

REPUBLIC ALGERI ENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II académique en Sciences
de la nature et la vie

Option : Biologie des Interactions Plante Micro-organismes

Thème

**Isolement et identification biochimique et physiologique des bactéries
endophytes isolées de plantes halophytes de deux régions
(Relizane et Chlef).**

HADDANE Razika

Le 18 /12/2014 Devant le jury composé de :

MEKLAT A.	M.C.C.A.	U.S.D.B	Président de jury.
KRIMI Z.	Professeur	U.S.D.B	Promotrice.
TAFFIFET L.	Magister doctorante	U.S.D.B	Examinatrice.
BRIKI F.	M.A.A.	U.S.D.B	Examinatrice.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2013/2014.

Isolement identification biochimique et physiologique des bactéries endophytes isolées de plantes halophytes de deux régions (Relizane et Chlef).

Résumé

Des plantes halophytes ainsi que le sol environnant ont été collectés de deux sols salés situés à Chlef et Relizane. L'isolement et la caractérisation de bactéries endophytes a eu lieu à partir des plantes halophytes dominantes dans les deux parcelles de ces régions.

L'étude physico-chimique montre que les deux sols sont de nature calcaire-sableuse, de pH alcalin ; celui de Chlef présente une conductivité électrique de 2.23 dS/cm, celui de Relizane sa conductivité est de 6 dS/cm indiquant par conséquent une salinité marquante.

L'identification botanique des plantes halophytes montre que celles-ci appartiennent aux familles des *Chenopodiaceae*, *Asteraceae*, *Euphorbiaceae* et *Scrofulariaceae*. Un total de 53 isolats bactériens endophytes différents ont été isolés à partir des espèces végétales dominantes dans les deux parcelles d'étude et appartenant aux genres *Salicornia sp.*, *Suaeda sp.*, *Chrysanthemum sp.*, *Linaria sp.* et *Euphorbia sp.*

Les résultats de la caractérisation biochimique et physiologique révèlent des isolats apparentés à 15 types de profils différents. Les Gram + sont homogènes et sont confinés dans 5 profils, les Gram – sont plus hétérogènes et se répartissent dans les 10 autres profils restants. La fréquence des isolats par plante étudiée révèle que le genre *Salicornia* est représenté par le nombre le plus élevé de profils (32%), alors que chez le genre *Linaria*, les profils bactériens ne sont représentés que de 13%. Les autres genres partagent sensiblement les mêmes valeurs de représentativité des différents profils bactériens, soit, 21, 17 et 16%, pour respectivement, *Chrysanthemum*, *Suaeda* et *Euphorbia*. La comparaison des fréquences des isolats bactériens et de leurs profils correspondants, montre qu'ils se retrouvent équitablement répartis dans la partie racinaire et dans la partie aérienne. Les résultats obtenus révèlent une diversité phénotypique, biochimique et physiologique des endophytes hébergés par les différents genres botaniques analysés et mettent en évidence des bactéries halotolérantes (croissance sur NaCl >20% à T° ≥ 30°C), réparties à la fois chez les deux groupes de bactéries.

Les mots clés : halotolérante, halophyte, bactéries endophytes, identification, sol.

Isolation, biochemical and physiological identification of endophytic bacteria isolated from salt-tolerant plants in two regions (Relizane and Chlef).

Abstract

Halophytic plants and the surrounding soil were collected from two saline soils located in Relizane and Chlef. Isolation and characterization of endophytic bacteria was held from dominant halophytes in the two plots of these regions.

The physico-chemical study shows that the two soils have a lime-sandy nature, alkaline pH; that of Chlef has an electrical conductivity of 2.23 dS / cm; the conductivity of that of Relizane is 6 dS / cm which indicates a significant salinity.

The botanical identification of halophytes shows that they belong to the families of *Chenopodiaceae*, *Asteraceae*, *Euphorbiaceae* and *Scrofulariaceae*. A total of 53 different endophytic bacterial isolates were isolated from the dominant plant species in the two studied plots and belonging to the genera *Salicornia*, *Suaeda*, *Chrysanthemum*, *Linaria* and *Euphorbia*.

The results of the biochemical and physiological characterization reveal isolates related to 15 different profiles. Gram + are homogeneous and are confined to 5 profiles, Gram - are more heterogeneous and distributed in the other 10 remaining profiles. The frequency of isolates studied shows that the plant genus *Salicornia* is represented by the highest number of profiles (32%), while in the genus *Linaria*, bacterial profiles are represented only 13%. Other genera substantially share the same representative values of different bacterial profiles or, 21, 17 and 16%, respectively, *Chrysanthemum*, *Suaeda* and *Euphorbia*. The comparison of the frequencies of bacterial isolates and their corresponding profiles shows they are found evenly distributed in the root part and in the aerial part. The results show phenotypic, biochemical and physiological diversity of endophytes hosted by different botanical genera and analyzed highlight halotolerant bacteria (growth on NaCl 20% at $T \geq 30^{\circ} \text{C}$), distributed in both groups of bacteria.

Key words: halotolerant, halophyte, endophytic bacteria, identification, soil.

عزل و تحديد بيوكيميائي و فسيولوجي للبكتيريا الداخلية المعزولة من النباتات التي تتحمل الملوحة في منطقتين (غليزان و الشلف)

ملخص

تم جمع النباتات الملحية و التربة المحيطة بها من اثنين من التربة المالحة تقع في غليزان و الشلف. تم العزل تعريف البكتيريا الداخلية من النباتات الملحية المهيمنة في قطاعين من هذه المناطق.

تظهر الدراسة الفيزيائية و الكيميائية أن التربة ذات طبيعة كلسية-رملية، و درجة حموضة قوية. تربة الشلف تمتلك ناقلية كهربائية تقدر ب DS 2.23 / سم، و تربة غليزان ب DS 6 / سم مما يشير إلى ملوحة كبيرة.

التعريف النباتي للنباتات الملحية يظهر أنهم ينتمون لأسر *Asteraceae* ، *Chenopodiaceae* ، *Scrofulariaceae* و *Euphorbiaceae*. تم عزل ما مجموعه 53 عزلة بكتيرية داخلية مختلفة من الأنواع النباتية السائدة في قطاعي الدراسة و ينتمون إلى الأجناس *Linaria* ، *Chrysanthemum* ، *Suaeda* ، *Salicornia* و *Euphorbia*.

نتائج التوصيف البيوكيميائي و الفسيولوجي تكشف عن عزلات مرتبطة ب 15 لمحة مختلفة. غرام + متجانسة و تقتصر على 5 لمحات، غرام - أقل تجانسا و توزع في 10 لمحات الأخرى المتبقية. تردد العزلات في كل نبتة يبين أن جنس نبات *Salicornia* يمثل أعلى نسبة من التشكيلات (32%)، بينما في جنس *Linaria* ، لمحات البكتيرية تمثل 13%. فقط الأجناس الأخرى تتفاسم بشكل معقول القيم التمثيلية نفسها من لمحات البكتيرية المختلفة ب 21، 17 و 16% على التوالي *Chrysanthemum* ، *Suaeda* و *Euphorbia*. المقارنة بين الترددات العزلات البكتيرية و الملامح المقابلة ، تظهر أنها موزعة بالتساوي في الجزء الجذري و في الجزء الخضري. تظهر النتائج تنوعا مظهريا ، بيوكيميائيا و فسيولوجيا للبكتيريا الداخلية المستضافة من مختلف الأجناس النباتية المحللة و تسلط الضوء على البكتيريا المتحملة للملوحة (النمو في كلوريد الصوديوم > 20% في $T \geq 30$ ° C)، موزعة على حد سواء في كل مجموعات البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: المتحملة للملوحة ، النباتات الملحية، البكتيريا الداخلية، تحديد، تربة.

Remerciements

En premier lieu, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir accordée le courage et la force de mener à bien ce modeste travail. Je ne saurai citer toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont permis la réalisation de ce travail. Ces remerciements vous sont adressés à tous, et tout particulièrement à :

Professeur **Krimi** qui a accepté de me confier ce travail et veiller à son élaboration. Je garderai toujours les meilleurs souvenirs de votre immense savoir et de votre sens du devoir. C'est avec un grand honneur et une extrême fierté que je vous adresse mes remerciements au Qu'il me soit permis de vous exprimer ici mon profond respect et mon intense admiration pour vos qualités humaines exceptionnelles je vous dédie ce travail.

Mr. **Meklat A.**, Vous m'avez porté honneur en acceptant de présider le jury de ce travail et d'y apporter l'éclairage du scientifique. Qu'il me soit permis de vous exprimer mon estime et ma sincère reconnaissance.

Je remercie également les membres du jury Madame **Briki F.** et Madame **Tafifet Lamia** d'avoir pris la peine d'évaluer ce travail. J'en suis très honorée Chacune d'eux mérite un remerciement plus particulier.

Un grand merci s'adresse au Personnelle du laboratoire d'agro-pédologie et mécanique du sol au niveau d'Ecole Supérieur Hydraulique à Soumaa, à leurs tête Monsieur **Ouir, M.** et **Ali.**

Je remercie Madame **Briki F.** pour l'aide qui a porté. Qu'il me soit permis de vous exprimer ma sincère reconnaissance.

Il m'est agréable d'exprimer ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements envers toute personne qui de loin ou de près a contribué à la réalisation de ce travail. Particulièrement à mon frère **Redouane** qui a fait pleine de choses pour moi et ma belle sœur **Fatima Zohra** qui a tous le temps m'encourager.

À **Delel** pour avoir pleinement occupé mon quotidien. Vous avez été avec moi depuis le début et nous avons partagé tant de moments particuliers et dans toutes sortes de situations, des plus simples au plus compliquées.

Razika.

Dédicace

C'est une habitude seine de dédier un tel travail a tous ceux qui sont chers mais dans mon cas cette liste peut sembler plus longue que de coutume.

Tout d'abord c'est un remerciement que je voudrais adresser à mon **cher papa** pour le soutien et la confiance dont j'avais besoin pour terminer, il a apporté ainsi que de l'influence positive sur mon chemin.

A ma mère, symbole d'amour et d'affection, pour son soutien et ses sacrifices.

C'est avec l'immense plaisir que je souhaite vous dédier ce travail.

A mes frères: **Redouane** et **Rabeh**

En témoignage de mon profond amour : Je vous souhaite une belle vie.

A ma petite sœur **Loubna** qui était toujours là pour moi en tant que sœur mais aussi en tant que ma meilleure amie, Il n'y a pas assez de place pour exprimer ce que je ressens pour toi.

À ma très chère sœur **Nesrine**, et à ma belle-sœur **Safia**.

L'exceptionnel **Fatima Zohra** en témoignage de son soutien par sa voiture et son imprimante et leurs précieux conseils.

Un merci très spécial à ma collègue **Chérazed** qui m'a partagé le bien et le mauvais.

Un remerciement particulier à **Nassira**.

Razika

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Degré Celsius

al. : Collaborateurs

Cfu : Unité de Colonie formée

Cm : Centimètre

EPS : Exo- polysaccharides

g : Gramme

J : Jours

L : Litre

mL : Millilitre

Min : Minute

% : Pourcentage

Sp. : Sous-espèce

C_E : Conductivité électrique

mMole : Mili-mole

m² : Mètre au carré

dS :DeciSiemens

μS : Microséismes

NaCl : Chlorure de sodium

CaCO₃ : Carbonate de calcium

Pa : Partie aérienne

Pr : Partie racinaire

PGPR : Rhizobactéries de promotion de croissance des plantes.

Liste des figures

Figure 1 : Principales cibles cellulaires de la réponse des plantes au stress salin.....	8
Figure 2 : Schématisation du bilan de la circulation du sodium dans les plantes.....	10
Figure 3 : Les différents types d'interactions plantes-microorganismes.....	17
Figure 4 : Le processus des plantes et leurs bactéries associées dans la bio -remédiation des contaminants organiques.....	18
Figure 5 : Localisation géographique de la station de Relizane et de Chlef.....	22
Figure 6 : Les courbes granulométriques de deux stations étudiées.....	35
Figure 7 : Fréquence des profils bactériens hébergés par chaque genre végétal.....	43
Figure 8 : Fréquence des profils bactériens obtenus.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les espèces halophytes les plus dominantes en Algérie.....	12
Tableau 2 : Plantes halophytes étudiées.....	26
Tableau 3 : Les plantes halophytes identifiées par station.....	32
Tableau 4 : Caractérisation physico-chimique des parcelles étudiées.....	33
Tableau 5 : La densité bactérienne en fonction des compartiments de la plante et selon le milieu de culture des isolats bactériens obtenus (CFU/g de tissu végétal).....	37
Tableau 6 : Les résultats de coloration de Gram des isolats testés.....	38
Tableau 7 : Caractérisations biochimiques des isolats bactériens obtenus.....	39
Tableau 8 : Réponses biochimiques et physiologiques des isolats bactériens endophytes des plantes halophytes analysées.....	42

Sommaire

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1 Généralités sur les sols salins et les mécanismes de résistance et tolérance des plantes à la salinité

1.1 Les sols salins.....	3
1.2 Origine et genèse des sels.....	4
1.3 Répartition géographique des sols salins en Algérie et dans le monde.....	4
1.4 Impact de la salinité sur les processus physiologiques et biochimiques de la plante.....	5
1.5 Les mécanismes d'adaptation de la plante à la salinité.....	6
1.6 Les mécanismes de résistance à la salinité.....	9
1.7 Caractéristiques et biologie des plantes halophytes.....	10
1.8 Quelques exemples des plantes halophytes en Algérie.....	11

2 Importance des bactéries endophytes dans l'agriculture : la Bio-fertilisation et la lutte biologique

2.1 Caractères, source et niche de colonisation des bactéries endophytes.....	12
2.2 Interactions plantes- bactéries endophytes.....	14
2.3 La Bio-remédiation.....	17
2.4 Les bactéries endophytiques et la résistance à la salinité.....	19

Chapitre II : Matériel et méthodes

2.1 Présentation géographique et climatologique de deux stations étudiées.....	22
2.2 Méthode d'échantillonnage.....	24
2.3 Détermination des caractéristiques physicochimique du sol.....	25
2.4 Matériel végétal et détermination des espèces étudiées.....	28
2.5 Isolement des bactéries endophytes.....	29

Sommaire

Chapitre III : Résultats et interprétations.....	33
Chapitre IV : Discussions des résultats.....	47
Conclusion générale.....	52
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction

Les changements climatiques deviennent de plus en plus contraignants pour la croissance et le développement des plantes notamment dans les zones semi-arides et arides (Belkhdja et *al.*, 2004). L'Algérie fait partie du groupe des pays méditerranéens où la sécheresse, observée depuis longtemps, a conduit manifestement au processus de salinisation des sols (Gaucher et *al.*, 1974).

La salinisation est le processus majeur de la dégradation des terres. En moyenne, le monde perd 10 hectares de terres cultivables par minute, dont 3 hectares à cause de la salinisation. Un taux de 10 à 15% des surfaces irriguées soit, 20 à 30 millions d'hectares souffrent à des degrés divers de problèmes de salinisation (Anonyme, 2006).

En Afrique, près de 40 millions d'hectares sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale (Anonyme, 2006). Les sols salins sont très répandus à la surface du globe, leur salinité constitue l'un des principaux facteurs limitants du développement agricole (Dutuit, 1999).

Cette salinisation est plus marquée dans les régions steppiques du fait des températures élevées durant presque toute l'année, du manque d'exutoire et de l'absence de drainage efficient. Elle provient aussi de l'irrigation la plus souvent mal contrôlée (Anonyme, 2008).

Ces régions salines abritent une végétation spécifique et adaptée à des taux de sel plus ou moins élevés, c'est ce qui leur a valu la terminologie de plantes halophytes. Dans les écosystèmes fortement salés les halophytes évoluent naturellement, néanmoins, au cours de leur développement, diverses espèces expriment des degrés différents dans la tolérance à la salinité (Calvet, 2003).

La salinité joue un rôle important dans l'existence et la distribution des plantes. A la différence des glycophytes qui sont des plantes qui se développent dans des milieux non salins, les halophytes se développent mieux sur un sol riche en sels. Ces plantes, tolèrent non seulement de hauts niveaux de salinité dominée par la richesse en sodium et en chlore, mais la présence de sels dans le sol est nécessaire pour leur croissance et leur développement (Hasegawa et *al.*, 2000).

L'agriculture moderne utilise des méthodes biologiques moins coûteuses et respectueuses pour l'environnement. L'utilisation de micro-organismes bénéfiques est un volet de plus en plus exploité. Dès lors, l'exploitation du potentiel microbiologique des sols, en particulier certaines souches bactériennes osmo-tolérantes promotrices de la croissance végétale (PGPR) et des endophytes comme celles appartenant aux genres ; *Azospirillum*, *Bacillus*, *Rhizobium*, et *Pseudomonas* est considérée comme une technologie émergente et écologiquement très intéressante (Lemanceau, 1992).

Les endophytes sont des microorganismes qui colonisent les tissus internes des plantes sans causer des symptômes apparents (Bacon et White, 2000). Ils jouent un rôle crucial dans les écosystèmes naturels et agricoles en agissant comme bio-fertilisants, épurateurs, éléments structurant la matrice du sol et agents de lutte biologique (Wu *et al.*, 2005).

Les endophytes sont considérés comme le second génome de la plante du fait de leur capacité à synthétiser des métabolites secondaires très divers et constituent relativement une source potentielle pour des fins d'exploitation dans la médecine, la pharmacie, l'industrie et l'agriculture (Berendsen *et al.*, 2012).

L'adaptation de certaines bactéries endophytiques aux fortes concentrations en sel est due à leur faculté de synthèse ou de transport à partir du milieu externe des solutés compatibles ou d'osmo-protecteurs. Elles jouent par conséquent, un rôle d'osmo-régulation et de protection cellulaire contre divers types de stress (salinité, chaleur, froid...). La molécule osmo-protectrice majeure accumulée chez les bactéries endophytes étant la glycine-bétaine; elle est retrouvée abondamment chez les halophytes (Rhodes et Hanson, 1993).

C'est dans ce contexte que dans le présent travail, nous avons tracé pour objectif d'isoler des bactéries endophytes associées aux plantes halophytes collectées de deux régions salines. Pour réaliser cette étude, nous avons abordé les aspects suivants :

- Échantillonnage en plein champ du matériel végétal et le sol environnant.
- Isolement des bactéries endophytes à partir des espèces halophytes.
- Caractérisation physico-chimique du sol de des deux régions salines étudiées (Chlef et Relizane).
- Identification préliminaire des isolats bactériens endophytes.

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur les sols salins - mécanismes de tolérance des plantes halophytes et leurs interactions avec les bactéries endophytes

La partie I : Généralités sur les sols salins et les mécanismes de résistance et tolérance des plantes à la salinité

1.1 Les sols salins

Les sols salins ou sols halomorphes appelés actuellement sols salsodiques couvrent une surface importante du globe terrestre (Cherbuy, 1991). Ils se manifestent naturellement aussi bien sous les climats plus ou moins arides que tempérés, maritimes ou continentaux; là où l'évaporation dépasse les précipitations pluviales (Bouteyre et Loyer, 1992). De plus, le développement à l'échelle mondiale de cultures irriguées entraîne une extension secondaire des terres salées (Cloud et *al.*, 2005).

La salinisation est un processus d'accumulation des sels à la surface des sols et dans la zone racinaire occasionnant des effets nocifs sur les végétaux et le sol, il s'en suit une diminution des rendements, et à terme, la stérilité des sols (Hullin, 1983). Un sol est considéré salin lorsque sa conductivité électrique (CE) est supérieure à 4 deciSiemens par mètre (dS/m). Cette valeur correspond à 40 mM de Na Cl (2,4 g/l). La valeur du pourcentage de sodium échangeable est moins de 15 et le rapport d'adsorption de sodium est moins de 13 (Calvet, 2003).

La présence de ces sels et l'élévation conséquente de la pression osmotique de la solution du sol, entraînent la formation de paysages particuliers, soit occupés par une végétation naturelle spécialisée dite halophyte (chotts), soit présentant une absence totale de végétation (sebkhas), selon le degré de salinité atteint (Loyer, 1991).

La salinité élevée des sols due essentiellement au chlorure de sodium, affecte le tiers des terres irriguées à l'échelle mondiale et constitue un facteur limitant prépondérant de la production végétale dans les zones arides (Hasegawa et *al.*, 1986).

1.2 Origine et genèse des sels

La formation d'un sol salin résulte généralement de l'accumulation de sels dans les horizons de surface. Ce processus dépend essentiellement du régime hydrique du sol et des sources de sel (Essinyton, 2004). Le processus d'accumulation des sels minéraux solubles dans le sol présente des niveaux nuisibles pour les plantes. Ces sels dissous sont constitués d'un mélange de cations (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) et d'anions (Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , HCO_3^-) (Tanji, 2005). La salinisation des sols peut être causée soit par des processus naturels : salinisation primaire ou être induite par des activités humaines : salinisation secondaire (Ghassemi *et al.*, 1995).

1.3 Répartition géographique des sols salins en Algérie et dans le monde

La salinisation des sols est non seulement liée aux conditions climatiques tels qu'un fort ensoleillement et une faible pluviométrie mais également à l'irrigation mal contrôlée entraînant une accumulation des sels dissous en surface (Ben naceur *et al.*, 2001).

Les sols salins couvrent 397 millions d'hectares (Anonyme, 2008). En Afrique, près de 4Mha sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale. En Algérie, plus de 20% des sols irrigués sont concernés par des problèmes de salinité (Douaoui et Hartani, 2008).

Les sols salins sont très répandus dans les basses plaines de l'Oranie dans la vallée de Mina près de Relizane, sur les hautes plaines au sud de Sétif et de Constantine et aux bords des chotts. Ils ont aussi une grande extension dans les régions sahariennes au sud de Biskra jusqu'à Ouargla et au-delà (Durand, 1983).

1.4 Impact de la salinité sur les processus physiologiques et biochimiques de la plante

1.4.1 Effet sur la germination

La plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (Maillard, 2001). Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal a été évoquée. Bien que les halophytes possèdent une teneur très élevée en sel dans leurs tissus au stade adulte, leurs graines ne sont pas aussi tolérantes au sel au stade germination (Belkhodja et Bidai, 2004).

Le stade germination est souvent limité par la salinité du sol et se montre le plus sensible que les autres stades (Bouda et Haddioui, 2011). Des travaux ont montré que la germination des plantes qu'elles soient halophytes ou glycophytes est affectée par la salinité,

en réduisant le nombre total des graines germées et en accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination (Ismail, 1990 ; Debez et *al.*, 2001).

1.4.2 Effet sur la croissance et le développement

Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur les plantes: la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions. Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale des plantes (Levigneron et *al.*, 1995)

La salinité constitue avec la sécheresse une des principales contraintes responsables de la perte du rendement des cultures et de la détérioration du couvert végétal (Messedi et Abdelly, 2004). De ce fait, elle affecte la croissance et le développement des plantes différentes manières (Bouaouina et *al.*, 2000). Généralement, la perte de turgescence des cellules est due au stress osmotique induit par le soluté externe (Serrano et Gaxiola, 1994). Parallèlement, le déséquilibre nutritionnel causé par l'absorption réduite des ions essentiels comme K^+ , Ca^{++} et NO_3^- en liaison avec une accumulation excessive de Na^+ et Cl^- (Haouala et *al.*, 2007). Par ailleurs, les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités d'absorption des éléments nutritifs du sol (Jabnoue, 2008).

1.4.3 Effets sur la photosynthèse

La salinité réduit la vitesse de la photosynthèse suite à une diminution de la conduction stomatique de CO_2 (Santiago et *al.*, 2000). La diminution de la vitesse photosynthétique est due à plusieurs facteurs comme la déshydratation des membranes cellulaires ce qui réduit leur perméabilité au CO_2 , la toxicité du sel, la réduction de l'approvisionnement en CO_2 à cause de la fermeture des stomates, la sénescence accrue induite par la salinité et le changement dans l'activité des enzymes causé par le changement dans la structure cytoplasmique (Iyengar et Reddy, 1996).

1.4.4 Effet de la salinité sur les protéines et les sucres totaux

La salinité freine la protéogénèse et augmente la protéolyse. Ces perturbations entraînent une accumulation des acides aminés (Asloum, 1990). Il a été observé que des concentrations importantes de protéines s'accumulent dans des cultures de cellules de tabac soumises à de fortes concentrations en NaCl et de polyéthylène glycol (PEG) (Zid et Grinun, 1991). Une protéine de 26 KDa induite à la fois par le NaCl et le PEG a été appelée osmotine en raison de son apparition dans des conditions de faible potentiel hydrique ou de choc osmotique (Hopkins, 2003).

Chez diverses espèces plus ou moins résistantes à la salinité, on a observé une augmentation des sucres totaux résultant d'un blocage de la glycolyse ou du saccharose provenant d'une forte hydrolyse de l'amidon (Asloum, 1990).

1.4.5 Effets sur la nutrition minérale des végétaux

L'accumulation des ions Na^+ dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tels que K^+ et Ca^{2+} . Cet effet a été expliqué par une compétition entre Na^+ et Ca^+ pour les mêmes sites de fixation apoplasmique (Jendoubi, 1997).

1.5 Les mécanismes d'adaptation de la plante à la salinité

1.5.1 Adaptations morphologiques

De nombreux chercheurs ont étudié l'écologie, la morphologie et la physiologie de certaines halophytes (Saadoun, 2005). La morphologie et la structure de ces dernières sont adaptées dans le sens de l'économie d'eau (Heller et al., 1998). Le sel en effet dans la solution du sol gêne l'alimentation hydrique. Les caractères liés à cette adaptation sont : une cuticule épaisse, des stomates rares, des cellules à grandes vacuoles permettant de stocker le NaCl et une succulence des feuilles qui deviennent épaisses (Heller et al., 1998).

La succulence qui se traduit par une accumulation d'eau dans les cellules constitutives des tissus des organes aériens, est l'un des caractères les plus communs aux halophytes. La succulence des cellules foliaires augmente se traduisant par une augmentation de l'épaisseur des feuilles constituant l'une des modifications qui apparaît de façon plus importante chez les espèces les plus tolérantes. On note de plus, la réduction de la surface foliaire par exemple chez *Cressa cretica* et *Tamarix gallica* (la présence d'une cuticule épaisse et l'apparition plus précoce de la lignification de quelques organes (Raache et Karboussa., 2004).

1.5.2 Adaptations anatomiques

Généralement, les plantes répondent au stress hydrique ou salin en fermant leurs stomates de façon à réguler la perte d'eau par la transpiration des feuilles et sur la vitesse d'absorption de l'eau par les racines. Les halophytes ont donc développé soit des résistances à la présence des sels dans leurs tissus soit la faculté de s'en débarrasser. Certaines emmagasinent de l'eau pour diluer le sel et dans d'autres cas, les feuilles possèdent des structures (petites poches) qui sont capables d'accumuler du sel, mais, pour résister à la salinité, les plantes disposent d'une pression osmotique très élevée; et certains genres possèdent un mécanisme de filtration dans le milieu racinaire (Reinoso et al., 2004).

1.5.3 Adaptations physiologiques

Pour qu'elles puissent absorber l'eau et continuer leurs fonctionnements vitaux, les halophytes adoptent trois mécanismes essentiels :

1.5.3.1 Répartition et accumulation des ions dans la plante

Une forte capacité d'absorption et une accumulation préférentielle de Cl^- et Na^+ dans les parties aériennes surtout les feuilles chez les halophytes. Ainsi, plus de 90% de Na^+ sont accumulés au niveau de la partie aérienne (80% dans les feuilles), qui a pour but d'élever le potentiel osmotique qui peut dépasser 50 atm (Asloum, 1990). Celui-ci contribue à maintenir le potentiel hydrique de la plante inférieur à celui de la solution du sol (Lemee, 1978).

1.5.3.2 Compartimentation vacuolaire

La compartimentation est la stratégie la plus efficace pour éviter la toxicité du Na^+ sur des sites métaboliques dans le cytoplasme (Jebnour, 2008).

La plante utilise en effet le sel pour ajuster la pression osmotique de ses cellules. Elle capte le sel qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux.

A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles étant des compartiments fermés au sein de la cellule; le sel est ainsi isolé dans des constituants cellulaires vitaux (Berthomieu et al., 2003).

1.5.4 Adaptations métaboliques et accumulation des solutés organiques

L'une des réponses les plus communes des plantes aux stress est la production de différents types de solutés dits solutés compatibles (Figure 2). Ces derniers constituent de petites molécules très solubles habituellement non toxiques à hautes concentrations dans les cellules (Asahraf et Foolad, 2007). Ils sont qualifiés de compatibles car ils ne perturbent pas les interactions entre les macromolécules et le solvant. Ces composés par leurs concentrations assurent l'ajustement osmotique entre le cytosol et la vacuole (Calu, 2006).

1.5.4.1 Acides aminés et dérivés

Les tissus des plantes halophytes accumulent de grandes quantités d'acides aminés et leurs dérivés dans le cytosol mais aussi dans la vacuole telles que, la proline la β -alanine et la taurine sont les plus connues (Hasegawa et al., 2000).

La proline est souvent citée comme l'osmoticum le plus largement distribué et accumulé sous des conditions environnementales variées (Lepoivre, 2003). Son accumulation constitue l'une des manifestations les plus remarquables du stress salin et hydrique. Le précurseur privilégié de la proline dans les situations de stress est le glutamate, alors qu'en

situation normale, la voie de l'ornithose apporte aussi une contribution à la synthèse de cet acide aminé (Yoshiba et al, 1995). La synthèse à lieu dans le cytoplasme et fait intervenir deux enzymes, la pyrroline-5- carboxylate synthétase (P5VS) et la pyrroline-5-carboxylase réductase (P5CR) (Zhany et al, 1995).

1.5.4.2 Glucides solubles et acide organiques

- **Les glucides solubles**

Le stress salin induit chez plusieurs espèces de plantes des modifications dans les teneurs relatives des hydrates de Carbone avec une accumulation plus ou moins importante des sucres solubles totaux (saccharose, glucose et fructose) (Regragui, 2005).

Ces derniers semblent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique (Poormohammad Kiani, 2007). Ils participent au maintien de la balance de la force osmotique pour garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible et permettent également une préservation de l'intégrité membrane ainsi qu'une protection des protéines (Zerrad et al, 2006).

- **Acides organiques**

L'augmentation de la concentration des acides organiques est l'une des conséquences de stress salin et hydrique notamment chez les Crassulacées (Venekamp, 1989). Les acides organiques représentent une source de carbone pour biosynthèse de proline via l' α -cétoglutarate intermédiaire du cycle de Krebs qui donne par transamination la glutamate précurseur de la proline. Les acides organiques tels que l'acide malique, l'acide succinique, l'acide citrique et l'oxaloacétate permettent de contre balancer l'accumulation des cations d'origine saline (Flower et al, 1977).

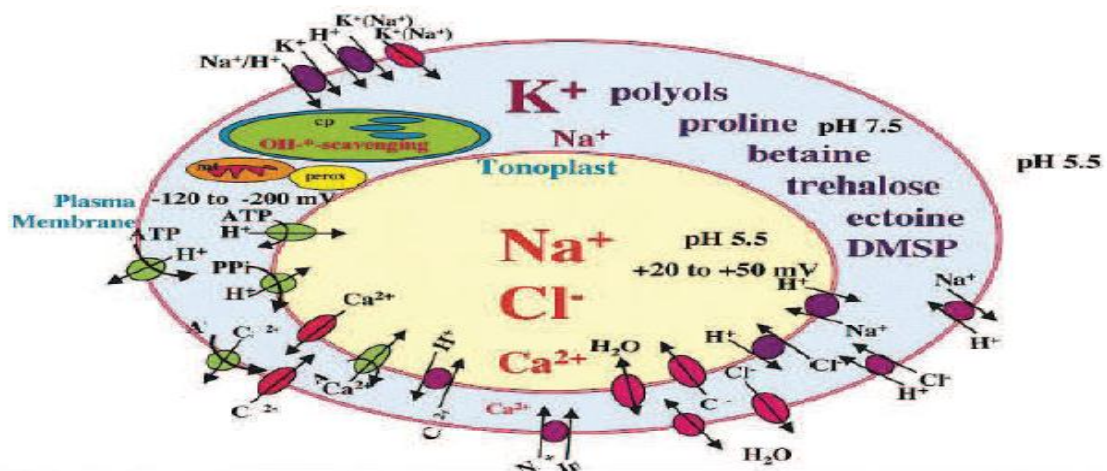


Figure 1 : Principales cibles cellulaires de la réponse des plantes au stress salin (Hasegawa et al., 2000).

1.6 Les mécanismes de résistance à la salinité

Les plantes développent plusieurs stratégies pour limiter les stress salins qui diffèrent selon la catégorie de la plante (Berthomieu et *al.*, 2003). Chez les plantes sensibles au chlorure de sodium, le Na^+ s'accumule dans les racines mais il est exclu des feuilles. Ces plantes sont dites 'excluser'.

A l'inverse, les plantes tolérantes au NaCl sont dites 'incluser' car elles ont en général des feuilles plus chargées en Na^+ que les racines lorsqu'elles sont cultivées en présence de sel (Figure 2) (Haoula et *al.*, 2007).

1.6.1 Exclusion

Les plantes 'excluser' sont généralement sensibles à la salinité et sont incapables de contrôler le niveau de Na^+ cytoplasmique. Cet ion est transporté dans le xylème, véhiculé vers les feuilles par le courant de la transpiration puis en partie re-circule par le phloème pour être ramené vers les racines. Ces espèces sensibles contiennent donc le Na^+ dans les feuilles et un excès dans les racines (Jabnoue, 2008).

1.6.2 Inclusion

Les plantes résistantes au NaCl, accumulent le Na^+ dans les feuilles où est séquestré soit dans la vacuole de l'épiderme foliaire ou les limbes âgés (Jabnoue, 2008). Le sel est stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de pompes moléculaires. Les vacuoles sont des compartiments fermés au sein de la cellule, le sel est aussi isolé dans des constituants cellulaires vitaux ou excrété par des glandes vers l'extérieur (Berthomieu et *al.* 2003, Alem et Amri, 2005).

1.6.3 La ré-excrétion

La plante a la capacité de réexpédier aussitôt l'excès de sel parvenu jusqu'au feuilles vers ses racines par l'intermédiaire de sa sève descendante par le phloème. Les racines peuvent ensuite ré-excréter le sel à l'extérieur et l'éliminer dans le sol environnant (Berthomieu et *al.*, 2003).

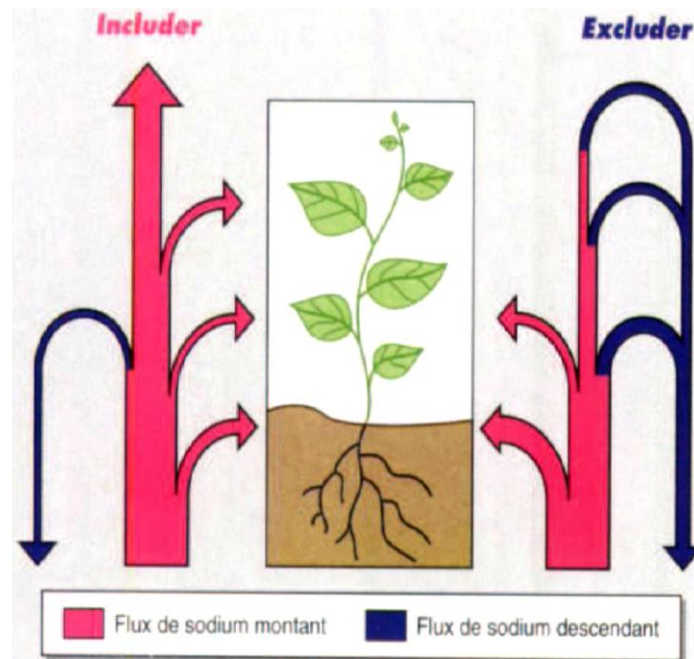


Figure 2 : Schématisation du bilan de la circulation du sodium dans les plantes inkluder ou excluder (Levigneron et *al.*, 1995).

Selon la tolérance au sel, on peut définir deux groupes des végétaux : les halophytes et les glycophytes. Les halophytes supportent les concentrations en sels et la croissance est stimulée par la concentration entre 200 et 500 mM (Flowers et *al.*, 1997). Cependant, Les glycophytes représentent la majorité des espèces végétales dont leur croissance est ralentie dès que la concentration des milieux externes dépasse 100 mM et devient létale à partir de 300 mM (Greenway et Munns, 1980).

Les halophytes et les glycophytes peuvent développer plusieurs mécanismes pour assurer leur cycle de croissance et de développement. Certaines espèces utilisent le mécanisme d'exclusion des sels en excès ou les répartissent dans les vacuoles (Alem et *al.*, 2005).

1.7 Caractéristiques et biologie des plantes halophytes

Venant du grec halos (sel) et phyton (plante), le terme d'halophyte a été introduit en 1809 par Pierre Simon Pallas. Ce terme a été attribué aux végétaux vivant sur des sols salés, c'est-à-dire contenant une solution trop riche en sels solubles et par là impropres à recevoir des cultures. Actuellement, on appelle halophyte toute plante dont une partie quelconque de son organisme, est en contact avec des concentrations anormalement fortes en sel, c'est le cas

de la végétation marine des plantes de bord de mer, de désert, des marais ou de lacs salés (Larafa, 2004).

Bien que pouvant résister à d'importantes accumulations de sels dans le milieu extérieur, certaines halophytes se comportent normalement sur des sols non salés et ne sont donc que des halophytes facultatives comme c'est le cas de certaines espèces d'*Atriplex* par exemple. Par contre, d'autres halophytes ne peuvent se développer complètement qu'en présence de fortes concentrations salines ; ce sont des halophytes obligatoires c'est le cas notamment des Salicornes par exemple (Benabadji et al., 2004).

On compte près de 6000 espèces d'halophytes terrestres et de marais dans le monde, soit 2% des phanérogames (Le Houérou, 1993).

La plupart des halophytes sont herbacées (Salicorne...etc) et présentent des organes aériens charnus. Cette succulence est due soit à une hypertrophie de certaines cellules qui, gorgées d'eau, forment un tissu aquifère, soit à la formation d'un grand nombre d'assises cellulaires, soit aux deux phénomènes à la fois. Sur les sables et les falaises littorales, au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la mer, la succulence disparaît (Aboura, 2006).

Les espèces les plus couramment rencontrées présentant des racines très développées, des organes aériens protégés par une cuticule épaisse et un revêtement pileux abondant sont celles que l'on observe en général sur des milieux secs (xérophytes). L'implantation des halophytes dans les divers milieux salés se fait à partir de semences ou par bouturage naturel, ce dernier est fréquent chez diverses halophytes terrestres par fragmentation des rhizomes (Ghezlaoui, 2001).

1.8 Quelques exemples des plantes halophytes en Algérie

De nombreux travaux dans le bassin méditerranéen ont fait l'objet d'études floristiques sur les halophytes (Atriplexaies en particulier). En Algérie, les Atriplexaies représentent près d'un million d'hectares plus ou moins dégradées (Benabadji, 1999). L'espèce la plus abondante est l'*Atriplex halimus* dans les zones dites steppiques et aux alentours des chotts. Elle se trouve aussi dans les zones littorales, (Ghezlaoui, 2001). Il existe d'autres espèces appartenant à différentes familles botaniques qui ont également été signalés par plusieurs auteurs (Tableau1).

Tableau 1 : Les espèces halophytes les plus dominantes en Algérie.

Famille	Espèce	Référence
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Atriplex halimus</i> (L.)	(Benrebiha, 1987).
	<i>Salicornia fruticosa</i> (Forssk.)	(Ghezlaoui et <i>al.</i> , 2011)
	<i>Salsola oppositifolia</i> (L.)	(Ababou et <i>al.</i> , 2009)
	<i>Suaeda fruticosa</i> (Forssk)	(Ghezlaoui et <i>al.</i> , 2011)
<i>Brassicaceae</i>	<i>Pseudocytisus integrifolius</i> (Salisb)	(Benabadji et <i>al.</i> , 2010)
<i>Tamaricaceae</i>	<i>Tamarix africana</i> (L.)	(Chenchouni, 2012)
Juncaceae	<i>Juncus maritimus</i> (L.)	(Sitayeb et Benabdeli, 2008)

La partie II : importance des bactéries endophytes dans l’agriculture : la Bio- fertilisation et la lutte biologique

2.1 Caractères, source et niche de colonisation des bactéries endophytes

Le terme “endophyte” a été conçu par De Bary en 1866 pour des souches pathogènes par la suite, cette définition a été maintenue pour tous les microorganismes vivant à l’intérieur des plantes (Wilson, 1995). Ce terme pourrait être employé dans un large spectre pour différents micro-organismes, par exemple, les champignons et les bactéries (Zinniel et *al.*, 2002).

En 1995, Wilson a proposé de définir un endophyte en tant que champignons ou bactéries qui, pour l'ensemble ou une partie de leur cycle, envahissent les tissus des plantes et causent des colonisations inapparentes et asymptomatiques mais ne causent aucun symptôme de maladie. Ils sont aussi définis comme des organismes qui vivent dans les tissus de la plante

sans causer un réel dommage à la plante mais peuvent acquérir un bénéfice autre que leur habitation (Kobayashi et Palumbo, 2000).

En 1997, Hallmann et ses collaborateurs ont défini les bactéries endophytes comme “bactéries détectées à l’intérieur des plantes à surface stérilisée ou extraites de l’intérieur des plantes et qui n’ont pas des effets dommageables apparents sur les plantes”. Cette définition inclut les colonisateurs intérieurs avec un comportement apparemment neutre ainsi que les symbiotiques. Elle est largement utilisée par les chercheurs qui travaillent sur les endophytes. En 2000, Bacon et White définissaient les endophytes comme « microbes » qui colonisent les tissus vivants intérieurs des plantes sans causer des effets négatifs immédiatement déclarés.

D’une manière générale, la niche endophyte offre une protection contre l’environnement hostile pour les bactéries qui peuvent coloniser et se mettre en place *in planta*.

La plupart des bactéries endophytes proviennent de la rhizosphère (Patriquin et *al.*, 1978). Elles peuvent être isolées à partir des tissus des surfaces désinfectées de la plante ou extraites des tissus internes (Lodewyckx et *al.*, 2002). Tel que mentionné dans les travaux de Kobayashi, les bactéries endophytes appartenant aux groupes des Gram positif ou à Gram négatif ont été isolées à partir de plusieurs types d’espèces végétales (Kobayashi et *al.*, 2000). Les endophytes entrent dans les tissus végétaux principalement par la zone racinaire; cependant, les parties aériennes des plantes, comme les fleurs, les tiges et les cotylédons, peuvent également être des voies d’entrée aux bactéries (Kobayashi et *al.*, 2000). Plus précisément, les bactéries peuvent empreinter la voie de pénétration tissulaire au moment de la germination et l’émission des racelles et des racines, la pénétration via les stomates a également été signalée (Agrawal et *al.*, 1987). Les bactéries endophytes, se localisent soit aux points d’entrées ou se propagent de façon systémique dans toute la plante (Lodewyckx et *al.*, 2002). Ces micro-organismes peuvent rarement résider à l’intérieur de la cellule végétale, ils sont essentiellement localisés dans l’espace intercellulaire ou dans le système vasculaire (Bell et *al.*, 1995).

Des variations significatives ont été signalées dans les populations des endophytes indigènes et introduites. Ces variations sont attribuées à la plante source, à son âge, au type de tissus, au moment de l’échantillonnage, et à l’environnement (Denise et *al.*, 2002). Généralement, les densités des populations bactériennes sont plus élevées dans les racines et faibles dans les tiges et les feuilles (Lamb et *al.*, 1996).

La diversité des endophytes bactériens cultivables est liée non seulement à la variété des espèces végétales colonisées, mais aussi par rapport aux nombreux taxons impliqués dont la plupart appartiennent aux genres bactériens telluriques comme les *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus* et *Azospirillum* (Mastretta et al., 2006).

2.2 Interactions plantes- bactéries endophytes

Les micro-organismes endophytes établissent une relation plus étroite avec leur hôte et ils sont d'avantage protégés contre les stress biotiques et abiotiques et peuvent de ce fait interagir plus longtemps avec la plante (Hallmann et al., 1997).

L'intérêt de l'exploitation des bactéries endophytes est importante vu leurs implications dans différents secteurs à savoir la production d'antibiotiques et de composés immunosuppresseurs dans le secteur médical, la promotion de la croissance, l'exploitation des produits antimicrobiens pour la protection végétale, un autre intérêt est leur utilisation pour la phyto-remédiation et la décontamination des sols (Ryan et al., 2008).

2.2.1 La promotion de la croissance

Dans l'ensemble, les bactéries ayant un impact positif sur la plante par le biais d'un effet protecteur ou *via* une stimulation de sa croissance, ont été communément regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Mercado- Blanco, 2007).

Les bactéries endophytes présentent plusieurs mécanismes par lesquels elles peuvent promouvoir la croissance et la santé des plantes. Elles diffèrent des souches de lutte biologique du fait qu'elles ne constituent pas forcément un obstacle au développement des agents phytopathogènes, mais au contraire, elles augmentent la croissance de la plante grâce à l'amélioration de l'apport en nutriments et en minéraux (Ryan et al., 2008).

Les bactéries endophytes assurent la croissance des plantes par un certain nombre de mécanismes. Il s'agit notamment de la solubilisation du phosphore, la production d'acide indole acétique et la production des sidérophores (Wakelin et al., 2004, Lee et al., 2004, Costa et Loper, 1994).

2.2.2 La lutte biologique et la stimulation des mécanismes de défense de la plante (ISR)

Les mécanismes d'action impliqués dans le contrôle biologique comprennent la compétition pour les nutriments ou pour l'espace, l'antibiose, la sécrétion des enzymes lytiques et la stimulation des mécanismes de défense de la plante (Weller, 1988) (Figure 3).

2.2.2.1 La compétition pour l'espace et les nutriments

La compétition pour ces nutriments et niches est un mécanisme fondamental avec lequel les PGPR ainsi que les endophytes protègent les plantes. La chimiotaxie pour le carbone, les sucres, les vitamines et les acides aminés qui sont exsudés dans la rhizosphère par les plantes hôtes peut expliquer la compétition au niveau de la rhizosphère (Compant *et al.*, 2005).

La compétition pour le fer présente un cas particulier de compétition pour les éléments nutritifs. Certaines bactéries endophytes ont la capacité d'adsorber cet élément nécessaire pour la croissance par la production de molécules appelées sidérophores qui agissent en chélatant le Fe^{3+} dans des conditions de carence de cet ion (Ongena *et al.*, 2002). Les siderophores bactériens sont des composés de faible poids moléculaire avec une affinité élevée à la chélation du Fe^{3+} . Ils sont responsables de la solubilisation et du transport de cet élément dans les cellules bactériennes, leur est bénéfique pour les plantes, car, ils peuvent indirectement inhiber la croissance des agents phytopathogènes (Allaire, 2005).

2.2.2.2 L'antibiose

L'antibiose est l'inhibition directe de la croissance du pathogène par un microorganisme *via* la production de métabolites secondaires (Raaijmakers *et al.*, 2002). Les antibiotiques sont des toxines qui peuvent à de faibles concentrations, empoisonner ou tuer d'autres microorganismes. La plupart des microorganismes produisent et sécrètent un ou plusieurs composés présentant une activité antibiotique. Dans certains cas, les antibiotiques produits par certains microorganismes ont été révélés particulièrement efficaces pour supprimer les agents phytopathogènes et les maladies qu'ils causent (Fravel, 2005).

2.2.2.3 La sécrétion des enzymes lytiques

Divers micro-organismes sécrètent et excrètent d'autres métabolites qui peuvent interférer avec la croissance des pathogènes et/ou leurs activités. De nombreux micro-organismes produisent et libèrent des enzymes lytiques qui peuvent hydrolyser une grande variété de composés polymères, y compris la chitine, des protéines, la cellulose, l'hémicellulose et l'ADN (Pal *et al.*, 2006).

2.2.2.4 La stimulation des mécanismes de défense de la plante

L'induction de défense de l'hôte peut être locale et/ou systémique selon le type, la source, et la quantité de stimuli. Récemment, les études ont pu caractériser les déterminants et les voies de la résistance induite stimulés par des agents de lutte biologique et autres microorganismes non pathogènes. La première de ces voies, appelée résistance systémique acquise (SAR), est médiée par l'acide salicylique (SA), un composé qui est souvent produit après infection par un pathogène et conduit généralement à l'expression des protéines PR (Pathogenesis-Related proteins) (Pal *et al.*, 2006).

Il a été observé que certaines bactéries endophytes déclenchent le phénomène de résistance systémique induite (ISR), un phénomène similaire à la résistance systémique acquise (SAR). La SAR se développe lorsque les plantes réussissent à activer leurs mécanismes de défense en réponse à une primo-infection par un pathogène, notamment lorsque celle-ci induit une réaction d'hypersensibilité. A travers cette dernière réaction, le pathogène est limité dans une lésion locale nécrotique du tissu desséché et ne peut se propager vers les parties saines (Bakker *et al.*, 2007).

Même si les endophytes ne sont pas en contact avec les microorganismes phytopathogènes, ils peuvent protéger systématiquement la plante colonisée. C'est ainsi qu'ils peuvent induire une résistance systémique (ISR) chez les plantes hôtes (van Loon et Bakker, 2005). A cet effet, l'ISR est donc phénotypiquement similaire à la (SAR) en rendant les parties non infectées de la plante plus résistantes envers un large éventail de pathogènes (Stitcher *et al.*, 1997). Cependant, différemment à la SAR, l'ISR n'implique pas l'accumulation des protéines PR (*Pathogenesis-Related proteins*) (Yan *et al.*, 2002).

L'ISR induite par les endophytes représente une défense systémique dont la protection des différentes parties de la plante est garantie sans migration des bactéries. Le signal est souvent transporté à travers le système vasculaire ou à travers les tissus grâce à l'acide salicylique (Bent, 2005).

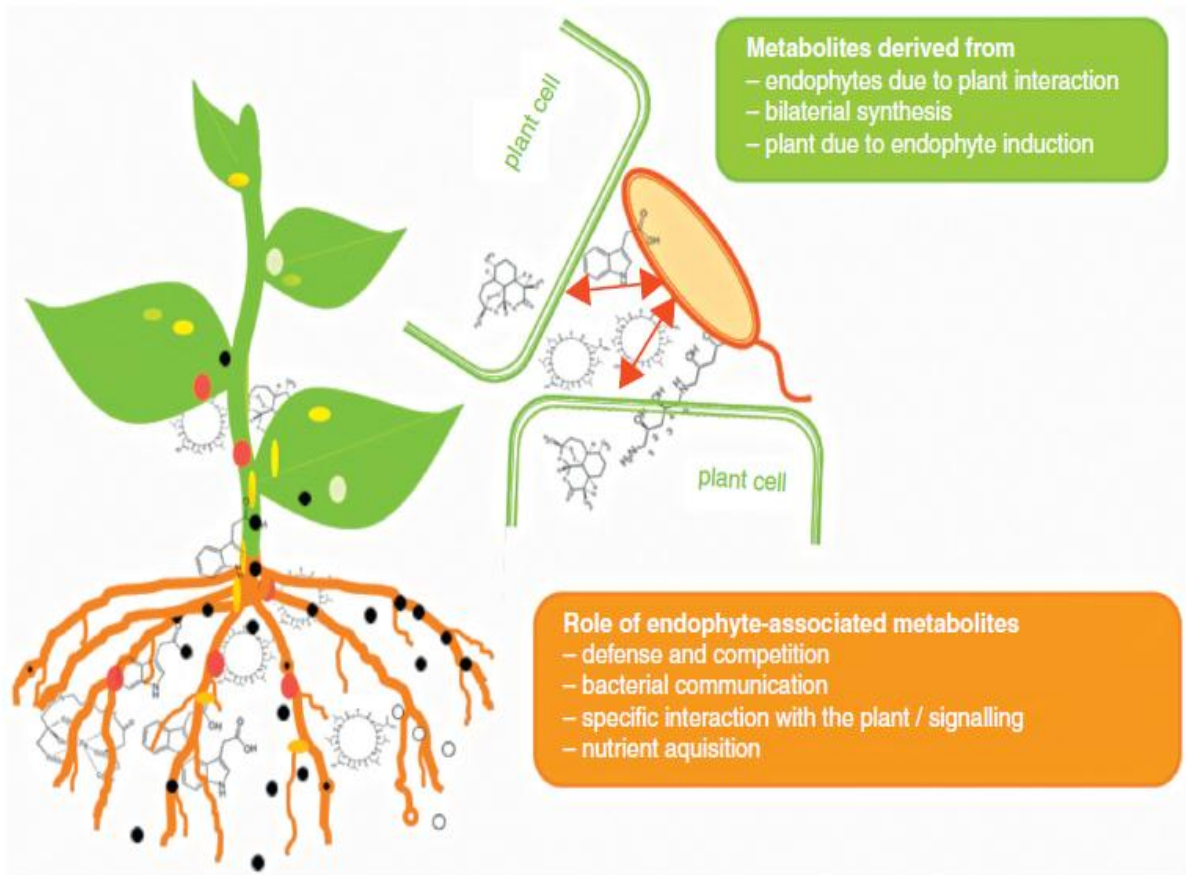


Figure 3 : Les différents types d'interactions plantes-microorganismes (Brader et *al.*, 2014).

2.3 La Bio-remédiation

Actuellement, les méthodes de remédiation qui sont appliquées pour dépolluer l'environnement (sol et eau) sont onéreuses et causent des dommages sur notre écosystème (Tsao, 2003). Des techniques naturelles de remédiation ont été développées pour mieux protéger l'environnement et à moindre coût. Ces méthodes utilisent des microorganismes pour dégrader des composés toxiques mais cette pratique présente de multiples défis si le microorganisme utilisé est anaérobie ce qui provoque la production de sous produits toxiques et persistants dans l'écosystème (Doty, 2008).

Certaines études décrivent l'importance de l'exploitation des associations endophytes-plantes pour améliorer la remédiation des composés toxiques et les métaux lourds présents dans le sol (Burken, 2003). En plus des effets bénéfiques connus des bactéries endophytes sur les plantes, elles sont considérées comme un potentiel biotechnologique pour l'amélioration de processus de phyto-remédiation. Des travaux ont rapporté que des bactéries endophytes

isolées à partir de *Nicotina tabaccum* réduisent les traces de Cadmium par l'augmentation des traces de Zinc et d'autres métaux lourds par les plantes (Figure 4) (Sheng *et al.*, 2008).

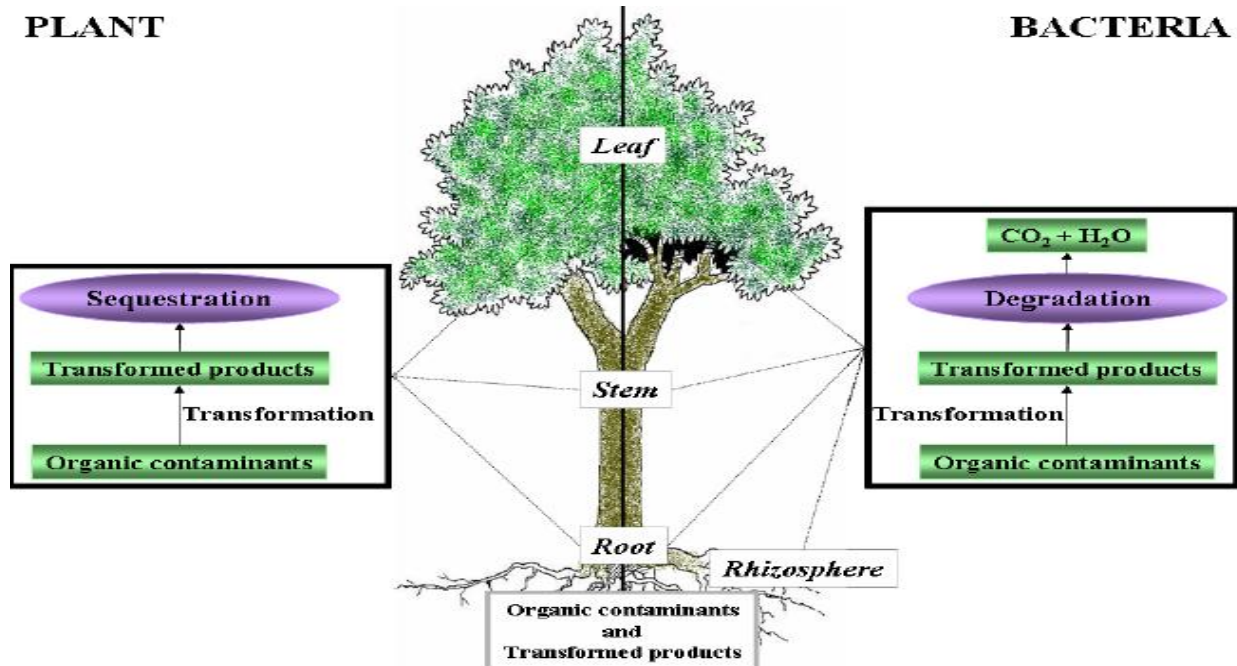


Figure 4 : Le processus des plantes et leurs bactéries associées dans la bio -remédiation des contaminants organiques (weyens *et al.*, 2010).

2.4 Les bactéries endophytes et tolérance de la salinité

Dans le monde entier, la salinité est considérée comme le plus sévère stress abiotique qui limite la croissance des cultures et la productivité. Plus de 20% des terres irriguées sont affectées par le sel avec 2500-5000 Km² d'aires de production perdues chaque année par la salinité (Nellemann, 2009). L'utilisation des terres salines devient une nécessité pour mettre l'équilibre entre l'offre et la demande de nourriture dans le monde et constitue l'une des stratégies la plus possibles pour aborder les effets de sels par l'exploitation des Bio-agents ou Bio-inoculants (Egamberdieva, 2012).

La recherche de nouvelles PGPR et endophytes compétentes ont mené à découvrir que certaines souches peuvent être aussi isolées à partir des environnements très hostiles comme les sols du désert et les sols salins et qui peuvent être utilisées pour l'amélioration des cultures dans ces mêmes contrées géographiques où le sel constitue un facteur limitant à la production agricole (Compant *et al.*, 2010).

Arora et *al.*,(2014) ont démontré que l'occurrence et la diversité des bactéries endophytiques cultivables à partir de quatre feuilles de différentes halophytes dominantes dans la région de Gujarat (Inde) peuvent être utilisées dans la dégradation des enzymes qui contrôlent les maladies des plantes ou la production des substances bioactives pour la croissance. Ces mêmes bactéries endophytes halophiles ont un potentiel de solubilisation du phosphore qui est utilisé dans la bio-remédiation des sols salins.

Dans une autre étude, il a été montré que la tolérance à la salinité par des bactéries endophytiques associées au Mango la culture végétale la plus sensible à la salinité dans le monde. La tolérance de cette espèce végétale est expliquée par l'existence des relations vigoureuses entre les capacités des rhizobactéries ce qui constitue « endophytic consensus » qui génère entre plusieurs souches des bactéries endophytes dont chacune ou bien plusieurs peuvent exprimer la promotion de croissance et la régulation dans des conditions extrêmes de sels (Kannan et *al.*, 2014).

2.4.1 Les mécanismes d'adaptation des bactéries endophytes halotolérantes

Les mécanismes qui permettent aux bactéries endophytes halotolérantes de survivre dans les milieux salins sont presque similaires avec tous les taxa (Ruppel et *al.*, 2013).

La construction membranaire

La première stratégie consiste à éviter la concentration élevée de sel dans le cytoplasme pour empêcher la perte d'eau « plasmolyse » (Upadhyay et *al.*, 2011). Des Rhizobactéries halotolérantes sécrètent massivement des exo-polysaccharides (capsulaires et polysaccharides) qui participent à la tolérance aux sels par un processus démontré par Yoshimura et *al.* (2012) sur les Cyanobactéries où la composition rationnelle des exo-polysaccharides est fortement changée sous le stress salin par la comparaison avec les conditions naturelles de la culture.

Pompage des ions à l'extérieur de la cellule « salting out »

Le pompage ionique est exploité dans la régulation intracellulaire et l'ajustement osmotique. Le gradient électrochimique est le conducteur de force pour le maintien d'une concentration faible de Na^+ dans l'espace intracellulaire par l'utilisation des anti-porteurs Na^+/H^+ (Oren, 2006). La fonction cruciale des ions transporteurs est le maintien de ratio-cytosolique K^+/Na^+ vis-à-vis le ratio K^+/Na^+ dans l'espace intracellulaire. K^+ est important cation monovalent à l'intérieur de la cellule qui permet l'augmentation énergétique membranaire, la régulation du pH, l'activité enzymatique et l'expression des gènes (Hagemann, 2011).

L'adaptation intracellulaire

Les bactéries halotolérantes activent plusieurs processus comme, la biosynthèse et l'accumulation des solutés compatibles. La synthèse des protéines et des enzymes adaptatives et l'acide aminé le plus connus chez les bactéries halotolérantes est Proline. La nature et le moment de biosynthèse de ces solutés compatibles dépend de la souche bactérienne, Ceylan et ses collaborateurs (2012), ont mesuré l'augmentation de proline et hydroxycétaine lorsque la salinité est élevée.

2.4.2 L'interaction des bactéries endophytes halotolérantes-plantes halophytes

Les effets bénéfiques des bactéries endophytes halotolérantes sont la fixation de l'azote, la production de phytohormones, l'apport de nutriments et la suppression des pathogènes (Hardoim *et al.*, 2008).

2.4.2.1 Effet nutritionnel de la plante

Les bactéries résidant dans les plantes halophytes sont connues pour la production des exo-polysaccharides (Bergmann *et al.*, 2009), la fixation atmosphérique de l'azote pour le mettre à la disposition de la plante pour les processus métaboliques et permettre un enrichissement de la plante par les substrats carbonés et azotés (Nabeel *et al.*, 2010). C'est ainsi que la présence du gène responsable de la fonction di-nitrogénase réductase est fréquemment utilisée pour l'identification des souches bénéfiques comme les bactéries endophytes isolées des racines de *Salicornia brachiata*, plante halophyte (Jha *et al.*, 2012). D'autres microorganismes hébergés par des plantes halophytes jouent le rôle de bio-fertilisants par leurs capacités de solubilisation du phosphore et la mobilisation les métaux pour une bonne croissance de plante (Vessey, 2003).

2.4.2.2 Statut hormonal de la plante

Le métabolisme hormonal des plantes et leurs précurseurs sont largement connus dans l'association plantes-microorganismes (Dodd *et al.*, 2010). La production des auxines par les bactéries endophytes halotolérantes, spécialement l'acide 3-indole acétique(AIA), est fréquemment impliquée dans la promotion de la croissance des plantes, par conséquent, elle constitue un outil important pour faire face au stress salin, cette dernière propriété a été décrite chez *Bacillus pumilus* et *Pseudomonas mendocina* (Tiwari *et al.*, 2011; Witzel *et al.* 2012). D'autres phytohormones telles que ; l'acide indole acétique, l'acide abscisique et les gibbérellines ont aussi été identifiées chez les endophytes halotolérantes isolées des plantes halophytes (Naz *et al.*, 2009).

2.4.2.3 Action d'anti-oxydation

Les plantes ont développé des outils dans le but de protéger la cellule contre les ROS (Réactifs Oxygène Spécifique) qui sont formés suite à un stress osmotique qui provoque l'oxydation des lipides membranaires, des protéines et de l'ADN. Les macromolécules sont protégées par des antioxydants enzymatiques comme : le superoxide dismutase, la catalase, et l'ascorbate peroxidase. Les travaux ont déterminé que le taux élevé des molécules antioxydantes enzymatiques produites par les bactéries, indiquent la diminution des degrés de stress salin chez les plantes (Anburaj et *al.*, 2012).

Matériel et méthodes

Le but de notre travail est de caractériser biochimiquement des bactéries endophytes isolées à partir des plantes halophytes de deux régions d'étude.

Cette étude est composée de quatre parties principales : la première concerne l'échantillonnage en plein champ et la collecte du matériel végétal et du sol environnant de deux régions salines. La deuxième partie est consacrée à l'isolement des bactéries endophytes à partir de diverses plantes identifiées ultérieurement. La troisième étape consiste à étudier les propriétés physico-chimiques des sols collectés et enfin, la dernière étape concerne l'identification physiologique et biochimique des isolats endophytes purifiés.

2.1 Présentation géographique et climatologique de deux stations étudiées

2.1.1 La parcelle de la région de Chlef

La plaine du Bas Chélif située à 220 km à l'ouest d'Alger s'étend d'Est en Ouest sur une cinquantaine de km de long et une superficie de plus de 400 km² (Douaoui *et al.*, 2004). C'est l'une des plus vastes plaines alluviales du quaternaire du sublittoral Ouest Algérien. Cette plaine comprise entre la latitude 35,750° - 36,125° N et la longitude 0,5°-1° E, se trouve à 35 km de la méditerranée à environ 70 m d'altitude.

En fait, c'est un synclinal qui est encadré au Nord par les collines du Dahra et au Sud par les collines de Ben Ziane. Celles-ci sont composées respectivement de marnes et de limons argileux ainsi que par des schistes et des marnes salées. La nature de ces sols explique la haute salinité de cette plaine (Ababou *et al.*, 2009). Le bassin versant de l'Oued Sly est situé dans la partie Sud Ouest du massif de l'Ouarsenis, ce dernier se situe dans la partie centrale de l'Algérie septentrionale à une distance d'environ 200 kms au Sud Ouest d'Alger. Le bassin s'étend sur une superficie de 1225 km. A travers ce bassin coulent plusieurs Oueds dont les plus importants : Oued Ardjem, Lag, Tamellahat et El Melah (Achite *et al.*, 2004).

L'autre particularité de cette plaine est inhérente à son climat semi-aride caractérisé par une température moyenne annuelle de 19,12° C, une faible pluviométrie annuelle (entre 200 à 300 mm) et une période récurrente de sécheresse de 7 mois (Mokhtari *et al.*, 2012). La pluie journalière maximale de ces dix dernières années est en moyenne de 25 mm pour les

mois de décembre et janvier, alors que la pluviosité moyenne sur ces deux mois est de 44 mm. Ces conditions pédoclimatiques accentuent le niveau de salinité (Douaoui et al., 2004).

La zone d'étude où nous avons réalisé l'échantillonnage est localisée au niveau de la commune de Oued Sly et plus précisément le village de Ouled Sidi Abed qui se situe dans la plaine du bas Chélif (Figure 5).

2.1.2 La parcelle de la région de Relizane

La Sebka de Ben Ziane est située dans le Nord-Ouest algérien à 125 km environ à l'Est d'Oran. La sebka et son environnement immédiat pris en considération dans cette étude, sont localisés dans la vaste plaine du Chélif-Mina à une dizaine de kilomètres vers le Nord-est de Relizane à 280 km de Alger. La Plaine de la Mina d'une superficie de 900 km² environ est située à une centaine de kilomètres à l'Est d'Oran. Cette Plaine d'altitude moyenne de 80 m, consiste en une portion subsistante du bassin du Bas-Chélif. Cette zone est localisée principalement dans la commune d'Oued Djemaa (Boualla, 2011).

Le climat de la région est chaud et sec en été et frais et pluvieux en hiver. La pluviométrie moyenne a été estimée à 211 millimètres/an au cours de la dernière décennie. Dans cette région où les valeurs moyennes de la hauteur de pluie et de l'évaporation sont respectivement de 335 et 1063 mm, les ressources en eaux souterraines sont relativement faibles. La salure des eaux est liée aux conditions propres des nappes superficielles et aux facteurs climatiques (Boualla, 2005).

La zone d'étude se situe dans la commune d'Oued Djemaa qui appartient à la Daïra d'El Hmadna localisée dans la plaine de Mina. Dans la sebka de Ben Ziane et plus précisément le village de Terik El Melh, nous avons réalisé notre échantillonnage (Figure 5).



Figure 5 : Localisation géographique de la station de Relizane et de Chlef

(Google earth, 2014).

2.2 Méthode d'échantillonnage

Nous avons réalisé l'échantillonnage en plein champ en suivant le protocole de Dagnelie (2003). Le choix de ces deux stations est justifié par la thématique de notre étude.

Concernant la station de Chlef (Oued Sly), nous avons réalisé notre échantillonnage au niveau des drains autour des vergers d'agrumes et d'oliviers. Un tracé d'une surface de 1m^2 sur une diagonale a été suivi pour collecter les plantes localisées sur ce même transect. Nous avons collecté des plantes entières qui ont été mises dans des gobelets afin de les garder vivantes. Parallèlement, nous avons échantillonné des plantes dominantes dans la surface de départ pour les identifier (herbier). De la même manière, un volume de sol a été collecté pour des analyses ultérieures. Les deux échantillons ont été conservés pour éviter leur déshydratation dans des sacs en plastique préalablement étiquetés (la date de prélèvement et la station).

Concernant la station de Relizane (Oued el Djemaa), nous avons réalisé l'échantillonnage au niveau de la sebkha Terik El Melh près de l'usine ENASEL, et selon le même protocole que celui décrit pour la station de Chlef.

Nous avons effectué notre collecte d'échantillons de matériel végétal et du sol la seconde semaine du mois de février 2014.

2.3 Détermination des caractéristiques physico-chimiques du sol

Concernant les analyses du sol, elles ont été élaborées au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure d'Hydraulique de Soumaa, Blida. A cet effet, deux laboratoires nous ont été gracieusement favorables pour les analyses physico-chimiques réalisées dans ce travail.

L'analyse granulométrique a été réalisée au laboratoire de mécanique des sols, cependant, la conductivité électrique, la mesure du pH, le dosage du calcaire total ont été réalisés dans le laboratoire d'agro-pédologie.

2.3.1 Préparation des échantillons

Au niveau du laboratoire, l'échantillon est tamisé à travers un tamis mécanique de 2 mm puis laissé à sécher à l'air libre à température ambiante pendant une semaine. Il servira à la réalisation de différents tests pour la caractérisation physico-chimique des sols à étudier

2.3.1.1 Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique ou mécanique consiste à séparer la partie minérale du sol en catégories classées selon les dimensions des particules minérales inférieures à 2 mm et à déterminer les proportions relatives de ces catégories en pourcentage de la masse du sol minéral (Bouafia, 2002).

Tous d'abord, nous avons choisi une série de tamis (9 tamis) dont le diamètre des mailles varie de 2 mm à 0.08 mm et ensuite nous avons pesé les tamis vides. Un poids de sol de 300g a été préalablement préparé et versé sur une série des tamis puis le tout est placé sur une tamiseuse électrique pendant 15 mn.

La seconde étape consiste à calculer les coefficients d'uniformité de classement et de courbure si le tamis de fond est vide, sinon nous devons passer au test de granulométrie par sédimentation.

Le Coefficient d'uniformité étant le rapport entre le diamètre qui laisse passer 60% des particules et celui qui laisse passer 10% : $C_u = d_{60}/d_{10}$. L'uniformité de la courbe granulométrique est déterminée par rapport à la référence suivante : $C_u < 2$, la granulométrie est dite uniforme, si c'est le contraire la granulométrie est dite variée (Bouafia, 2002).

Le Coefficient de classement est le rapport entre le diamètre qui laisse passer 75% des particules et celui qui laisse passer 25% : $U_c = d_{75}/d_{25}$, ce coefficient est un indice de variation relative de la pente de la courbe granulométrique.

Le Coefficient de courbure permet de décrire la forme de la courbe granulométrique entre les diamètres d_{10} , d_{60} : $C_c = d_{30}^2 / (d_{60} \times d_{10})$ (Boutelli, 2012).

Concernant notre cas, nous avons utilisée la méthode d'analyse granulométrique par tamisage car, plus de 50% des particules sont retenues sur le tamis (80 μ m). Nous avons calculé tous ces coefficients pour tracer le courbe granulométrique.

Les résultats d'une analyse granulométrique par tamisage se présentent sous forme d'une courbe où la pente moyenne de la courbe permet en outre de caractériser le degré d'uniformité et de taille de l'élément minéral du sol (Boutelli, 2012).

2.3.2.2 Conductivité électrique (C_E)

La C_E permet de déterminer la salinité d'un sol. Elle s'effectue à partir de l'extrait du sol dilué au 1/5 dans l'eau distillée en homogénéisant 10g de sol/ 50 ml H₂O pour obtenir une pate saturée. Après agitation pendant 30 min et décantation, la C_E de l'extrait est mesurée à l'aide d'un salinomètre (conductimètre). Les résultats sont exprimés en μ S/cm (Benzellat, 2012). Par la suite, nous avons classé notre valeur dans l'échelle de salinité déterminée par Aubert, (1986).

2.3.3.3 Mesure du pH (potentiel hydrogène)

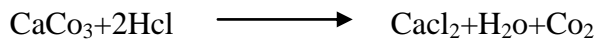
La valeur du pH eau (acidité effective) et du pH KCl (acidité de réserve) des échantillons de sol des deux stations étudiées ont été obtenues par la méthode électrométrique au pH-mètre avec une électrode en verre. La détermination des différents pH a été réalisée sur des prises différentes dans un rapport sol/solution 1/2,5 et en triplicatas.

Le protocole adopté est le suivant: dans un bécher, 10g de sol sec (<2 mm) sont ajoutés à 25ml soit d'eau ultra pure soit du KCl (1N) puis agités pendant une heure. Après avoir laissé reposer pendant 2h, la mesure des pH est effectuée dans le surnageant. Le pH est le logarithme de l'inverse de la concentration des H⁺ dans une solution : $pH = - \log [H^+] = \log 1/[H^+]$ (Mathieu et Pieltain, 2003).

2.3.4.4 Dosage du calcaire total

Le calcaire est connu principalement sous sa forme de carbonate de calcium CaCO_3 il est l'un des minéraux les plus répandus dans l'écorce terrestre. Il est constitué des roches grenues à grands, moyens et fins grains et réagit vivement à l'action des acides (Boutelli, 2012).

Un test très rapide sur le terrain est effectué avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (1/3) sur la terre. Le principe de ce test à l'aide du calcimètre de BERNARD consiste à la décomposition du carbonate de calcium (CaCO_3) par l'acide chlorhydrique (Hcl) (Benzellat, 2012).



On mesure le volume de CO_2 obtenu et on calcule le poids en appliquant la relation mathématique : % $\text{CaCO}_3 = 100 \times 0.3 / V \times P$ (Boutelli, 2012).

V : correspond au volume de CO_2 dégager par 0.3g de CaCO_3 .






P : prise d'essai (g).

V : correspond à X g de CaCO_3 .

2.4 Matériel végétal et détermination des espèces étudiées

Les plantes halophytes de différentes familles botaniques collectées de deux stations (Chlef et Relizane) utilisées dans cette étude, ont été gracieusement déterminées par Mme Briki F. (Enseignante de Botanique, Département des Biotechnologies). Cependant, du fait que les plantes échantillonnées étaient à l'état jeune, nous n'avons pu déterminer que la famille botanique et quelques fois le genre. Le nombre de plantes halophytes collectées est de 12 plantes : 4 plantes de la station de Relizane, 8 plantes de la station de Chlef. Pour la suite des tests microbiologiques, notre choix a porté sur 2 espèces végétales de la station de Chlef et 3 de la station de Relizane. Les 5 plantes choisies sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Plantes halophytes étudiées (Quezel et Santa, 1936).

Famille botanique	Genre	
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Salicornia</i> sp.	
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Suaeda</i> sp.	
<i>Asteraceae</i>	<i>Chrysanthemum</i> sp.	
<i>Scrofulariaceae</i>	<i>Linaria</i> sp.	
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Eurphorbia</i> sp.	

2.5 Isolement des bactéries endophytes

Les plantes entières sont traitées juste après leur arrachage. Un prélavage du matériel végétal est effectué à l'eau courante du robinet pour les débarrasser des débris. Par la suite, une opération de séparation des parties aériennes et des parties souterraines est effectuée. Les différentes parties sont étiquetées pour éviter les confusions possibles. Nous avons suivi le protocole de Long (2003).

2.5.1 Méthodologies d'isolement

Préparation et désinfection des échantillons de matériel végétal

Préalablement à l'étape d'isolement, nous avons effectué des pesées des échantillons de 1g pour permettre un prélèvement équivalent des différentes parties (partie racinaire et aérienne).

L'étape d'isolement s'est réalisée comme suit :

Après séparation et prélavage de nos échantillons, nous avons procédé à une désinfection superficielle pour éliminer tout organisme saprophyte. Une désinfection des échantillons par l'hypochlorite de calcium à 3% durant 5 mn, suivie de trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Les séchages des différents échantillons désinfectés ont été fait sur du papier Whatman stérile. La manipulation du matériel végétal s'est faite dans des conditions d'aseptie strictes et a nécessité l'utilisation de bistouris, pinces, et des boites de pétri en verre stériles.

Broyage et macération

Les tissus végétaux préalablement désinfectés sont découpés et dilacérés dans 2 ml d'eau distillée stérile. Les échantillons devenant mous, libèrent leur contenu cellulaire et principalement les organismes endophytes (Ravikumar et *al.*, 2010). Un temps de macération de 20 à 30 mn à la température ambiante est par la suite appliqué afin de laisser les endophytes diffuser dans le solvant utilisé. A la fin de l'opération de macération, nous obtenons une solution, dans notre cas; considérée comme la solution mère des échantillons qui subira par la suite des dilutions au dixième par la méthode dite des suspensions-dilutions (Long *et al.*, 2003).

Ensemencement et l'étalement

Pour l'ensemencement, nous avons effectué trois dilutions sur la solution mère obtenue (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) par la technique d'ensemencement en nappe et l'étalement à l'aide

de billes en verre stériles. Une agitation par des mouvements horizontaux permet de disperser d'une manière homogène le volume étalé sur la surface du milieu de culture. Les boîtes de pétri préalablement étiquetées sont par la suite incubées pendant une semaine à 28°C avant la lecture des résultats.

2.5.2 Les milieux de culture

Le milieu de culture utilisé est celui préconisé par Luria Bertani, c'est un milieu enrichi en sels (Sambrook *et al.*, 1989). Dans notre cas, nous avons choisi deux concentrations de NaCl pour se rapprocher du taux du sel dans les sols étudiés. Le premier gradient de salinité est de 100 mM ; c'est l'équivalent de 5.8 g/l et le deuxième gradient est de 200 mM qui équivaut à 11.7 g/l (Kamilova *et al.*, 2005).

2.5.3 Dénombrement des isolats endophytes

Après une semaine d'incubation, un comptage des colonies bactériennes a été effectué afin de calculer le pourcentage de présence de chaque colonie (fréquence et dominance) dans les deux concentrations de milieux de culture utilisés. La limite de quantification étant située entre 30 et 300. Les boîtes dont le nombre de colonies est inférieur à 30 ou supérieur à 300 ne sont pas considérées (Koch, 1881). Le calcul s'effectue à l'aide d'une équation générale $UFC/ml = \text{nombre de colonies dénombrées} / \text{volume d'échantillon analysé en ml}$. Une description macroscopique préliminaire de ces colonies bactériennes a été préalablement effectuée. La description a pris en considération la forme des colonies, leur couleur, leur aspect, l'élévation et leurs dimensions (diamètre) après une semaine d'incubation.

2.5.4 Purification

Suite au repérage des colonies bactériennes endophytes isolées, nous effectuons des purifications sur le milieu LB. Avant l'opération d'ensemencement, les isolats sont dilués dans de l'eau distillée stérile (2 ml) pour disperser les bactéries et par conséquent, nous permettre d'avoir des colonies isolées après incubation. La purification est réalisée par épuisement sectoriel. Après purification, les boîtes sont incubées durant 72h à 28°C, dans certains cas, l'opération de purification nécessite des re-purifications successives. Après obtention de clones purs, les souches sont étiquetées et conservées à 4°C sur milieu LB en tubes de gélose inclinée.

2.5.5 Tests d'identification préliminaire des bactéries endophytes

2.5.5.1 La coloration de Gram

La mise en évidence du type de paroi des bactéries a été réalisée selon la méthode dite de la coloration de Gram décrite par Hildbrand (Hildbrand et *al.*, 1988). La fixation de la bactérie à tester se réalise à la chaleur et en présence d'une goutte d'eau distillée stérile, c'est l'étape de préparation du frottis par étalement d'une culture bactérienne âgée de 24h sur une lame.

Le frottis ainsi fixé est d'abord coloré au violet de gentiane pendant 5 mn suivi par l'application d'une solution de lugol pendant 5 mn. La décoloration est ensuite effectuée par un lavage à l'alcool des lames jusqu'à la disparition de la couleur violette pendant 10 mn. Après un lavage abondant avec un jet d'eau distillée stérile, le frottis subit une deuxième coloration à l'aide d'une solution de fuschine basique pendant 5mn.

On réalise ensuite une observation microscopique des frottis après un lavage à l'eau et un séchage au dessus de la flamme d'un bec bunsen (Hildbrand et *al.*, 1988). Elle permet de distinguer nettement les bactéries en deux groupes : Celles qui gardent la coloration violette après lavage à l'alcool, ce sont les Gram positif et celles qui sont totalement décolorées par lavage à l'alcool ce sont les Gram négatif ; elles apparaissent colorées en rose.

2.5.5.2 Le test de recherche de l'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase. Une culture bactérienne âgée de 24h est déposée à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur un papier filtre stérile imprégné d'une solution aqueuse à 1% de Tetramethyl paraphenylene diamine dihydrochloride (Dickey et Kelman ., 1988). Une réaction positive se traduit par le développement d'une coloration violette en moins de 10 secondes et indique la présence de l'enzyme oxydase (Kovacs., 1956).

2.5.5.3 Le test de recherche de la catalase

Le test sert à déterminer si la bactérie possède l'enzyme catalase qui permet de réduire le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Une goutte de peroxyde d'hydrogène (3%) est déposée sur une lame à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les isolats bactériens âgés de 24 h sont déposés dans la solution de peroxyde d'hydrogène.

Après 2 mn, la présence de bulles d'air révèle le dégagement d'oxygène et par conséquent une réaction positive (Dickey et Kelman ., 1988).

2.5.5.4 Tests de la croissance bactérienne à différentes concentrations de NaCl

La croissance à différentes concentrations de sel est déterminée en milieu de culture LB avec 0, 3, 8, 15, 20, 25 et 32 % de NaCl. Les tubes sontensemencés et incubés à 28°C pendant 48 heures. L'évaluation de la croissance des isolats testés à différentes concentrations de sel est basée sur l'observation visuelle. Le résultat est positif si une croissance bactérienne est visible après 2 jours (Kaaria et *al.*, 2012).

2.5.5.5 Tests de la croissance bactérienne à différents de pH

Le niveau de pH de croissance est déterminé en milieu de culture LB où nous avons ajusté le pH à 4, 5, 7, 9 et 11 par des tampons HCl ou le KOH. Les tubes sont incubés à 30°C pendant 48 heures, un résultat est répertorié positif, si la croissance est visible après 2 jours (Anbu Rajan, 2010).

2.5.5.6 Tests de la croissance à différentes températures

Le niveau de croissance à une gamme de températures est déterminé en milieu de culture LB avec les deux concentrations du sel utilisées dans les étapes précédentes. Une série de températures d'incubation (15, 30 et 45°C) sont appliquées aux différents tubesensemencés avec les cultures bactériennes, puis incubés pendant 48 heures, un résultat est considéré comme positif si la croissance est visible après 2 jours (Kaaria et *al.*, 2012).

2.5.6 Analyse statistique des résultats





Les résultats des isollements des bactéries endophytes à partir des plantes halophytes ont subi une analyse de la variance pour déterminer leur signification à un taux de probabilité ($\alpha= 0,005$).

Résultats et Interprétations







3.1 Les plantes halophytes

Les plantes halophytes dominantes des deux parcelles étudiées appartiennent aux genres suivants ; *Euphorbia* sp., *Linaria* sp., *Salicornia* sp., *Suaeda* sp. et *Chrysanthemum* sp. (Tableau 3).

Tableau 3 : Les plantes halophytes identifiées

Stations	Plantes halophytes	Images
Chlef (Drain D'Oued Sly)	<i>Oxalis corniculata</i>	
	<i>Fumaria</i> sp.	
	<i>Geranium</i> sp.	
	Espèce appartenant à la famille des <i>Asteraceae</i>	

Résultats et Interprétations

	<p>Espèce appartenant à la famille des <i>Asteraceae</i></p>	
	<p><i>Linaria</i> sp.</p>	
	<p><i>Euphorbia</i> sp.</p>	
<p>Relizane (Oued el Djemaa)</p>	<p><i>Salicornia</i> sp.</p>	
	<p><i>Suaeda</i> sp.</p>	
	<p><i>Chrysanthemum</i> sp.</p>	

3.2 Caractérisation physico-chimique des sols des deux parcelles étudiées

3.2.1 L'analyse granulométrique

L'appréciation tactile sur le terrain révèle que le sol de la parcelle de la station de Oued Sly est de couleur noire claire, de texture limono-sableuse et avec la présence de taches blanchâtres. Le sol de la parcelle de la station de Relizane est de couleur jaune, de texture sableuse et il contient une forte proportion des cristaux de gypse. Cependant, l'analyse granulométrique par tamisage ne confirme pas l'appréciation tactile mais indique la texture sableuse dans les deux parcelles étudiées (Figure 6).

3.2.2 Dosage du calcaire

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 4. Selon Boischot et Hébert, (1947), un sol classé normal si le calcaire total est $\leq 5\%$, moyennement calcaire entre 5-20% ou très calcaire $\geq 50\%$. Selon ce classement, dans les deux parcelles étudiées les sols sont calcaires.

3.2.3 Détermination du pH et de conductivité électrique(C_E)

Concernant la conductivité électrique, nous avons comparé nos résultats avec l'échelle d'Aubert (1986) qui indique que le sol est considéré comme salin si C_E est $> 4000 \mu\text{S}/\text{cm}$, dans notre cas, nous sommes en présence de deux taux de sel, le sol de la station de Chlef est moyennement salin avec 1,49 g/l par contre le sol de la station de Relizane est salin avec 4.30 g/l.

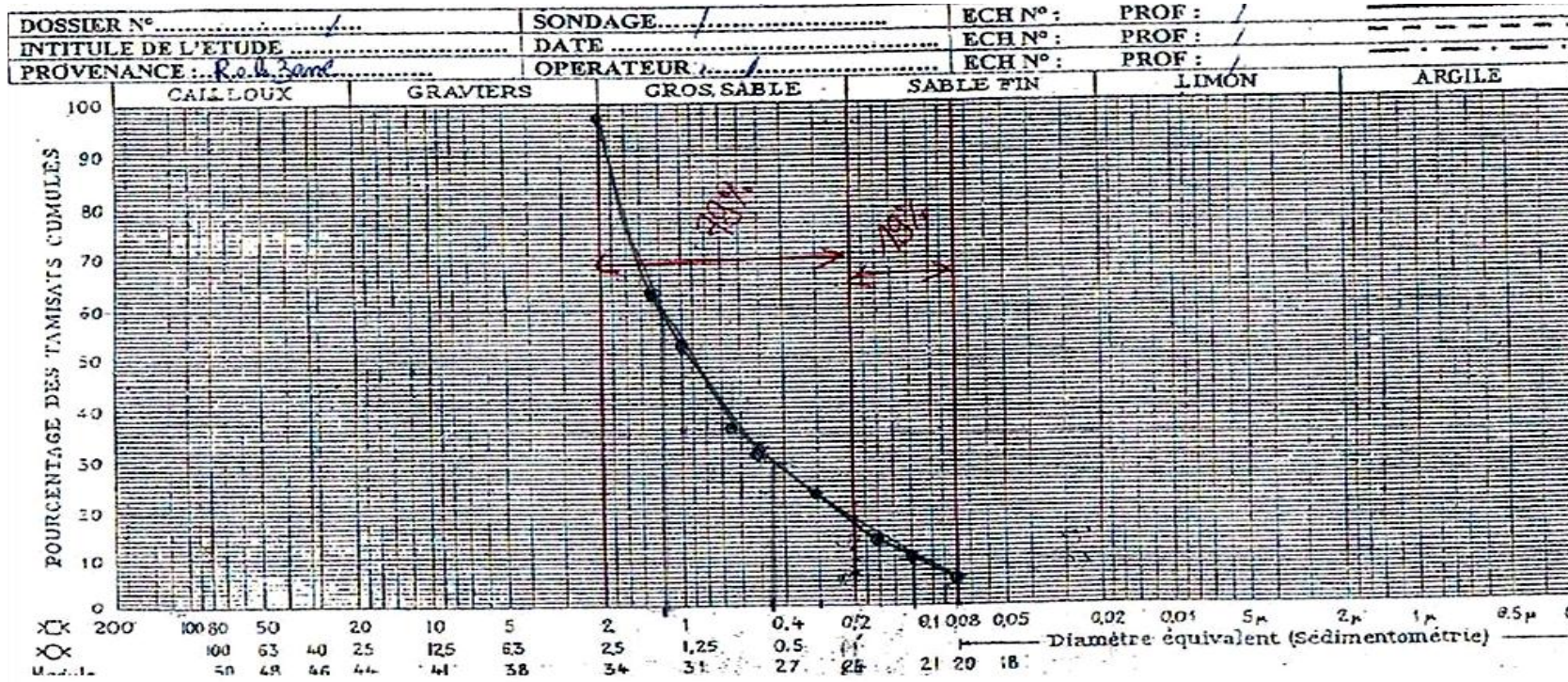
Concernant les résultats du pH de nos échantillons, nous pouvons conclure qu'ils sont significatifs et concordants avec la majorité des sols salés, car ils présentent une gamme de variation du pH entre 7 et 9 (Bongoua, 2009).

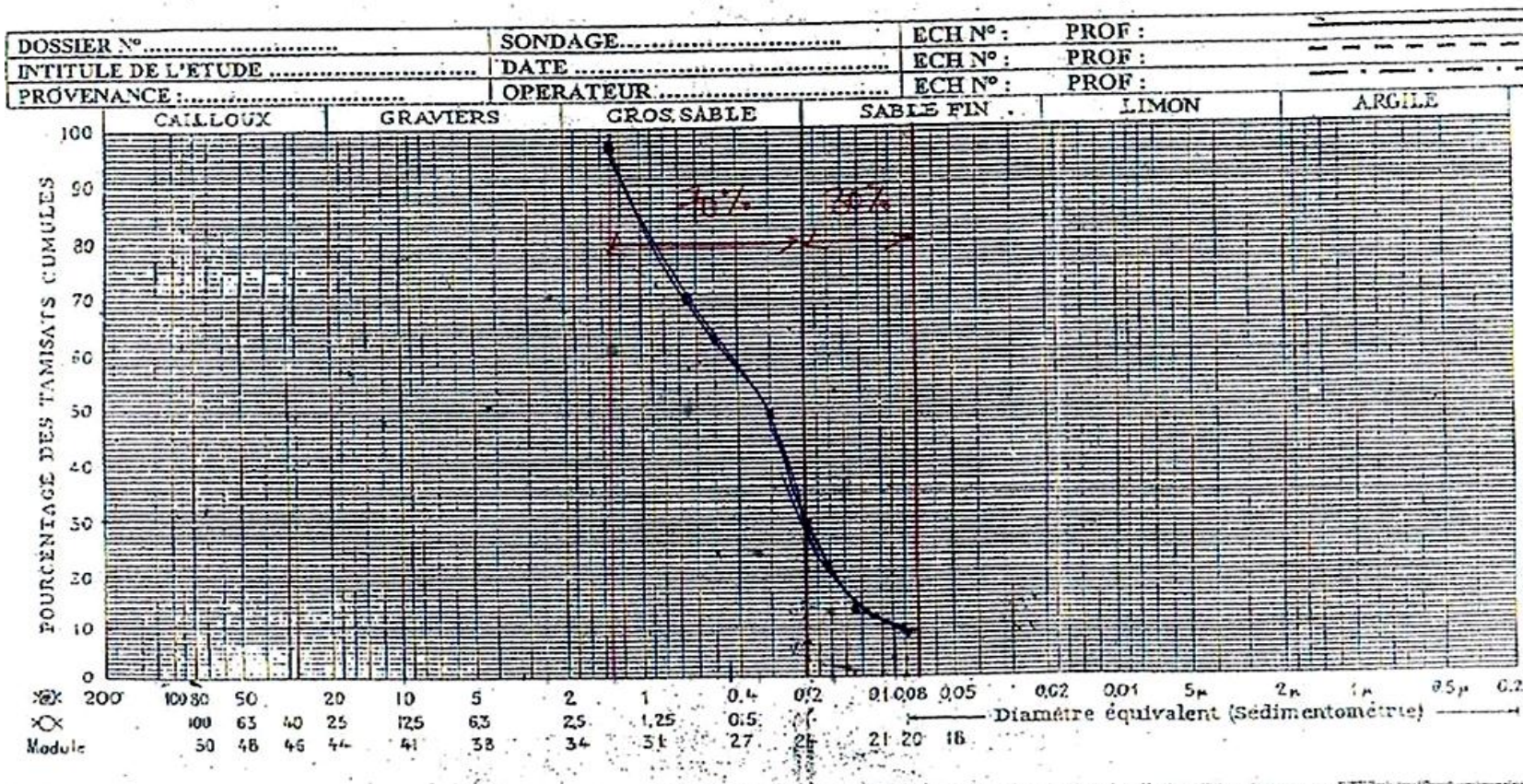
Les résultats de la caractérisation physico-chimique des parcelles étudiées sont présentés dans le tableau 4 ci dessous.

Tableau 4 : Caractérisation physico-chimique des parcelles étudiées.

Parcelle	La texture	Calcaire (%)	pH	Conductivité électrique ($\mu\text{S}/\text{Cm}$, 25°C)
Oued sly	Sableuse (sable mal gradué)	22.36 Sol calcaire	8.16 Sol alcalin	2230 Sol moyennement salin
Oued el djemaa	Sableuse (Sable bien gradué)	27.83 Sol calcaire	8.05 Sol alcalin	6720 Sol salin

A





B

A : La station de Relizane

B : La station de Chlef

Figure 6 : Les courbes granulométriques de deux stations étudiées.

3.3 Analyses microbiologiques

3.3.1 Dénombrement et comparaison des densités des bactéries endophytes isolées par compartiment et par milieu d'isolement

Après une analyse microbiologique des échantillons végétaux, la distribution des bactéries isolées au niveau des différentes parties de la plante s'est révélée très homogène. Nous n'avons pas enregistré une variabilité de la densité des bactéries endophytes isolées en fonction de l'organe d'isolement (partie aérienne/ partie racinaire). En effet, la densité bactérienne au niveau des racines est sensiblement la même comparée aux parties aériennes.

Par ailleurs, nous n'avons pas remarqué de différences au niveau de la population totale de la microflore par rapport aux milieux de culture d'isolement. C'est ainsi que la densité bactérienne est de moyenne 3.10^5 CFU/g dans le milieu de culture enrichi en sel de concentration 11.7 g/l et celle du milieu de culture à faible concentration de NaCl, elle est de moyenne 2.10^5 CFU/g (Tableau 5).

3.3.2 Caractérisation macroscopique des isolats obtenus

L'observation des caractères cultureux des colonies bactériennes obtenues selon la taille, la forme, l'allure, le relief, l'opacité, la couleur et l'aspect a permis d'identifier un total de 53 isolats. La caractérisation macroscopique des colonies a montré une grande diversité morphologique au sein des 53 isolats bactériens analysés. Nous avons constaté des colonies bactériennes qui dont l'allure va du régulier à l'irrégulier, certaines colonies sont plates alors que d'autres sont convexes ou concaves, elles peuvent présenter un aspect lisse ou rugueux, de consistance homogène pour la plupart. Le diamètre des colonies varie de 1 à 8 mm, nous retrouvons des colonies de couleur blanche, crème, d'autres sont jaunes, oranges et marrons.

Tableau 5 : La densité bactérienne en fonction des compartiments de la plante et selon le milieu de culture des isolats bactériens obtenus (CFU/g de tissu végétal).

Provenance			Milieu de culture			
			5.8 g/l de NaCl		11.7 g/l de NaCl	
			Dilutions			
			10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}
Oued Sly	CLi	PR	1.10^5	2.10^5	1.10^5	1.10^5
		PA	ND	$0,7.10^5$	3.10^5	$0,4.10^5$
	CEu	PR	ND	ND	ND	ND
		PA	ND	ND	ND	ND
Oued el Djemaa	RSa	PR	ND	$0.9.10^5$	ND	1.10^5
		PA	ND	ND	ND	ND
	RSu	PR	ND	1.10^5	ND	ND
		PA	ND	ND	ND	ND
	RCh	PR	2.10^5	1.10^5	2.10^5	1.10^5
		PA	$0,5.10^5$	$0,4.10^5$	$0,06.10^5$	$0,4.10^5$

PR : Partie Racinaire, **PA :** Partie Aérienne, **Sa :** *Salicornia* sp., **Su :** *Suaeda* sp., **Ch :** *Chrysanthemum* sp., **Li :** *Linaria* sp., **Eu :** *Euphorbia* sp., **ND :** Non Déterminé (le nombre total de colonie bactérienne est > 300).

Les résultats sont exprimés en CFU/g de sol.

3.3.3 Caractérisation biochimique et physiologique

3.3.3.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram est réalisée afin de pouvoir déterminer les isolats bactériens qui appartiennent au groupe de Gram positif et le groupe de Gram négatif. Les bactéries à Gram positif gardent une coloration violette après la décoloration à l'alcool, dans notre expérimentation 19 isolats appartenant au Gram positif. Cependant, 34 isolats appartiennent au groupe des Gram négatif.

L'examen microscopique des isolats après examen à l'aide d'un microscope photonique en utilisant de l'huile à immersion et avec un agrandissement (x100), nous a permis d'observer la coloration des bactéries.

Les fréquences des différents types bactériens isolés calculés par rapport à leur dominance sur les autres colonies montrent une grande diversité au sein des isolats bactériens obtenus par rapport au milieu de culture et l'espèce végétale étudiée. Certains isolats sont très dominants dans la boîte de Pétri considérée comme par exemple ; HEur17 avec 90%, HSaa2 82% et LSur3 75%. Le choix des isolats pour l'identification biochimique et physiologique ultérieurs est en fonction de leurs fréquences d'apparition sur la boîte d'isolement.

Tableau 6 : Les résultats de la coloration de Gram des isolats.

Gram +	Gram-
HSaa2, HSaa7, HSaa9, HLia10, HSar12, HEur17, HEua19, HChr 24, HChr26, LLir27, LSar31, LSaa32, LSaa35, LEur41, LCha46, LCha47, LCha48, LCha 49, LSua44.	HSar1, HSar3, HLir4, HLir5, HSaa6, HSaa8, HLir11, HSar13, HSua14, HSua15, HEua16, HSur18, HEua20, HCha21, Chcr22, HChr23, HChr25, LLir28, LLir29, LSar30, LSaa33, LSaa34, LSaa36, LSur37, LSur38, LSu39, LEur40, LEur42, LEua43, LChr45, HSua50, HSur51, HSur52, HCha53.
19 isolats	34 isolats

Sa : *Salicornia* sp., **Su :** *Suaeda* sp., **Ch :** *Chrysanthemum* sp., **Li :** *Linaria* sp., **Eu :** *Euphorbia* sp., **H :** milieu de culture concentré en sel, **L :** milieu de culture faiblement concentré en sel. **a :** partie aérienne, **r :** partie racinaire.

3.3.3.2 Analyses biochimiques et physiologiques

➤ Réponses aux tests biochimiques

Les résultats préliminaires des tests biochimiques communs testés (oxydase et catalase) énoncent que nous sommes en présence des bactéries endophytes appartenant à trois types de réponses biochimiques. L'ensemble des bactéries à Gram+ sont toutes catalase positives. Cependant, nous constatons deux types de réponses au test oxydase dans le cas des Gram - , permettant de les regrouper dans deux groupes ; le groupe 1 est constitué de 20 isolats catalase et oxydase positives et le groupe 2 catalase positive et oxydase négative.

Tableau 7 : Caractérisations biochimiques des isolats obtenus.

Gram +	Gram -	
Oxydase + Catalase +	Oxydase + Catalase +	Oxydase - Catalase +
HSaa2, HSaa7, HSaa9, HLia10, HSar12, HEur17, HEua19, HChr 24, HChr26, LLir27, LSar31, LSaa32, LSaa35, LEur41, LCha46, LCha47, LCha48, LCha 49, LSua44.	HSar1, HSar3, HLir4, HLir5, HSaa6, HSaa8, HLir11, HSar13, HSua14, HSua15, HEua16, HCha21, Chcr22, HChr23, LSar30, LSaa33, LSaa36, LEua43, HSua50, HSur52.	HSaa6, HSaa8, HSua15, HSur18, HEua20, HChr25, LLir28, LLir29, LSaa34, LSur37, LSur38, LSu39, LEur42, LChr45, HSur51, HCha53.
19 isolats	20 isolats	14isolats

Sa : *Salicornia* sp., **Su** : *Suaeda* sp., **Ch** : *Chrysanthemum* sp., **Li** : *Linaria* sp., **Eu** : *Euphorbia* sp., **H** : milieu de culture concentré en sel, **L** : milieu de culture faiblement concentré en sel. **a** : partie aérienne, **r** : partie racinaire.

➤ Réponses aux tests physiologiques

Nous avons constaté une variabilité des résultats des tests physiologiques au sein des isolats bactériens testés. Le résultat de la croissance dans les trois tests physiologiques est sous forme de trouble dans le tube à essai et en comparant avec un témoin négatif.

Pour mieux interpréter les résultats des tests physiologiques, nous avons étudié les résultats de chaque test appart. Concernant, le test de la croissance à différentes concentrations de NaCl, la majorité des isolats endophytes testés sont adaptés aux

concentrations suivantes 0, 3, 8, 15, jusqu'à 20 %. Cependant, nous notons une minorité des isolats endophytes tolérant les concentrations de 25 et 32 % de NaCl.

Concernant les résultats du test de pH, la plupart des isolats endophytes testés tolèrent les différents taux de pH analysés. Cependant, les résultats du test des températures sont hétérogènes environ 48 isolats endophytes présentent la capacité de croître à 30°C, et 33 isolats survivent à 45°C (annexe).

➤ **Profils biochimiques et physiologiques des isolats bactériens endophytes**

Nous avons regroupé nos isolats bactériens endophytes testés selon leurs réponses biochimiques et physiologiques ce qui permet de les classer en profils biochimiques et physiologiques. Pour cela, nous avons distingué 15 profils où les réponses se rapprochent.

Le nombre des profils biochimiques et physiologiques distingués justifié la diversité morphologiques des isolats bactériens obtenus et le choix des bactéries endophytes identifiées (tableau 8).

Tableau 8: Réponses biochimiques et physiologiques des isolats bactériens endophytes des plantes halophytes analysées.

Profil	Isolats	Gram	Oxydase	Catalase	NaCl %							pH					T °C		
					0	3	8	15	20	25	32	4	5	7	9	11	15	30	45
P1	HSaa2, LEur41, LCha48	+	+	+	+	+	v-	+	v-	-	-	+	+	+	+	+	+	v-	v-
P2	LChaa46, HChr24, HChr26	+	+	+	-	v-	+	+	+	v+	-	v+	+	+	+	+	+	+	+
P3	HSaa7, HLir10, HSar12, LLir27, LCha49	+	v+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	v-	v-	+	+
P4	HSaa9, LSar31, LSaa32, LSaa35, LCha47	+	v-	+	v+	v+	v+	+	+	v+	v-	+	+	+	+	v-	v-	+	+
P5	HEur17, HEua19, LSua44	+	+	+	+	v+	+	+	v+	-	-	v+	v+	-	+	v+	v-	+	+
P6	HSar1, HLir4, HSua14, HEua16, HEua20, HCha21, HChr22, HChr23	-	v+	+	+	v+	v+	v+	v-	-	-	v-	v+	-	v+	+	v-	+	+
P7	HSar3, HSar13	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
P8	HLir5, LSar30, LSaa33, LEua43	-	+	+	v+	v-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	v-	v-	+	+
P9	HSaa6, HSaa8, HSua15	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	v+	v+	v+	+	v+	v+	-	-
P10	HLir11, LLir29, HSaa50, HSur52	-	+	v+	v+	v+	v+	v+	+	v-	-	+	+	+	+	+	-	v-	v-
P11	HEur25, LLir28, LSaa34, LSur37	-	-	+	+	-	v-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	v+	+	+
P12	LEur40, LEur42, LChr45	-	-	+	+	v-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	v+	+	+
P13	HSur51, HCha53	-	-	+	+	v-	v-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	v+	+	+
P14	LSur38	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P15	LSur39	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

V+ : variable tend vers +, V- : variable tend vers -. **Sa** : *Salicornia* sp., **Su** : *Suaeda* sp., **Ch** : *Chrysanthemum* sp., **Li** : *Linaria* sp., **Eu** : *Euphorbia* sp., **H** : milieu de culture concentré en sel, **L** : milieu de culture faiblement concentré en sel. **a** : partie aérienne, **r** : partie racinaire.

3.3.3.3 L'analyse statistique

Pour nous permettre d'apporter une interprétation plus fine à cette étude, nous avons considéré les différents paramètres de l'étude.

Les Gram + sont représentés par 5 profils alors que les Gram - sont plus hétérogènes et se retrouvent dans les 10 profils restants.

En ce qui concerne la fréquence des isolats par plante étudiée, il apparaît des différences d'une plante à une autre (Figure 7). En effet, le genre *Salicornia* est représenté par le nombre le plus élevé de profils (32.07%) alors que chez le genre *Linaria* les profils bactériens ne sont représentés que de 13%. Les autres genres partagent sensiblement les mêmes valeurs de représentativité des différents profils bactériens, soit, 21, 17 et 16% pour respectivement, *Chrysanthemum*, *Suaeda* et *Euphorbia* (Figure 7).

L'analyse statistique confirme les résultats, l'effet plante est hautement significatif ($P=0,000$), c'est à dire que les fréquences des différents profils sont différents d'une plante à une autre. Cependant, l'effet compartiment (partie aérienne et partie souterraine) est non significatif ($P=1$), Les différents profils biochimiques obtenus se retrouvent de la même manière répartis entre la partie aérienne et la partie souterraine, traduisant ainsi les taux de densités sensiblement équitables entre les deux compartiments.

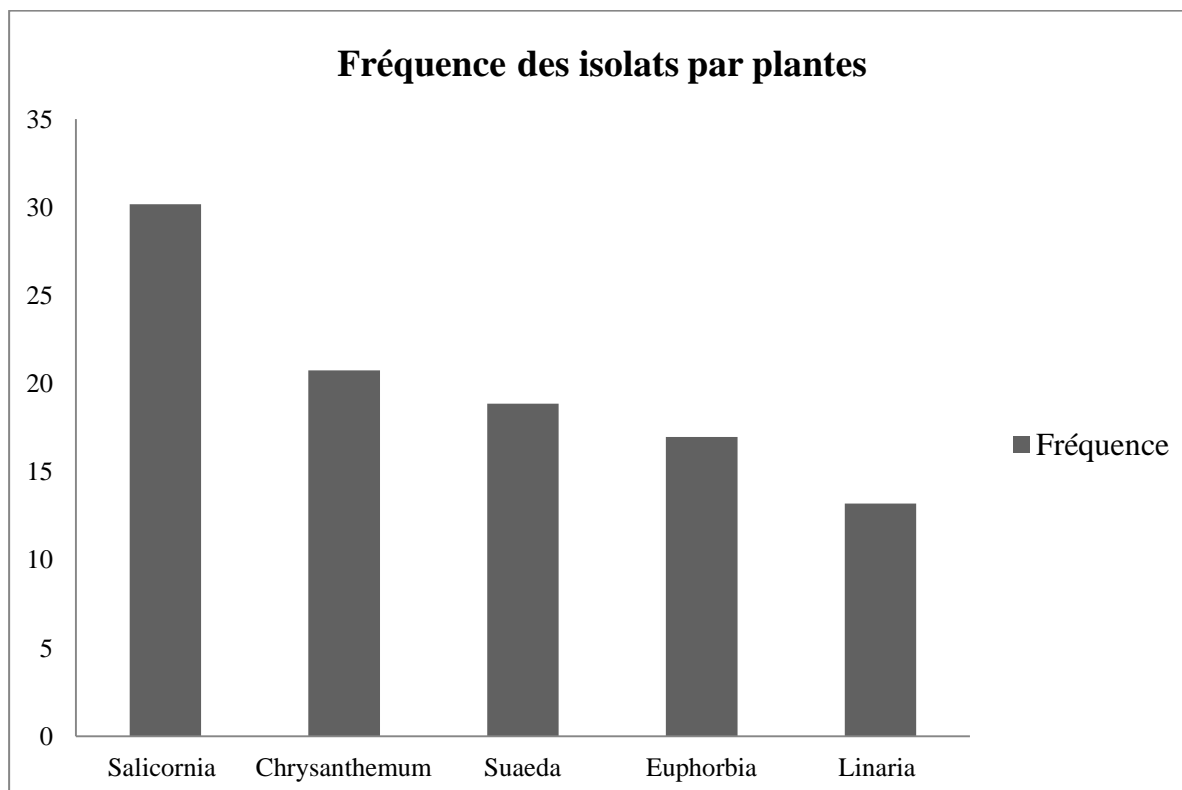


Figure 7 : Fréquence des profils bactériens hébergés par chaque genre végétal.

La comparaison de la fréquence des profils biochimiques et physiologiques entre eux, nous a permis de constater que certains profils bactériens sont plus dominants que d'autres (Figure 8). En effet, le profil majoritaire qui regroupe le plus de souches est le profil 6 représenté par les souches ; Gram-, oxydase variable et catalase positive, variabilité positive de tolérance aux différentes concentrations de NaCl et les températures utilisées et tous les taux de pH testés. Le second profil qui se montre aussi secondairement dominant est représenté par les bactéries appartenant au profil 11 qui rassemble 6 isolats bactériens ; Gram, oxydase négatif, catalase positif, variabilité positive de tolérance aux différentes concentrations de NaCl et tous de pH testés, tolère les différentes températures testées. Les profils minoritaires sont le P14 et le P15 représentés chacun par deux souches. Les souches qui se montrent plus au moins tolérantes à la salinité (20% NaCl) se retrouvent dans la majorité des profils et aussi bien chez les Gram + que chez les Gram-. Les profils P2, P4 et P8 sont représentés par des souches qui tolèrent plus de 20% de NaCl. A l'exception du profil P1, P9 et P10, tous les autres profils regroupent des isolats endophytes tolérants à de hautes températures allant jusqu'à 45°C.

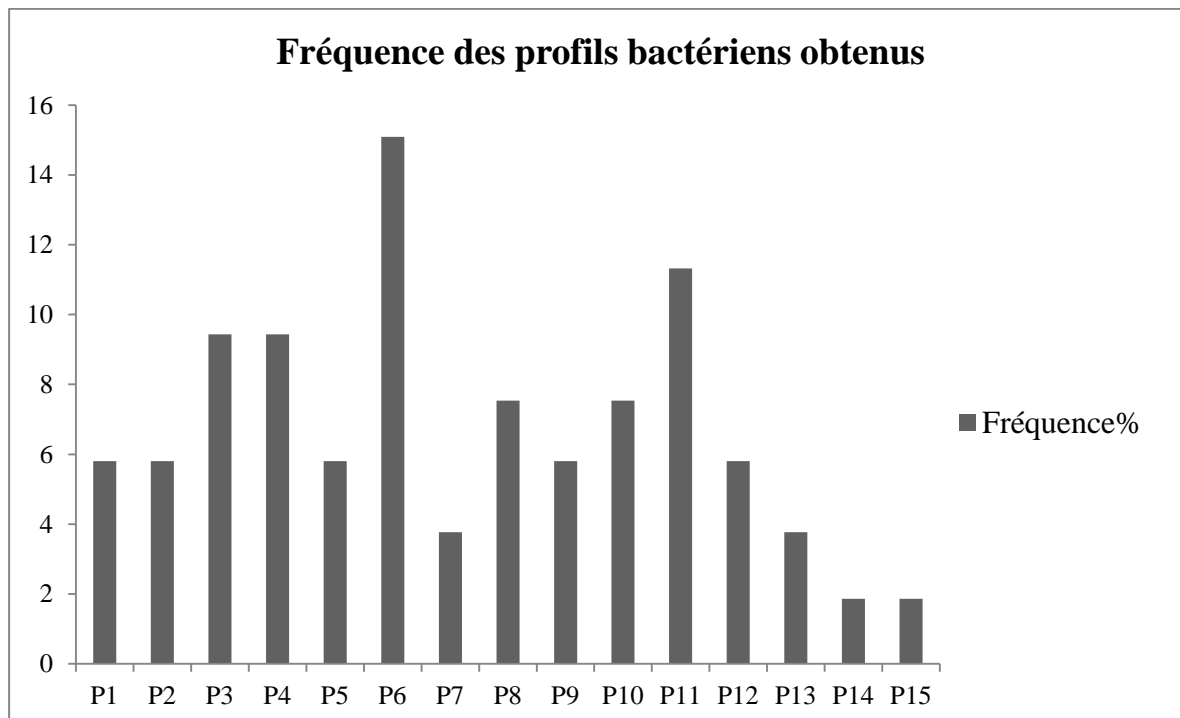


Figure 8 : Fréquence des profils bactériens obtenus.

Discussion des résultats

Les stress environnementaux comme la sécheresse, les hautes températures, la salinité et un pH du sol non favorable, sont des facteurs limitants majeurs de la production agricole du fait qu'ils affectent la plupart des fonctions physiologiques et biochimiques de la plante. Par conséquent, la salinisation et le problème de dégradation des sols dans les régions arides et semi arides constituent des entraves majeures à la production agricole (Anonyme, 2009).

Dans ces conditions de stress abiotiques, il existe des populations de plantes qui sont adaptées avec succès et ont développé leurs différentes stratégies de tolérance aux adversités de l'environnement (Reinso et *al.*, 2004). Chez les plantes halophytes, plusieurs mécanismes physiologiques et biochimiques leur permettent de survivre dans les conditions de concentrations élevées en sels, par le biais de mécanismes secondaires qui mettent en évidence l'association endophytique des microorganismes, ainsi que des rhizobactéries capables d'améliorer la croissance dans des conditions de stress abiotiques (Blumwild et *al.*, 2000).

Dans la présente étude visant à rechercher des bactéries endophytes tolérantes à la salinité et au stress hydrique et présentant des propriétés biologiques, les résultats préliminaires révèlent des populations bactériennes endophytes de plantes halophytes très diverses. Ces résultats mettent en lumière des bactéries endophytes issues de cinq plantes halophytes dominantes appartenant aux genres ; *Salicornia sp.*, *Suaeda sp.*, *Chrysanthemum sp.*, *Linaria sp.*, et *Euphorbia sp.*, dont la caractérisation physiologique et biochimique, les identifie comme étant des organismes potentiels pouvant présenter des activités biologiques prometteuses du fait de leur capacité de supporter des conditions de salinité et de température très élevées.

Les résultats de cette étude concordent avec ceux d'autres travaux sur des plantes halophytes telles que les salicornes qui ont été décrites comme une source potentielle de molécules naturelles bioactives (Manikandan et *al.*, 2009).

L'analyse des paramètres comme la conductivité électrique et la salinité a permis de montrer que le sol de la parcelle de Relizane est un sol salé. Cependant, le sol de la parcelle de Chlef est moyennement salé.

La présence de quantités élevées de sels dans la solution du sol abaisse le potentiel hydrique et réduit fortement la disponibilité de l'eau, ceci signifie le faible taux d'humidité des sols analysés. Ajouté à cela, une texture sableuse qui caractérise les deux stations étudiées et qui traduit une perméabilité assez importante du sol et un lessivage des éléments minéraux. En effet, les sols légers (texture sableuse) sont pauvres en humus, en azote, en acide phosphorique et en potasse. De tels résultats ont été mentionnés dans les travaux de Douadi et coll. 2005 et ceux de Boualla, (2011); qui ont indiqué que ces deux régions sont caractérisées par la présence d'accumulations calcaires, de faible teneur en matière organique et en azote et une forte sensibilité à l'érosion et à la dégradation. Par ailleurs, le pH s'est révélé basique, ce qui permet d'influencer la plante et la composition microbienne qui lui est associée. Les facteurs édaphiques affectent considérablement la densité de la population des micro-organismes en interaction avec les plantes y compris les membres des rhizobactéries (Noseby et Lynch, 1999).

Près de 1% des espèces végétales peuvent croître sur les sols salés (Manousaki; Kalogeraks, 2011). Ces plantes halophytes sont capables de survivre dans les écosystèmes où la concentration en sels est entre 200 mMoles. Elles survivent dans ces conditions par l'ajustement osmotique potentiel interne en accumulant le sel dans le feuillage en réponse à un stress hydrique et génèrent des mécanismes intracellulaires par la concentration élevée en Na^+ . Dans de telles situations, il peut se produire la sécrétion de sels, ou bien une augmentation de la succulence pour s'accorder avec la concentration ionique cellulaire (Zhang et al., 1999 ; Flower et Colmer, 2008).

Au niveau cellulaire et métabolique, des manifestations peuvent se produire ; comme la production d'hormones telle que l'acide abscissique, des sucres totaux, des sucres réducteurs et des protéines totales (Zerrad et al., 2006). Il se produit parallèlement une induction des gènes impliqués dans la synthèse des acides aminés comme la proline (Di Martino et al., 2003) et la glycine-bétaïne (Shen et al., 2001). Ces dernières activités sont produites en général par la plante elle-même ou bien par les organismes endophytes qu'elle héberge (Ceylan et al., 2012). Pour faire le lien entre les informations bibliographiques et notre recherche, ceci nous amène à suggérer à l'avenir, d'étudier les propriétés biologiques (production d'hormones, de sucres réducteurs, de protéines comme la proline et la glycine-bétaïne) de la collection de bactéries endophytes isolées de ces plantes halophytes.

Concernant notre étude, les plantes collectées ont été identifiées comme plantes halophytes en fonction des données bibliographiques et du taux de sel contenu dans le sol où

elles poussent. Ces plantes halophytes appartiennent à des familles botaniques comme les ; *Chenopodiaceae*, *Asteraceae*, *Euphorbiaceae*, *Scrofulariaceae* déjà décrites pour regrouper beaucoup d'espèces halophytes et tolérantes à la salinité (Nedjimi et al., 2012).

Dans la station de Relizane, nous avons observé la dominance de quelques genres comme *Salicornia sp.*, *Suaeda sp.*, *Chrysanthemum sp.*, alors que dans la station de Chlef, quatre genres *Linaria sp.*, *Euphorbia sp.*, *Fumaria sp.*, *Geranium sp.* et une espèce *Oxalis corniculata* abondent.

Les plantes peuvent être considérées comme un micro-écosystème complexe occupé par une large gamme de bactéries épiphytes mais aussi endophytes sans causer des dégâts sur la plante à laquelle elles s'associent (Azevedo et al., 2002). Les facteurs du milieu peuvent influencer la structure et la composition des espèces de la communauté bactérienne endophyte. Ces facteurs cernent ; les changements climatiques, la variété de l'espèce végétale, le type de tissu colonisé, le type de sol et les interactions avec d'autres bactéries bénéfiques ou pathogènes (Fromin et al., 2001 ; Kuklinsky-Sobral et al., 2004 ; Lacava et al., 2007.).

La bibliographie rapporte que les plantes halophytes sont aussi colonisées par des endophytes (fongiques, bactériens), qui ont un effet positif sur l'adaptation de ces plantes à la salinité. Des études établies dans ce contexte, ont mentionné que la présence des bactéries endophytes dans des halophytes dominantes et des plantes tolérantes au stress salé comme: *Salicornia brachiata*, *Suaeda nudiflora* et *Cressa cretica*, présente un rôle dans leur adaptation (Arora et al., 2014). Nos résultats concordent avec les travaux des auteurs précédents du fait que nous avons pu isoler des bactéries endophytes à partir de plantes halophytes appartenant aux genres cités (*Salicornia* et *Sueada*).

Sous les conditions de stress salin, les rhizobactéries ont un effet positif sur les paramètres de croissances des plantes : la germination, la tolérance à la sécheresse, le poids des racines et le rendement en général (Raju et al., 1999). C'est ainsi que, plusieurs recherches ont été établies dans ce sens pour isoler des bactéries endophytes et des PGPR de divers environnements halophiles ou hypersalé (plante halophytes, eau, sol), dont la conductivité électrique est supérieur à 4 dS/cm (Qadir and Schubert, 2002).

Au niveau de la population totale de la microflore, nous n'avons pas remarqué de différences par rapport aux milieux de culture d'isolement, ce qui indique que nous avons utilisé des concentrations de NaCl qui se rapprochent du taux de sel dans les sols des parcelles étudiées. Par ailleurs, la densité bactérienne au niveau des racines est sensiblement la même comparée aux parties aériennes. Des études ont révélé que les parties d'isolement (partie

aérienne et racinaire) n'ont pas d'effet sur l'activité des isolats endophytes. Une étude a montré que les bactéries endophytes pénètrent dans la plante à partir des voies d'entrée (stomates ou blessures foliaires), mais plus spécifiquement *via* les racines secondaires, et se déplacent d'une manière systémique avec la sève dans les tissus conducteurs dans les deux sens, atteignant ainsi tous les tissus de la plante (Bell et *al.*, 1995). Nos résultats concordent avec les travaux précédents, du fait que la distribution des bactéries isolées au niveau des différentes parties des plantes s'est révélée très homogène.

La caractérisation macroscopique de 53 isolats bactériens obtenus montre une grande diversité morphologique au sein des isolats bactériens obtenus par rapport au milieu de culture et l'espèce végétale étudiée. Un pourcentage de 99% des isolats bactériens obtenus étaient très pigmentés (colorés), les couleurs des colonies variaient du jaune à l'orange au rouge et au marron. Nos résultats corroborent avec ceux d'une étude qui révèle plus de 75% des bactéries endophytes isolées de mangrove étaient pigmentées (Gayathri et *al.*, 2010). Les caractères cultureux des colonies bactériennes obtenues sont très variables et diversifiées au point où nous n'avons pas pu les affilier en profils macroscopiques.

La proportion des isolats endophytes obtenus par cette étude à partir des différentes plantes spontanées et appartenant au Gram négatif est de 64.15%. Des recherches récentes ont rapporté la prédominance des endophytes Gram négatif isolés à partir des plantes halophytes (Salicorne) (Elbeltagy, 2000). Cependant, dans une autre étude, Zinnel et *al.* (2002), ont rapporté l'équivalence dans la présence des deux groupes de bactéries endophytes Gram – et Gram +.

Les tests biochimiques constituent une approche classique dans le diagnostic, mais particulièrement utile pour la détermination de certaines espèces et sous-espèces de bactéries (Dickey et Kelman ., 1988). Concernant la présente étude, la caractérisation biochimique détermine 33 isolats endophytes qui sont oxydase positive et la proportion de 96% des isolats endophytes sont catalase positive. Les bactéries endophytes isolées des plantes halophytes ont une activité enzymatique notamment de type ; catalase, oxydase, amylase et uréase. Cette activité enzymatique est probablement impliquée dans la relation endophytique de ces bactéries en interaction avec la plante hôte qui les héberge (Tank et Saraf, 2010).

La classification des isolats endophytes par rapport au taux de salinité, nous permet de suggérer que nous sommes en présence d'isolats endophytes halotolérants. A la concentration de 25% de NaCl nous avons une proportion de 56% de bactéries qui poussent sur ce milieu,

un rapport de 18% des isolats survit à la concentration de 32% de NaCl et le pourcentage le plus intéressant est celui de la concentration de 15% de NaCl avec 94.33% à une température de 30°C. la littérature rapporte que les bactéries halophiles sont classées en trois catégories : les faiblement halophiles qui sont capables de croître à une concentration en NaCl de 2-5%, les halophiles modérées à 5-20%, les halophiles extrêmes arrivent à croître sur des milieux de concentration supérieure à 20% de NaCl (Kushner, 1993). La proportion totale de bactéries endophytes halophiles identifiées par cette étude est de 24.52 %, il serait intéressant de rechercher chez ces bactéries endophytes, les gènes responsables de cette tolérance à la salinité indiqués dans les travaux d'Argandoña *et al.*, (2003) d'être portés par des mégaplasmides.

La majorité des isolats endophytes (88%), ont la capacité de croître à une température de 30°C, et 58% survivent à 15°C et 45°C. Ce résultat est en concordance avec ceux de l'étude menée par Nautiyal *et coll.* (2000) qui ont aussi montré que le potentiel génétique des souches bactériennes endophytes tolérantes à la salinité leur permet de résister aux températures élevées et peuvent par conséquent, stimuler la croissance des plantes et augmenter la production agricole dans les régions arides et semi-arides.

Conclusion générale

La salinisation des sols dans le monde devient de plus en plus sévère est influence d'une manière négative la production agricole mondiale, Les plantes halophytes tolérantes à de fortes concentrations en NaCl ainsi que la flore microbienne qui leur est associée, constituent une méthode alternative pour l'exploitation des sols salés (Khan et Gul, 2006).

Les recherches actuelles sont concentrées sur la connaissance de la physiologie de la régulation génétique de la tolérance à la salinité et la recherche de gènes responsables de cette tolérance chez les plantes halophytes extrêmes (Venkates et *al.*, 2009).

Les bactéries endophytes ont la capacité d'influencer significativement les halophytes et les glycophytes qui tolèrent au mieux la salinité et manifestent un effet positif sur la promotion de la croissance des plantes (Damodaran et *al.*, 2013). Une des pratiques récentes est l'exploitation des bactéries endophytes dans le but d'aborder les effets négatifs du stress salin. Cette pratique consiste en l'inoculation des bactéries endophytes halotolérantes qui ont la capacité de promotion de croissance des plantes et la régulation osmotique ainsi que l'induction de la résistance systémique (Yang et *al.*, 2009).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'isolement de bactéries endophytes à partir des plantes halophytes de deux régions salées du nord Algérien et la caractérisation physiologique et biochimique de ces bactéries. .

La caractérisation physico-chimique des sols étudiés a permis de déterminer que celui de la parcelle de Relizane est salé alors que celui de la parcelle de Chlef l'est faiblement, la texture est sableuse, le pH est alcalin et le calcaire est très élevé dans les deux parcelles étudiées.

Un total de 53 isolats de bactéries endophytes à partir des cinq plantes dominantes : *Salicornia sp.*, *Suaeda sp.*, *Chrysanthemum sp.*, *Linaria sp.* et *Euphorbia sp.* collectées des deux régions a été réalisé.

Au terme de notre étude et à la lumières des résultats obtenus, plusieurs constatations ont été mises en place :

L'analyse de la population totale de la microflore par rapport aux milieux de culture d'isolement étudiés et aux compartiments de la plante, nous permet d'avancer qu'elle est sensiblement proportionnelle.

La fréquence des isolats par plante indique que le genre *Salicornia* est représenté par le nombre le plus élevé de profils, ce qui confirme que le taux d'isolats bactériens augmente proportionnellement avec le gradient de salinité

L'identification phénotypique préliminaire de 53 isolats bactériens endophytes révèle une diversité morphologique et physiologique. Les souches ont été regroupées dans 15 profils différents. Les isolats bactériens Gram - sont les plus dominants et représentés par 11 profils. Le profil dominant regroupe les souches à Gram-, oxydase variable et catalase positive, variabilité positive de tolérance aux différentes concentrations de NaCl et les températures utilisées et tous les taux de pH testés.

L'ensemble des isolats bactériens testés ont la capacité de croître à 30°C et tolèrent plus ou moins les pH testés. Un taux de 18% des souches survit à la concentration de 32% de NaCl, à la concentration de 25% de NaCl, nous avons une proportion de 56% d'isolats bactériens et 94.33% des souches tolèrent 15% de NaCl.

Les résultats obtenus sont intéressants et méritent d'être approfondis. Comme continuation à ce travail, nous proposons :

Une identification biochimique plus poussée concernant l'assimilation des sources de carbone, des protéines, une étude de l'activité enzymatique, une identification moléculaire et phylogénique des isolats.

Des études *in vitro* et en serre doivent être menées pour analyser les effets bénéfiques des isolats bactériens endophytes halotolérants vis-à-vis des plantes glycophytes par analyse de la promotion de la croissance, par l'étude de bio-contrôle et l'induction de la résistance systémique tout en mettant l'accent sur les conditions environnementales optimales qui conditionnent leur efficacité.

Comme il serait souhaitable de qualifier et quantifier les métabolites secondaires impliqués dans la régulation osmotique et la promotion de la croissance et aussi d'étudier et d'identifier, de manière plus approfondie les gènes responsables de ces mécanismes bénéfiques pour la plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Ababou, A., Chouieb, M., Khader, M., Mederbal, K., Bentayeb, Z. Et Saidi, D. 2009.** Analyse des associations végétales de la plaine salée du Bas-Cheliff, Algérie. Département de Biologie, Faculté de Biologie et Agronomie, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, Algérie. *E-mail: .ab_adda@yahoo.fr.*
- **Aboura R., Benmansour D. et Benabadji N., 2006.** Comparaison et phytoécologie des Atriplexaies en Oranie (Algérie). *Rev. Ecol. Med.*, Vol. 32, pp. 73-84.
- **Achite, M., Meddi, M.** Estimation des crues en zone semi-aride : cas du bassin versant de l'oued sly (Chlef). Université des sciences et de la technologie d'Oran.
- **Agarwal, S., Shende, S. T. 1987.** Tetrazolium reducing microorganisms inside the root of *Brassica* species. *Curr. Sci.* 56, pp. 187–188.
- **Alem, C., Amri, A., 2005.** Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in Biology and Biotechnology*, Vol. 4, No. 1, pp. 20-31.
- **Allaire, M. 2005.** Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel, pp. 5-10.
- **Anburaj, R., Nabeel, MA., Sivakumar, T., Kathiresan, K. 2012.** The role of rhizobacteria in salinity effects on biochemical constituents of the halophyte *Sesuvium portulacastrum*. *Russian Journal of Plant Physiology: a Comprehensive Russian Journal on Modern Phytophysiology* 59(1), pp. 115–119.
- **Anbu Rajan, L. 2010.** Identification And Characterization Of Bacterial Genes Imparting Osmo-tolerance In *Bacillus Halodurans* And *Escherichia Coli* Isolated From Salted Fish Microbiology, Fermentation And Biotechnology Division Central Institute Of Fisheries Technology (Indian Council Of Agricultural Research) Matsyapuri, Po., Cochin – 682 029.
- **Anonyme, UNEP .2009.** The environmental food crisis: The environments' role in averting future food crisis.
- **Anonyme, F.A.O. 2008 .** Annuaire statistique de la FAO.

Références bibliographiques

- **Anonyme, IPTRID (Programme International pour la Technologie et la Recherche en Irrigation et Drainage). 2006.** Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation. Du 6 Février au 6 Mars 2006.
- **Anonyme, 2008.** Les sols salins en Algérie. Institut National des Sols, de l'irrigation et du Drainage (INSID).
- **Argandoa, M., Martinez-Checa, F., Llamas, I., Quesada, E., del Moral, A. 2003.** Megaplasmids in Gram-negative, moderately halophilic bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 227, pp. 81-86.
- **Arora, S., Purvi, N., Meghna, J., and Rao, G. 2014.** Isolation and characterization of endophytic bacteria colonizing halophytic and others salt tolerant plant species from coastal Gujarat. Central soil salinity reaserch institute, Regional reaserch station, Bahruch 392012, Gujarat, India.
- **Ashraf, M., Foolad, M R. 2007.** Roles of glycine betaine and praline in proving plant abiotic stress resistance . *Environmental and Experimental Botany* vol .59, pp. 206-216.
- **Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., Mahmood, T. 2004.** Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils* 40(3), pp. 157–162.
- **Asloum, H. 1990.** Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate, *Lycopersicum esculentum* L.) en culture hors sol pour les régions sahariennes. Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres. Doc. développement et amélioration des végétaux, Université de Nice Sophia- Antipolis, pp. 24- 32.
- **Aubert, G. 1986.** Observations sur les caractéristiques, la dénomination et la classification des sols dits (salés) ou salsodiques. Cahier d. ORSTOM, série. Pédologie, XX, 1, pp. 73 -78.
- **Azevedo, JL., Maccheroni, Jr., Pereira, JO., Araújo, WL. 2000.** Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal Biotechnology* 15 April <http://www.ejb.org/content/vol3/issue1/full/3/4>.
- **Bacon, CW., White, J.F. 2000.** Physiological adaptations in the evolution of endophytism in the Clavicipitaceae. In: Bacon C.W, White J.F, eds. *Microbial endophytes*. New York, NY, USA: Marcel Dekker Inc., pp. 237-263.

Références bibliographiques

- **Bakker, P.A., Pieterse, C., Van Loon, L.C. 2007.** Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97, pp. 239-243.
- **Belkhodja M., Bidai Y., 2004-** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L à la salinité au stade de la germination .Sécheresse, Vol.15 N°4 , pp. 331-335.
- **Bell, C.R., Dickey ,G.A. , Chan, J. 1995.** Variable response of bacteria isolated from grapevine xylem to control grape crown gall disease *in planta*. *Am. J. Enol. Vitic.* 46, pp. 499-508.
- **Benabadji, N., Ghezlaoui, BE., Bouazza, M., Bendimerad, N. 2010.** Phytoécologie et composés secondaires d'un peuplement végétal steppique : Cas de *Pseudocytisus integrifolius* (Salisb.) Rehder dans le Chott El-Gharbi (Oranie-Algérie). EDITA: Servicio de Publicaciones. Universidad de Alicante. <http://publicaciones.ua.es>
- **Benabadji, N., Bouazza, M., Merzouk, M., et Ghezlaoui ,S. 2004.** Aspects phytoécologiques des Atriplexaies au Nord de Tlemcen (Oranie, Algérie). *Rev. Sci et Tech.* N° 22. Constantine, pp. 62-79.
- **Benabadji, N. 1999 .** Physionomie,organisation et composition floristique des Atriplexaies au Sud de Tlemcen ,Chott El Gharbi (Algérie). *Atriplex in vivo.* n° 8.
- **Benrebiha, F Z. 1987.** Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, pp. 5- 20.
- **Bennaceur .2005-** Les indicateurs précoces de la tolérance à la salinité 1er Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 Novembre.
- **Bent E., 2005.** Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In *Multigenic and induced systemic Resistance in Plants*, edited by S. Tuzun and E. Bent: Springer, NY.
- **Benzellat ,B. 2012.** Contribution à l'amélioration des rendements des plantes cultivées en sols salés.Mag. en Sciences Agronomiques.Université de Aboubkar Belkaide.Tlemecen., pp.77.
- **Bergmann, D., Zehfus, M., Zierer, L., Smith, B., Gabel ,M. 2009.** Grass rhizospheres: Associated bacterial communities and potential for nitrogen fixation. *Western North American Naturalist* 69(1), pp. 105–114.
- **Berthomieu, P., Conejero, G., Nublat, A., Brachenbury ,W.J., Lambert, C., Savio ,C., Uozumi, N., Oiki, S., Yamada, K., Cellier F.,Gosti, F., Simonneau, T., Essah, P.A. , Tester, M.,Very, A.A., Sentenac, H., Casse, F. 2003.** Functional analysis of

Références bibliographiques

AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *Embo Journal*, Vol. 22, pp. 2004- 2014.

- **Blumwald, E., Aharon, G., Apse, M. 2000.** Sodium transport in plants. *Biochim Biophys Acta* 1465, pp.140–151.
- **Bouafia, A.2002.** Mécanique des sols appliqués. Edition Elmarifa.
- **Boualla, N. 2005.** Étude des caractéristiques hydrauliques et physico-chimiques des eaux souterraines de la Plaine de la Mina (Relizane). Thèse de magister. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran USTOMB.
- **Boualla, N. 2011.** Les problèmes de salinité dans la Plaine de la Mina (Relizane-Algérie). Laboratoire de Matériaux, Sol et Thermique, section Géologie Appliquée. Département de Génie Civil. Faculté d'Architecture et de Génie Civil. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran U.S.T.O.MB.
- **Bouaouina, S., Zid, E. Et Hajji, M. 2000.** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.) CIHEAM – Options Méditerranéennes, pp.2.
- **Bouda, S., Haddioui, A. 20011.** Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Revue « nature & technologie »*, pp . 72 – 79.
- **Boutelli, H.2012.** Salinité des eaux et des sols au niveau du sebkha de bamendil, caractérisation et conséquences sur l'environnement. Mag en Hydraulique. Université de Kasdi Marbah., pp.66.
- **Bouteyre, G., and Loyer, Y.1992.** Sols sales eaux saumâtres des régions arides tropicales et méditerranéennes in l'aridité, une contrainte au développement. ORSTOM, Paris.
- **Brader, G., Compant, S., Mitter, B., Trognitz And Sessitsch. 2014.** Metabolic potential of endophytic bacteria. *Environmental biotechnology*. Australia. 27, pp.30–37.
- **Burken, JG. 2003.** Uptake and metabolism of organic compounds: green-liver model. In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants* Edited by McCutcheon SC, Schnoor JL; pp.59-84.
- **Calu, G., 2006.** Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles. *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*. *Trends in plant science* : 1-8.
- **Calvet, R., 2003;** Le sol, propriété et fonction, phénomènes physiques et chimiques. Tome 2. Ed. France. Agricole, 511 p.

Références bibliographiques

- **Ceylan, S., Yilan, G., Akbulut ,BS., Poli, A., Kazan, D.2012.** Interplay of adaptive capabilities of *Halomonas* sp AAD12 under salt stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 114(1), pp., 45–52.
- **Chenchouni, H. 2012.** Diversité Floristique D'un Lac Du Bas-Sahara Algérien. Department Of Natural And Life Sciences, Faculty Of Exact Sciences And Natural And Life Sciences, University Of Tebessa, Tebessa, 12002, Algeria. Chenchouni@Gmail.Com
- **Cherbuy, B. 1991.** Les sols salés et leur réhabilitation étude bibliographique. Cemagraf, école. Nat. Renne, pp.107.
- **Cloud, G., Mahler, C., Cloud, Rémy., Berthlem, J., and Louis Morel, J.2005.**Sol et environnement.Dunod.Paris,pp609-625.
- **Compant, S., Clément, C. and Sessitsch A. 2010.** Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry* 42,pp. 669-678.
- **Costa, JM., Loper, JE .1994.** Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. *Mol Plant Microbe Interact* 7, pp.440–448.
- **Dagnelie, P. 2003.**Principe d'expérimentation (Planification des expériences et analyse de leurs résultats). Les presses agronomiques de Gembloux A.S.B.L.,pp.75-82.
- **Damodaran, T., Sah, V., Rai, R. Sharma, BD. Mishra1, S. Jha, K., Kannan, R. 2013.** Isolation of salt tolerant endophytic and rhizospheric bacteria by natural selection and screening for promising plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and growth vigour in tomato under sodic environment.1Central Soil Salinity Research Institute, Regional Research station, Lucknow- 226005 India.
- **Damodaran ,T., Rai, RB., Mishra, VK., Sharma, DK., Ram, RA., Rai, S., Kumar, H. 2011.** Integrated farming System and livelihood security-An approach. CSSRI, Karnal , pp. 1-108.
- **Daoud, Y.1980.** - Contribution à l'étude de la dynamique de l'eau et des sels dans un sol irrigué du haut Chellif. Mémoire, Magistère, I.N.A , Alger.
- **Debez, A., Chaibi, W., Bouzid, S. 2001.** Effet du NaCL et de régulateur de croissance sur la germination d'*Atriplex halinus* L.Cahier d'études et de Recherches Francophones Agriculture, vol .10-2,pp.135-138.

Références bibliographiques

- **Denise, K., Zinniel, Lambrecht, N., Beth, H., Daniel, K., Phyllis, H., Carol A., ALAHARI**
- **Dickey, RS., Kelman, A.1988.**In plant pathogenic bacteria , laboratory guide for identification ,Schaad (Ed) N.W.APS.Minnesotc.USA, pp.158.
- **Di Martino, C., Delfine, S., Pizzuto, R., Loreto,F. , Fuggi ,A. 2003.** Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. *New Phytologist*.158, pp. 455-463.
- **Doaoui,A.,Hartani,T.2005.**Application de la télédiction dans la connaissance et la cartographie de la salinité des sols de la plaine du bas –chéliff.2005.1 Université de Chlef.abdouaoui @yahoo.fr.2 :INRAD’Alger.
- **Dodd, IC., Zinovkina, NY., Safronova, VI., Belimov, AA. 2010.**Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology* 157(3), pp. 361–379.
- **Doty, SL. 2008.** Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist* 2008, **179**(2), pp. 318-333.
- **Douaoui, A., Hartani, T. 2008.** Impact de l’irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chellif. *Scientific commons*. Vol. 2, no3, pp. 9.
- **Douaoui, A., Nicolas ,H., & Walter ,C.2004.** Cartographie de la salinité de la plaine du Bas Chéiff par la méthode de la regression-krigeage basée sur la télédétection. Université Hassiba Benbouali de Chlef, Laboratoire Eau-Environnement ENSA – INRA Rennes, UMR Sol, Agronomie, Spatialisation.
- **Durand, J.H. 1983 :** Les sols irrigables, étude pédologique .Edit. Imprimerie ; Paris, pp. 339.
- **Egamberdieva, D. 2012.** *Pseudomonas chlororaphis*: a salt-tolerant bacterial inoculant for plant growth stimulation under saline soil conditions. *Acta Physiol. Plantarum*. 34, pp.71-56.
- **Egamberdieva, D., Kamilova, F., Validov, S., Gafurova, L.2008.** Plant salt tolerance high incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. Leiden University, Wassenaarseweg 64 , 2333 AL Leiden, the Netherlands
- **Elbeltagy, A., Nishiotak, K., Suzuki, H., Sato ,T., Yusato., Moniski, H., Mitsni ,H., Minamsawk. 2000.** Isolation and characterization endophytic colonizing bacteria

Références bibliographiques

- from wild and traditionally cultivated rice varieties. *Soil. Sn. Plant Nutr.* 46, pp.617-629.
- **Essinyton, M.E. 2004** .Soil and water chemistry , and integrative approach .CRC . Press.USA.
 - **Flower, T.J., Colmer, TD.2008**. salinity tolerance in halophytes *New Phytol.* 179, pp. 945-950.
 - **Flowers, Tj., Hajibagheri, Ma., Clipson, N. 1986-** Halophytes. *The Quarterly Review of Biology* 61, 313–337. doi:10.1086/415032.
 - **Flowers, Tj., Troke, Pf., Yeo, Ar. 1977**. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 28, 89–121. doi:10.1146/ annurev. pp.28.060177.000513.
 - **Fravel, DR. 2005**. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, pp. 337-359.
 - **Fromin, N., Achouak, W., Thiery, J M., Heulin, T. 2001**.The genotypic diversity of *Pseudomonas brassicacearum* populations isolated from roots of *Arabidopsis thaliana*: influence of plant genotype.*FEMS Microbial Ecology* 37, pp. 21-29.
 - **Gayathri ,S., Saravanam, D., Radhakrishnam, M., Belagurunthan, R., Kathiresan , K. 2010**. Bioprospectng potntiel of last growing endophytic bacteria from leaves of Mongrove and salt marsh plant species.*Indian J. Biotechnol.* 9, pp. 397-402.
 - **Ghanem,ME., Han, RM., Classen, B., Quetin-Leclerq, J., Mahy, G., Ruan, CJ., Qin, P., Perez-Alfocea, F., Lutts, S. 2010**. Mucilage and polysaccharides in the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica*: localization and composition in relation to salt stress. *Journal of Plant Physiology* 167 (5), pp. 382–392.
 - **Ghassemi, F., Jakeman, A.J., Nix, H.A. 1995**. Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies. Center for resource and environmental studies, The Australian National University, Canberra, Australia, pp. 125.
 - **Ghezlaoui, B., Benabadji, N., Benmansour, D., Merzouk, A.2011** . Analyse Des Peuplements Végétaux Halophytes Dans Le Chott El-Gharbi (Oranie-Algérie). Laboratoire d'Ecologie et gestion des Ecosystèmes Naturels.Faculté des Sciences, Université Abou-Bekr Belkaid, Corresponding author: bahaeben@yahoo.fr.

Références bibliographiques

- **Ghezlaoui ,BE. 2001.**Contribution à l'étude phytoécologique des peuplements halophytes dans le Nord de l'Oranie (Algérie occidentale). Mém. Mag. Ecol. Vég. Univ. Tlemcen,pp.85+ annexes.
- **Greenway, H., Munns, R.1980.** Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol* **31**, pp. 149–190.
- **Gyaneshwar, P., Naresh ,KG., Parekh, LJ .1998.** Role of soil microorganisms in improving P nutrition of
- **Hagemann, M. 2011.**Molecular biology of cyanobacterial salt acclimation. *FEMS Microbiology Reviews* **35**(1), pp, 87–123.
- **Hallmann, J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W. F. et Kloepper J. W., 1997.** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* **43**:895-914.
- **Haouala, F., Ferjani, H ., Ben El Hadj, S. 2007.**Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na⁺, K⁺ et Ca²⁺) et du chlore (Cl⁻) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **11** (3), pp. 235 -244.
- **Hardoim, PR., Overbeek, LS., Elsas, JD. 2008.** Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* **16**(10), pp. 463–471.
- **Hasegawa P, M., Berssan R, A.,Zhuj, K., Bounert H,J.2000.**Plant cellular and molecular reponses to high salinity .*Annu .Rev.Plant Physiol .Plant Mol .Biol.*,vol.54, pp.463- 499.
- **Heller, R., Esnault, R., Lance, C. 1998.**Physiologie végétale. Tome1. Nutrition. 6ème édition, DUNOD, Paris, pp. 134- 135.
- **Hilderbrand, DC., Schroth, MN. 1988.** Pseudomonas, In laboratory guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. PP.60-80, Schaad NW (ed), APS, ST. Paul Minnesota.
- **Hopkins, WG.2003 .**Physiologie végétal, 2ème édition .De Boeck , Bruscelles, pp. 61-476.
- **Hullin, M.1983.** Cours de drainage .Parties consacré aux sols salés. Cours polycopié. Vol3. INA Algérie , pp.139.
- **Ismail, A. 1990.** Germination écophysioilogy in population of *Zygophyllum se quatarense* .Hadidi from contrasting habitats. Effets of temperature, salinity and growth regulators with special reference to fuscococcin . *Journal of Arid Environnement*, pp. 185- 194.

Références bibliographiques

- **Iyengar et Reddy., 1996.** in Parida A.K., Das A.B., (2005): Salt tolerance and salinity effect on plants: review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol.60, 349 p.
- **Jabnoue, M. 2008.** adaptation des plantes au stress Salin : caractérisation de la transporteur de sodium et potassium de la famille HKT chez le riz .Thèse doctorat, univ Montpellier II.
- **Jendoubi , S. 1997.** Contribution à la caractérisation physiologique et biochimique de parois racinaires.
- **Jha ,B., Gontia, I., Hartmann, A. 2012.** The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. *Plant and Soil* 356(1–2), pp. 265–277.
- **Kaaria,P., Matiru,V., and Ndungu,M. 2012.** Antimicrobial activities of secondary metabolites produced by endophytic bacteria from selected indigenous Kenyan plants. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(45), pp. 7253-7258.
- **Kamilova, F., Validov, S., Azarova, T., Mulders, I., Lugtenberg, B. 2005.** Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environmental Microbiology*, 7, pp. 1809–1817.
- **Kannan, R., Damodaran, T., Pandey, B K., Umamaheswari, S., Rai, RB., Jha, S. K., Mishra, V. K. , Sharma and V. Sah, D K. 2014.** Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting bacteria (PGPB) associated to the sodicity tolerant polyembryonic mango (*Mangifera indica* L.) root stock and growth vigour in rice under saline sodic environment.1Central Soil Salinity Research Institute, Regional Research station, Lucknow - 226005 India. pp. :371-376.
- **Khan, MA., Gul, B. 2006.** Halophyte seed germination. In: Khan, M.A.,Weber, D.J. (Eds.), *Ecophysiology of High Salinity Tolerant Plants*. Springer, pp. 11–30.
- **Kobayashi, DY., Palumbo, JD .2000.** Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture. In: *Microbial endophytes*. (Bacon CW, White JF, eds). Marcel Dekker Inc., New York. pp. 199-233.
- **Kovacs, N. 1956.** Identification of *Pseudomonas pyocyana* by the oxydase reaction. *nature*. ,pp.187-703.
- **Kuklinsky-Sobral, J., Araujo, WL., Mendes, R., Geraldi, IO., Pizzirani-Kleiner, AA., Azevedo, JL. 2004.** Isolation and characterization of soybean-associated bacteria

Références bibliographiques

- and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology* 6, pp. 1244-1251.
- **Kushner, D.J. 1993.** Growth and nutrition of halophilic bacteria. In R.H. Vreeland and L.I. Hochstein eds. *The Biology of Halophilic Bacteria* Boca Raton: CRC Press, pp. 87-89.
 - **Lacava, PT., Li, WB., Araújo, WL., Azevedo, JL., Hartung, JS. 2007.** The endophyte *Curtobacterium flaccumfaciens* reduces symptoms caused by *Xylella fastidiosa* in *Catharanthus roseus*. *Journal of Microbiology* 45, pp. 388-393
 - **Larafa, M. 2004 .** Dynamique de la végétation halophile en milieu aride et semi-aride au niveau des chotts (Melghir, Merouane et Bendjelloul) et Oued Djeddi en fonction des conditions du milieu. Thèse. Doct. Sci. Nat. Opt. Biol. Vég. Univ. Annaba , pp. 149p + annexes.
 - **Lee, S., Flores-Encarnacion, M., Contreras-Zentella, M., Garcia- Flores, L., Escamilla JE & Kennedy, C .2004.** Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome C biogenesis genes. *J Bacteriol* 186, pp. 5384–5391.
 - **Le Houérou , H N.1993 .**Salt tolerant plants for the arid régions of the Méditerranéen isoclimatic zone. In : H. Lieth and A. El Masoom (eds), *Towards the rational use of high salinity-tolerant plants*. Vol1. Kluwer. Acad. Publ, Dordrecht, The Netherlands, pp.403-422.
 - **Lamb, T. G., Tonkyn, D. W., Kluepfel, DA. 1996.** Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can. J. Microbiol.* 42, pp.1112–1120.
 - **Lemee, G. 1978 .**Précis D'écologie végétal.Masson , Paris, pp. 131-132
 - **Lepoivre,PH. 2003 .** Phytopathologie bases moléculaires des stratégies de lutte .1ère édition, de Boeck et Larcier , Bruscelles, pp.28-29.
 - **Lodewyckx, C., J. Vangronsveld, F. Porteous, E. R. B. Moore, S. Taghavi, M., Mergeay, And D. Van Der Lelie. 2002.** Endophytic bacteria and their potential applications. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21, pp. 583–606.
 - **Long, HH., Furuya, N., Kurose,D., Takeshita, M., Takanami ,Y. 2003.** Isolation of endophytic bacteria from *Solanum* sp. and their Antibacterial Activity against Plant Pathogenic Bacteria. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 48, pp. 21-28.

Références bibliographiques

- **Loyer, JY. 1991.** Classification des sols salés : les sols salic. Cah. Orston. sér. Pédol. 26, pp. 51-61.
- **Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Bermethieu, P., Fourcroy, P., Casse-Delbart, F. 1995.** Les plantes face au stress salin. Cahier d'Agriculture ;4 :263-73.
- **Manikandan, T.^{1*}, Neelakandan, T.², Usha Rani, G.². 2009.** Antibacterial activity of *salicornia brachiata*, a halophyte. ¹PG and Research Department of Botany, Arignar Anna Government Arts College, Villupuram – 605 602, Tamil Nadu, India Department of Microbiology, Annamalai University, Annamalai Nagar – 608 002, Tamil Nadu, India. J. Phytol. 1(6): 441–443.
- **Maillard, J. 2001.** Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. Handicap International. Novembre 2001, pp. 34 .
- **Manouski ,E., Kalogerak, N. 2011.** Halophytes present new opportunities in phytoremediation of heavy metals and saline soil. Ind. Eng. Chem. Res. 50, pp. 656-660.
- **Mathieu, C. , Pieltain, F. 2003.** Analyse chimique des sols Méthodes choisies. Lavoisier ed, Paris, pp. 387.
- **Mastretta, C., Barac, J., Vangronsveld, L., Newman, S., Taghavi, D., Van Der Lelie. 2006.** Endophytic bacteria and their potential application to improve the phytoremediation of contaminated environments. Biotechnol. Genet. Eng. Rev. 23, pp. 175–207.
- **Mercado-Blanco J. and Bakker P.A.H.M., 2007.** Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. Antonie Van Leeuwenhoek 92:, pp. 367-389.
- **Messedi, D., Abdelly, C. 2004.** Physiologie de la tolérance au sel d'une halophyte de recouvrement : *Batis maritima* .Revue des Régions Arides .Tome I ,N° spécial , pp. 192-199.
- **Mokhtari, D., Douaoui ,A., Yahiaoui ,I. b. 2012.** Geomatics use in the evaluation of surface qualities degradation in saline area (The case of the lower Cheliff plain). a. Hassiba Ben Bouali Chlef University, Laboratory of Natural Bioresources, Algeria djamel.mokhtari@gmail.com
- **Nabeel ,MA., Kathiresan ,K., Rajendran, N., Ohnishi, H., Hamaoka ,H., Omori, K .2010.** Contribution by microbes to the foodweb of a mangrove biotope: the approach of carbon and nitrogen stable isotopes. *African Journal of Marine Science* 32(1), pp. 65–70.

Références bibliographiques

- **Nautiyal, C.S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., Verma, D. 2000.** Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiol Lett* 182, pp. 291–296.
- **Nasbeby, DC., Lunch, JM. 1999.** Effects of *Pseudomonas fluorescens* F113 on ecological functions in the pea rhizosphere are dependent on pH. *Microb. Ecol.* 37, pp. 248–256.
- **Naz, I., Bano, A., Tamoor, U H. 2009.** Isolation of phytohormones producing plant growth promoting rhizobacteria from weeds growing in Khewra salt range, Pakistan and their implication in providing salt tolerance to *Glycine max* L. *African Journal of Biotechnology* 8(21), pp. 5762–5768.
- **Nedjimi, B.,^{1*}, Beladel, B.,², Guit, B.,¹. 2012.** Biodiversity of Halophytic Vegetation in Chott Zehrez Lake of Djelfa (Algeria). 1Laboratoire d'Exploration et Valorisation des Ecosystèmes Steppiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Djelfa, Djelfa, Algeria; 2Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Djelfa, Djelfa, Algeria. Email: *bnedjimi@yahoo.fr. *American Journal of Plant Sciences*, 2012, 3, 1527-1534.
- **Nellemann, C. Mac Devette, M., Manders, T., Eickhout, B., Svihus, B., Prins, A. Patriquin, D.G., Oring, Bereiner. 1978.** Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. *Can. J. Microbiol.* 24, pp. 734–742.
- **Ongena M., Jacques P., Delfosse P. and Thonart P., 2002.** Unusual traits of the pyoverdine mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals.* 15 (1):1-13.
- **Oren, A. 2006.** The order Halobacteriales. In 'The prokaryotes. Vol. 3.' (3rd edn) (Eds M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, K-H Schleifer, E Stackebrandt), pp. 113–164.
- **Pal, KK., Gardener, B. 2006.** Biological Control of Plant Pathogens *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-A.1117-02.
- **Patriquin, D. G., and J. DeOring; Bereiner. 1978.** Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. *Can. J. Microbiol.* 24:734–742.
- **Poormohammadkiani, S., 2007.** Analyse génétique des réponses physiologiques du tournesol (*Helianthus annuus* L.). Soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat en

Références bibliographiques

Génétique et Amélioration des plantes .Ecole National Superieure Agronomique (ENSAT).Toulouse :720-721.

- **Qadir, M., Schubert, S. 2002.** Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degr. Dev.* 13, pp. 275-294.
- **Quezel P. et Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales : tome I.PARIS, pp. 558 .
- **Raache I., Karboussa-Haloua R., 2004:** Caractérisation morphologique et anatomique de quelque espèces halophiles dans la cuvette de Ouargla. Mémoire Ingénieur, Université de Ouargla,pp. 67 .
- **Raaijmakers J.M., Vlami M. and de Souza J.T., 2002.** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, pp. 81: 537-547.
- **Raju, NS., Niranjana, SR., Janardhan, GR., Prakash, HS., Mathur, SB.** Agents., pp. 206-212.
- **Ravikumar, S., Jacob Inbaneson, S., Sengottuvel, R., and Ramu, A. 2010.** Assessment of endophytic bacterial diversity among mangrove plants and their antibacterial activity against bacterial pathogens. *School of Marine Sciences, Department of Oceanography and Coastal Area Studies, Alagappa University, Thondi Campus, Thondi – 623 409, Ramnathapuram District, Tamil Nadu, India.* Scholars Research Library *Annals of Biological Research*, 2010, 1 (4), pp.240-247.
- **Regragui, A. 2005** .Contribution à l'étude de l'influence de la salinité sur le coupe tomate-verticillium : Conséquences physiologiques et impact sur la bioprotection des tomates la verticilliose .Thèse de doctorat en phytopathologie, Université Mohammed v- Agdal, Rabat, pp. 81-82.
- **Reinoso, H., Sosa, L., Ramirez, L., 2004.** Salt induced changes in the végétative anatomy of *Prosopis strombulifera* (Leguminosae) .*Canadian Journal of Botany* , vol 82, N°5,pp.618-628.
- **Ruppel, S., Franken, P., Witzel, K. 2013.** Properties of the halophyte microbiome and their implications for plant salt tolerance. Leibniz-Institute of Vegetable- and Ornamental Crops Grossbeeren/Erfurt e.V., Theodor-Echtermeyer-Weg .Germany, 28–31 August 2012. *Functional Plant Biology*, 2013, 40, 940–951 <http://dx.doi.org/10.1071/FP12355>.
- **Ryan, RP., Germaine, K., Franks, A., Ryan, DJ., David, N. 2008.** Bacterial endophytes: recent developments and applications *FEMS Microbiol Lett*, pp. 278.

Références bibliographiques

- **Saadoun, N., 2005.** Réponse adaptative de l'anatomie des chénopodiacées du Sahara algérien à des conditions de vie d'aridité extrême. Science et changements planétaires/sécheresse, vol .16.N°2, pp. 121-124.
- **Sambrook, J., E. F. Fritsch, Maniatis, J.** 1989. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
- **Santiago, LS., Lau T,S., Melcher ,PJ., Steeleo, C., and Goldestein, G. 2000.** Morphological and physiological responses of hawiiian Hibiscus tiliaceus populations to light and salinity, Int. J. Plant Sci. 161, pp. 99-106.
- **Serrano, R., Gaxiola, R. 1994.** Microbial models and salt stress tolérance in plants .Crit. Rev. Plantsci.vol.13, pp. 121-138.
- **Shen, YG., Zhang, WK., Yan, D Q., Du ,B X., Zhang, J S., Liu, Q., Chenshiu ,S H., Bleecker AB.2001.**Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signaling. Sci stke, pp. 22.
- **Sheng, XF., Xia, JJ., Jiang, CY., He, LY., and Qian, M.2008.**Environ.Pollut.,156, pp.1164-1170.
- **Sitayeb, T., Benabdeli, K. 2008.** Contribution à l'étude de la dynamique de l'occupation des sols de la plaine de la Macta (Algérie) à l'aide de la télédétection et des systèmes d'information géographique. Laboratoire de recherche sur les systèmes biologiques et la géomatique, centre Universitaire De Mascara, BP 763, Mascara 29000, Algerie sétif.
- **Stitcher L., Mauch-Mani B. and Metraux J.P., 1997.** Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology 35: 235-70.
- **Tank, N., Saraf, M. 2010.** Salinity resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. J. Plant. Interactions. 5 (1), pp.51-58.
- **Tanji, K. K. 2004.** Salinity in the soil environment. Salinity : environment-plants-molecules. Kluwer, Dordrecht. Netherlands. Chap 2, pp. 21-51. In A. Läuchli, et U. Luttig.
- **Tiwari, S., Singh, P., Tiwari, R., Meena, KK., Yandigeri, M., Singh, DP., Arora, DK. 2011.** Salt-tolerant rhizobacteria-mediated induced tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) and chemical diversity in rhizosphere enhance plant growth. *Biology and Fertility of Soils* 47(8), pp. 907–916.
- **Tsao, DT. 2003.** Adv.Biochm.Eng.Biotechnol, pp. 78, 1-50.

Références bibliographiques

- **Upadhyay, S., Singh, J., Singh, D. 2011.** Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere* 21 (2), pp. 214–222.
- **Upadhyay, SK., Singh, DP., Saikia, R. 2009.** Genetic Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Rhizospheric Soil of Wheat Under Saline Condition. *Curr. Microbiol.* 59, pp.489–496.
- **Van Loon L.C. and Bakker P.A.H.M., 2005.** Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. *In: Siddiqui Z.A., ed. PGPR: Bio-control and bio-fertilization.* Dordrecht, The Netherlands: Springer, pp. 39–66.
- **Venkanp, J.H. 1989.** Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiol. Plant.* 76 :112–117. *Quarterly Review of Biology* 61, pp. 313–337.
- **Venkates warulu, B., Shanker, A.K. 2009.** Climate change and agriculture: adaptation and mitigation strategies. *Ind. J. Agron.* 54, pp.226–230.
- **Vessey, JK. 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255(2), pp. 571–586.
- **Wakelin, S., Warren, R., Harvey, P., Ryder, M. 2004.** Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Bio Fert Soils* 40, pp. 36–43.
- **Weller D.M., 1988.** Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 379–407.
- **Weyens, N., Lelie Daniel, V., Taghavi, S., Vangronsveld, J. 2010.** Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. Hasselt University, Department of Environmental Biology. Metabolic potential of endophytic bacteria. AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Bio-resources Unit, Konrad-Lorenz-Strasse 24, 3430 Tulln, Austria.
- **Witzel, K., Gwinn-Giglio, M., Nadendla, S., Shefchek, K., Ruppel, S. 2012.** Genome sequence of *Enterobacter radicincitans* DSM16656T, a plant growth-promoting endophyte. *Journal of Bacteriology* 194(19), pp.5469.
- **Wilson D., 1995.** Endophyte- the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* .pp. 73:274–276.
- **Yan Z., Reddy M.S., Yu C.M., McInroy J.A., Wilson M. and Kloepper J.W., 2002.** Induced systemic protection against tomato late blight by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, pp. 92: 1329–1333.

Références bibliographiques

- **Yang, J., Kloepper Ryu, C.M. 2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends. Plant. Sci.* 14, pp.1-4.
- **Yoshida, Y., Kiyosue, T., Katayiri, T., Uedah, Mizugochi, T. 1995.** Collection between the induction of agrene for D1-pyrroline-5-carboxylate synthétase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress . *Plant J* .7, pp. 751-60.
- **Yoshimura, H., Kotake, T., Aohara, T., Tsumuraya, Y., Ikeuchi, M., Ohmori, M. 2012.** The role of extracellular polysaccharides produced by the terrestrial cyanobacterium *Nostoc* sp. strain HK-01 in NaCl tolerance. *Journal of Applied Phycology* 24(2), pp. 237–243.
- **Zerrad, W., Hillali, S., Mataoui, B., Elantri, S., Hmyene, A. 2006.** Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaire de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. Congrès International de Biochimie.
- **Zhang, J., Nguyen, HT., Blumo, A. 1999.** Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plant. *Journal of exp. Bot.*, pp. 50, 322.
- **Zhany, J., Luq, and Uerma, DSP. 1995.** Removal of feedback inhibition of delecta 1-purroline-5-carboxylate synthétase , a bifunctional enzyme catalyzing the first step of proline biosynthesis in plants. *J.Biol.Chem.*270, pp. 20491-96.
- **Zid, E., Grignon, C. 1991.** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, d'AUPELF-UREF. Paris, Actualité scientifique.
- **Zinniel, D K., Lamberchit, P., Harris, NB., Feng, Z., Kuczmarski, D., Higley, P., Ishimaru C A., Arunakumar, A., Bareletta, R G., Vider, A K. 2002.** Isolation and characterization endophytic colonizing bacteria from agronomic crop, and prairie plant. *Appl. Environ. Microbiol.*68, pp.2198-2208.

Annexes

Annexes

1 Les tableaux

Tableau 1 : L'analyse granulométrique des sols étudiés

La station	La texture	Les constituants du sol			
		Argile	Limon	Sable	
				Gros	Fin
Oued sly	Sableuse (sable mal gradué)	/	/	70%	30%
Oued el djemaa	Sableuse (Sable bien gradué)	/	/	79 %	19%

Tableau 2 : Les résultats de dosage de calcaire.

Echantillons	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Moyenne	Pourcentage de CaCO_3 %
T (CaCO_3 pure)	60	57	56.2	57.73	26.0045
Oued sly	50.4	50.4	48.2	49.66	22.36 Sol calcaire
Oued el djemaa	62.6	60	62.8	61.8	27.83 Sol calcaire

Tableau 3 : pH et de conductivité électrique C_E .

Echantillons	pH		Conductivité électrique C_E ($\mu\text{S}/\text{Cm}$, 25°C)	Salinité (g/l)
	pH eau	pH K cl		
Oued sly	8.16 Sol alcalin	7.80	2230 Sol moyennement salin	1,49
Oued el djemaa	8.05 Sol alcalin	7.78	6720 Sol salin	4.30

Annexes

Tableau 4 : Caractéristiques macroscopiques et les fréquences des isolats analysés sur milieu de culture LB.

Isolat	Diamètre (mm)	Allure	Relief	Aspect	Opacité	Consistance	Couleur	Fréquence %
HSar1	10	Irrégulière	Plate	Rugueuse	Translucide	Homogène	Jaune	14
HSar12	5	Dentelé	Plate	Rugueuse	Translucide		Ronge claire	15
HCha21	5	Irrégulière	convexe	Rugueuse	Opaque		Beige	20
LSar31	4	Dentelé	Convexe	Rugueuse	Translucide		Jaune vive	7
LEur40	3	Dentelé	convexe	Rugueuse	Translucide		Blanche	10
LEur42	1	Dentelé	Plate	Rugueuse	Opaque		Blanche	4
LEua43	3	Irrégulière	Plate	Rugueuse	Translucide		Oronge claire	3
HSar3	8	Irrégulière	concave	Lisse	Opaque		Crème	17
HLir4	0,8	Dentelé	Plate	Lisse	Opaque		Blanche	7
HLir5	0,4	Régulière	concave	Lisse	Translucide		Crème	46
HSaa7	0,7	Irrégulière	concave	Lisse	Transparent		Transparente	2
HSaa9	0,6	Irrégulière	concave	Lisse C Rugueuse	Opaque		Oronge marron	1
HLir10	0,9	Irrégulière	convexe	Lisse	Opaque		Jaune vive	1
HEua20	0,3	Dentelé	concave	Lisse	Opaque		Crème	4
HChr24	0,9	Dentelé	Plate	Lisse	Opaque		Crème	54
LSaa35	0,5	Dentelé	Plate	Lisse	Translucide		Crème claire	3
LSur38	0,5	Irrégulière	convexe	Lisse	Opaque		Jaune vive	19
LChr45	0,6	Dentelé	Plate	Lisse	Translucide	Crème	15	

Annexes

LCha48	0,8	Irrégulière	concave	Lisse	Opaque	Homogène	Jaune	4
HSur51	0,8	Irrégulière	Concave	Lisse	Opaque		Rose	1
HSaa2	0,3	Régulière	Concave	Lisse	Translucide		Jaune vive	82
HSaa6	0,3	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Jaune vive	2
HSaa8	0,5	Dentelé	concave	Lisse	Opaque		Jaune vive	63
HLir11	0,4	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Marron claire	6
HSar13	0,2	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Jaune foncé	2
HSua14	0,1	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Blanche	3
HSua15	0,3	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Oronge foncé	5
HEua16	0,3	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Jaune	60
HChr22	0,1	Régulière	Concave	Lisse	Translucide		Crème claire	1
HChr23	0,1	Régulière	Plate	Lisse	Translucide		Oronge claire	22
LLir27	0,2	Régulière	concave	Lisse	Translucide		Jaune vive	4
LLir28	0,8	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Marron	1
LLir29	0,6	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Jaune vive	2
LSar30	0,4	Régulière	concave	Lisse	Opaque		Oronge	1
LSaa32	0,4	Régulière	Concave	Lisse	Translucide		Marron claire	33
LSaa34	0,3	Régulière	Concave	Lisse	Translucide		Crème	2
LSaa36	0,5	Régulière	concave	Lisse	Transparent		Crème claire	13
LSur37	0,4	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Saumon	75
LEur41	0,6	Régulière	concave	Lisse	Opaque	Oronge	3	

Annexes

LCha47	0,2	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Jaune	8
HSur52	0,1	Régulière	Concave	Lisse	Opaque		Oronge	30
LSaa33	0,2	Régulière	Concave	Rugueuse	Opaque		Oronge vive	15
LCha46	0,5	Régulière	concave	Rugueuse	Translucide		Marron	4
LCha49	0,4	Régulière	concave	Rugueuse	Opaque		Marron	41
HSaa50	0,3	Régulière	Concave	Rugueuse	Opaque		Oronge	10
HCha53	0,4	Régulière	concave	Rugueuse	Opaque		Marron	27
HEur17	0,1	Régulière	Plate	Lisse	Translucide		Crème	90
HSur18	0,3	Dentelé	Plate	Lisse	Opaque		Blanche	13
HEua19	0,1	Régulière	Plate	Lisse	Opaque		Jaune vive	24
HEur25	0,3	Régulière	Plate	Lisse	Opaque		Jaune	2
HChr26	0,4	Régulière	Plate	Lisse	Translucide		Rose claire	2
LSur39	0,6	Régulière	convexe	Lisse	Opaque		Jaune claire	6
LSua44	0,3	Régulière	Plate	Lisse	Transparent		Transparente	30

L : la concentration faible de NaCl 5.8 g/l. **H** : la concentration forte de NaCl 11.7 g/l. **Sa** : *Salicornia* sp., **Su** : *Suaeda* sp., **Ch** : *Chrysanthemum* sp., **Li** : *Linaria* sp., **Eu**: *Euphorbia* sp.

Annexes

Tableau 6 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats bactériens testés.

Isolats	Gram	Oxydase	Catalase	NaCl %							pH					T °C		
				0	3	8	15	20	25	32	4	5	7	9	11	15	30	45
HSar1	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
HSaa2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
HSar3	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HLir4	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
HLir5	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+
HSaa6	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
HSaa7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HSaa8	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
HSaa9	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
HLir10	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HLir11	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
HSar12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HSar13	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HSua14	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
HSua15	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
HEua16	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+
HEur17	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+

Annexes

LSur39	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
LEur40	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
LEur41	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
LEur42	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
LEua43	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LSua44	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
LChr45	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
LCha46	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
LCha47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
LCha48	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LCha49	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HSaa50	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HSur51	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
HSur52	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
HCha53	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

L : la concentration faible de NaCl 5.8 g/l. **H** : la concentration forte de NaCl 11.7 g/l. **Sa** : *Salicornia* sp., **Su** : *Suaeda* sp., **Ch** : *Chrysanthemum* sp., **Li** : *Linaria* sp., **Eu** : *Euphorbia* sp., **a** : partie aérienne, **r** : partie racinaire, + : réaction positive, - : réaction négative.

2 Composition des milieux de cultures utilisés :

2.1 Le milieu LB (Lauria Bertani) de 100mM

Réactif g/l

Extrait de levure 10

Bacto-tryptone 05

Chlorure de sodium 5.8

Agar 20

PH 07

Le milieu est agité et autoclaver pendant 20 Min à 120°C.

2.2 Le milieu LB (Lauria Bertani) de 200mM

Réactif g/l

Extrait de levure 10

Bacto-tryptone 05

Chlorure de sodium 11.7

Agar 20

PH 07

Le milieu est agité et autoclaver pendant 20 Min à 120°C.

2.3 Le milieu LB (Lauria Bertani) liquide utilisé pour les tests physiologiques, nous avons changé à chaque fois le facteur testé.

Réactif g/l

Extrait de levure 10

Bacto-tryptone 05

Chlorure de sodium 05

PH 07

Le milieu est agité et autoclaver pendant 20 Min à 120°C.

Table des matières

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1 Généralités sur les sols salins et les mécanismes de résistance et tolérance des plantes à la salinité

1.1 Les sols salins.....	3
1.2 Origine et genèse des sels.....	4
1.3 Répartition géographique des sols salins en Algérie et dans le monde.....	4
1.4 Impact de la salinité sur les processus physiologiques et biochimiques de la plante.....	4
1.4.1 Effet sur la germination.....	4
1.4.2 Effet sur la croissance et le développement.....	5
1.4.3 Effets sur la photosynthèse.....	5
1.4.4 Effet de la salinité sur les protéines et les sucres totaux.....	5
1.4.5 Effets sur la nutrition minérale des végétaux.....	6
1.5 Les mécanismes d'adaptation de la plante à la salinité.....	6
1.5.1 Adaptations morphologiques.....	6
1.5.2 Adaptations anatomiques.....	7
1.5.3 Adaptations physiologiques.....	7
1.5.3.1 Répartition et accumulation des ions dans la plante.....	7
1.5.3.2 Compartimentation vacuolaire.....	7
1.5.4 Adaptations métaboliques et accumulation des solutés organiques.....	7
1.5.4.1 Acides aminés et dérivés.....	7
1.5.4.2 Glucides solubles et acide organiques.....	8
8	
1.6 Les mécanismes de résistance à la salinité.....	9
1.6.1 Exclusion.....	9
1.6.2 Inclusion.....	9

Table des matières

1.6.3 La ré-excrétion.....	9
1.7 Caractéristiques et biologie des plantes halophytes.....	10
1.8 Quelques exemples des plantes halophytes en Algérie.....	11
2 Importance des bactéries endophytes dans l'agriculture : la Bio-fertilisation et la lutte biologique	
2.1 Caractères, source et niche de colonisation des bactéries endophytes.....	12
2.2 Interactions plantes- bactéries endophytes.....	14
2.2.1 La promotion de la croissance.....	14
2.2.2 La lutte biologique et la stimulation des mécanismes de défense de la plante (ISR).....	15
2.2.2.1 La compétition pour l'espace et les nutriments.....	15
2.2.2.2 L'antibiose.....	15
2.2.2.3 La sécrétion des enzymes lytiques.....	16
2.2.2.4 La stimulation des mécanismes de défense de la plante.....	16
2.3 La Bio-remédiation.....	17
2.4 Les bactéries endophytiques et la résistance à la salinité.....	19
2.4.1 Les mécanismes d'adaptation des bactéries endophytes halotolérantes.....	19
2.4.2 L'interaction des bactéries endophytes halotolérantes-plantes halophytes.....	20
2.4.2.1 Effet nutritionnel de la plante.....	20
2.4.2.2 Statut hormonal de la plante.....	20
2.4.2.3 Action d'anti-oxydation.....	21
Chapitre II : Matériel et méthodes	
2.1 Présentation géographique et climatologique de deux stations étudiées.....	22
2.1.1 La parcelle de la région de Chlef.....	22
2.1.2 La parcelle de la région de Relizane.....	23
2.2 Méthode d'échantillonnage.....	24
2.3 Détermination des caractéristiques physicochimique du sol.....	25
2.3.1 Préparation des échantillons.....	25

Table des matières

3.3.1.1 Analyse granulométrique.....	25
2.3.2.2 Conductivité électrique (C _E).....	26
2.3.3.3 Mesure de pH (potentiel en hydrogène).....	26
2.3.4.4 Dosage de calcaire total.....	27
2.4 Matériel végétal et détermination des espèces étudiées.....	28
2.5 Isolement des bactéries endophytes.....	29
2.5.1 Méthodologie d'isolement.....	29
2.5.2 Les milieux de culture	30
2.5.3 Dénombrement des isolats endophytes (suspensions- dilutions).....	30
2.5.4 Purification.....	30
2.5.5 Tests d' Identification préliminaire des bactéries endophytes.....	31
2.5.5.1 La coloration de Gram	31
2.5.5.2 Le test de recherche de l'oxydase.....	31
2.5.5.3 Le test de recherche de la catalase.....	31
2.5.5.4 La croissance à différentes concentration de NaCl.....	32
2.5.5.5 La croissance à différents taux de pH.....	32
2.5.5.6 La croissance à différentes températures.....	32
2.5.6 L'analyse statistique.....	32
Chapitre III : Résultats et interprétations	
3.1 Les plantes halophytes.....	33
3.2 Caractérisation physico-chimiques des sols des stations étudiés.....	35
3.2.1 L'analyse granulométrique.....	35
3.2.2 Dosage de calcaire.....	35
3.2.3 Détermination du pH et de conductivité électrique(C _E).....	35
3.3 Analyse microbiologique.....	38
3.3.1 Dénombrement et comparaison des densités des bactéries endophytes isolées par compartiment et par milieu d'isolement.....	38

Table des matières

3.3.2	Caractérisation macroscopiques des isolats obtenus.....	38
3.3.3	Caractérisations biochimiques et physiologiques.....	39
3.3.3.1	Coloration de Gram.....	41
3.3.3.2	Analyse biochimiques et physiologiques.....	42
3.3.3.3	L'analyse statistique.....	45
	Chapitre IV : Discussions des résultats.....	47
	Conclusion générale.....	52
	Références bibliographiques.	
	Annexe.	