partie aérienne renferme les organes autotrophes alors que la souterraine est entièrement hétérotrophes, il faut insister sur le fait que les associations « sol-plante » constituent le fondement de tous nos écosystèmes fonctionnels.

Ainsi, pour une plante, l'ensemble des constituants minéraux et organiques des sols, ainsi que les organismes morts et vivants qu'il recèle, permet, grâce à sa structure meuble et ses propriétés physiques, chimiques et biologiques, un développement normal des racines des végétaux.

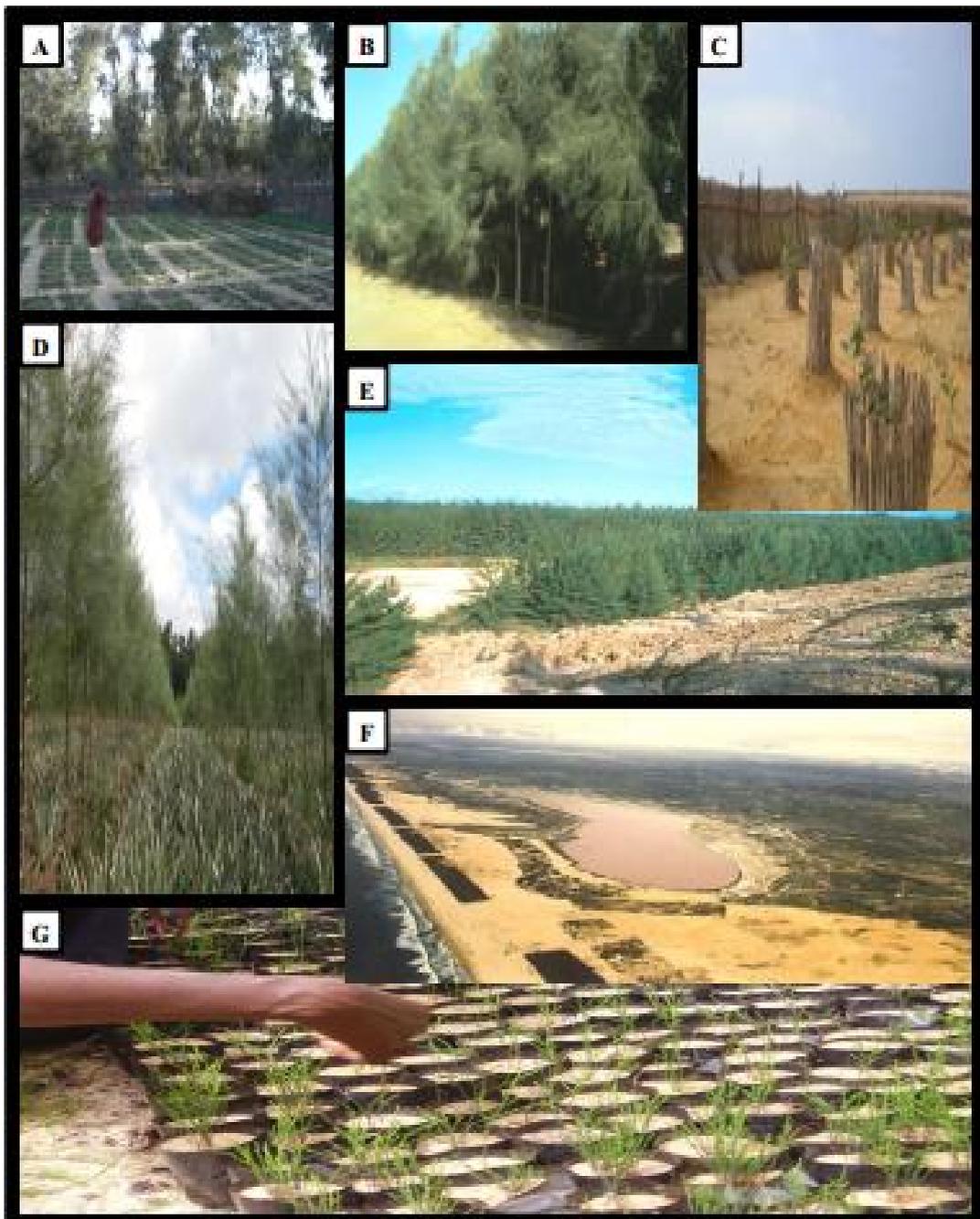


Figure 04 : Plantation et utilisation des Casuarinacées (D'après Benabdoun, 2012).

A : Protection des cultures maraîchères au Sénégal par les Filaos ; **B :** Utilisation de *C. glauca* comme brise-vent en Egypte ; **C :** Utilisation de *C. equisetifolia* en Algérie pour la restauration des sols dégradés ; **D :** Utilisation de *Casuarina* en agroforesterie en Chine ; **E :** Utilisation de *C. collina* en Nouvelle-Calédonie pour la restauration des sols dégradés ; **F :** Plantation de *Casuarina* au Sénégal pour la fixation des dunes de sable ; **G :** Filaos en pépinière au Sénégal.

Quinze à 20 % de la masse végétale des plantes est cachée par le sol, accumulée sous forme de racines fonctionnelles indispensables qui absorbent les bioéléments minéraux essentiels à la plante sous forme de cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , NH_4^+ , etc.), d'anions (NO_3^- , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , etc.) et de petites molécules organiques (Gobat *et al.*, 2010). Ces éléments nutritifs se divisent en deux groupes : les macroéléments, bioéléments majeurs composants la matière vivantes (C, H, N, O, P, S, etc.) et les oligoéléments, macroéléments indispensable mais en quantité très faible dans les cellules vivantes (Bourbonnais, 2010). Les racines, quant à elles, engendrent, dans le sol avoisinant un flux considérable de substances et d'énergie, au bénéfice des organismes capables d'assimiler cette production.

2. La rhizosphère : zone de transition

Décrit pour la première fois en 1904 par l'agronome allemand Hiltner Lorentz, le terme « rhizosphère » est composé du mot grec « *rhiza* » pour racine et du mot latin « *sphaera* » pour cercle d'influence et est utilisé pour illustrer la fraction de sol dans laquelle la croissance des microbes est influencé par l'existence du système racinaire (Balzergue, 2013). En 1949, F.E. Clark a suggéré d'utiliser le terme « rhizoplan » pour désigner la surface de la racine. Quant à Balandreau et Knowles (1978), ils ont appelé l'épiderme « l'endorhizosphère » et la zone à proximité immédiate d'épiderme « l'exorhizosphère » (**Figure 05**) (Ashwathi, 2016). Dans cette zone typique du sol, les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques sont différents du sol distant (région du sol qui n'est pas sous l'influence directe des racines). La limite extérieure de la rhizosphère est floue et dépend du facteur considéré (Seshadri, 2015).

Un processus majeur dans la rhizosphère consiste en la rhizodéposition, c'est-à-dire, à la libération par les racines de composés organiques divers. Ce phénomène recouvre la production de cellules de la coiffe racinaire, la sécrétion de mucilage et la diffusion passive et contrôlée de composés solubles appelés : exsudats racinaires (sucres, acides aminés et organiques, facteurs de croissance, etc.) (voir **Figure 05**), qui constituent une source d'énergie essentielle pour les microorganismes du sol et jouent un rôle majeur en écologie microbienne des sols, en stimulant les activités microbiennes et l'ensemble des chaînes trophiques qui en découlent (Hinsinger, 2010).

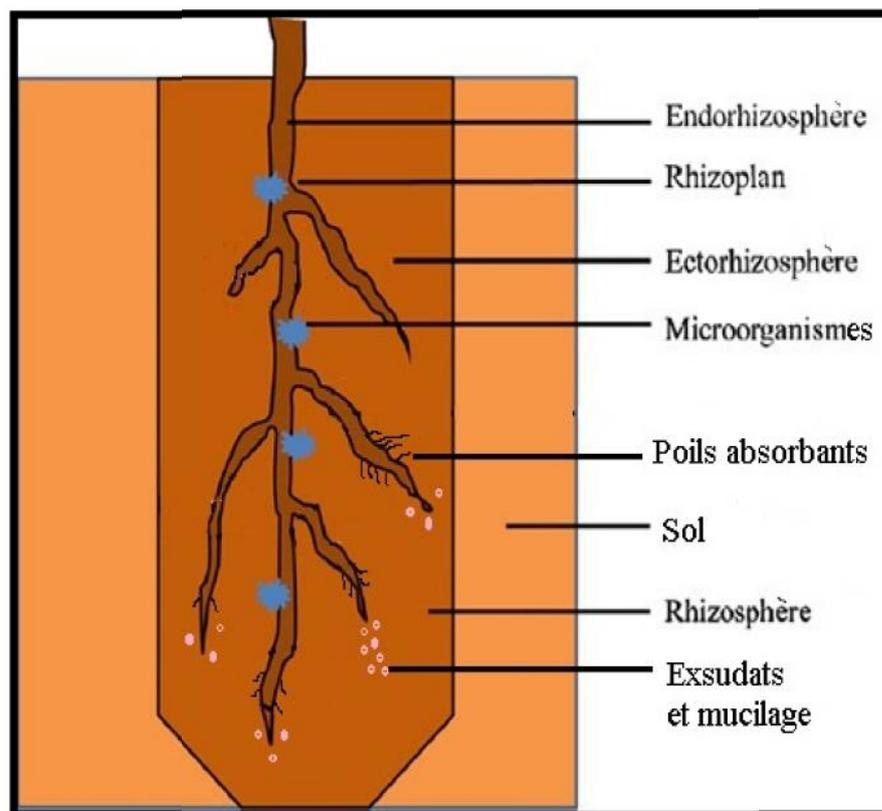


Figure 05 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère
(D'après Seshadri *et al.*, 2015).

3. Les bactéries rhizosphériques

Les microorganismes du sol diffèrent d'une plante à une autre, qualitativement et quantitativement. En libérant massivement des rhizodépôts dans le sol, les racines sont susceptibles d'attirer à la fois des microorganismes bénéfiques et pathogènes.

Les tissus de la racine peuvent même leur servir d'habitat. Hors du cas bien connu des mycorhizes et des nodosités fixatrices d'azote, on constate que certaines bactéries vivent au contact direct de la racine et pénètrent dans les tissus rhizodermiques et corticaux, sans pour autant être parasites ou prédatrices. On appelle « histosphère », la région où les microorganismes habitent l'intérieur des tissus mais restent localisés à l'extérieur des cellules, et la « cytosphère », où les microorganismes habitent l'intérieur même des cellules (Gobat *et al.*, 2010).

Les exsudats racinaires influencent sélectivement la croissance des bactéries et champignons qui colonisent la rhizosphère en modifiant la chimie du sol dans le voisinage de l'usine racinaire et en servant comme substrats de croissance sélective pour les microorganismes du sol. Ces derniers, à leur tour, influencent la composition et la quantité des différents composants d'exsudats racinaires par leurs effets sur les pertes des cellules racinaires, le métabolisme cellulaire, et la nutrition des plantes (Yang et Crowley, 2000).

A partir de cette particularité, les communautés microbiennes de la rhizosphère peuvent varier dans la structure et la composition des espèces dans les différentes parties du système racinaire, et cette variation dépend aussi du type du sol, des espèces végétales, de l'état nutritionnel, de l'âge, de la présence d'un stress ou de maladie et d'autres facteurs environnementaux (Reddy *et al.*, 2014).

V. Les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

1. Généralités

Le deuxième type de symbiose plantes/microorganismes est la symbiose associative qui est également une interaction à bénéfices réciproques entre les deux partenaires. Elle est habituellement considérée comme une interaction facultative, à large spectre d'hôte, et avec peu ou pas de différenciation des partenaires. L'exemple le mieux connu est celui des

bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes (Richardson *et al.*, 2009 ; Vacheron, 2013).

Lorsque des rhizobactéries contribuent à la croissance des plantes, elles sont appelées : PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Kloepper *et al.*, 2004). Le terme PGPR a été introduit pour la première fois à la fin des années 1970, lorsqu'il a été démontré, par Kloepper et Schroth, que des souches de *Pseudomonas* fluorescentes ont amélioré le rendement des cultures de pommes de terre jusqu'à 500% par la production de sidérophores ; chélateurs de fer, privant les bactéries pathogènes indigènes de fer (Garcia *et al.*, 2003). Seulement 1 à 2% des bactéries favorisent la croissance des plantes dans la rhizosphère (Beneduzi *et al.*, 2012).

Ces rhizobactéries colonisent la rhizosphère en utilisant les exsudats racinaires comme substrats nutritifs. A la différence des autres bactéries rhizosphériques, elles ont, en retour, un effet bénéfique sur la plante *via* une multitude de mécanismes (Vacheron *et al.*, 2013). Par leur action enzymatique, elles solubilisent les éléments nutritifs présents dans les réserves organiques et minérales du sol tels que : le phosphate, l'azote et le fer, et les mettent à la disposition de la plante sous forme d'ions minéraux assimilables, à des taux qui correspondent à ses besoins, et ce, aux différents stades de sa croissance. Les ions métalliques sont absorbés par les poils absorbants des racines, se marient au glucose qui remonte vers les organes aériens pour former de nouvelles cellules (Gagnon, 2015). Ces bactéries bénéfiques peuvent donc influencer l'acquisition des nutriments et aussi moduler les taux d'hormones et atténuer les impacts négatifs des facteurs biotiques et abiotiques (Ahemad et Kibret, 2013 ; Ngumbi et Kloepper, 2016).

De plus, les PGPR se trouvent dans des environnements hautement compétitifs. En conséquence, elles ont développé plusieurs moyens offensifs pour cette compétition intra et interspécifiques, comme : des substances antibiotiques, des enzymes bactériolytiques et des toxines de nature protéique communément connues sous le terme de bactériocines. Ces toxines sont capables de tuer les bactéries compétitives étroitement liées sans pour autant affecter la bactérie productrice (Beneduzi *et al.*, 2012 ; Mezaache-Aichour *et al.*, 2016).

2. Potentiel biotechnologique

Utilisées comme outils pour améliorer la croissance des plantes, les PGPR ont plusieurs avantages pratiques : elles sont répandues sur les sept continents, ne sont pas limitées phylogénétiquement (au moins cinq phyla et 24 genres), et la plupart d'entre elles présentent une faible spécificité à l'hôte (Rubin *et al.*, 2017).

- Les PGPR sont classées en fonction de leurs activités fonctionnelles en :
- Biofertilisants : en augmentant la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère (**Figure 06**).
 - Phytostimulants : par la promotion de la croissance des plantes généralement par les phytohormones.
 - Agents de biocontrôle et de bioremédiation : en dégradant les polluants organiques et en luttant contre les maladies, principalement par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques (Antoun et Prévost, 2005).

3. Modes d'action

Les PGPR sont capables d'interférer dans les réponses des plantes aux contraintes environnementales de façon directe ou indirecte, et de leur conférer de nouvelles capacités par l'altération de l'ensemble de la communauté microbienne dans la rhizosphère grâce à la production de substances diverses (**Figure 07**) (Kloepper et Schroth, 1981 ; Bresson 2014).

3.1. Mode direct

La production de molécules organiques menant à la libération des nutriments et des régulateurs de croissance et l'augmentation de leurs biodisponibilités dans la rhizosphère, en l'absence de pathogènes, traduit l'effet direct phytobénéfique des PGPR (Parray *et al.*, 2015).

Selon Vessey (2003), ces bactéries telluriques, situées sur ou autour des tissus végétaux stimulent la croissance des plantes par une multitude de mécanismes. Elles facilitent l'acquisition de ressources *via* :

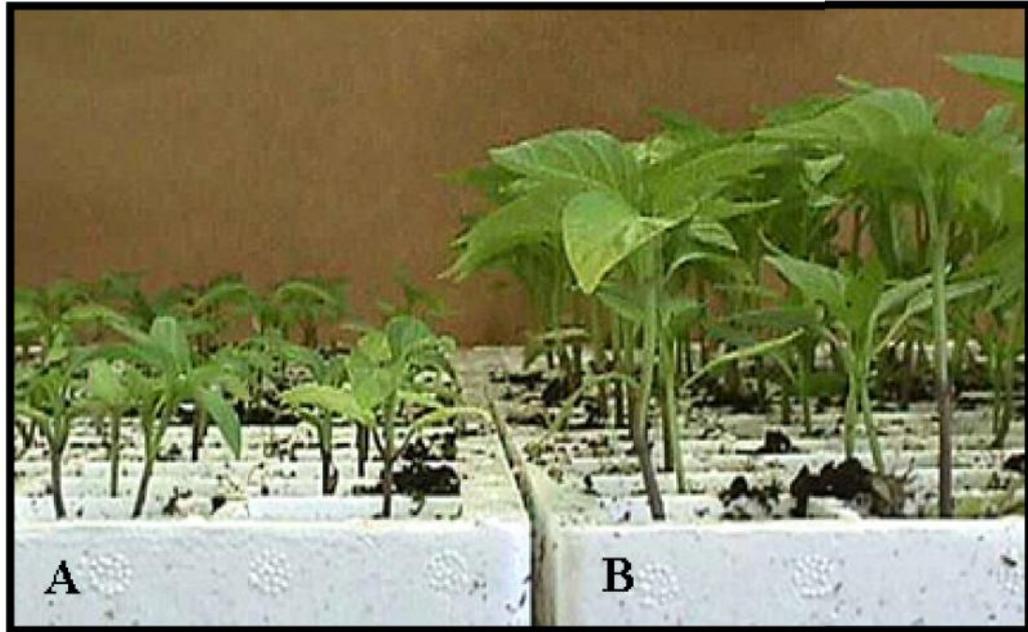


Figure 06 : L'effet biofertilisant des PGPR (*Bacillus subtilis* et *B. amyloliquefaciens*) sur la croissance et la vigueur des plants de poivrons (D'après Roskopf *et al.*, 2005).

A : Plantes témoins non-inoculées ; B : Plantes inoculées.

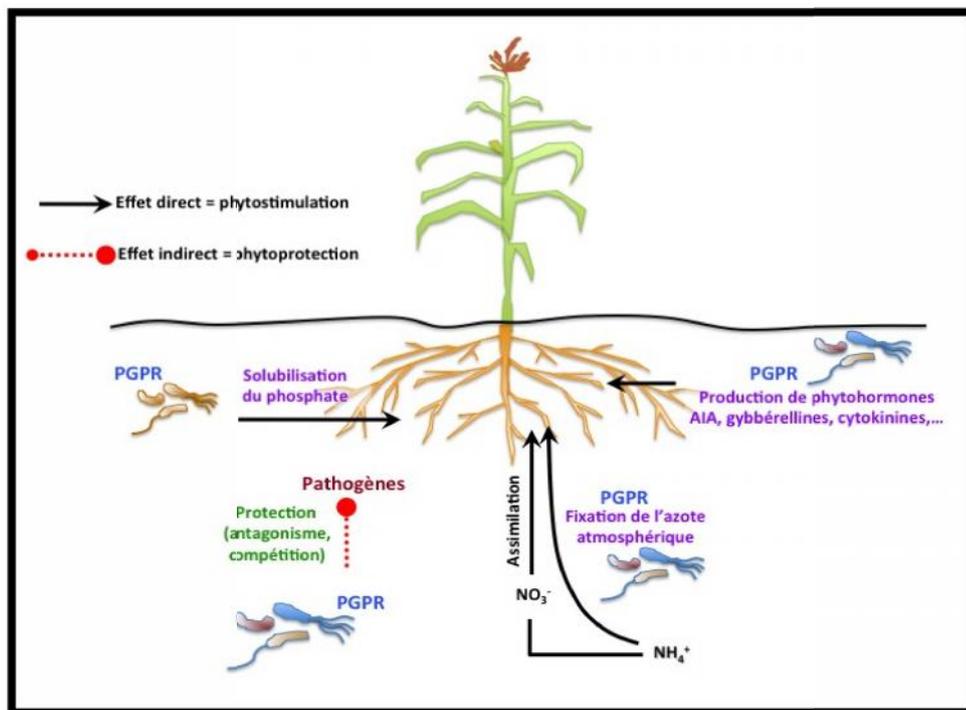


Figure 07 : Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère (D'après Anonyme, 2016).

- la fixation biologique de l'azote par le biais de la nitrogénase réductase, fournissant des électrons à forte puissance réductrice à la nitrogénase qui les utilise pour réduire N_2 en NH_3 , ce qui permet de concentrer sa disponibilité et son accessibilité aux racines (Kim et Rees, 1994). D'après Ahemad et Khan (2011) et Parray (2015), les cyanobactéries (*Anabaena* spp. et *Nostoc* spp.), *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. et *Azoarcus* spp. sont signalés parmi les bactéries libres, endophytes ou à symbioses associatives, au potentiel de fixation biologique d'azote le plus notable ;
- la solubilisation des phosphates, formes insolubles non assimilables par les plantes, sous l'action des acides organiques de faible poids moléculaire (Ahemad et Kibret, 2013) et de différentes phosphatases (Glick, 2012), synthétisés par certaines bactéries du sol appartenant aux genres : *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Beijerinckia* spp., *Burkholderia* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Flavobacterium* spp., *Microbacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. et *Rhizobium* spp. (Bhattacharyya et Jha, 2012) ;
- la séquestration de fer par la production de chélateurs, de faible masse moléculaire, comme la pyoverdine ou l'azotobactine, appelés « sidérophores » ; sécrétés en réponse à une limitation en fer et réduisant Fe^{3+} en Fe^{2+} via un mécanisme de synchronisation reliant les membranes bactériennes internes et externes (Ahemad et Kibret, 2013) ;
- la production de certaines hormones : plusieurs PGPR ainsi que certaines espèces de rhizobactéries pathogènes, symbiotiques et libres ont été signalés comme pouvant moduler les niveaux d'hormones végétales par la production d'auxines (l'acide indole 3-acétique AIA, particulièrement), de gibbérellines et de cytokinines dans le sol rhizosphérique (Han *et al.*, 2005) modifient ainsi l'architecture racinaire par l'augmentation de la surface et de la longueur des racines donnant grand accès à la plante aux éléments nutritifs du sol (Glick, 2012). Ces molécules sont produites par certaines PGPR représentées sur le **Tableau 3**.

3.2. Mode indirect

Les PGPR peuvent être utilisées comme agents de biocontrôle et de lutte biologique, conférant à la rhizosphère un front de défense contre l'attaque des racines par les micro-organismes pathogènes.

Tableau 03 : Qualités phytobénéfiques de quelques PGPR
(D'après Ahemad et Khan, 2011).

PGPR	Molécules à effets PGPR
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	IAA, siderophores, HCN,
<i>Mesorhizobium</i> sp.	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides ammonia
<i>Rhizobium</i> sp.	IAA, siderophores, HCN, ammonia, exo-polysaccharides
<i>Azospirillum amazonense</i>	IAA, nitrogenase activity P solubilization, antibiotic resistance
<i>Mesorhizobium</i> sp.	IAA, siderophores, HCN, ammonia
<i>Proteus vulgaris</i>	Siderophores
<i>Azotobacter</i>	IAA, siderophores, ammonia
<i>Pseudomonas, Bacillus</i>	Phosphate solubilization, IAA and siderophores HCN, ammonia
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IAA, phosphate solubilization, nitrogenase activity
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Antifungal activity
<i>Bacillus subtilis</i>	Antifungal activity
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Zinc solubilization
<i>Brevibacillus</i> spp.	Zn resistance, IAA
<i>Pseudomonas putida</i>	Siderophores, Pb and Cd resistance
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	IAA, siderophores, antifungal activity, phosphate solubilization Induced systemic resistance, antifungal activity
<i>Kluyvera ascorbata</i>	ACC deaminase, siderophores, metal resistance

En général, les principaux modes de biocontrôle attribués à ces rhizobactéries sont :

- l'antibiose : interaction biologique dont l'un des aspects est l'antagonisme contre les phytopathogènes et la compétition pour les nutriments (Parray *et al.*, 2015) ;
- la résistance systémique induite (ISR) *via* la stimulation des défenses de la plante par la synthèse d'éliciteurs appartenant à la classe des antibiotiques (le 2,4-diacetylphoroglucinol DAPG, principalement), et des phytohormones liées au stress (l'acide jasmonique, l'acide salicylique, la cadavérine, etc.), ainsi que la production d'enzymes liées au catabolisme d'éthylène (l'ACC désaminase) (Jourdan *et al.*, 2008 ; Parray *et al.*, 2015) ;
- la production de métabolites à activité antimicrobienne tels que l'ammoniac (NH₃), les antibiotiques phénaziniques (ex : la pyocyanine), les sidérophores, le cyanure d'hydrogène (HCN), les enzymes hydrolytiques (chitinases, glucanases, protéases, et lipases), etc. (Beneduzi *et al.*, 2012) ;
- la bioremédiation des sols pollués par les métaux lourds toxiques et les pesticides (les composés xénobiotiques), par l'immobilisation et la transformation des métaux les rendant inactifs pour tolérer leur absorption. Les cellules végétales sont étroitement associées aux cellules microbiennes qui se développent en biofilm sur la surface de la racine, générant des molécules de signaux et entraînant un phénomène nommé : « quorum sensing ». Cette capacité des microbes à sentir le milieu environnant joue un rôle impératif dans l'efficacité nutritive et peut contrebalancer les effets délétères des métaux lourds sur les plantes (Daniels *et al.*, 2004).

Matériel et méthodes

I. Matériel biologique

L'étude expérimentale a été menée sur 72 isolats bactériens de la rhizosphère de deux plantes actinorhiziennes : 20 issus de *Casuarina equisetifolia* (le Filao), et 52 de la rhizosphère d'*Elaeagnus angustifolia* (l'Olivier de Bohême). Ces bactéries ont été gracieusement fournies par Dr. Meriem BENABDOUN des laboratoires GBBV « Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales » de l'Université des frères Mentouri-Constantine I.

II. Méthodes

1. Mode et conditions de culture

Avant toute expérimentation réalisée, les bactéries ont été cultivées sur gélose nutritive à 28-30°C pendant 24 heures, en utilisant la technique des stries par épuisement dans des conditions de travail en asepsie. Cette technique permet d'obtenir des colonies pures et séparées.

2. Etude macroscopique

L'étude des caractères morphologiques (macroscopiques) consiste en l'observation des colonies bactériennes, à l'œil nu ou grâce à la loupe binoculaire, prenant en compte les éléments d'identifications macroscopiques suivant (Joffin et Leyral, 2006) :

- La taille des colonies par la mesure du diamètre : ponctiformes, moyenne, ou grosse.
- La chromogénèse : couleur de la colonie.
- La forme des colonies : rondes, irrégulières, etc.
- L'élévation : convexe, concave, ou plate.
- L'opacité : opaque, translucide, ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée.

3. Etude microscopique

3.1. Coloration différentielle de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon la méthode classique comme suit :

Un frottis bactérien a été fixé à la chaleur par une solution de violet de gentiane, puis par une solution Iodo-iodurée. Les bactéries ont été, ensuite, soumises à l'action de l'éthanol puis à la fuchsine.

3.2. Examen à l'état frais

Une préparation à l'état frais permet d'examiner et de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. Ces caractères ont été étudiés par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle (Joffin et Leyral, 2006).

3.3. Observations microscopiques

L'observation des échantillons a été faite au microscope optique (Zeiss) à faible et à fort grossissement. Afin d'augmenter le pouvoir résolvant de l'objectif 100X, une goutte d'huile d'immersion a été déposée sur la lame.

4. Etude biochimique et physiologique

4.1. Production de pigments

4.1.1. Détection de pyoverdine

La production de la pyoverdine a été recherchée sur milieu solide « King B » favorisant la production et la détection de ce sidérophore grâce au sulfate de magnésium et au phosphate bipotassique (**Annexe 01**) (King *et al.*, 1954). L'incubation a été faite à 30°C pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

4.1.2. Détection de pyocyanine

Afin de mettre en évidence la production de pyocyanine, des bactéries ont été cultivées sur milieu solide « King A » (**Annexe 01**) (King *et al.*, 1954) à 30°C pendant 24 h.

4.2. Etude des enzymes respiratoires

4.2.1. Recherche de la catalase

La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H₂O₂ à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (Lévy *et al.*, 1992).

4.2.2. Recherche de l'oxydase

Le test oxydase a été réalisé grâce à des disques d'oxydase prêts à l'emploi contenant de l'oxalate N- diméthyl-paraphénylène diamine. Les bactéries oxydases positives dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violette foncée après quelques secondes (Marchall *et al.*, 1982).

5. Analyse des caractères PGPR

Un screening des activités PGP de l'ensemble des rhizobactéries dans le but de sélectionner les souches les plus performantes a été effectué :

5.1. Phytostimulation et biofertilisation

5.1.1. Production de l'acide indole acétique (AIA)

a. Estimation de la production d'AIA

La production d'auxines a été testée sur gélose LB (Lysogeny broth) (**Annexe 01**) (Bertani, 1951) auquel est ajouté 5 mM de L-tryptophane, 1% de glycérol, et 6% de SDS. Le milieu nutritif a été recouvert de disques de papier Whatman n°1 (90 mm de diamètre), puis incubées à 30°C pendant 48 h. Le papier a été, ensuite, imprégné de réactif de Salkowski (2% de FeCl₃ à 0.5M dans 35% d'acide perchlorique). L'apparition d'une couleur rose rouge, après 30 minutes de réaction, est l'indication de la production d'AIA (Gordon et Weber, 1950 ; Bric *et al.*, 1991 ; Naik et Sakthivel, 2006).

b. Quantification de l'AIA

La quantification de l'AIA par dosage colorimétrique a été évalué selon les protocoles décrits par : Loper et Scroth (1986), Bric *et al.* (1991) et Glickmann et Dessaux (1995). Pour ce faire, un volume de 20 µl d'une culture fraîche (Absorbance 600 = 0.7) sont

inoculées dans 10 ml du LB liquide et additionné de L-tryptophane (1 g/L) (Penrose et Glick, 2003). La culture bactérienne a été incubée à 30°C et à l'obscurité pendant 72 h et sous agitation permanente à 150 rpm. Après séparation des cellules par centrifugation (5000 g/10 min), 1 ml du surnageant est mélangé à 2 ml de réactif de Salkowski (voir estimation de la production d'AIA dans le § a.).

Après 20 min de réaction à température ambiante, la densité optique (DO) a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 535 nm (Gravel *et al.*, 2007). Les valeurs obtenues sont converties en taux d'auxine par le biais d'une courbe d'étalonnage, préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en AIA (Sigma-Aldrich) dans un intervalle de 0 à 10⁻⁵ M. Le développement d'une coloration rose est l'indicateur de la production d'AIA (Tarnawski *et al.*, 2006 ; Ahmad *et al.*, 2008).

5.1.2. Fixation d'azote

Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, ces dernières ont été cultivées à 30°C pendant 48 h, sur milieu solide exempté d'azote « Burk's N-free » (**Annexe 01**), selon le protocole de Wilson et Knight (1952) et Park *et al.* (2005). Toute croissance sur ce milieu traduit la capacité des bactéries à fixer l'azote.

5.1.3. Solubilisation du phosphate inorganique

La capacité de la souche bactérienne à solubiliser le phosphate inorganique a été testée sur le milieu de Pikovskaya solide (PVK) contenant du Ca₃(PO₄)₂ comme seule source de phosphate (**Annexe 01**) (Pikovskaya, 1948). Après incubation des bactéries à 30°C pendant 10 jours, le diamètre du halo de clarification autour des colonies a été déterminé selon la méthode de Babana (2003). La présence d'un halo indique la production de substances dissolvant le phosphore (Gaur, 1990 ; Rathaur *et al.*, 2013).

5.2. Biocontrôle

5.2.1. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

La production d'HCN par les souches bactériennes a été testée sur milieu solide « King B » dans lequel on a ajouté de la glycine (4.4 g/l) selon la méthode de Lorck (1948). Du papier Whatman n°1 (90 mm de diamètre), imprégné d'une solution de picrate de

sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium) a été déposé à l'intérieur des boîtes de Pétri contenant la culture bactérienne. Ces dernières sont scellées au parafilm et gardées en position inverse dans l'étuve à 30°C/4 jours. Elles sont vérifiées quotidiennement afin d'identifier les souches HCN+. L'apparition d'une couleur orange à rouge traduit la production d'HCN par la bactérie productrice (Ahmad *et al.*, 2008 ; Trivedi *et al.*, 2008 ; Abbas-Zadeh *et al.*, 2010).

5.2.2. Production d'ammoniac (NH₃)

La production de NH₃ a été testée sur une eau peptonée. La suspension bactérienne de 10 ml a été incubée à 30°C/4 jours/150 rpm (Cappuccino et Sherman, 1992). L'accumulation de l'ammoniac a été détectée par l'addition de 1 ml de réactif de Nessler dans chaque culture bactérienne donnant une couleur jaune à orange (Bakker *et al.*, 1987).

6. Analyses statistiques

Les tests PGPR ont été réalisés en duplicata et cela pour chaque paramètre mesuré. Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Microsoft Excel (2007). Le logiciel XLSTAT (2009) a servi à :

- l'analyse factorielle de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique, des échantillons bactériens ;
- l'Analyse en Composantes Principales (ACP), qui est une analyse multivariée permettant d'établir une relation entre plusieurs variables et définir le comportement d'individus vis-à-vis de ces variables. Cette méthode est réalisée dans le but de mettre en évidence les souches les plus actives et de procéder au choix des souches les plus performantes en se basant sur la mesure de leurs capacités PGP.

Résultats et discussion

Les PGPR favorisant la croissance des plantes auxquelles elles sont associées (Kloepper et Beauchamp, 1992), représentent environ 5% des rhizobactéries et appartiennent à différents groupes taxonomiques dont les plus étudiés sont : *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., et *Pseudomonas* spp. (Lemanceau, 1992 ; Podile et Kishore, 2006). Au niveau appliqué, l'effet PGPR offre des possibilités intéressantes en bio-agronomie. Mais avant de passer à l'application, il est nécessaire de s'intéresser à l'étude des mécanismes bénéfiques de ces bactéries coopératives.

Le travail présenté dans ce mémoire porte sur l'étude de deux populations bactériennes, isolées de la rhizosphère de *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnus angustifolia*, aux taxonomies inconnues. Nous nous sommes interrogés sur les points suivant :

- Les deux populations bactériennes sont-elles taxonomiquement proches ?
- Comptent-elles des rhizobactéries PGP ?
- Répondent-elles aux critères standards d'identification des PGPR ?
- Existe-t-il une différence de l'expression phénotypique de ces traits PGPR?

Pour répondre à ces questions, nous avons divisé notre travail expérimental en deux parties principales. La première consiste à faire une pré-identification des différents isolats bactériens qui repose, dans un premier temps, sur des tests d'orientation simples : une caractérisation phénotypique de la diversité des isolats bactériens, basée sur les caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques, afin d'approcher au maximum le sommet de la hiérarchie taxonomique. La deuxième partie consiste à faire une analyse qualitative et quantitative des caractères PGPR.

I. Etude macroscopique

La méthode macroscopique comprend toutes les techniques reposant sur la détermination de caractéristiques morphologiques des bactéries *via* des techniques standardisées. Les tests effectués sont basés soit sur les critères classiques ou traditionnels utilisés dans les schémas d'identification pratiqués dans la plupart des laboratoires de microbiologie (Denis *et al.*, 2007).

L'observation des colonies bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de *C. equisetifolia* et d'*E. angustifolia*, a révélé différents types de colonies, aux caractéristiques similaires pour quelques-unes et relativement variables pour d'autres : les

colonies sont toutes rondes au contour régulier et avec une surface lisse brillante. Cependant, nous avons observé une variation dans la taille des colonies, la couleur, la consistance, le relief et la pigmentation (**Figure 8**). L'aspect des colonies observées sur la boîte de culture permet dans certains cas d'orienter l'identification vers un groupe de bactéries.

Dans les deux communautés bactériennes, nous avons constaté l'apparition d'un pigment vert-jaune, diffusible dans le milieu de culture. Les colonies étaient d'une taille petite ou moyenne, de couleur blanche ; crème ; jaune ou vert-jaune, convexe, avec surface lisse et brillante. L'**Annexe 02** (tableau 01 et 02) regroupe, respectivement, les résultats de l'étude macroscopique des rhizobactéries d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

II. Etude microscopique

La coloration de Gram nous a permis de différencier les bactéries d'après leur forme (bacille, coccobacille, coque), et leur affinité pour les colorants (**Figure 09**) : les bactéries à Gram positif se caractérisent par une couleur violette. Quant aux bactéries à Gram négatif, elles sont identifiées par une couleur rose. Un pourcentage important des bactéries se sont révélés Gram négatif : 87% pour celles de l'Olivier de Bohême et 85% pour le Filao.

Les résultats de ce test ont été affirmés par l'examen à l'état frais et ont subi, à la suite de cela, une répartition selon la forme, l'arrangement (en amas, en chaînette, diplocoque ou diplobacille), et la mobilité (**Figure 10**) (Villarreal, 2006).

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas* fluorescents sont parmi les bactéries à Gram négatif les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Kaioua et Grairi, 2015). Les résultats de l'étude microscopique sont représentés sur l'**Annexe 02** (tableau 03).



Figure 08 : Aspect macroscopique des rhizobactéries sur milieu « King B ».

(A) : Isolat O-49 ; (B) : Isolat O-16 ; (C) : Isolat O-10 ; (D) : Isolat C-20 ;

(E) : Isolat O-14 ; (F) : Isolat O-6 ; (G) : Isolat O-18 ; (H) : Isolat O-41.

O : Olivier de Bohême ; C : Casuarina.

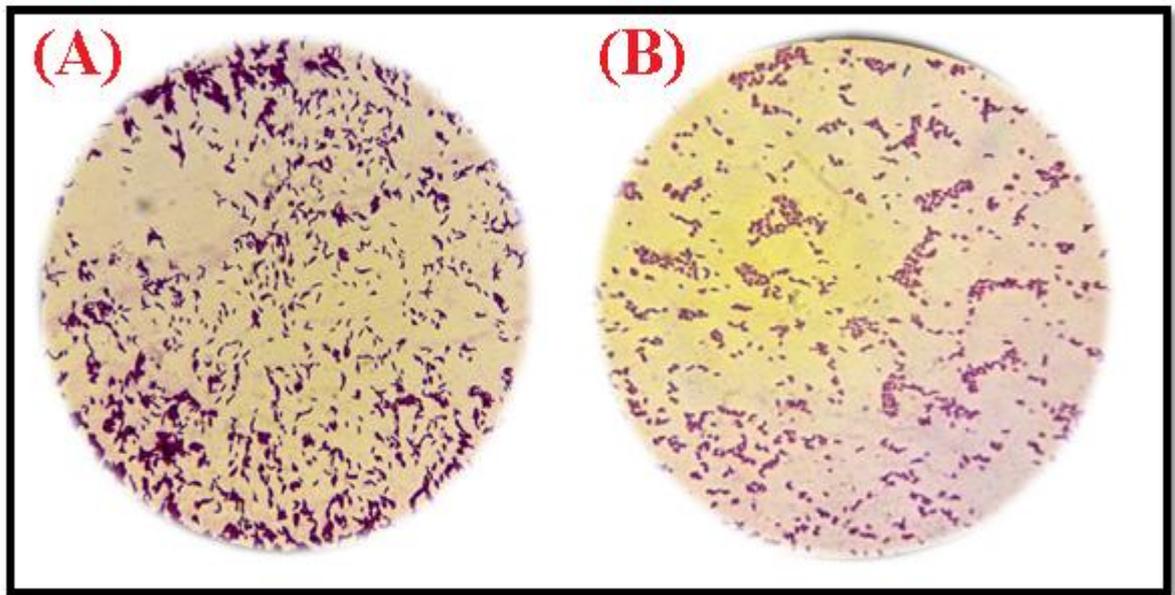


Figure 09 : Coloration différentielle de Gram (G : 10X40).

(A) : Bactéries à Gram positif ; (B) : Bactéries à Gram négatif.

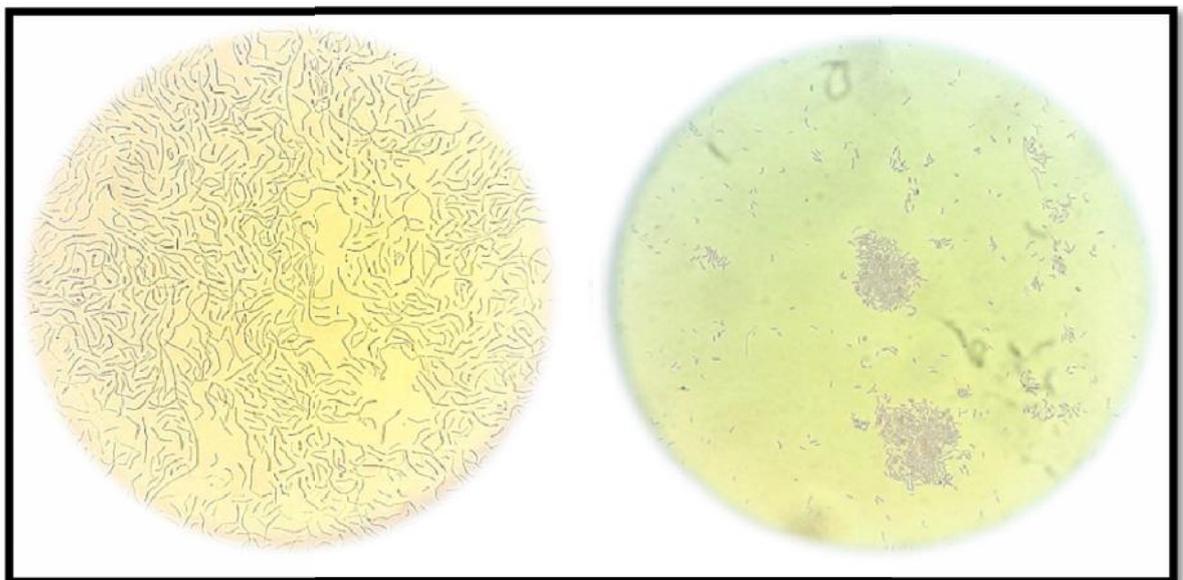


Figure 10 : Forme et arrangement des bactéries vues au microscope optique

(G : 10X40)

III. Etude biochimique et physiologique

1. Production de pigments

1.1. Détection de pyoverdine

Selon King *et al.* (1954), le milieu « King B » est un milieu différentiel qui facilite la mise en évidence du pigment sidérophore nommé : pyoverdine. Ce pigment est synthétisé par quelques espèces du genre *Pseudomonas* fluorescents.

La pyoverdine est un sidérophore de type « catécholate-hydroxamate », ayant une très forte affinité pour l'ion Fe^{3+} . Ce sont des pigments très tôt considérés comme des marqueurs taxonomiques potentiels des *Pseudomonas* dits « fluorescents » comme : *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, et *P. putida*. Elles se distinguent des autres *Pseudomonas* par ce pigment vert-jaune qu'elles produisent et diffusent dans le milieu de culture observées sous UV (Tourkya *et al.*, 2009). En se basant sur ce critère, nous avons classé les isolats en deux catégories : présence du pigment pyoverdine et absence du pigment. Les résultats montrent que 40% des isolats de *C. equisetifolia* et 75% des isolats d'*E. angustifolia* sont pyoverdine (+) (voir **Annexe 02**, tableau 01 et 02).

Les pseudomonades fluorescents produisent ces sidérophores pour assimiler le fer et sont donc impliquées dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes (Lemanceau *et al.*, 2009). Différentes pyoverdines peuvent être produites par un organisme, chacune d'entre elles ayant une chaîne peptidique différente et généralement un chromophore conservé conférant la couleur typique (**Figure 11**) (Dingemans et Cornelis 2013).

Dans cette étape de notre travail, le caractère discriminant qu'est la production des pyoverdines va nous servir d'axe d'interprétation et de comparaison des résultats des tests à suivre, dans le but de pré-identifier les bactéries isolées.

1.2. Détection de pyocyanine

La pyocyanine est un autre type de sidérophore, de couleur bleu-vert, diffusible dans le milieu et synthétisé uniquement par *P. aeruginosa* (Joffin et Leyral, 1998 ; Dumas *et al.*, 2013). La détection de ce pigment a été faite sur milieu « King A » qui favorise la production de ce dernier grâce aux ions inorganiques présents dans le milieu de culture.

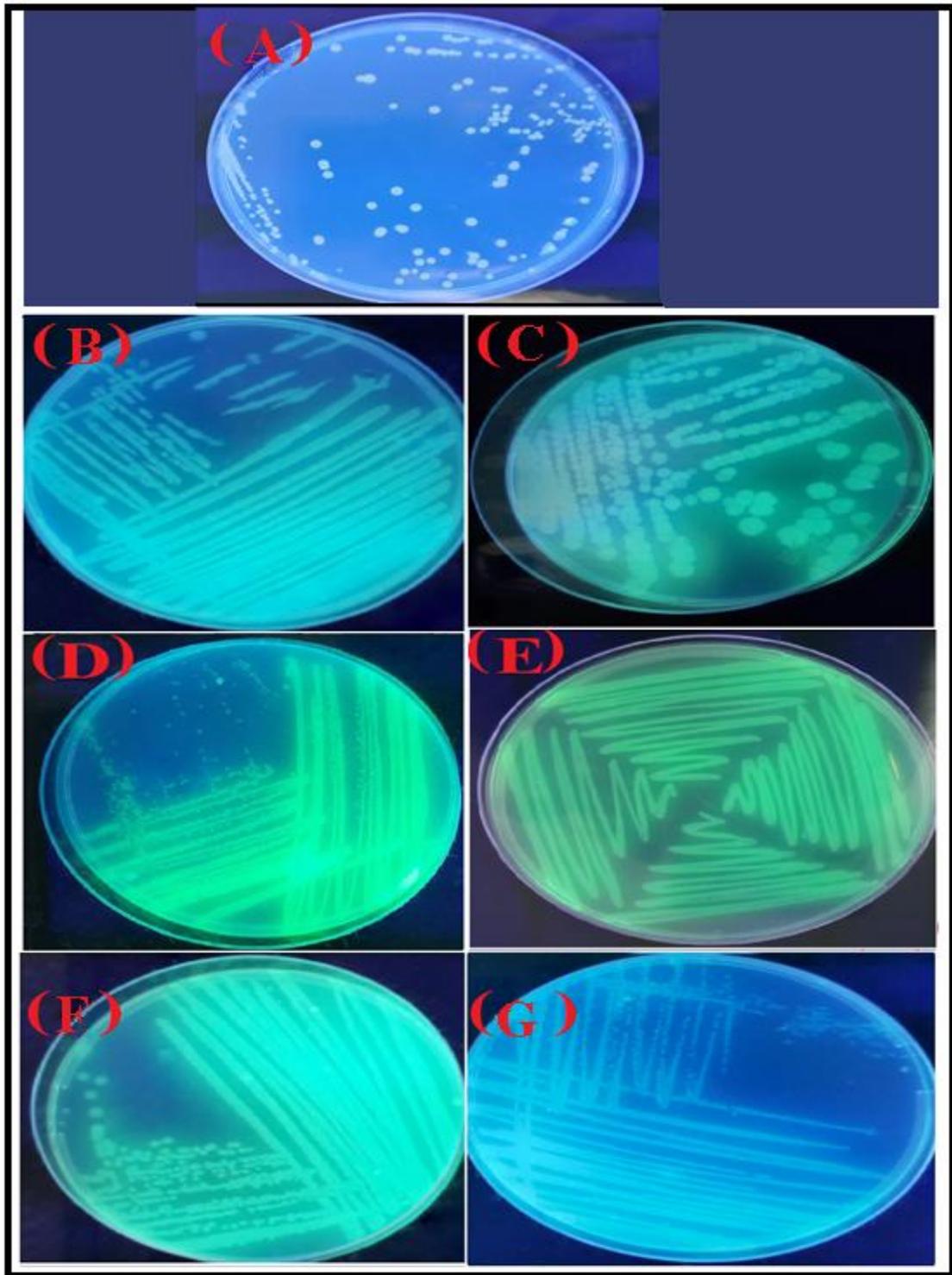


Figure 11 : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.

- (A) : Absence de fluorescence (C-18) ; (B) : Fluorescence bleu-clair (O-44) ;
(C) : Fluorescence bleu-vert (O-41) ; (D) : Forte fluorescence jaune-vert (O-35) ;
(E) : Fluorescence jaune-vert (C-1) ; (F) : Fluorescence vert-clair (O-40) ;
(G) : Fluorescence bleue (O-45).

Nous avons observé un faible pigment vert diffusible (**Figure 12**) pour les isolats bactériens, respectivement, de l'Olivier de Bohème (O) et de Casuarina (C) : O-12, O-20, O-22, O-23, O-24, O-25, O-26, O-27, O-28, O-33, O-36, O-37, O-38, et C-1, C-3, C-4, C-5 (voir **Annexe 02**, tableau 01 et 02).

Selon Standards Unit (2015), certaines souches de *P. aeruginosa*, ayant subi une mutation, ou simplement les souches mucoïdes, peuvent perdre leurs capacités à produire le pigment (El-Fouly *et al.*, 2014). De plus, contrairement à la pyoverdine, la pyocyanine est soluble dans le chloroforme, en outre, elle est toxique pour une large gamme de pathogènes (Bouras, 2014).

2. Etude des enzymes respiratoires

Pour effectuer l'identification d'une bactérie il est préférable de connaître son type respiratoire. On trouve la catalase chez tous les organismes aérobies. C'est un cytochrome appartenant à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes. Toutes les souches bactériennes que nous avons analysées sont des catalases positives, dont la présence se traduit par le dégagement de bulles (**Figure 13**).

Une réaction oxydase positive se matérialise par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où la colonie a été déposée (**Figure 14**). On estime que 85% des isolats d'*E. angustifolia* et 55% des isolats de *C. equisetifolia* se sont révélés oxydase positif. L'oxydase est l'un des critères le plus discriminatif et le plus employé pour l'identification des bactéries, surtout celles à Gram négatif (Bendoukhane et Djafer 2016).

Toutes les bactéries bacilles et mobiles, à Gram négatif produisant un pigment et oxydase et catalase répondent aux critères d'identification des *Pseudomonas* fluorescents. Les résultats de l'étude des enzymes respiratoires des isolats bactériens sont rassemblés dans l'**Annexe 02** (tableau 01 et 02).

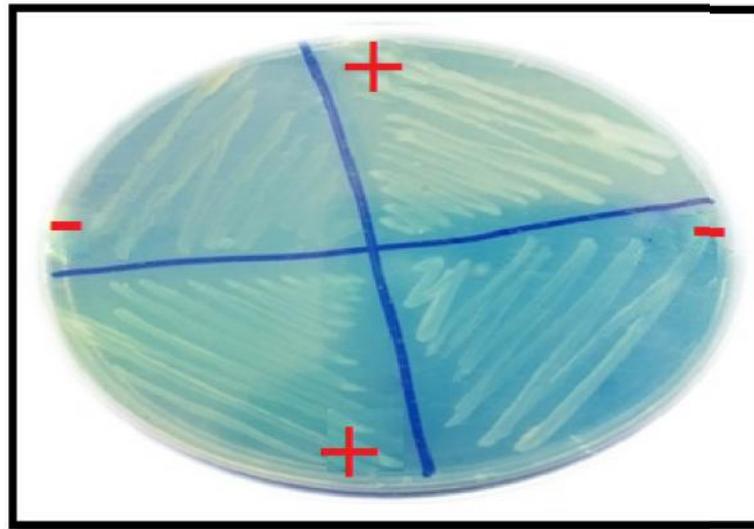


Figure 12 : Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A ».
(+) : Présence de pigment ; (-) : Absence de pigment.

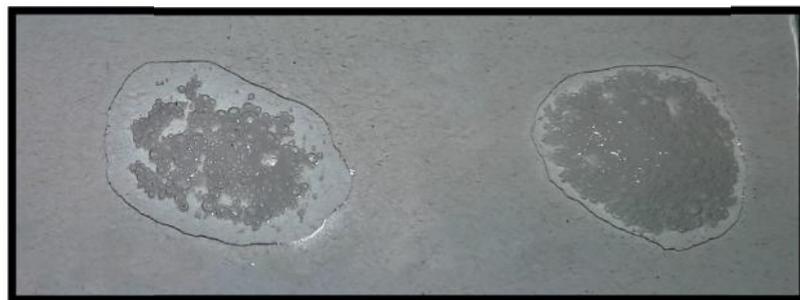


Figure 13 : Réaction de la catalase positive.

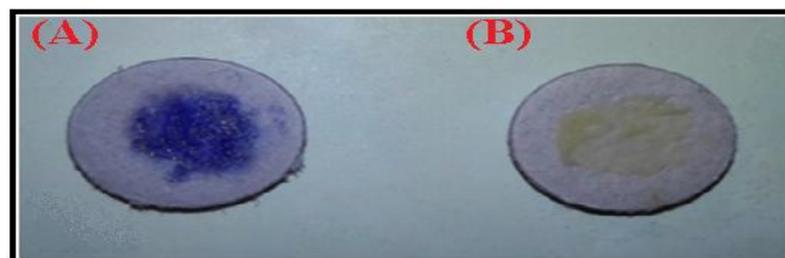


Figure 14 : Réaction de l'oxydase.
(A) : Réaction positive ; (B) : Réaction négative.

IV. Analyse factorielle des résultats de l'étude macroscopique microscopique et biochimique

L'analyse factorielle des tests préliminaires nous a permis de réaliser un nuage de points évoluant dans un espace de grande dimension, rassemblant les isolats qui présentent un certain degré de similarités (mesuré par la distance entre les points) et d'opérer un classement de ceux-ci en groupes ou phénons distincts selon les variables obtenues (la couleur des colonies, la catalase, etc.). L'analyse factorielle vient appuyer nos constatations faites sur les résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique.

Pour classer les souches d'*E. angustifolia* (AF1 : Analyse Factorielle 1), nous avons utilisé les deux premiers facteurs de l'analyse avec le plus grand pourcentage de contribution des variables, qui représentent ensemble 74.48% de l'information (ou dispersion du nuage des points), soit 51.88% pour l'axe 1 (pigment : pyoverdine) et 22.60% pour l'axe 2 (opacité).

La projection sur un plan est présentée sur la **Figure 15**. L'analyse a réparti les bactéries en quatre classes :

- (A) : isolats aux colonies opaques et produisant le pigment ;
- (B) : isolats produisant un pigment aux colonies translucides ;
- (C) : isolats qui ne produisent pas de pigment aux colonies opaques ;
- (D) : isolats aux colonies translucides, non pigmentées.

Pour l'analyse factorielle des rhizobactéries de *C. equisetifolia* (AF2 : Analyse Factorielle 2), nous avons utilisé les deux premiers « facteurs » de l'analyse avec le plus grand pourcentage de contribution des variables, qui représentent ensemble 77.66% de l'information, soit 50.72% pour l'axe 1 (pigment : pyoverdine) et 26.94% pour l'axe 2 (taille de la colonie). La projection sur un plan est présentée sur la **Figure 16**.

L'analyse a réparti les bactéries en quatre classes :

- (A) : les isolats produisant un pigment avec des colonies de grande taille (de 3 à 5 mm) ;
- (B) : les isolats produisant un pigment, avec des colonies de petite taille (de 0 à 2 mm) ;
- (C) : les isolats qui ne produisent pas de pigment, avec des colonies de grande taille ;
- (D) : les isolats non pigmentés, avec des colonies de petite taille.

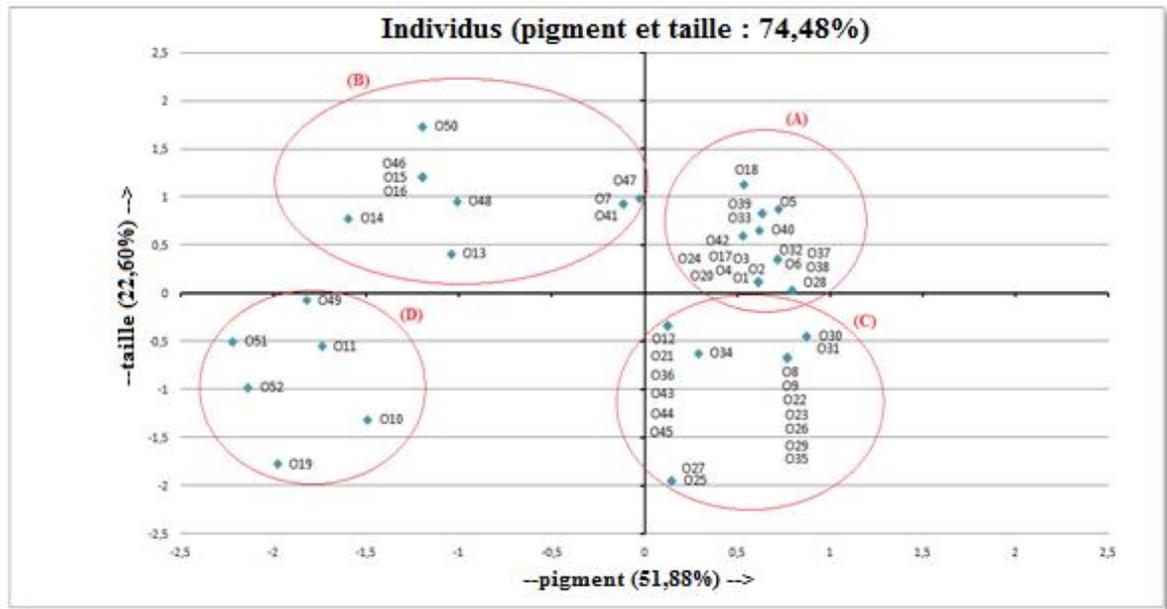


Figure 15 : Distribution des isolats bactériens d'*Elaeagnus angustifolia* donnée par l'Analyse Factorielle 1 (AF1).

Axe 1 : Présence ou absence de pyoverdine ; **Axe 2 :** Type d'opacité.

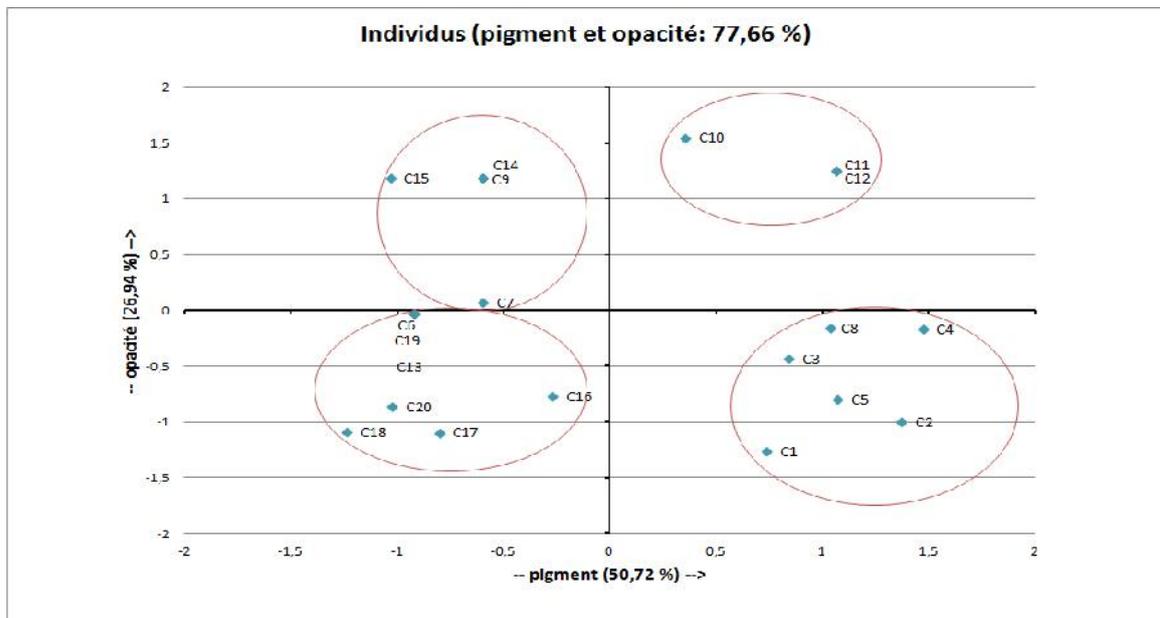


Figure 16 : Distribution des isolats bactériens de *Casuarina equisetifolia* donnée par l'Analyse Factorielle 2 (AF2).

Axe 1 : Présence ou absence de pyoverdine ; **Axe 2 :** Taille des colonies.

En comparant AF1 et AF2, nous avons observé que le pigment pyoverdine est le facteur discriminant en commun, représenté par l'axe 1 dans les deux analyses. Les points situés à droite de l'axe 1 sont toutes pyoverdine (+). Nous supposons que ces dernières sont proches taxonomiquement des *Pseudomonas* fluorescents : *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* et *P. Putida* (d'après le tableau des caractères différentiels des Bacilles à Gram (-) de l'**Annexe 03**).

Le genre *Pseudomonas* comprend des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines (Decoster *et al.*, 2008). Ces bactéries constituent un groupe complexe et hétérogène composé de bactéries appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae* et contenant 211 espèces décrites de façon valide. Ils sont constamment l'objet d'une révision taxonomique continue en raison de l'amélioration de méthodes d'identification des espèces (Standards Unit, 2015).

Ces espèces sont aérobies, asporulées, à Gram négatif, en forme de bâtonnet droit ou légèrement courbé de 2 à 4 µm de longueur. Elles sont mobiles au moyen d'un ou plusieurs flagelles polaires, et ont un métabolisme respiratoire aérobique très strict mais dans certains cas, le nitrate peut être utilisé comme une alternative qui leur permet la croissance anaérobie. La plupart des espèces sont oxydase positive (à l'exception de *P. luteola* et *P. oryzihabitans*) et catalase positive (Standards Unit, 2015).

C'est en confrontant ces premiers résultats macroscopiques aux principaux caractères biochimiques, ainsi que les résultats microscopiques que nous avons obtenu une première identification bactérienne appréciable mais incomplète et non précise.

V. Analyse des caractères PGPR

En plus de la pré-identification des souches bactériennes et une attribution approximative au genre approprié, une évaluation méthodique des qualités qualifiant les PGPR a été effectuée afin de pouvoir distinguer les PGPR les plus performantes en biofertilisation, phytostimulation et en biocontrôle.

1. Phytostimulation et biofertilisation

1.1. Production de l'acide indole acétique (AIA)

1.1.1. Estimation de la production d'AIA

Les PGPR peuvent contribuer à l'amélioration du développement des végétaux avec la production de différentes phytohormones, dont l'auxine (Kloepper *et al.*, 2007). Cette hormone représentée principalement par l'acide indole-acétique (AIA), est une hormone de nature acide faible commune, mais aussi, un produit du métabolisme du L-tryptophane qui stimule : l'élongation cellulaire et la dominance apicale, favorise l'initiation des racines adventives, la fructification et la germination des graines, et prévient l'abscission des feuilles (Labidi, 2016).

La production d'auxines, dans du milieu LB, se traduit par une coloration rose à rouge après l'ajout du réactif Salkowski. L'intensité de la couleur varie selon le taux d'AIA produite (**Figure 17**). Les résultats ont montré que : 51,92% de isolats de *E. angustifolia* et 50% des isolats de *C. equisetifolia* ont produit l'AIA (**Tableau 04**). Cette réaction positive explique l'aptitude de la bactérie à métaboliser le L-tryptophane en AIA ou en d'autres composés analogues (Atiqur *et al.*, 2010).

1.1.2. Quantification de l'AIA

Les données de concentrations obtenues sur la capacité de production d'auxines (AIA) par les isolats bactériens, testée sur milieu LB liquide en présence du précurseur tryptophane, sont affichées sur le tableau 01 de l'**Annexe 04**. Conforme à l'expérience précédente, la réaction positive se manifeste par une coloration rose après l'ajout du réactif Salkowski qui varie aussi selon le taux d'AIA produite (**Figure 18**).

Pour les isolats d'*E. angustifolia*, les concentrations s'étendent de 8.52 µg/ml (O-15) à 78.66 µg/ml (O-33), et de 6.73 µg/ml (C-18) à 60.53 µg/ml (C-11) pour les isolats de *C. equisetifolia*. Selon le seuil défini par Deepak et Satayavir (2011), les souches avec une production d'AIA importante, en prenant compte l'écart-type sont : O-18, O-21, O-28 pour *E. angustifolia* et C-3, C-5 pour *C. equisetifolia*. Les résultats sont représentés sur les figures 01 et 02 de l'**Annexe 04**.

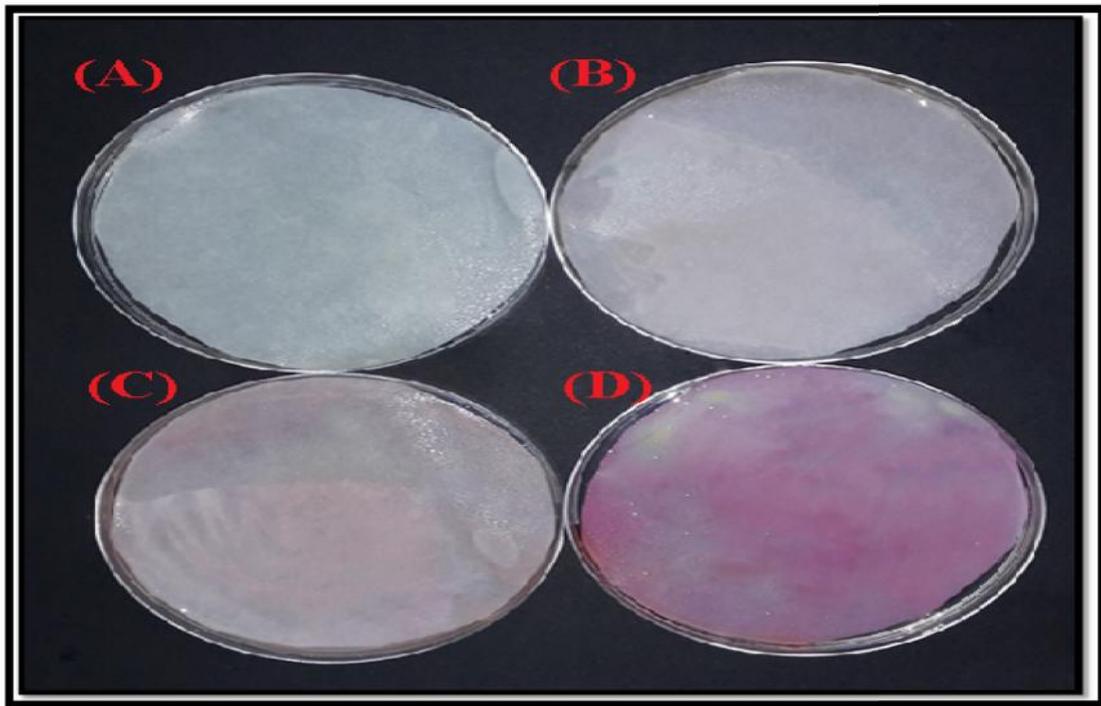


Figure 17 : Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu solide.

(A) : Témoin ; (B) : Faible production ; (C) : Production moyenne ; (D) : Forte production.

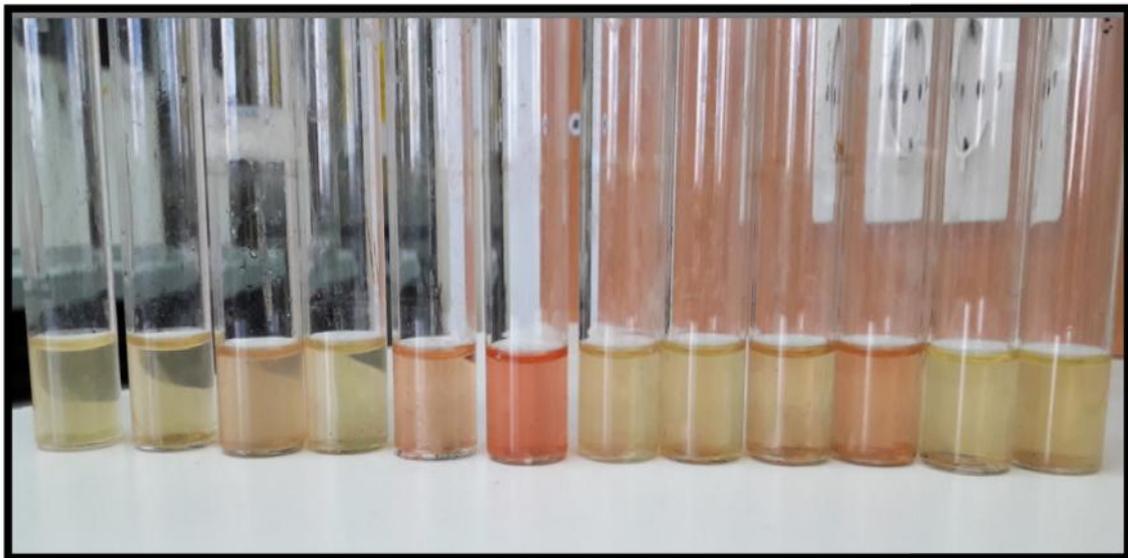


Figure 18 : Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu liquide.

Tableau 04 : Estimation de la production de l'AIA par les rhizobactéries.

Isolat	Taux	Isolat	Taux	Isolat	Taux	Isolat	Taux
O-1	2	O-19	0	O-37	1	C-3	2
O-2	1	O-20	2	O-38	3	C-4	0
O-3	2	O-21	2	O-39	3	C-5	2
O-4	1	O-22	1	O-40	2	C-6	0
O-5	3	O-23	0	O-41	1	C-7	0
O-6	3	O-24	0	O-42	2	C-8	1
O-7	0	O-25	0	O-43	1	C-9	3
O-8	3	O-26	1	O-44	1	C-10	1
O-9	2	O-27	1	O-45	1	C-11	1
O-10	1	O-28	2	O-46	3	C-12	1
O-11	1	O-29	3	O-47	2	C-13	1
O-12	2	O-30	2	O-48	0	C-14	0
O-13	1	O-31	2	O-49	0	C-15	1
O-14	0	O-32	2	O-50	0	C-16	0
O-15	0	O-33	2	O-51	0	C-17	0
O-16	0	O-34	3	O-52	0	C-18	0
O-17	1	O-35	3	C-1	1	C-19	0
O-18	2	O-36	3	C-2	1	C-20	0

O : Olivier de Bohème ; **C** : Casuarina ;

0 : Pas de production ; **1** : Faible production ; **2** : Production moyenne ; **3** : Forte production.

Le taux de production d'AIA dépend des voies de synthèses de ce dernier en présence du tryptophane, ainsi que l'emplacement des gènes de biosynthèse de l'auxine dans le génome bactérien et le mode d'expression (constitutive ou induite) (Ahemad et Kibret 2013).

1.2. Fixation d'azote

L'azote est l'élément le plus important pour la croissance et la productivité des végétaux. Bien qu'il y ait environ 78% de diazote (N₂) dans l'atmosphère, il n'est pas disponible pour l'utilisation directe par les plantes en croissance. Certaines PGPR ont la capacité de fixer l'azote et sont aptes à former une interaction libre (non obligatoire et non durable) avec la plante hôte (Ahemad et Kibret, 2013).

La croissance des bactéries sur le milieu « Burk's N-free » dépend de leur aptitude à fixer l'azote (**Figure 19**). On note que 58% des souches d'*E. angustifolia* et 70% des souches de *C. equisetifolia* ont pu croître sur un milieu exempté d'azote, et sont donc aptes à fixer l'azote (**Tableau 05**).

1.3. Solubilisation du phosphate inorganique

Le phosphore est le second macronutriment requis pour la croissance des plantes après l'azote. Même dans les sols qui en sont riches, cet élément se trouve sous forme insoluble et seulement une faible proportion (0.1%) est assimilable par les plantes (Mezaache, 2012). D'après Bhattacharyya et Jha, 2012, les bactéries appartenant aux genres : *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia* et *Rhizobium* sont signalées comme les bactéries les plus compétentes en solubilisation du phosphate.

En général, la solubilisation du phosphore inorganique se produit comme conséquence de l'action des acides organiques de faible poids moléculaire synthétisées par les bactéries, et qui se traduit par la formation d'un halo autour de la colonie (**Figure 20**) (Zaidi *et al.*, 2009). Le diamètre du halo de solubilisation, pour chacun des isolats, a été mesuré pendant cinq jours successifs (**Annexe 04**, tableau 02), et déterminé selon la méthode de Babana (2003), qui se présente comme suit :

$$\text{Diamètre de solubilisation} = \text{Diamètre total (Halo + colonie)} - \text{Diamètre de la colonie}$$

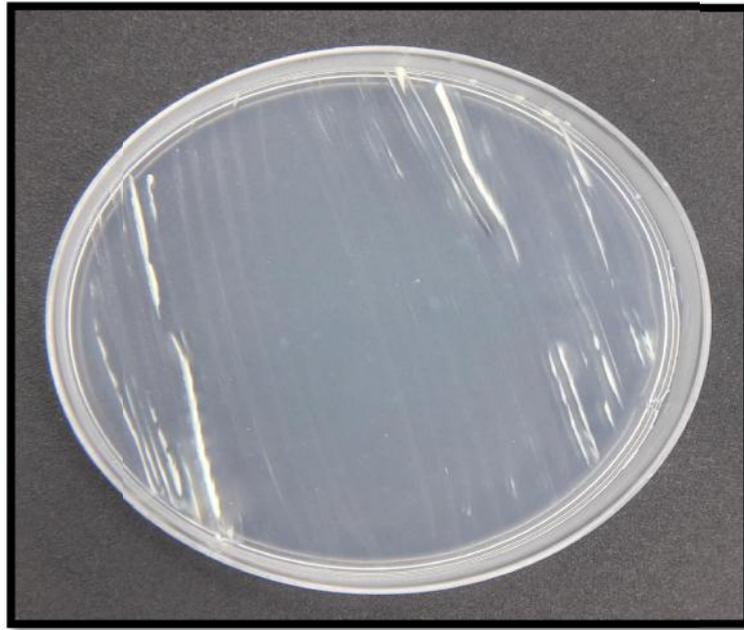


Figure 19 : Croissance des rhizobactéries sur milieu nutritif exempt d'azote.

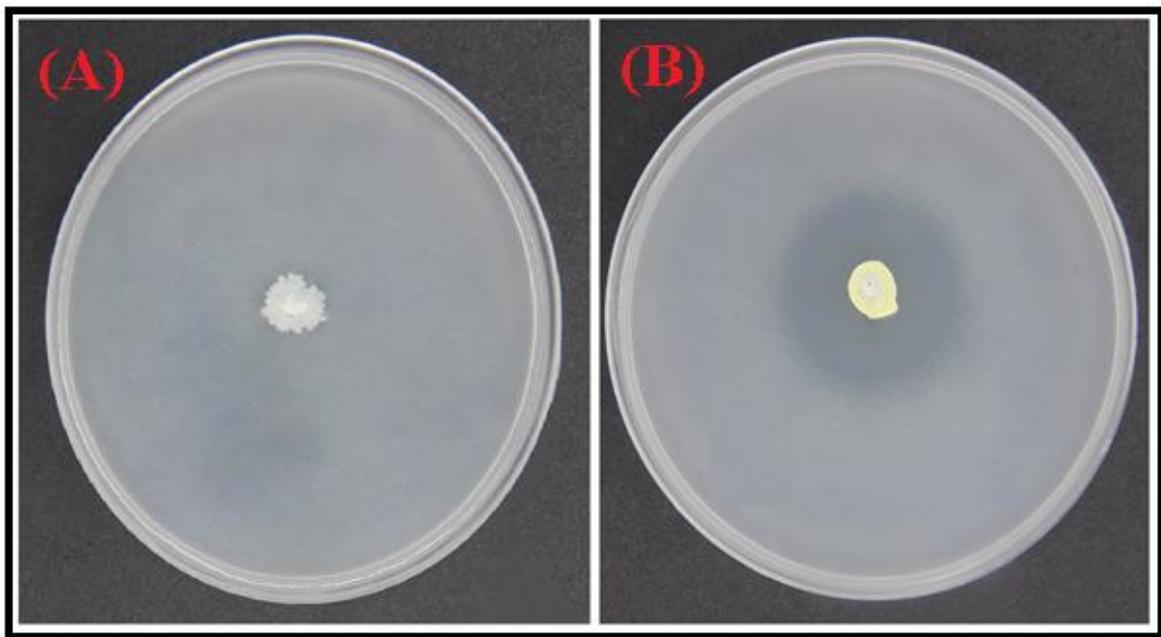


Figure 20 : Solubilisation du phosphate inorganique sur le milieu « PVK » par les rhizobactéries.

(A) : Pas de solubilisation ; (B) : Solubilisation.

Tableau 05 : Estimation de la croissance des rhizobactéries sur un milieu nutritif exempté d'azote.

Isolat	Taux	Isolat	Taux	Isolat	Taux	Isolat	Taux
O-1	1	O-19	1	O-37	0	C-3	1
O-2	1	O-20	0	O-38	0	C-4	1
O-3	1	O-21	0	O-39	0	C-5	1
O-4	1	O-22	1	O-40	0	C-6	1
O-5	0	O-23	1	O-41	0	C-7	1
O-6	1	O-24	1	O-42	0	C-8	0
O-7	0	O-25	1	O-43	1	C-9	1
O-8	0	O-26	1	O-44	1	C-10	1
O-9	1	O-27	1	O-45	0	C-11	1
O-10	1	O-28	0	O-46	0	C-12	1
O-11	1	O-29	1	O-47	1	C-13	0
O-12	1	O-30	1	O-48	1	C-14	1
O-13	0	O-31	0	O-49	1	C-15	1
O-14	1	O-32	0	O-50	1	C-16	0
O-15	1	O-33	0	O-51	1	C-17	0
O-16	1	O-34	0	O-52	0	C-18	0
O-17	1	O-35	1	C-1	0	C-19	1
O-18	0	O-36	0	C-2	1	C-20	1

O : Olivier de Bohème ; C : Casuarina ;

0 : Pas de croissance ; 1 : Croissance.

On note que 90% des souches bactériennes d'*E. angustifolia* ont solubilisé le phosphate avec une valeur maximale de diamètre égale à 27 mm pour O-13 suivi par O-14 (26 mm), tandis que 80% des souches de *C. equisetifolia*, développent un halo avec une valeur maximale de diamètre de 27 mm pour C-10 suivi par C-13 (25 mm) (voir figure 03 et 04 de l'**Annexe 04**).

Comparé à l'étude réalisée par Chitraselvi *et al.* (2015), qui met en évidence la capacité maximale de quelques bactéries solubilisant le phosphate qui atteint 9 mm de halo de solubilisation, alors que les souches en notre disposition se sont montrées plus performantes (27 mm). Cependant dans une autre étude réalisée par Gupta *et al.* (2014), le halo a pu atteindre les 70 mm.

2. Biocontrôle

2.1. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

Certaines PGPR produisent des antibiotiques volatiles, dont le plus important est le « HCN » qui inhibe le cytochrome oxydase de nombreux organismes. Le cyanure d'hydrogène est un métabolite secondaire induit en conditions limitées en oxygène (anaérobiose) et produit par les bactéries à Gram négatifs notamment : *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, et *Chromobacterium violaceum* (Blumer et Haas, 2000 ; Mezaache, 2012).

Les rhizobactéries cyanogènes pourraient avoir le potentiel de bioherbicides en lutte biologique par la réduction de 90 % de la croissance des racines et des tiges des mauvaises herbes (Heydari *et al.*, 2008). L'HCN et le CO₂ se forment à partir d'un acide aminé en l'occurrence la glycine par l'HCN synthétase (Siddiqui, 2006).

Les concentrations de l'HCN de nos deux communautés rhizobactériennes ont été définies colorimétriquement, ainsi, sa production s'est traduite par une couleur orange dont l'intensité varie selon le taux d'HCN produit (**Figure 21**).

On estime que 62% des isolats d'*E. angustifolia* ont produit de l'HCN, avec un taux élevé pour : O-5, O-17, O-37, O-38, O-39, O-40, O-43, O-44, et O-45, alors que le taux de production d'HCN est à 45% pour les isolats de *C. equisetifolia*, avec un taux élevé pour : C-1, C-3, C-11 (voir figure 05 et 06 de l'**Annexe 04**).

Selon une étude réalisée par Heydari et ses collaborateurs (2008), Les souches de *Pseudomonas* fluorescents ont été identifiées autant que grands producteurs d'HCN.

2.2. Production d'ammoniac (NH_3)

L'ammoniac est l'agent inhibiteur de certains phytopathogènes. Il est produit comme un intermédiaire du catabolisme des acides aminés des exsudats racinaires assimilés par les bactéries du sol (Cherif, 2014). Dans notre expérimentation, les souches indiquant une production de NH_3 ont développé une couleur jaune à orange après addition du réactif de Nessler (**Figure 22**). Les résultats sont collectés dans le tableau 04 de l'**Annexe 04**.

On note que 100% des isolats bactériens ont produit de l'ammoniac. Celles présentant une production importante sont : O-2, O-10, O-21, O-25, suivi par O-1 pour les bactéries rhizosphériques d'*E. angustifolia* et C-20 suivi par C-6, C-14 et C-16 pour les rhizobactéries de *C. equisetifolia* (voir figure 07 et 08 de l'**Annexe 04**).

L'enzyme nitrogénase joue un rôle important dans la réduction de N_2 fixé en NH_3 chez les bactéries fixatrices d'azote. L'ammoniac fixé est assimilé en glutamate et glutamine qui sont importants pour former des composés azotés organiques dans les cellules telles que les acides aminés, les acides nucléiques, les protéines, etc. Après la mort bactérienne et la lyse, ces composés sont rejetés dans l'environnement et utilisés comme sources d'azote par d'autres organismes tels que les plantes (Hartono *et al.*, 2016).

VI. Analyse en Composantes Principales (ACP) des caractères PGP

1. L'ACP des isolats de la rhizosphère d'*Elaeagnus angustifolia*

Sur la base des résultats obtenus et dans le but de sélectionner des souches phyto bénéfiques les plus efficaces, l'ACP a été utilisée pour grouper, qualitativement et quantitativement, les bactéries selon leurs activités PGPR. Nos résultats montrent que l'ACP de ces activités (production d'AIA, solubilisation du phosphate, production d'HCN, production d'ammoniac et fixation d'azote) révèle de nombreux points.

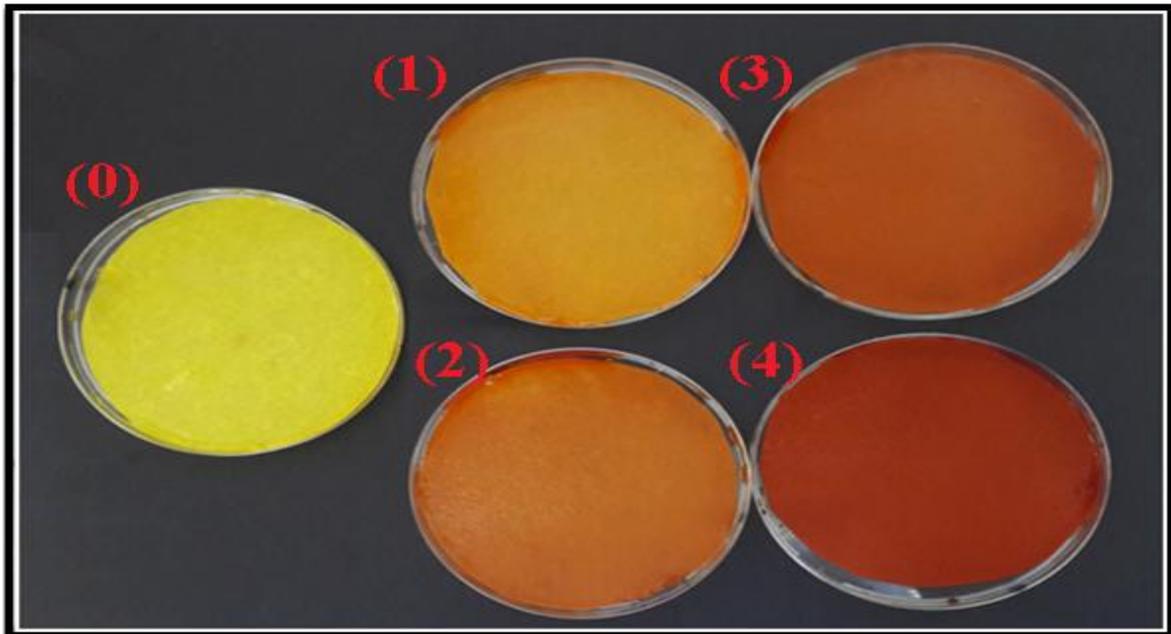


Figure 21 : Production d'HCN par les rhizobactéries sur milieu solide.

(0) : Jaune (Pas de production) ; (1) : Orange clair (Production très faible) ;
(2) : Orange (Production faible) ; (3) : Rouge-orange (Production moyenne) ;
(4) : Rouge (Production importante).

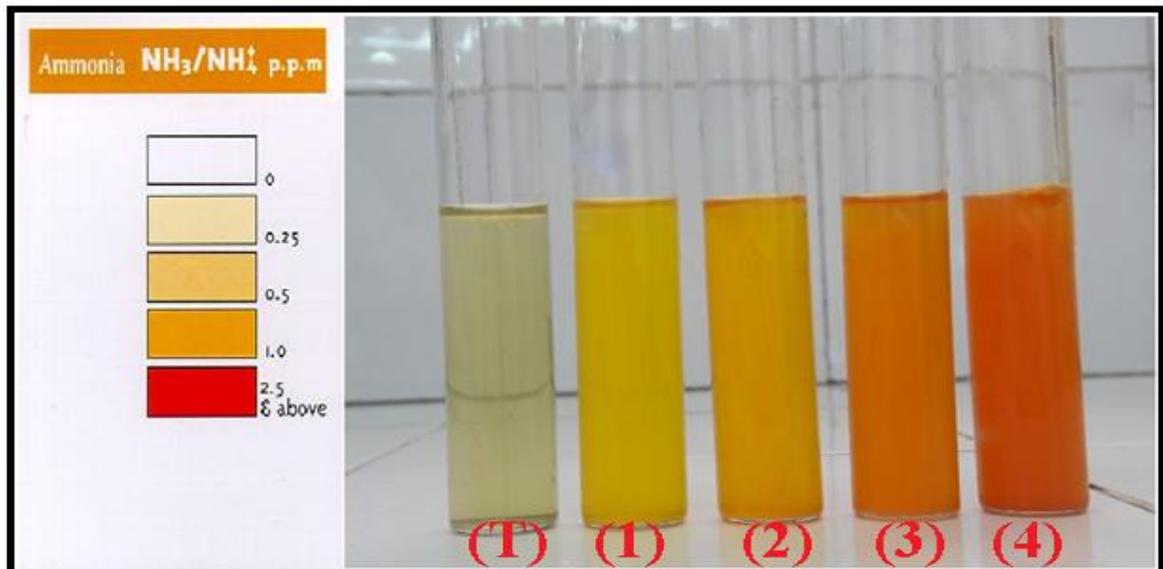


Figure 22 : Production de NH_3 par les rhizobactéries sur milieu liquide.

(T) : Témoin ; (1) : Jaune (Production très faible) ; (2) : Orange très clair (Production faible) ;
(3) : Orange (Production moyenne) ; (4) : Rouge-orange (Production importante).

Pour la rhizosphère d'*E. angustifolia*, nous avons tout d'abord effectué une ACP pour les variables de leurs activités de biofertilisants (fixation d'azote et solubilisation du phosphate inorganique), et phytostimulants (production d'AIA). Pour cela, nous avons utilisé les deux premiers facteurs avec le plus grand pourcentage de contribution des variables de l'analyse qui représentent ensemble 79,35% de l'information totale, soit 51,03% pour l'axe 1 (estimation d'AIA) et 28,32% pour l'axe 2 (solubilisation du phosphate). La projection sur un plan est présentée sur la **Figure 23**.

L'analyse a réparti les individus en quatre phénons. Ceux que nous avons estimé bons PGPR sont répartis en deux groupes :

- « O-1, O-3, O-6, O-9, O-10, O-11, O-12, O-22, O-26, O-35, O-43, O-47 » avec un bon score pour les trois qualités PGP de biofertilisation et de phytostimulation ;
- « O-18, O-20, O-21, O-28, O-30, O-31, O-32, O-33, O-34, O-36, O-39, O-40, O-42, O-45, O-46 » avec une production plus élevée pour l'AIA (estimation et quantification) et une solubilisation du phosphate satisfaisante mais pas de fixation d'azote.

La deuxième ACP (**Figure 24**) concerne les activités applicables en biocontrôle (production de cyanure d'hydrogène et d'ammoniac) avec un pourcentage de 100% de contribution (axes 1 et 2). Nous avons réparti les individus en quatre phénons dont trois sont avantageux : le premier se caractérise par une production élevée de cyanure d'hydrogène et d'ammoniac « O-1, O-2, O-3, O-4, O-5, O-17, O-27, O-31, O-45 », suivi du deuxième rassemblant les producteurs d'HCN « O-28, O-33, O-34, O-35, O-36, O-37, O-38, O-39, O-40, O-41, O-42, O-43 et O-44 », et enfin, les bactéries « O-10, O-21, O-23, O-24, O-25, O-50 et O-51 » qui présentent une production d'ammoniac élevée et aucune production ou production très faible d'HCN.

2. L'ACP des isolats de la rhizosphère de *Casuarina equisetifolia*

Cette fois, l'ACP a mis en jeu les cinq qualités PGPR réunis. Nous avons utilisé les deux premiers facteurs avec le plus grand pourcentage de contribution des variables de l'analyse qui représentent ensemble 58,53% de l'information totale, soit 38,77% pour l'axe 1 (solubilisation du phosphate) et 19,76% pour l'axe 2 (fixation d'azote). La projection sur un plan est présentée sur la **Figure 25**.

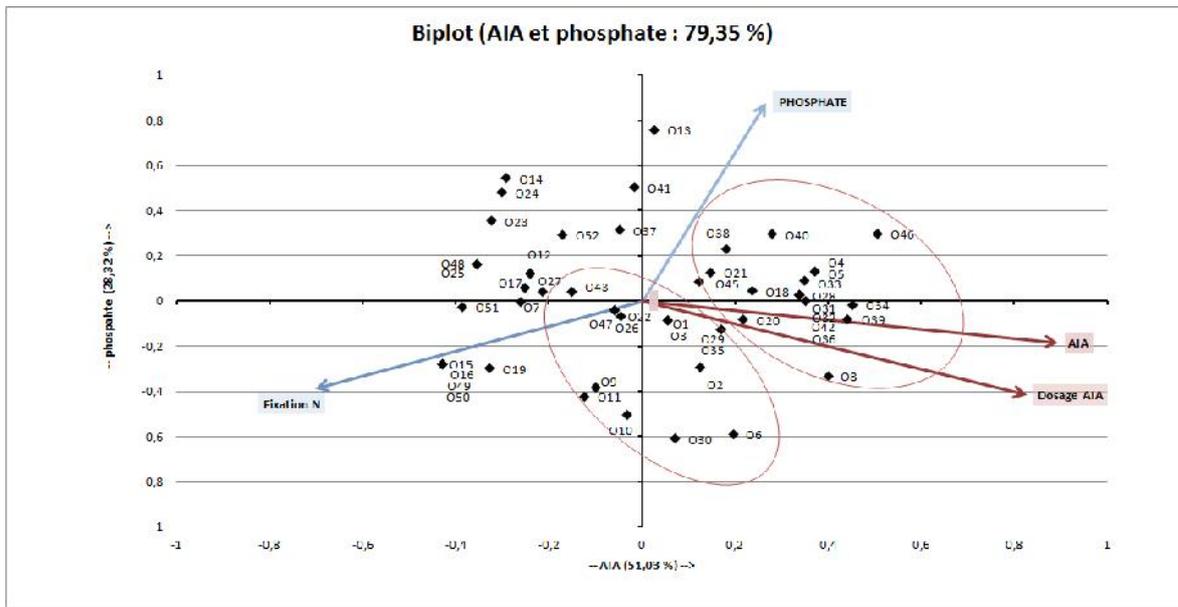


Figure 23 : Distribution des isolats bactériens d'*Elaeagnus angustifolia* pour leurs activités PGPR (phytostimulation et biofertilisation), donnée par l'ACP.

Axe 1 : Production d'AIA ; **Axe 2 :** Solubilisation du phosphate.

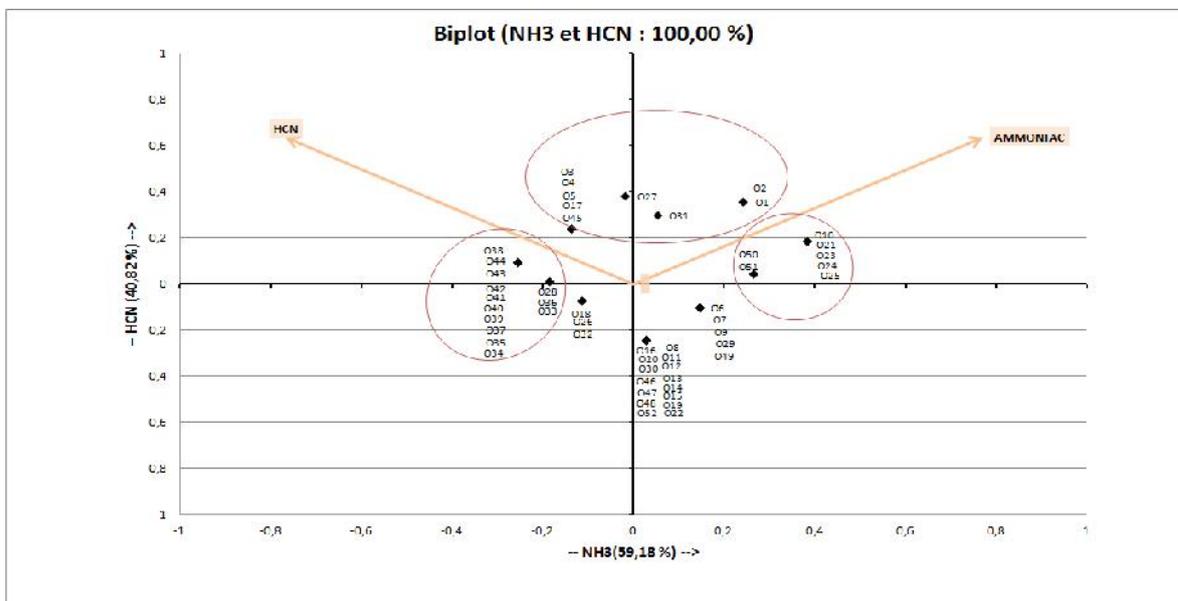


Figure 24 : Distribution des isolats bactériens d'*Elaeagnus angustifolia* pour leurs activités PGPR (biocontrôle), donnée par l'ACP.

Axe 1 : Production d'HCN ; **Axe 2 :** Production de NH₃.

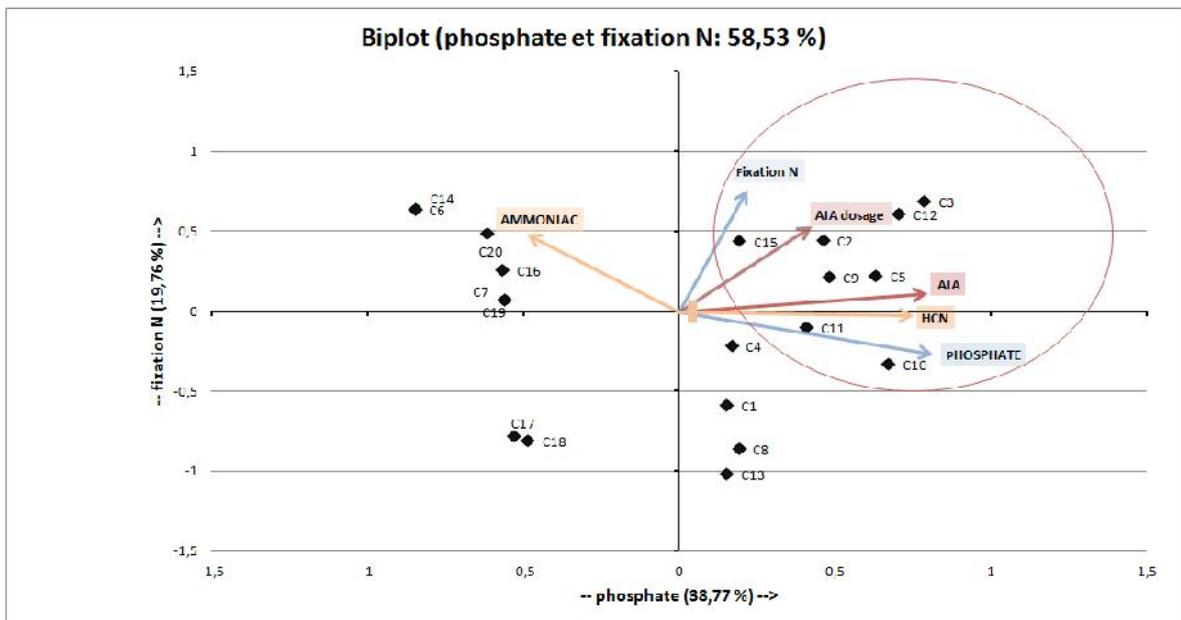


Figure 25 : Distribution des isolats bactériens de *Casuarina equisetifolia* pour leurs activités PGPR, donnée par l'ACP.

Axe 1 : Solubilisation du phosphate ; **Axe 2 :** Fixation d'azote.

L'analyse des données met en évidence une corrélation positive entre la solubilisation du phosphate, la production d'AIA (estimation et quantification) et la production d'HCN, qui sont, à leurs tours, corrélées négativement avec la production d'ammoniac. Autrement dit, une bactérie montrant une solubilisation de phosphate et une fixation d'azote importante, avec une bonne production d'AIA et d'HCN, aura une production d'ammoniac médiocre ou nulle.

Quant à la fixation d'azote, elle est corrélée positivement avec la production d'AIA et d'HCN mais indépendante de production d'ammoniac. L'analyse a réparti les individus en quatre phénons, ceux que nous avons estimé bons PGPR sont : C-2, C-3, C-5, C-9, C-12, C-15 suivi par C-10 et C-11.

3. Sélection des PGPR les plus performantes

En prenant compte des résultats des analyses ACP effectuées, nous avons effectué un screening en regroupant les rhizobactéries de *C. equisetifolia* et d'*E. angustifolia* que nous pensons être des candidats au bon potentiel PGPR dans le **Tableau 06**.

Le groupe PGPR le plus représentatif et le plus important parmi les bactéries à Gram négatif appartient au genre *Pseudomonas* spp. Par contre, les bactéries à Gram positif au potentiel PGPR remarquable sont *Bacillus* spp. *Paenibacillus* spp. et les actinomycètes (Bouizgarne, 2013). Les résultats de l'étude statistique montrent que 82% des bactéries sélectionnées sont fluorescentes.

Tableau 06 : Screening des isolats rhizobactériens pour les traits PGPR étudiés.

Isolat	Gram	Forme	Pigment diffusible « pyoverdine »	AIA sur milieu solide	AIA sur milieu liquide ($\mu\text{g/ml}$)	Fixation d'azote	Solubilisation du phosphate (taille de l'halo en mm)	HCN	NH ₃	Catalase	Oxydase
O-1	-	Bacille	Vert jaune	2	30,2 \pm 3,29	+	14	2	4	+	+
O-2	-	Bacille	Vert clair	1	17,88 \pm 0,44	+	14	2	4	+	+
O-3	-	Bacille	Bleu	2	27,535 \pm 8,80	+	14	3,5 \pm 0,5	2	+	+
O-5	-	Bacille	Vert jaune	3	31,79 \pm 8,03	-	16	4	2	+	+
O-10	+	Coque	-	1	46,81 \pm 35,31	+	2	0	4	+	-
O-21	-	Bacille	Vert jaune	2	36,17 \pm 9,16	-	12	0	4	+	+
O-28	-	Bacille	Vert jaune	2	40,21 \pm 9,11	-	14	2,5 \pm 0,5	1	+	+
O-31	-	Bacille	Vert jaune	2	39,98 \pm 23,75	-	14	3,5 \pm 0,5	3	+	+
O-33	-	Bacille	Vert jaune	2	36,34 \pm 27,61	-	16	2,5 \pm 0,5	1	+	+
O-34	-	Bacille	Vert jaune	3	68,48 \pm 60,44	-	14	3,5 \pm 0,5	1	+	+
O-36	-	Bacille	Vert jaune	3	28,7 \pm 10,5	-	12	3	1	+	+
O-39	-	Bacille	Vert jaune	3	32,96 \pm 15	-	12	4	1	+	+
O-40	-	Bacille	Vert clair	2	31,96 \pm 15,30	-	20	4	1	+	+
O-43	-	CB	Bleu	1	28,60 \pm 8,14	+	14	4	1	+	+
C-2	-	Bacille	Vert jaune	1	23,72 \pm 8,37	-	12	3,5 \pm 0,5	1	+	+
C-3	-	Bacille	Vert jaune	2	31,55 \pm 5,38	+	18	4 \pm 0,5	2	+	+
C-5	-	CB	Vert bleu	2	27,24 \pm 10,19	+	14	2,5 \pm 0,5	1	+	+
C-9	-	CB	-	3	14,97 \pm 1,08	+	22	0	2	+	-
C-10	-	Bacille	-	1	24,00 \pm 2,78	+	30	3,5 \pm 0,5	1	+	+
C-11	-	CB	Vert jaune	1	15,81 \pm 5,59	+	14	4	1	+	+
C-12	-	CB	Vert jaune	1	45,99 \pm 28,08	+	18	3	1	+	+
C-15	+	CB	-	1	28,47 \pm 27,49	+	14	0	1	+	-

C : Casuarina ; **O :** Olivier de Bohême ;

CB : Cocobacille ; (-) : Absence ; (+) : Présence ;

1 : Faible production ; **2 :** Production moyenne ; **3 :** Forte production ; **4 :** Production très forte.

Conclusion et perspectives

Dans le cadre des études menées sur les plantes actinorhiziennes, les biologistes se sont intéressés et s'intéressent toujours aux interactions symbiotiques qui surviennent au sein de leurs rhizosphères, en s'associant avec la bactérie diazotrophe *Frankia*. Pour notre part, nous avons porté notre attention sur les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), un autre type de bactéries phytobénéfiques, qui utilisent les exsudats racinaires comme substrats nutritifs pour agir soit directement ou indirectement sur le développement de la plante.

A travers ce présent travail et les expériences réalisées, nous avons affirmé la présence, dans la rhizosphère des deux plantes actinorhiziennes : *Casuarina equisetifolia* et d'*Elaeagnus angustifolia*, de certaines rhizobactéries PGP solubilisant le phosphate, fixant l'azote, produisant l'auxine (AIA), l'ammoniac (NH₃), et le cyanure d'hydrogène (HCN). Ainsi la première partie de nos expérimentations, concernait l'identification phénotypique des isolats bactériens qui a permis de démontrer qu'il existait une similarité entre les bactéries présentes au sein des deux rhizosphères étudiées, et qui représentent des communautés bactériennes assez semblables. Malgré la similarité existante entre ces espèces bactériennes, il subsiste une différence entre ces dernières, ce qui confirme l'existence d'une diversité au sein de ces population bactériennes mais leur analogie taxonomique est à souligner.

Nos isolats bactériens comprennent, en grandes partie, des souches appartenant aux espèces *Pseudomonas* spp. fluorescents, bactéries ubiquitaires à Gram négatif, mobiles, aérobies stricts, oxydase et catalase positive. Dans un environnement limité en fer, elles produisent de la « pyoverdine », pigment siderophore fluorescent, et engendrent d'autres métabolites au bénéfice des organismes végétaux proches ou leurs servant d'hôtes.

La seconde partie de notre travail expérimental qui s'est orientée vers la mise en évidence des mécanismes d'actions des PGPR a en effet révélé que les bactéries en notre possession étaient toutes PGPR pour au moins l'un des caractères testés, mais seulement 31% ont été sélectionnées pour leur efficacité pour la plus part des tests. Dans cette estimation, les bactéries présumées *Pseudomonas* spp. facilement identifiables, apportent la plus grande contribution. Les caractérisations phénotypiques utilisées n'ont pas permis de réaliser une identification taxonomique complète et précise.

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherches, il serait intéressant d'approfondir les investigations sur les souches les plus performantes ce qui nécessite une identification précise par le séquençage de l'ARNr 16S, et une étude des rapports phylogénétiques pour la comparaison des diverses souches bactériennes (Cheikh Rouhou, 2006).

Malgré les résultats que nous avons obtenus sur les tests PGPR, l'efficacité de ces rhizobactéries nécessite l'application *in vitro*, via l'inoculation des graines de *C. equisetifolia*, d'*E. angustifolia*, ou d'autres plantes d'intérêt agronomique et/ou écologique, en exploitant l'avantage que la plupart d'entre elles présentent : la faible spécificité à l'hôte (Rubin *et al.*, 2017). Il devient clair que la compréhension de la croissance des plantes et de leur physiologie doit prendre en compte leur association avec leurs partenaires microbiens.

Le renforcement de la présence des plantes d'intérêt agro-écologique tel que les plantes actinorhizienne associées à des PGPR, est une piste prometteuse pour l'avenir. En plus de leur contribution à la fertilisation des sols, ces espèces végétales sont plantées en Algérie pour : lutter contre la désertification des sols dégradés, enrichir les sols, améliorer les rendements des cultures associées, prévenir les glissements de terrains, et sont utilisées comme brise-vent associés aux cultures maraîchères (Benabdoun, 2012).

A l'heure d'aujourd'hui, nous avons une mauvaise connaissance de l'étendue et de la spécificité des associations existantes entre différentes espèces de plantes et certaines familles de microorganismes. De meilleures connaissances des mécanismes d'interaction plantes-microorganismes permettent de favoriser des populations déjà présentes dans la rhizosphère et qui sont bénéfiques pour les plantes.

Cependant, il est important de réaliser que, malgré l'utilité des tests *in vitro* pour déterminer le potentiel inhibiteur d'une souche, cela ne reflète en rien la réalité de la rhizosphère. Par conséquent, l'étape suivante doit absolument passer par des tests *in planta* et des tests au champ dans le but de développer des bioengrais et d'agents de biocontrôle à partir de ces souches bactériennes (Allaire, 2005). Selon les données collectées pour la période 1983-1991, aussi bien pour la zone Nord que pour la zone Sud des hautes plaines Sétifiennes, les engrais les plus utilisés sont l'ammonitrate et l'engrais phosphaté TSP (Super46) (Abdelguerfi *et al.*, 2005). La variabilité des résultats obtenue par l'utilisation

d'organismes vivants est souvent supérieure à celle obtenue par l'application de produits de synthèse (Mezaache, 2012).

De nombreux travaux de recherche ont visé à la mise au point de nouvelles technologies, mais malheureusement très peu de ces technologies sont adoptées par les producteurs du fait du changement de comportement qu'impose leur utilisation. Il convient donc de chercher des technologies performantes nécessitant peu de changement de comportement des producteurs lors de leurs application, et favorable à l'équilibre nature-agriculture. Les PGPR sont considérées l'outil clé pour la résolution des contraintes à l'agriculture moderne la rendant écologiquement saine (Fok *et al.*, 2015).

Références bibliographiques

- Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R. & Miransari, M.** (2010). Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads. *Acta Physiologiae Plantarum* 32(2) : 281-288.
- Abdelguerfi, A., Zeghida, A., Sherwood, K., Poulisse, J., Van Den Berger, T. & Montagne, D.** (2005). Utilisation des engrais par culture en Algérie. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : Service de la gestion des terres et de la nutrition des plantes. 1 éd., FAO, Rome, 43p.
- Ahmad, F., Ahmad, I. & Khan, M.S.** (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res* 163: 173-181.
- Ahemad, M. & Khan, M.S.** (2011). Insecticide-tolerant and plant growth promoting *Bradyrhizobium sp.* (vigna) improves the growth and yield of greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils. *Symbiosis* 54(1): 17-27.
- Ahemad, M. & Khan, M.S.** (2011). Response of greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] grown in herbicide-amended soil to quizalafop-ethyl and clodinafop tolerant plant growth promoting *Bradyrhizobium sp.* (vigna) MRM6 *J. Agric. Sci. Technol* 13: 1209-1222.
- Ahemad, M. & Kibret, M.** (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26(01): 1-20.
- Alfrey, P.** (2014). Nitrogen Fixing Species for Agroforestry Systems. Serving the Kingdom Plantae <https://www.linkedin.com/pulse/20140702185059-117401720-nitrogen-fixing-species-for-agroforestry-systems>. [consulté le 01-05-2017].
- Allaire, M.** (2005). Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Maîtrise en microbiologie agricole, Université laval, 80p.
- Anonyme :** Apect du Goumi du Japon (2017). [En ligne]. <http://1000-arbres.com/liste-des-arbres/dossier/arbres/goumi-du-japon> [Consulté le: 17-05-2017].
- Anonyme a :** Nessler reagent Red (2016). [En ligne] <http://www.koifishponds.com/ammonia.htm> [consulté le 27-05-2017].
- Anonyme.** (2016). Rhizosphère, Ecologie Microbienne, Lyon. [En ligne]. <http://www.ecologiemicrobiennelyon.fr/spip.php?rubrique29> [Consulté le : 01-03-2017].
- Anonyme b:** Russian olive. (2016) [En ligne]. http://permakulturplanter.no/planter?Catalogue_selected=763904_71048 [Consulté le : 15-05-2017].
- Antoun, H. & Prévost, D.** (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), PGPR: biocontrol and biofertilization, Springer, *Dordrecht* 1-38.
- Ashwathi, P.** (2016). Rhizosphere: Origin and Effects. [En ligne]. <http://www.biologydiscussion.com/soil-microbiology/rhizosphere-origin-and-effects-microbiology/66666> [Consulté le : 01-03-2017].
- Atiqur, R., Irnayuli, R., Sui-Yan, T. & Yasuyuki, H.** (2010). Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria Isolated from Wild *Dipterocarp* Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil. *Biosci. Biotechnol* 74(11): 2202-2208.

- Babana, A.H.** (2003). Mise au point d'un inoculant biologique pour le blé irrigué du Mali. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, 111P.
- Baker, D.D. & Mullin, B.C.** (1992). Actinorhizal symbioses. In Biological nitrogen fixation. G Stacey (ed)., Chapman et Hall, New York, 7: 259-292.
- Baker, D.D. & Schwintzer, C.R.** (1990). Introduction. In: The biology of *Frankia* and Actinorhizal plants. Schwintzer C.R. et al. (ed) *Academic Press* 1: 1-13.
- Bakker, P.A.H.M., van Peer, R. & Schippers, B.** (1990). Specificity of siderophore receptors and biocontrol by *Pseudomonas spp.* In: Biological control of soil-borne plant pathogens. Hornby, D. (ed). *CAB International*, Wallingford, pp. 131-479.
- Balesdent, J., Dambrine, E. & Fardeau, J.C.** (2015). Les sols ont-ils de la mémoire? : 80 clés pour comprendre les sols. Editions Quae, 176p.
- Balzergue, C.** (2012). Régulation de la symbiose endomycorhizienne par le phosphate. Biologie végétale. Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2012. *Plant Signaling & Behavior* 6(6): 838p.
- Bargali, K.** (2011). Actinorhizal plants of Kumaun Himalaya and their ecological significance. Researchgate, *African Journal of Plant Science* 5(7): 402-405.
- Beauchamp, C.J.** (1993). Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent. *Phytoprotection* 74(1) : 19-27.
- Benabdoun, F.M.** (2012). Etude moléculaire des étapes précoces de la symbiose actinorhizienne *Casuarina-Frankia*, analyse fonctionnelle des gènes de la plante hôte contrôlant l'infection, Université Constantine 1/Montpellier 2. 166p.
- Beneduzi, A. Ambrosini, A. & Passaglia, Luciane M.P.** (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet Mol Biol*, 35(4 Suppl): 1044-1051.
- Benmati, M** (2014). PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques, UFM Constantine 1. 181p.
- Bendoukhane, H. & Djafer, K.** (2016). MALDI -TOF spectrométrie de masse : Un outil efficace pour l'identification rapide et fiable des souches bactériennes, Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes, UMF Constantine 1, 45p.
- Bensaïd, S.** (1995). Bilan critique du barrage vert en Algérie. *Sécheresse* 6(3): 247-255.
- Benson, D.R. & Silvester, W.B.** (1993). Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbial Rev* 5: 293-319.
- Benson, D.R., Vanden Heuvel, B. & Potter, D.** (2004) Actinorhizal symbioses: diversity and biogeography. *Plant Microbiology* (ed Gillings M, Holmes A), pp. 100-127.
- Berry, A.M.** (1994) Recent development in actinorhizal symbiosis. *Plant Soil* 161: 135-145.
- Bhattacharyya, P.N. & Jha, D.K.** (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture *World J. Microbiol. Biotechnol* 28(04) : 1327-1350.
- Blumer, C. & Haas, D.** (2000). Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch Microbiol* 173: 170-177.

- Bourass, M.** (2014). Isolement et identification des *Pseudomonas spp* fluorescents à partir de la rhizosphère des plantes actinorhiziennes. UFM Constantine 1. 66p.
- Bouizgarne, B.** (2013). Chapter 2 Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management. D.K. Maheshwari (ed.), Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management, DOI 10.1007/978-3-642-33639-3_2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.15-47.
- Bourbonnais, G.** (2010). La chimie de la vie, chapitre : la nutrition chez les végétaux, le cycle de l'azote. In Gégep de Ste-foy, 178p.
- Bresson, J.** (2013). Interaction plante-microorganismes : Implication de la rhizobactérie *Phyllobacterium brassicacearum* dans les réponses d'*Arabidopsis thaliana* au stress hydrique. Biologie végétale. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc. 220p.
- Bric, J. M., Bostock, R.M. & Silverstone, S.E.** (1991). Rapid In-Situ assay for indole-acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 535-538.
- Brosse, J.** (2000). Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed).Canada, 576p.
- Buteau, C.** (2009). La conduite de cime d'arbres en milieu urbain une expérimentation sur la cohabitation arbres avec le réseau électrique, Gestion de la végétation - Équipe planification Montréal, Laval-Mille-Iles, *Lanaudière*, pp. 44.
- Cameron, D.** (2017). *Elaeagnus umbellata* Thunb.. [En ligne] <https://gobotany.newenglandwild.org/species/elaegnus/umbellata/> [Consulté le : 17-07-2017].
- Cappuccino, J.C. & Sherman, N.** (1992). In: Microbiology: A Laboratory Manual, Benjamin-Cummings Publishing Company, New York, pp. 125-179.
- Cattelan, A.J., Hartel P.G., & Fuhrmann J.J.** (1999). Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J* 63(6): 1670-1680.
- Cheikh-Rouhou, M.** (2006). Evaluation des classifications phylogénétiques des *bacillaceae* basées sur les gènes de l'opéron RRN et de gènes de ménage, Mémoire de la maîtrise en biologie université du québec à montréal. 114p
- Cherif, H.** (2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus sp.* et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 134P.
- Chitraselvi P. E., Kalidass, S & Kant, R.** (2015). Efficiency of Rhizosphere Bacteria in Production of Indole Acetic Acid, Siderophore and Phosphate Solubilization. *International Journal of ChemTech Research.* 7(6): 2557- 2564.
- Chringel** (2011). Les milieux de culture BIO303, wordpress (Décembre, 2011), 1-12
- Cornelis, P. & Dingemans, J.** (2013). *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front. Cell. Infect. Microbiol* 14(3): 75p.
- Courcoux, G.** (2010). La Grande Muraille Verte : Comment stopper le désert ? Fiche n°353 - Juin 2010, IRD édition.
- Curtis, T.P., Sloan, W.T. & Scannell, J.W.** (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 6(99): 10494-10499.

- D'Antonio, C.M, Berlow, E.L. & Haubensak, K.L.** (2004). Invasive exotic plant species in Sierra Nevada ecosystems. In Proceedings of the Sierra Nevada Science Symposium. Albany, CA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station. PSW-GTR-193 : 175-184.
- Decoster, A.** (2008). Les *pseudomonas*, cours de bactériologie. [En ligne]. <http://anne.decoster.free.fr/bgn/pseudo.htm>. [Consulté le: 01-06-2017].
- Deepak, K.M. & Satyavir, S.S.** (2011). Production of indole acetic acid by *Pseudomonas sp.*: effect of coinoculation with *Mesorhizobium sp.* Cicer on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*). *Physiol Mol Biol Plants* 17(1): 25-32.
- Deiter, L.** (2000). *Elaeagnus angustifolia L.* In: Bossard, C.C., Randall, J.M. and M.C. Hoshovsky (eds.) Invasive Plants of California's Wildlands. University of California Press, Berkeley, pp. 175-178
- Dénes, B. & Csiszár, A.** (2008). The most important invasive plants in Hungary, Chapter: Russian olive (*Elaeagnus angustifolia L.*), Institute of Ecology and Botany, Hungarian Academy of Sciences, Zoltán Botta-Dukát and Lajos Balogh (ed), pp. 85-93.
- Denis, F., Poly, M.C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R.** (2007). Bactériologie médicale, technique usuelles, Elsevier Masson (ed). pp : 14-20.
- Dommergues, Y.R.** (1995). Nitrogen fixation by trees in relation to soil nitrogen economy. Nutrient Cycling in Agroecosystems, *Fertilizer Research* 42: 215-230.
- Dommergues, Y.R.** (1996). *Casuarina* and *Allocasuarina* species. Trees IV. Bajaj Y.P.S. (ed.). New York, Berlin : Springer-verlag, 4: 76-94.
- Dommergues, Y.R.** (1996). Contribution of actinorhizal plants to tropical soil productivity and rehabilitation. *Soil Biol. Biochem* 29(5/6), pp. 931-941.
- Duhoux, E., Diouf, D., Gherbi, H., Franche, C., Ahée, J & Bogusz. D.** (1996). Le nodule actinorhizien, *Acta Botanica Gallica : Bonay Letters* 143(7) : 593-608.
- Dumas, Z., Ross-Gillespie, A. & Kümmerli, R.** (2013). Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments. *Proc. R. Soc* 280(1764): 1-9.
- El-Fouly, M.Z., Sharaf, A.M., Shahin A.A.M., El-Bialy, H.A. & Omara, A.M.A.** (2014). Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 8(1): 36-48.
- Franche, C., Lindström, K., Elmerich, C.** (2009). Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil*, 321(1-2): 35-59.
- Gagnon, Y.** (2015). Le sol et les processus naturels de nutrition des plantes. Association Manger Santé Bio. [En ligne]. <http://www.mangersantebio.org/18623/le-sol-et-les-processus-naturels-de-nutrition-des-plantes> [consulte le 25-04-2017].
- García Lucas, J.A., Schloter, M., Durkaya, T., Hartmann, A. & Gutierrez-Maero, F.J.** (2003). Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. *Biol Fertil Soils* 37(6): 381-385.
- Gaur, A.C.** (1990). Phosphate Solubilizing Microorganisms as Biofertilizers. 1st Edn., Omega Scientific Publishers, New Delhi, India, 176p.

- Gerry Carr, B.** (2017). *Elaeagnus angustifolia L.*. University of Washington – WTU [En ligne] <https://gobotany.newenglandwild.org/species/elaegnus/angustifolia/> [Consulté le: 17-05-2017].
- Glickmann, E. & Dessaux, Y.** (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 61(2): 793-796.
- Glick, B.R.** (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications Hindawi Publishing Corporation, *Scientifica* vol 2012. Article ID963401, 15p.
- Gobat, J. M., Aragno, M. & Matthey, W.** (2010). Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols 3^{ème} édition, PPUR Presses polytechniques, 817 p.
- Gordon, S.A., Weber, R.P.** (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiol* 26(1): 192-195.
- Gravel, V., Antoun, H. & Tweddell, R.J.** (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole 3 acetic acid (IAA) *Soil Biol Biochem* 39(8): 1968-1977.
- Gray, E.J. & Smith, D.L.** (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem* 37(3): 395-412.
- Gupta S., Meena, M.K. & Datta, S.** (2014). Isolation, characterization of plant growth promoting bacteria from the plant *Chlorophytum borivilianum* and in-vitro screening for activity of nitrogen fixation, phosphate solubilization and IAA production. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(7): 1082-1090.
- Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Xiaolu, S., Yang, H. et al.** (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Syst Appl Microbiol* 28(1): 66-76.
- Hardman, C.J., Williams, S., Manco, B.N. & Hamilton, M.A.** (2012). Predicting the potential threat of *Casuarina equisetifolia* to three endemic plant species on the Turks and Caicos Islands. *Oryx* 46(2): 204-212.
- Hartono, H., Nurfitriani, Fais, A., Harniyati, C., Nur, I.H. & Muhammad, J.** (2016). Ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogen-fixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(19): 11735-11741.
- Heydari, S., Moghadam P.R. & Arab, S.M.** (2008). Hydrogen cyanide production ability by *Pseudomonas fluorescence* bacteria and their inhibition potential on weed. Proceedings of the Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development, pp. 7-9.
- Hinsinger, P.** (2010). Les racines au cœur du fonctionnement de la rhizosphère, Des connaissances pointues issues de la recherche aux applications possibles en AB (Montpellier SUPAGRO - CIRAD - INRA - IRD), *Alter Agri* 101: 8-20.
- Hoher, V., Auguy, F., Bogusz, D., Doumas, P., Franche, C., Gherbi, H., Laplaze, L., Obertello, M. & Svistoonoff, S.** (2009). Les symbioses actinorhiziennes fixatrices d'azote : un exemple d'adaptation aux contraintes abiotiques du sol. *Chagric* 18(6) : 498-505.

- Hocher, V., Gherbi, H., Svistoonoff, S., Diagne, N., Vayssaire, V., Auguy, F. et al.** (2010). Le projet majeur africain de la grande muraille verte, chapitre : Les arbres actinorhiziens de la famille des *Casuarinaceae* : utilisations et étude de la plasticité racinaire face aux contraintes abiotiques IRD Éditions, pp. 73-78.
- Horner-Devine, M.C., Leibold, M.A., Smith, V.H. & Bohannon, B.J.M.** (2003). Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters* 6(7): 613-622.
- Joffin J. N & Leyral G.** (1998). Microbiologie technique, 2^{ème} Ed, Collection Biologie Technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 304p.
- Joffin J. N & Leyral G.** (2006). Microbiologie technique - Tome 1, Dictionnaire des techniques, 4^{ème} Ed., Collection Biologie Technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 368 p.
- Jourdan, E., Ongena, M. & Thonart, P.** (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *BASE* 12(4) : 437-449.
- Kaioua, A. & Grairi, I.** (2015). Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre *Pseudomonas* isolées des sols rhizosphériques. Identification de souches représentatives. Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes, UFM Constantine I. 52p.
- Kim J. & Rees D.C.** (1994). Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry* 33(2): 389-97.
- Kloepper, J.W. & Beauchamp, C.J.** (1992). A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol* 38(12):1219-1232.
- Kloepper, J.W. & Schroth, M.N.** (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. Dans Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Vol. 2. Institut national de la recherche agronomique (INRA), Angers, France. pp. 879-882.
- Kloepper, J.W. & Schroth, M.N.** (1981). Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology* 71(10): 1020-1024.
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M. & Zhang, S.A.** (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp.* *Phytopathology* 94(11):1259-1266.
- Kloepper, JW, Gutierrez-Estrada, A. & McInroy, A.** (2007). Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol* 53(2):159-167.
- Kowalchuk, G.A. & Stephen, J.R.** (2001). Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Ann. Rev. Microbiol* 55(1): 485-529.
- Labidi, A.** (2016). Les auxines et leurs effets sur les végétaux. Agrimaroc. [En ligne]. <http://www.agrimaroc.ma/les-auxines-et-leurs-effets-sur-les-vegetaux/> [Consulté le : 07-06-2017]
- Lemanceau, P.** (1992). Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp* fluorescents. Agronomie, *EDP Sciences* 12(6): 413-437.
- Lévy, E., Eyal, Z., Chet, I. & Hochman, A.** (1992). Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 40(3):163-71.

- Lisan, B.** (2012). Projets reforestation, chapitre : Fiche présentation arbre : *Casuarina equisetifolia*. <http://benjamin.lisan.free.fr/projetsreforestation/Fiche-presentation-filao.pdf>
- Loper, J.E, Schroth, M.N.** (1986). Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Plant Pathol* 76: 386-389.
- Lorck, H.** (1948). Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol. Plant* Vol 1: pp.142-146.
- Marchall, N., Bourdon, J.L. & Richard, C.** (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris.
- Mezaacha, S.** (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolée de la rhizosphère de la pomme de terre. Université Ferhat Abbas Sétif. 141P.
- Mézaache, S.A., Haichour, N., Guechi, A. & Zerroug, M.** (2016). Bacteriocins Contributing in Rhizospheric Competition among Fluorescent *Pseudomonas*. *Annual Research & Review in Biology* 11(4): 1-9.
- Michel,F., Ousmane, N. & Siaka, K.** (2013). AGRAR, 1st conference of African research on agriculture, food, and nutrition. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, Agriculture and the challenges of food and nutrition in Africa: the contributions of research in the cotton zone . 689p.
- Moiroud, A.** (1996). Diversité et écologie des plantes actinorhiziennes. *Acta Botanica Gallica*, 143(7): 651-661.
- Naik, R.P., Sakthivel, N.** (2006). Functional characterization of a novel hydrocarbonoclastic *Pseudomonas sp.* strain PUP6 with plant-growth-promoting traits and antifungal potential. *Res Microbiol* 157(6): 538-546.
- National Research Council (U.S.).** (1984). Advisory Committee on Technology Innovation, Casuarinas, Nitrogen-fixing Trees for Adverse Sites: Report of an Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovation, Board on Science and Technology for International Development, Office of International Affairs, National Research Council, National academy, 118p.
- Neumann, G., & Martinoia, E.** (2002). Cluster roots – an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends Plant Sci* 7(4): 162-167.
- Ngom, M., Oshone, R., Diagne, N., Cissoko, M., Svistoonoff, S., Tisa, L.S. et al.** (2016). Tolerance to environmental stress by the nitrogen-fixing actinobacterium *Frankia* and its role in actinorhizal plants adaptation. *Symbiosis* 70(1): 17-29.
- Ngumbi, E., Kloepper, J.** (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology* 105(2016): 109-125.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. & Anthony, S.** (2009). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 World Agroforestry Centre, Kenya, pp. 1-7.
- Park, M., Kim, C., Yang J., Lee, H., Shin, W., Kim, S., et al.** (2005). Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol. Res* 160(2) : 127-133.
- Parray J., A., Jan S., Kamili A.,N., Qadri R., A., et al.** (2015). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul* 121 : 325-334.

- Penrose, D.M. & Glick, B.R.** (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol Plant* 118(1): 10-15
- Pivato, B., Offre P., Marchelli, S. Barbonaglia, B., Mougel C., Lemanceau, P., et al.** (2009). Bacterial effects on arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhiza development as influenced by the bacteria, fungi, and host plant. *Mycorrhiza* 19(2): 81-90.
- Podile, A.R., Kishore, G.K.** (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria, Gnanamanickam SS, editor.chapter: Plant-Associated Bacteria. Springer; Netherlands, pp. 195-230.
- Prin, Y. & Duhoux, E.** (1996). Les plantes actinorhiziennes. Une journée d'étude organisée par le laboratoire commun CIRAD-Forêt/ORSTOM. Bois et Forêts des Tropiques, 249: 72-73.
- Prinsley, R., & Swift, M.J.** (1986). Amelioration of soil by trees: A review of current concepts and practices. Commonwealth science council (ed), London UK, 188p.
- Rathaur, P., Raja, W., Ramteke, P.W. & John, S.A.** (2012). Effect of UV-B tolerant plant growth promoting rhizobacteria PGPR on seed germination and growth of *Withania somnifera*. *Adv. Appl. Sci. Res.* 3(3): 1399-1404.
- Reddy, M.S., Ila, R.I. & Faylon, P.S.** (2014). Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) for Sustainable Agriculture , Cambridge Scholars Publishing. 540p.
- Richardson, A.E., Baréa, J. M., McNeill, A.M. & Prigent-Combaret, C.** (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321(1): 305-339.
- Rillig, M.C. & Mummey, D.L.** (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol* 171(1): 41-53.
- Ritter, M., Mark, W., and Reimer, J.** (2017). *Alnus cordata* - tree - UFEI, Urban Forest Ecosystem Institute, College of Agriculture at California Polytechnic State University, USA [En ligne] <http://selectree.calpoly.edu/> [Consulté le : 15-05-2017].
- Roskopf, E.N., Chellemi, D.O., Kokalis-Burelle, N. and Church, G.T.** (2005). Alternatives to Methyl Bromide: A Florida Perspective. APSnet Features. doi: 10.10 94 /AP SnetFeature/2005-0605.
- Rubin, R.L., Groenigen, K.J.V. & Hungate, B.H.** (2017). Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ 86011, USA, pp. 15.
- Seshadri,B., Bolan, N.S. & Naidu, R.** (2015). Rhizosphere-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation, Centre for Environmental Risk Assessment and Remediation, University of South Australia, *M Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15(2): 524-548.
- Siddiqui, Z.** (2006). PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR: Biocontrol and Biofertilization, Siddiqui, Zaki Anwar (Ed.) pp. 111-142.
- Standards unit.** (2015). Identification of *Pseudomonas* species and other NonGlucose Fermenters, *Bacteriology – Identification*, ID 17 (03): 2-41.

- Tarnawski, S., Hamelin, J., Jossi, M., Aragno, M. & Fromin N.** (2006). Phenotypic structure of *Pseudomonas* populations is altered under elevated p CO₂ in the rhizosphere of perennial grasses. *Soil Biol Biochem* 38(2006): 1193-1201.
- Tourkya, B., Boubellouta, T., Dufour, E. & Leriche, F.** (2009). Fluorescence Spectroscopy as a promising tool for a polyphasic approach to *Pseudomonad* Taxonomy. *Curr.Microbiol.* 58(8): 39-46.
- Trivedi, P., Pandey, A. & Palni, L.M.S.** (2008). In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugata*. *Microbiol. Res.* 163(3):329-336.
- Vacheron, J., Desbrosses, G & Bouffaud, M.L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D. et al.** (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci.* 4(356): 1-19.
- Villarreal, M.R.** (2006, 28 avril). Bacterial morphology diagram. [En ligne]. https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Bacterial_morphology_diagram_fr.svg [consulté le 13-04-2017].
- Vessey, J. K.** (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255 (2): 571-586.
- Wall, L.** (2000). The actinorhizal symbiosis. *J. Plant Growth Regul., Journal of Plant Growth Regulation* 19(2):167-182.
- Wheeler, C.T. & Miller, I.M.** (1990). Current and potential uses of actinorhizal plants in Europe. . In: Schwintzer C R, Tjepkema J D, editors. The biology of *Frankia* and actinorhizal plants. New York, N.Y: Academic Press, Inc. pp. 365-389
- Wilson, P.W. & Knight, S.C.** (1952). Experiments in bacterial physiology Minneapolis, Minn: Burgess Publishing Co, USA, pp. 49.
- Yang, C.H. & Crowley, D.E.** (2000). Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status. *Appl Environ Microbiol* 66(1): 345-351.
- Young I. M. & Crawford, J. W.** (2004). Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science* 304(5677): 1634-1637
- Zaidi, A., Khan, MS., Ahemad, M., Oves, M., Wani, PA. et al.** (2009). Recent Advances in Plant Growth Promotion by Phosphate-Solubilizing Microbes. In: Khan MS, et al. editors. Microbial Strategies for Crop Improvement. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 23-50.
- Zoltán, B.D. & Lajos, B.** (2008). The most important invasive plants in Hungary, Chapter: Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.), publisher Institute of Ecology and Botany, Hungarian Academy of Sciences, pp. 85-93.

Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture.

Milieu « King B » (King et al., 1954)	
Peptone bactériologique	20 g/L
Glycérol	10 ml/L
Phosphate dipotassique anhydre	1,5 g/L
Sulfate de magnésium (7H ₂ O)	1,5 g/L
Agar	12 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,2 ± 0,2

Milieu « King A » (King et al., 1954)	
Peptone bactériologique	20 g/L
Glycérol	10 ml/L
Sulfate de potassique anhydre	10 g/L
Chlorure de magnésium	1,5 g/L
Agar	12 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,2 ± 0,2

Milieu « LB » (Bertani, 1951)	
Tryptone	10 g/L
Extrait de levure	5 g/L
Chlorure de sodium	5 g/L
Agar bactériologique	15 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,0 ± 0,2

Annexe 01 (suite)

Milieu « Burk's N-free » (Wilson et Knight, 1952)	
Phosphate de potassium monobasique	0,4 g/L
Phosphate dipotassique	0,5 g/L
Sulfate de sodium	0,05 g/L
Chlorure de calcium	0,2 g/L
Sulfate de magnésium (7H ₂ O)	0,1 g/L
Sulfate de fer (7H ₂ O)	0,005 g/L
MolybD, Ate de sodium	0,003 g/L
Agar bactériologique	15 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,0 ± 0,1

Milieu « PVK » (Pikovskaya, 1948)	
Glucose	10 g/L
Extrait de levure	0,5 g/L
Phosphate tricalcique	5 g/L
Sulfate d'ammonium	0,5 g/L
Sulfate de magnésium	0,1 g/L
Chlorure de potassium	0,2 g/L
Agar bactériologique	15 g/L
Eau distillée (qsp)	1000 ml
pH du milieu	7,0 ± 0,2

Annexe 02 : Résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique des bactéries rhizosphériques d' *Elaeagnus angustifolia* et de *Casuarina equisetifolia*.

Tableau 01 : Etude macroscopique et biochimique des rhizobactéries d' *E. angustifolia*.

Isolat	Diamètre de la colonie (mm)	Couleur de la colonie	Surface	Relief	Opacité	Consistance	Fluorescence sur « King B » (sous UV)	Pigment diffusible « King B »	Pigment diffusible « King A »	Oxydase	Catalase
O-1	3	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	3	0	+	+
O-2	3	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Opaque	Crémeuse	Vert clair	3	0	+	+
O-3	3	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Opaque	grasse	Bleu	3	0	+	+
O-4	3	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Grasse	Vert bleu	3	0	+	+
O-5	5	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Muqueuse	Vert-jaune	3	0	+	+
O-6	5	jaune	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Grasse	Vert bleu	2	0	+	+
O-7	2	Crème	Lisse b	Bombée bossue	Opaque	Grasse	Vert bleu	2	0	+	+
O-8	1	Jaune	Lisse b	Plate	Transparente	Crémeuse	Vert clair	2	0	+	+
O-9	3	Jaune	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Vert clair	2	0	+	+
O-10	2	Jaune canari	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
O-11	2	Orange	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Grasse	-	0	0	-	+
O-12	1	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Transparente	Crémeuse	Vert-jaune	3	1	+	+
O-13	3	Orange	Lisse b	Convexe	Transparente	Muqueuse	-	0	0	+	+
O-14	3	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Muqueuse	-	0	0	+	+
O-15	1	Crème	Lisse b	Bombée	Opaque	Grasse	-	0	0	+	+
O-16	2	Blanche	Lisse b	Bombée	Opaque	Crémeuse	-	0	0	+	+
O-17	2	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Grasse	Bleu	1	0	+	+
O-18	<1	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Bleu clair	2	0	+	+
O-19	<1	Orange crème	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Crémeuse	-	0	0	-	+
O-20	1	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	3	1	+	+
O-21	<1	Orange crème	Lisse b	Légèrement élevée	Transparente	Grasse	Vert-jaune	3	0	+	+
O-22	3	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Transparente	Crémeuse	Vert clair	2	1	+	+
O-23	1	Jaune	Lisse b	Plate	Transparente	Grasse	Vert-jaune	2	1	+	+

O-24	<1	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	3	1	+	+
O-25	1	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	-	+
O-26	<1	Jaune	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Grasse	Vert clair	2	1	+	+
O-27	<1	Jaune	Lisse b	Plate	Translucide	Grasse	Vert-jaune	3	1	-	+
O-28	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
O-29	2	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Vert clair	3	0	+	+
O-30	5	Jaune	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Grasse	Vert-jaune	2	0	+	+
O-31	5	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Grasse	Vert-jaune	2	0	+	+
O-32	5	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
O-33	5	Jaune Verte	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
O-34	<1	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
O-35	<1	Jaune-vert	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	3	0	+	+
O-36	<1	Crème	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
O-37	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
O-38	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
O-39	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
O-40	3	Jaune-vert	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Muqueuse	Vert clair	3	0	+	+
O-41	3	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Vert bleu	1	0	+	+
O-42	3	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Bleu	1	0	+	+
O-43	2	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Crémeuse	Bleu	1	0	+	+
O-44	2	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Crémeuse	Bleu clair	1	0	+	+
O-45	1	Crème	Lisse b	Plate	Translucide	Crémeuse	Bleu	1	0	+	+
O-46	3	Orange	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	-	0	0	+	+
O-47	3	Crème	Lisse b	Plate	Opaque	Sèche	Vert-jaune	2	0	+	+
O-48	5	Crème	Lisse b	Plate	Opaque	Crémeuse	-	0	0	+	+
O-49	3	Crème	Lisse b	Bombée	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
O-50	2	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Sèche	-	0	0	+	+
O-51	1	Crème	Lisse b	Concentrique	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
O-52	1	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Grasse	-	0	0	-	+

O : Olivier de Bohème ; **b** : Brillante ; **0** : Non diffusible ;

1 : Faiblement diffusible ; **2** : Moyennement diffusible ; **3** : Fortement diffusible ;

(+) : Présence ; (-) : Absence.

Annexe 02 (suite)

Tableau 02 : Etude macroscopique et biochimique des rhizobactéries
de *C. equisetifolia*.

Isolat	Diamètre de la colonie (mm)	Couleur de la colonie	Surface	Relief	Opacité	Consistance	Fluorescence sur « King B » (sous UV)	Pigment diffusible « King B »	Pigment diffusible « King A »	Oxydase	Catalase
C-1	1	Crème	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	1	1	+	+
C-2	1	Jaune	Lisse b	Légèrement élevée	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
C-3	1	Orange crème	Lisse b	Convexe	Translucide	Grasse	Vert-jaune	2	1	+	+
C-4	1	Jaune	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	1	+	+
C-5	1	Jaune	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	Vert bleu	1	1	+	+
C-6	3	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Grasse	-	0	0	-	+
C-7	3	Blanche	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	-	0	0	+	+
C-8	2	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Translucide	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
C-9	5	Orange	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
C-10	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Grasse	-	0	0	+	+
C-11	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	Vert-jaune	2	0	+	+
C-12	5	Jaune-vert	Lisse b	Convexe	Opaque	Grasse	Vert-jaune	2	0	+	+
C-13	1	Orange	Lisse b	Convexe	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
C-14	5	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Grasse	-	0	0	-	+
C-15	5	Crème	Lisse b	Convexe	Opaque	Grasse	-	0	0	-	+
C-16	1	Blanche	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	-	0	0	+	+
C-17	1	Blanche	Lisse b	Plate	Opaque	Sèche	-	0	0	-	+
C-18	2	Blanche	Lisse b	Plate	Opaque	Sèche	-	0	0	-	+
C-19	2	Crème	Lisse b	Concentrique	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+
C-20	1	Orange vif	Lisse b	Légèrement élevée	Opaque	Crémeuse	-	0	0	-	+

C : Casuarina ; **b** : Brillante ;

0 : Non diffusible ; **1** : Faiblement diffusible ; **2** : Moyennement diffusible ;

(+) : Présence ; (-) : Absence.

Annexe 02 (suite)

Tableau 03 : Observation microscopique des rhizobactéries
d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

Isolat	Forme	Arrangement	Mobilité	Gram	Isolat	Forme	Arrangement	Mobilité	Gram
O-1	B	1	-	-	O-37	B	1, A	-	-
O-2	B	1	-	-	O-38	B	1	-	-
O-3	B	1, A	+	-	O-39	B	1, D, A	-	-
O-4	B	1, A	+	-	O-40	B	1, D	-	-
O-5	B	1, A	-	-	O-41	B	1	+	-
O-6	CB	1, D	+	-	O-42	B	1, A	-	-
O-7	B	1, D	-	-	O-43	CB	1, A	+	-
O-8	B	A, S	+	-	O-44	B	A	-	-
O-9	CB	1, A	-	-	O-45	CO	1, D	-	-
O-10	CO	1, D	+	+	O-46	CB	1, D	-	-
O-11	CO	1, A	-	-	O-47	B	1, D, S	+	-
O-12	CB	A	+	-	O-48	B	D, S	-	-
O-13	B	A	+	-	O-49	B	S	+	-
O-14	B	1, S	-	+	O-50	B	S	-	-
O-15	CB	1, S	-	-	O-51	CO	A	-	+
O-16	B	1, S	-	-	O-52	CO	D, A	-	+
O-17	CB	1	+	-	C-1	CB	1	+	-
O-18	B	1, D, A	-	-	C-2	B	1, A	-	-
O-19	CO	1, D	-	+	C-3	B	1, D	+	-
O-20	CB	1	+	-	C-4	B	1, D	+	-
O-21	B	1, D	-	-	C-5	CB	1, D	+	-
O-22	CB	1, D	-	-	C-6	B	1, D	-	+
O-23	CB	1	+	-	C-7	B	S	-	+
O-24	CB	1, D, S	+	-	C-8	CB	1, D	+	+
O-25	B	1, A	-	-	C-9	CB	1, D	-	-
O-26	CB	1, D, A	-	-	C-10	B	1, A	-	-
O-27	CB	1, A	-	-	C-11	CB	A, S	+	-
O-28	B	1, A	-	-	C-12	CB	1, D	-	-
O-29	CB	1, D	+	-	C-13	B	1, D	+	+
O-30	CB	S	+	-	C-14	B	D, S	+	-
O-31	B	1, A	-	-	C-15	CB	1, D	+	+
O-32	B	1, A	-	-	C-16	CO	1, D, A	-	-
O-33	B	1, A	-	-	C-17	CO	A	-	-
O-34	B	1, A	-	-	C-18	CO	1, A	-	+
O-35	B	1, AD	-	-	C-19	B	S	-	+
O-36	B	1, A	+	-	C-20	CO	D, A	+	+

C : Casuarina ; **O** : Olivier de Bohême ; **B** : Bacille ; **CB** : Coccobacille ; **CO** : Coque ;

1 : Bactérie seule ; **D** : Diplocoque ou diplobacille ;

S : Streptocoque ou streptobacille (en chaînette) ; **A** : Staphylocoque ou bacille en amas.

Annexe 03 : Caractères différentiels des Bacilles à Gram négatif, peu exigeants et aérobies stricts (Leyral et Joffin, 1998).

Caractères Bactéries	Exigent	Forme	Pigment jaune	Pyocyanine	Pyoverdine	CAT	OX	MOB	Culture à 41 °C
<i>Chryseomonas</i>	1	B	10	0	0	99	0	99	90
<i>Flavimonas</i>	1	B	10	0	0	99	0	50	90
<i>Legionella</i>	100	B	1	0	0	99	?	?	?
<i>Francisella</i>	100	B	0	0	0	99	0	0	?
<i>Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia</i>	1	B	0	0	0	90	1	1	50
<i>Achromobacter</i>	1	B	0	0	0	99	99	?	1
<i>Agrobacterium</i>	1	B	0	0	0	99	50	99	1
<i>Alcaligenes</i>	1	B	50	0	0	99	99	99	50
<i>Bordetella</i>	90	B	0	0	0	99	50	50	?
<i>Brucella</i>	95	B	0	0	0	99	50	0	?
<i>Burkholderia (P.) cepacia</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	50
<i>Burkholderia (P.) mallei</i>	1	B	0	0	0	99	99	0	50
<i>Burkholderia (P.) pickettii</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	90
<i>B. (P.) pseudomallei</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	90
<i>Delftia (Comamonas) acidovorans</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	50
<i>Delftia (Comamonas) testosteroni</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	50
<i>Flavobacterium</i>	1	B	50	0	0	99	99	0	40
<i>Morococcus</i>	1	B	0	0	0	99	99	0	90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	B	0	90	90	99	99	90	90
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	90
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	50
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	B	0	0	90	99	99	90	1
<i>Pseudomonas mendocina</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	90
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	90
<i>Pseudomonas putida</i>	1	B	0	0	90	99	99	90	1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	50
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	1
<i>Sphingobacterium</i>	1	B	0	0	0	99	99	1	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	B	0	0	0	99	99	90	1
<i>Weeksella</i>	1	B	50	0	0	99	99	0	99
<i>Acinetobacter</i>	1	C	0	0	0	99	0	0	10
<i>Kingella</i>	90	C	0	0	0	99	99	0	?
<i>Sutonella</i>	90	C	0	0	0	99	99	0	?
<i>Moraxella subs Branhamella</i>	50	C	0	0	0	99	99	0	?
<i>Moraxella subs Moraxella</i>	50	C	0	0	0	99	99	0	5
<i>Neisseria</i>	40	C	5	0	0	95	99	0	?
<i>Oligella</i>	10	C	0	0	0	90	99	10	30

Les données sont mentionnées en valeurs numériques (% de positivité) : entre 0 et 20 % souches négatives ;
entre 20 et 100% souches positives.

B : Forme bacillaire ; **C :** Forme coccoïde ; **(?) :** Pas d'information.

Annexe 04 : Résultats de l'analyse des caractères PGP des bactéries rhizosphériques d'*Elaeagnus angustifolia* et de *Casuarina equisetifolia*.

Tableau 01 : Quantification, par dosage colorimétrique, d'AIA produite par les rhizobactéries d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

Isolat	[AIA] (M±E)	Isolat	[AIA] (M±E)
O-1	30,2±3,29	O-37	12,96±2,79
O-2	17,88±0,44	O-38	14,97±2,75
O-3	27,535±8,80	O-39	32,27±15,48
O-4	13,46±0,85	O-40	31,96±15,30
O-5	31,79±8,03	O-41	19,09±1,88
O-6	38,18±14,58	O-42	38,01±38,83
O-7	14,586±2,65	O-43	23,60±8,14
O-8	31,45±23,71	O-44	18,37±1,90
O-9	28,83±2,70	O-45	23,68±7,87
O-10	46,81±35,51	O-46	40,16±25,27
O-11	29,83±7,431	O-47	22,61±1,59
O-12	51,076±70,26	O-48	15,52±0,70
O-13	13,763±4,45	O-49	12,224±2,05
O-14	23,61±1,70	O-50	14,12±3,88
O-15	5,4355±0,92	O-51	13,09±7,81
O-16	18,11±5,48	O-52	17,71±1,77
O-17	9,3235±2,54	C-1	26,63±2,80
O-18	32,64±2,46	C-2	23,73±18,37
O-19	23,22±10,79	C-3	31,55±5,38
O-20	30,486±11,69	C-4	18,38±9,17
O-21	36,17±9,16	C-5	27,24±10,19
O-22	31,05±3,74	C-6	18,70±2,93
O-23	20,04±4,90	C-7	19,51±4,57
O-24	33,79±0,67	C-8	16,19±0,04
O-25	17,20±4,93	C-9	14,97±1,08
O-26	27,93±6,68	C-10	24,00±2,78
O-27	15,30±0,48	C-11	15,81±5,59
O-28	40,21±9,11	C-12	45,99±58,08
O-29	33,07±6,79	C-13	12,51±0,13
O-30	62,77±32,96	C-14	17,40±0,63
O-31	39,98±23,75	C-15	28,47±27,49
O-32	43,44±32,57	C-16	29,57±39,62
O-33	36,34±27,61	C-17	19,39±7,014
O-34	68,48±60,44	C-18	17,53±6,97
O-35	28,42±15,76	C-19	6,73±1,31
O-36	28,7±10,05	C-20	10,67±0,46

C : *Casuarina* ; **O :** Olivier de Bohème ; **[AIA] :** Concentration d'AIA (µg/ml) ;

M : Moyenne ; **E :** Ecart type.

Annexe 04 (suite)

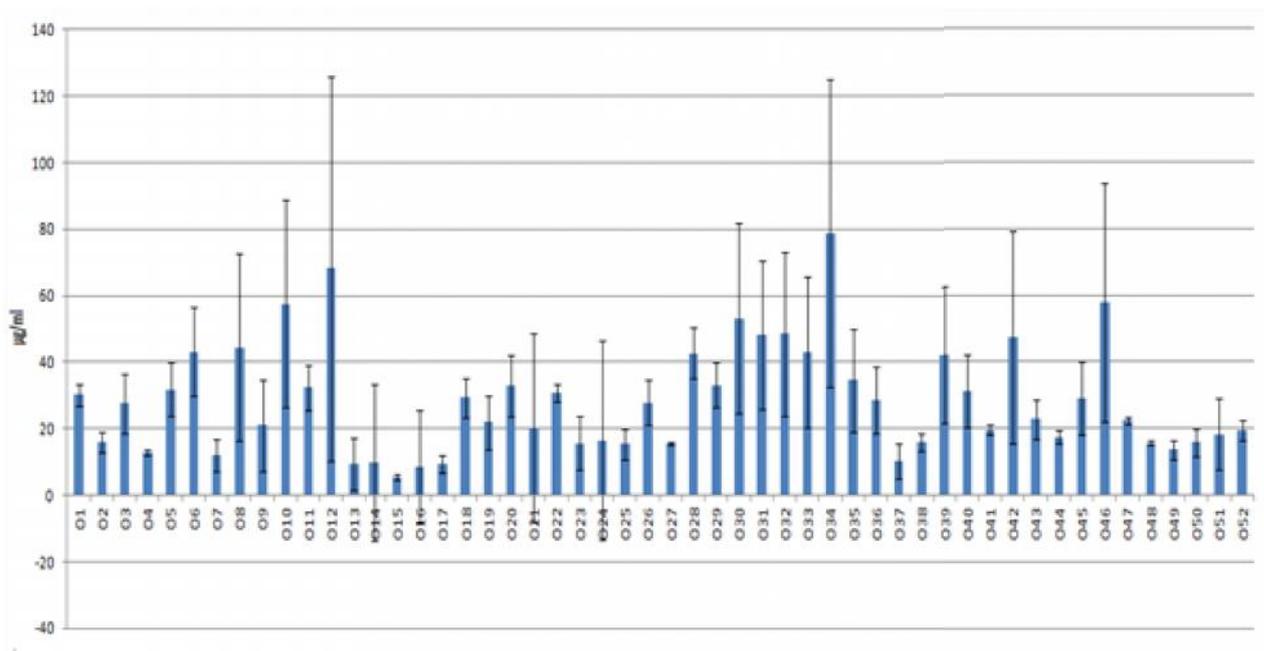


Figure 01 : Quantification de la production d'AIA (µg/ml) par les rhizobactéries d'*E. angustifolia* par dosage colorimétrique.

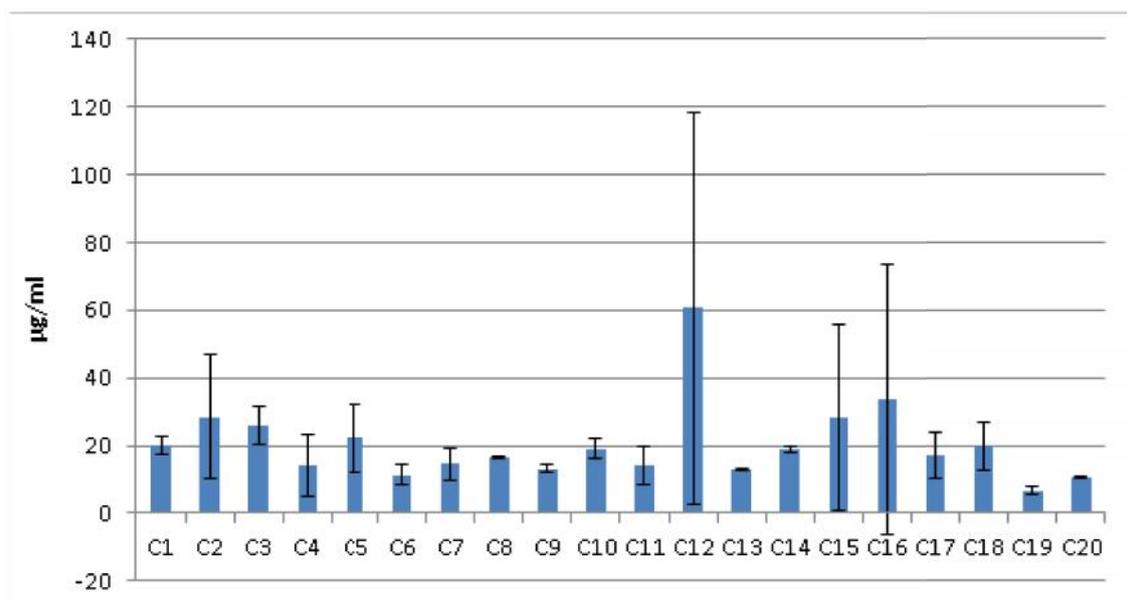


Figure 02 : Quantification de la production d'AIA (µg/ml) par les rhizobactéries de *C. equisetifolia* par dosage colorimétrique.

Annexe 04 (suite)

Tableau 02 : Solubilisation du phosphate inorganique par les rhizobactéries d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

Diamètre du halo de solubilisation du phosphate (mm) (M±E)											
Isolat	J1	J2	J3	J4	J5	Isolat	J1	J2	J3	J4	J5
O-1	11±1	11±1	12	13±1	14±1	O-37	9±1	11±1	13±1	13±1	14
O-2	13±1	13±1	14	14	14	O-38	8	11±1	13±1	14	14
O-3	10±2	12±2	13±1	13	14	O-39	9±1	11±1	12	12	12
O-4	13±1	13±1	14	14	14	O-40	16±2	16±2	17±1	20	20
O-5	14	14	16	16	16	O-41	13±1	16	17±1	19±1	20
O-6	2	2	2	2	2	O-42	10	11±1	12	13±1	14
O-7	4	4	4	4	4	O-43	7±1	11±1	12	13±1	13±1
O-8	3±1	3±1	3±1	3	3±1	O-44	8	11±1	12	12	12
O-9	2	2	2	2	2	O-45	9±1	11±1	11±1	11±1	12
O-10	2	2	2	2	2	O-46	19±1	20	21,5±1	23±1	24
O-11	2	2	2	2	2	O-47	9±1	12	12	12	12
O-12	6	8±1	9	10	10	O-48	9±1	13±1	13±1	13±1	13±1
O-13	21±1	23±1	25±1	26	27±1	O-49	0	0	0	0	0
O-14	20	22	24	25±1	26	O-50	0	0	0	0	0
O-15	0	0	0	0	0	O-51	3±1	5±1	5±1	6±2	7±1
O-16	0	0	0	0	0	O-52	6	8	9±1	9±1	10±2
O-17	7±1	10	10	10	10	C-1	11±1	13±1	14	14	14
O-18	8	10	10	12	12	C-2	8	11±1	12	12	13±1
O-19	2	2	2	2	2	C-3	15±1	16±2	18	19±1	19±1
O-20	4	5±1	8	8	8	C-4	14	17±1	17±1	18	18
O-21	7±1	11±1	12	13±1	14±2	C-5	8	10	11±1	14	14
O-22	12±2	13±1	14	16±2	16	C-6	0	0	0	0	0
O-23	13±1	14	16	21±1	21	C-7	0	0	0	0	0
O-24	17±1	19±1	22	20±4	24	C-8	9±1	12	14	14	14
O-25	11±1	11±1	13±1	14	15±1	C-9	13±1	16	18±2	20	22
O-26	10	13±1	14	14	14	C-10	26±2	27±4	27±4	27±4	27±4
O-27	11±1	12	12	12	12	C-11	11±4	12	13±1	13±1	13±1
O-28	11±1	12	13±1	14	14	C-12	12	13±1	16±2	16±2	16±2
O-29	13±1	13±1	14	14	14	C-13	19±1	23±1	23±1	25±1	25±1
O-30	0	0	0	0	0	C-14	0	0	0	0	0
O-31	11±1	11±1	12	13±1	14	C-15	1±2	11±1	11±1	12±2	13±1
O-32	8	11±1	12	14	14	C-16	5±1	7±1	7±1	7±1	7±1
O-33	11±1	13±1	14	15±1	15±1	C-17	3±1	5±1	6	7±1	7±1
O-34	8	11±1	12	13±1	13±1	C-18	4	6	6	7±1	7±1
O-35	12	13±1	13±1	13±1	13±1	C-19	0	0	0	0	0
O-36	9±1	11±1	12	12	12	C-20	6	8	8	9±1	9±1

C : *Casuarina* ; O : Olivier de Bohème ; M : Moyenne ; E : Ecart type.

Annexe 04 (suite)

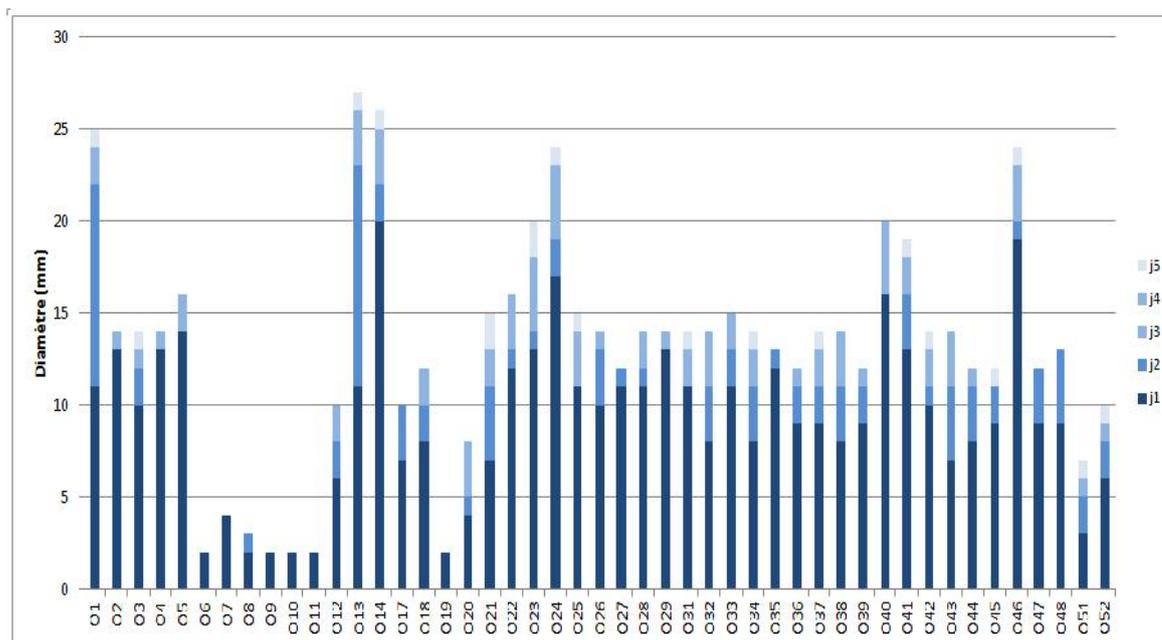


Figure 03 : Développement du diamètre de l'halo de solubilisation de phosphate inorganique des rhizobactéries d'*E. angustifolia*.

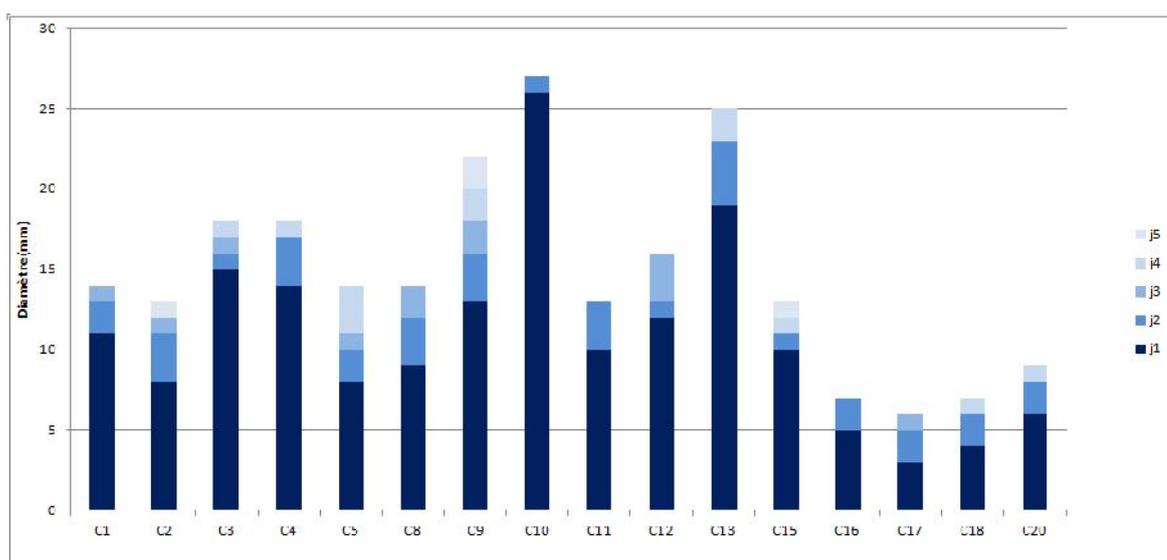


Figure 04 : Développement du diamètre de l'halo de solubilisation de phosphate inorganique des rhizobactéries de *C. equisetifolia*.

Annexe 04 (suite)

Tableau 03 : Production d'HCN par les rhizobactéries d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

Taux de production d'HCN (M±E)					
Isolat	24h	48h	Isolat	24h	48h
O-1	1	2,5±0,5	O-37	2,5±0,5	4
O-2	2	2	O-38	3	4
O-3	2,5±0,5	3,5±0,5	O-39	2,5±0,5	4
O-4	2	3,5±0,5	O-40	3±1	4
O-5	2,5±0,5	4	O-41	2,5±0,5	3,5±0,5
O-6	0	0	O-42	2,5±0,5	4
O-7	0	0	O-43	3,5±0,5	4
O-8	0	0	O-44	3,5±0,5	4
O-9	0	0	O-45	3	4
O-10	0	0	O-46	0	0
O-11	0	0	O-47	0	0
O-12	0	0	O-48	0	0
O-13	0	0	O-49	0	0
O-14	0	0	O-50	0	0
O-15	0	0	O-51	0	0
O-16	0	0	O-52	0	0
O-17	4	4	C-1	2,5±0,5	4±0,5
O-18	1,5±0,5	2	C-2	2±0,5	3,5±0,5
O-19	0	0	C-3	1,5±0,5	4±0,5
O-20	0	0	C-4	1,5±0,5	3
O-21	0	0	C-5	2	2,5±0,5
O-22	0	0	C-6	0	0
O-23	0	0	C-7	0	0
O-24	0	0	C-8	2,5±0,5	3,5±0,5
O-25	0	0	C-9	0	0
O-26	1	2	C-10	1,5±0,5	3,5±0,5
O-27	1	3,5±0,5	C-11	2,5±0,5	4
O-28	2,5±0,5	3	C-12	2	3
O-29	0	0	C-13	0	0
O-30	0	0	C-14	0	0
O-31	2	3,5±0,5	C-15	0	0
O-32	1,5±0,5	2	C-16	0	0
O-33	1	2,5±0,5	C-17	0	0
O-34	2	3,5±0,5	C-18	0	0
O-35	1,5±0,5	3,5±0,5	C-19	0	0
O-36	1	3	C-20	0	0

C : *Casuarina* ; **O :** Olivier de Bohème ; **M :** Moyenne ; **E :** Ecart type.

Taux estimés à l'œil nu colorimétriquement de 0 à 4 :

0 : Jaune (Pas de production) ; **1 :** Orange clair (Production très faible) ; **2 :** Orange (Production faible) ;

3 : Rouge-orange (Production moyenne) ; **4 :** Rouge (Production importante).

Annexe 04 (suite)

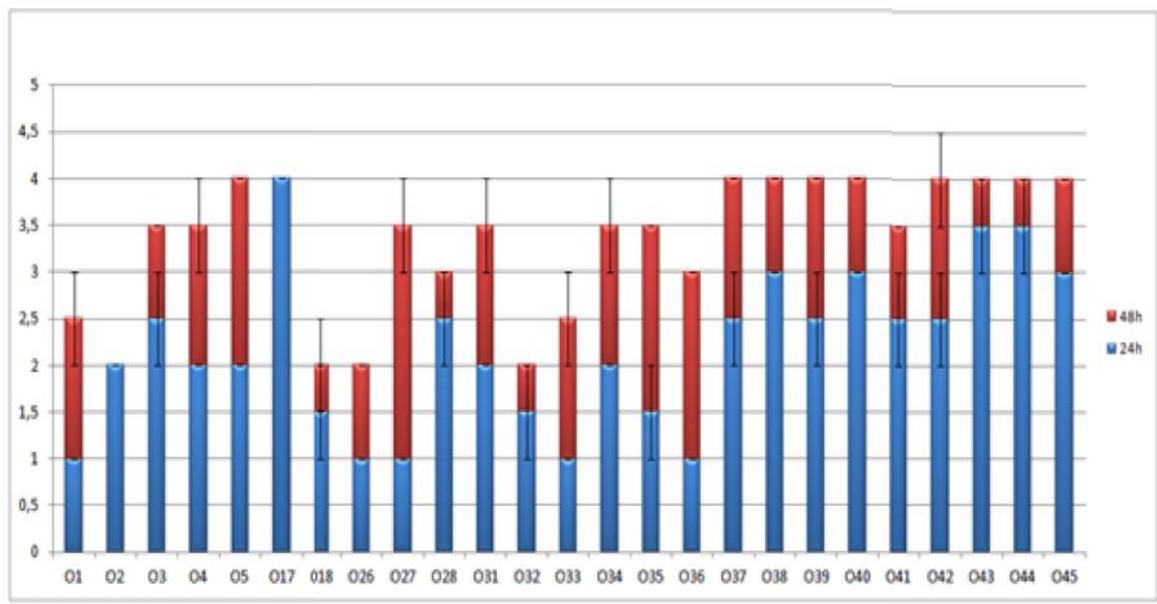


Figure 05 : Production d'HCN par les rhizobactéries d'*E. angustifolia*.

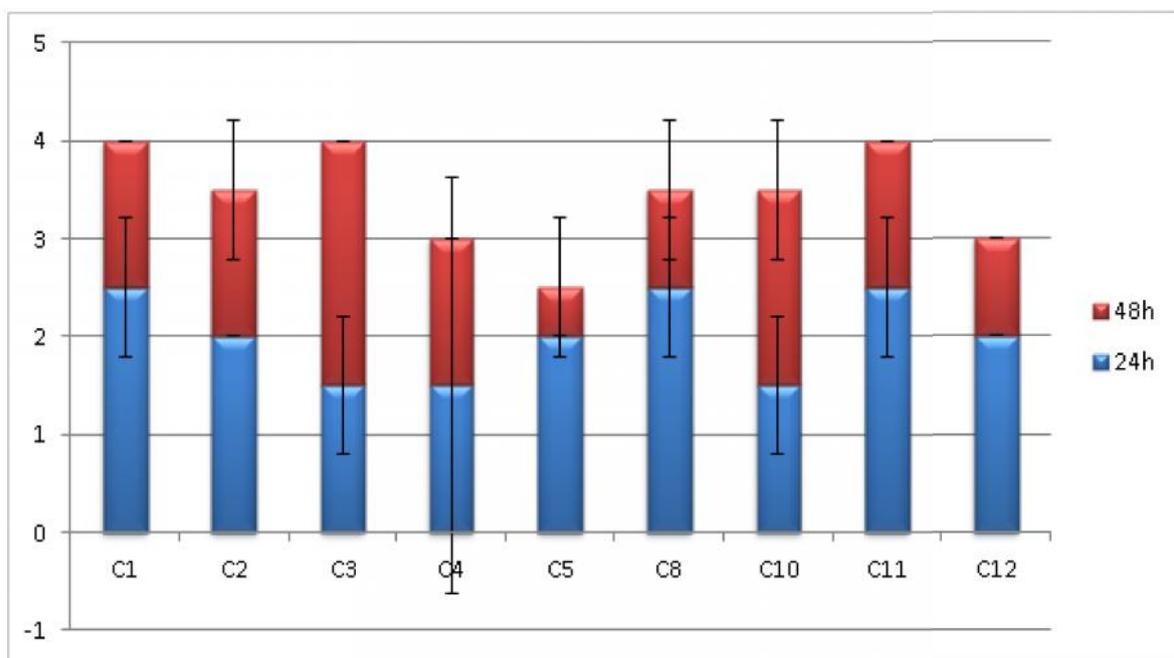


Figure 06 : Production d'HCN par les rhizobactéries de *C. equisetifolia*.

Annexe 04 (suite)

Tableau 04 : Production de NH₃ par les rhizobactéries d'*E. angustifolia* et de *C. equisetifolia*.

Taux de production de NH ₃ (M±E)			
Isolat	NH ₃	Isolat	NH ₃
O-1	3,5±0,5	O-37	1,5±0,5
O-2	4	O-38	1,5±0,5
O-3	2	O-39	1
O-4	2	O-40	1
O-5	2,5±0,5	O-41	1
O-6	1,5±0,5	O-42	1
O-7	2	O-43	1
O-8	1	O-44	1
O-9	2	O-45	1,5±0,5
O-10	4	O-46	1
O-11	1	O-47	1
O-12	1	O-48	1
O-13	1	O-49	1,5±0,5
O-14	1	O-50	2,5±0,5
O-15	1	O-51	2,5±0,5
O-16	1	O-52	1
O-17	2	C-1	2
O-18	1	C-2	1
O-19	1	C-3	1,5±0,5
O-20	1	C-4	1
O-21	4	C-5	1
O-22	1	C-6	2,5±0,5
O-23	3,5±0,5	C-7	1,5±0,5
O-24	3,5±0,5	C-8	1
O-25	4	C-9	2
O-26	1	C-10	1
O-27	2±1	C-11	1
O-28	1	C-12	1
O-29	2	C-13	1
O-30	1	C-14	2,5±0,5
O-31	3	C-15	1
O-32	1	C-16	2,5±0,5
O-33	1	C-17	1
O-34	1	C-18	1
O-35	1	C-19	1
O-36	1	C-20	3

C : *Casuarina* ; **O** : Olivier de Bohème ; **M** : Moyenne ; **E** : Ecart type.

Taux estimés à l'œil nu colorimétriquement de 1 à 4 :

1 : Jaune (Production très faible) ; **2** : Orange très clair (Production faible) ; **3** : Orange (Production moyenne) ; **4** : Rouge-orange (Production importante).

Annexe 04 (suite)

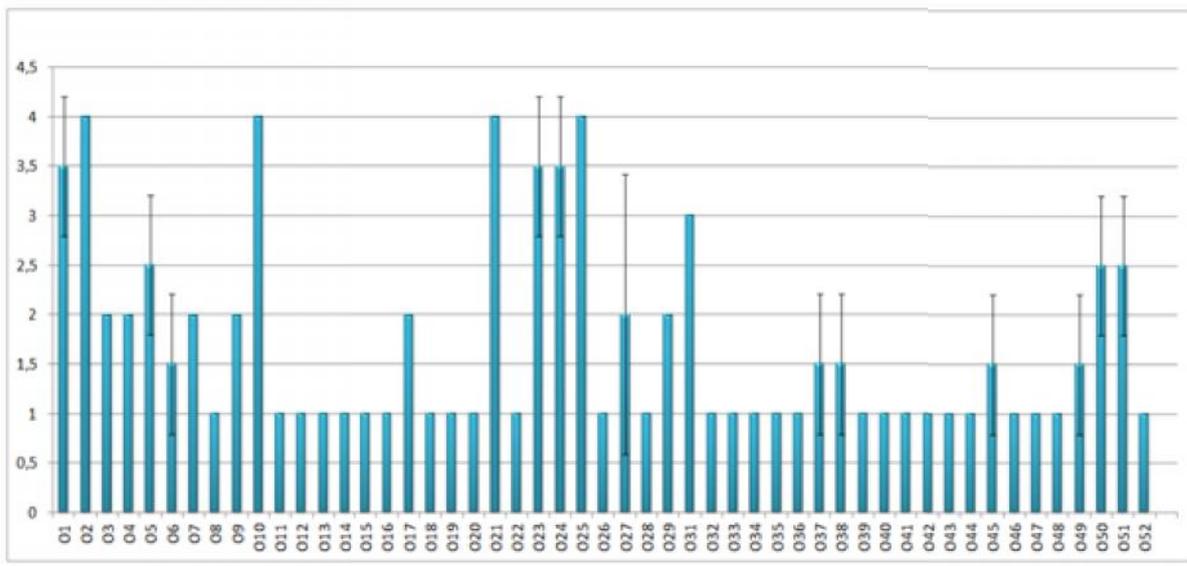


Figure 07 : Production de NH₃ par les rhizobactéries d'*E. angustifolia*.

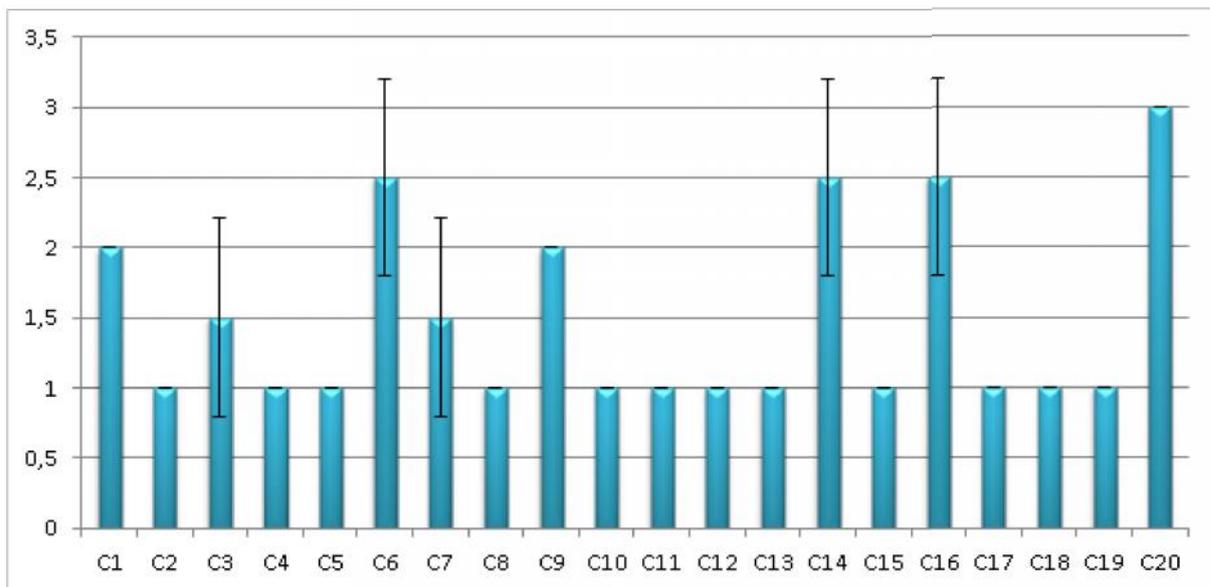


Figure 08 : Production de NH₃ par les rhizobactéries de *C. equisetifolia*.

**ETUDE DES PGPR (*PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA*) :
CAS DE *CASUARINA EQUISETIFOLIA* ET D'*ELAEAGNUS ANGUSTIFOLIA***

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et Génétique Végétale

Dans la rhizosphère peuvent cohabiter différents microorganismes qui interfèrent avec la plante sur un continuum allant du parasitisme au mutualisme. Dans le cas des plantes actinorhiziennes, la symbiose mutualiste fixatrice d'azote avec la bactérie *Frankia* est parmi les plus étudiées en écologie des interactions. Parmi ces plantes, on trouve le Filao (*Casuarina equisetifolia*) et l'Olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*), deux arbres ayant un intérêt fondamental en agro-écologie. Les rhizobactéries peuvent également avoir un effet bénéfique sur la plante. Ces symbioses associatives concernent les bactéries « PGPR » (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*).

Dans le cadre de notre travail, nous avons analysé deux types de données. Le premier type de données englobe les caractéristiques phénotypiques et biochimiques, obtenues à partir des rhizobactéries de *C. equisetifolia* et d'*E. angustifolia*. Les résultats obtenus nous ont orientés vers le groupe taxonomique des *Pseudomonas* fluorescents. Le deuxième type de données est basé sur l'évaluation du potentiel PGP des bactéries (phytostimulation, biofertilisation et biocontrôle), et nous a servi à classer puis à sélectionner les bactéries les plus performantes. Nous avons conclu que 100% des bactéries sont des PGPR pour au moins l'un des caractères, mais seulement 31% des isolats ont montré des scores favorables pour les trois qualités testées, représentant ainsi des candidats exploitables pour de profondes expertises.

Une étude prolongée dans le futur, nécessite une identification génotypique précise des isolats par le séquençage du gène ARNr 16S, suivi par l'observation directe des effets PGPR sélectionnées, sur la croissance des plantes.

Mots clés : Plantes actinorhiziennes, agro-écologie, PGPR, phytostimulation, biofertilisation, biocontrôle.

Laboratoire de recherche : Biochimie, Génétique et Biotechnologies Végétales

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI M. A. (Professeur – UFM Constantine I).
Encadrante : BENABDOUN F. M. (M.C.B – UFM Constantine I).
Examinatrice : MAOUGAL R. T. (M.C.B – INATAA UFM Constantine I).

Date de soutenance : 20/06/2017