

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master II académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Présenté par :
BENCHEIKH Amina.
GHORAF Nour elhouda.
SEGHIER Souad.

Thème :

Isolement et caractérisation des nouvelles souches PGPR et étude de leurs effets sur les teneurs en métabolites secondaires chez Moringa Oleifera.

Soutenu publiquement le 27 Juin 2019

Jury:

Président: M ^r BOUFARES Khaled.	MAA	Université Ibn Khaldoun
Promoteur : M ^r RAHMOUNE Bilal.	MCB	Université Ibn Khaldoun
Co-promotrice : M ^{me} DAHLIA Fatima.	MAA	Université Ibn Khaldoun
Examineur: M ^{me} CHAHBAR Safia	MCB	Université Ibn Khaldoun

Année universitaire 2018– 2019

Remerciements

Nous remercions Dieu Le Tout Puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements aux personnes qui ont bien voulu encadrer ce travail : notre promoteur M^r RAHMOUNE B., et notre Co promotrice M^{me} DAHLIA F., d'avoir accepté de nous encadrer et de nous suivre tout au long de la réalisation de ce mémoire par leurs esprits scientifiques de haut niveau, et par leurs caractères de noblesse incomparable, pour leur générosité et leur grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont aussi au membre du jury pour avoir accepté l'examen et la discussion de notre travail, pour leurs remarques judicieuses et leurs critiques enrichissantes qui vont valoriser notre mémoire. Nous remercions vivement M^r BOUFARES K., d'avoir accepté de présider le jury. Nous remercions M^{me} CHAHBAR S., d'avoir consacré de son temps pour examiner ce travail.

Merci à tous nos collègues pour tous les bons moments passés, pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur compétence. Merci du fond du cœur

En fin, A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

Dédicace

Avant tout chose, je remercie Dieu, Le Tout Puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Je dédie ce modeste travail

*À la plus forte et patiente femme au monde **ma très chère maman** pour ses grands sacrifices et qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. C'est grâce à elle que je suis arrivée à ce stade et à **mon très cher tendre père** pour tout l'amour qu'il m'a donné... Si je dois consacrer tout ma vie pour eux je ne peux pas rendre ce qu'ils m'ont fait, qu'ALLAH les garde et leurs accorde une longue vie.*

À Mes chères sœurs Dhawya, Kheira et surtout à mon adorable petite sœur Asma.

À Mes chers frères Abdelkader et sa femme, Mokhtar, Mustapha et surtout Ninou Mon meilleur ainsi qu'à sa femme! Qui est toujours présent pour moi. Jamais, il ne m'a laissé tomber !

À ma petite nièce Nour Soudjoud.

À Mes oncles, tantes, cousins et cousines paternels et maternels.

À toute la famille GHORAF.

À mes enseignants de l'université : M^r Benaïssa Toufik, M^r Adda, M^{me} Dahlia, M^r Rahmoune, M^r Hamzaoui, M^{me} Soualem, M^{me} Soualmi et M^r Boubkeur.

À mes amis (e) : Habiba, Zineb, Khadidja, Fouzia, Amina, Aïcha, Fatiha, Hafidha, Atika, Rachida, Assma, Elhadj, Hichem et Abdelkader qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

À mes trinômes Souad et Amina et leurs familles

À tous mes collègues de la promotion de 2^{ème} année Master Biologie, spécialité «Génétique moléculaire et Amélioration des Plantes»

À tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences, la réalisation de ce mémoire.

Nour Elhouda

Dédicace

C'est grâce à Dieu Le Tout Puissant Qui ma guidé et aidé durant tout mon cursus universitaire.

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

A mes très chers parents :

À qui je dois tout le bonheur du monde, pour leurs sacrifices et leur amour, patience et surtout pour leur soutien et encouragements, notamment tout au long de mon étude.

Que DIEU leur procure bonheur, santé et longue vie.

A ma chère Jumelle«Rachida »

A mes chères sœurs«Fatima et chourouk»

A mon frère«Abdelkader»

A mon adorable petit frère«Youcef»

A toute la famille«SEGHIER»

A mes très chères camarades, «Assma, Mnawra, Amel, Rekaia, Fatiha et Aicha»

A tous mes professeurs : «M^{me} DAHLIA, M^{me} SOUALMI, M^{me} SOUALEM, M^r BENAÏSSA, M^r ADDA et M^r KADDAR». Leur générosité et leur soutien m'obligent de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

A mes trinômes«NourElhouda , Amina et leurs familles».

A tous mes amis (es) sans exception.

A tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leur conseils et leurs compétences, la réalisation de ce mémoire particulièrement «Soraya, Fouzia, Mr Miloud, Hichem, El hadj et Abdelkader»

À tous mes collègues de la promotion 2^{ème} année Master Biologie, spécialité «Génétique moléculaire et Amélioration des Plantes»

À ceux que je n'ai pas cité mais que je porte toujours dans mon cœur

Souad

Liste des abréviations

AIA :	Acide Indole-3-Acétique.
AlCl₃ :	Chlorure d'aluminium.
CM :	Carré moyen.
Ddl :	Degré de liberté.
DO :	Densité optique.
Eq	Equivalent d'acide gallique par gramme.
AG/g :Fe₂(SO₄)₃ :	Sulfate d'ammonium ferrique.
GAE :	Acide Gallique Equivalent.
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène.
HCN :	Acide cyanhydrique.
ISR :	Résistance Systémique Induite.
K₂HPO₄ :	Hydrogénophosphate de potassium.
KCL :	Chlorure de Potassium.
MgSO₄ :	Sulfate de magnésium.
MnSO₄ :	Sulfate de manganès.
Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium.
(NH₄)₂SO₄ :	Sulfate d'Ammonium.
P :	Probabilité
PGPR :	Plant Growth Promoting Rhizobacteria.
PVK :	Pikovsakaya.
RFCP :	Rhizobactéries Favorisant la Croissance des Plantes.
TCs :	Tannins condensés.
THs :	Tannins hydrolysables.
Tr/min :	Tours par minute.

Liste des figures

Figure 1 : Sol rhizosphérique	4
Figure 2 : Description de la plante <i>Moringa Oleifera</i>	12
Figure 3 : Eau d'étang non traitée (a) et traitée (b) avec des graines	13
Figure 4 : Noyaux aromatiques des polyphénols	14
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes	15
Figure 6 : Différentes étapes d'isolement des PGPR	20
Figure 7 : Coloration de Gram.	21
Figure 8 : Caractérisation biochimique des PGPR	22
Figure 9 : Etapes d'inoculation de <i>Moringa oleifera</i> par les isolats bactériennes.	24
Figure 10 : Mesures des paramètres de croissance de <i>Moringa oleifera</i>	24
Figure 11 : Quelques étapes de la préparation des extraits aqueux.....	25
Figure 12 : Observation microscopique des bactéries isolées sous microscope optique	29
Figure 13 : Aspect morphologique des rhizo-bactéries sur milieu « King B » après 72h d'incubation.....	29
Figure 14 : Croissance des bactéries isolées sur le milieu de culture Ashby	30
Figure 15 : Solubilisation de phosphore par les souches. isolées.....	31
Figure 16 : Solubilisation de zinc par les souches isolées	31
Figure 17 : Réaction positive du teste d'indole	32
Figure 18 : Test de catalase	33
Figure 19 : Variation des longueurs des racines des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.....	34
Figure 20 : Variation des longueurs des parties aériennes des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.....	34
Figure 21 : Variation du nombre moyen de racines secondaires des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.	35
Figure 22 : Variation du nombre moyen des feuilles des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.....	36
Figure 23 : Variation du poids frais des feuilles des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.....	37
Figure 24 : Variation du poids frais des racines des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.....	37

Figure 25: Variation de la teneur en polyphénol totaux des extraits aqueux des plantes de <i>Moringa Oleifera</i> témoins et des plantes inoculées par les quatres isolats des PGPR.....	38
Figure 26: Variation de la teneur en flavonoïdes des extrais aqueux des plantes de <i>Moringa Oleifera</i>	39
Figure 27: Variation de la teneur en tanins condensés dans extrais aqueux des plantes de <i>Moringa Oleifera</i>	40

Liste des tableaux

Tableau 1 :Effets des PGPR sur la constitution de quelques plantes medicinales(Reddy, 2014; Egamberdieva et Da Silva, 2015).....	9
Tableau 2 : Matériel utilisé aux laboratoires.....	18
Tableau 3 :Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolas.....	28
Tableau 4 :Caractères biochimiques des isolats.....	30

Table des matières

<i>Remerciements</i>	2
<i>Dédicace</i>	3
Liste des abréviations	5
Liste des figures	6
Liste des tableaux	8
Table des matières	9
Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	4
1 Les PGPR	4
1.1 La rhizosphère	4
1.2 Les rhizobactéries.....	4
1.3 Les PGPR (Les bactéries promotrice de la croissance).....	5
1.3.1 Définition.....	5
1.3.2 Modes d'action	5
1.4 Utilisation des PGPR.....	8
1.5 Les PGPR en tant que éliciteurs biotiques	8
2 Le Moringa.....	10
2.1 Généralités sur la <i>Moringa oleifera</i>	10
2.2 Taxonomie.....	10
2.3 Description morphologique du <i>Moringa Oleifera</i>	10
2.4 Utilisations de Moringa	12
2.4.1 Utilisation industrielle	12
2.4.2 Culture et utilisation agricole	12
2.4.3 Médecine et pharmacologie.....	12
2.4.4 Assainissement des eaux usées et purification de l'eau	12
2.4.5 Alimentation.....	13
3 Métabolites secondaires	13
3.1 Définition	13
3.2 Classification des métabolites secondaires.....	14
3.2.1 Les composés phénoliques	14
3.2.2 Les tanins.....	16
3.2.3 Les alcaloïdes	16

3.2.4	Les terpénoïdes.....	17
Chapitre 2 : Materieles et méthodes.....		18
1.	Matériels.....	18
1.1.	Matériels utilisés aux laboratoires	18
1.2.	Matériels bactériens.....	18
1.2.1.	Prélèvement des échantillons et isolement des souches bactériennes	18
1.2.2.	Ensemencement et incubation	19
1.2.3.	Sélection des colonies bactériennes.....	19
1.2.4.	Identification et caractérisation des PGPR.....	20
1.3.	Matériel végétal.....	22
1.3.1.	Effet des PGPR sur la croissance de moringa	23
1.3.1.1.	Préparation de l'inoculum bactérien.....	23
1.3.1.2.	Désinfection des graines de moringa.....	23
1.3.1.3.	Inoculation et semis des graines par les PGPR.....	23
4	Paramètres mesurés	23
4.1	Longueur de la racine principale et de la partie aérienne	23
4.2	Nombre de racines secondaires et de feuilles.....	23
4.3	La biomasse racinaire et aérienne totale fraiche.....	24
4.4	Extraction et dosage des métabolites secondaires chez <i>Moringa Oleifera</i>	25
4.4.1	Préparation des extraits aqueux	25
4.4.2	Détermination de la teneur en polyphénols totaux	25
4.4.3	Détermination de la teneur en flavonoïdes	26
4.4.4	Détermination de la teneur en tanins condensés (Pro-anthocyanidines)	27
Chapitre 03 : Résultats et discussions		28
1.	Caractérisation et identification des PGPR	28
1.1.	Identification phénotypique des souches bactériennes	28
1.2.	Caractérisation biochimique des souches bactériennes	30
1.2.1.	Fixation de l'azote	30
1.2.2.	Solubilisation du phosphate	30
1.2.3.	Solubilisation de zinc	31
1.2.4.	Test d'indole	32
1.2.5	Test de catalase	32
2.	Effet des PGPR sur la croissance chez la <i>Moringa Oleifera</i>	33

2.1	Longueur moyenne des racines	33
2.2	Longueur de la partie aérienne	34
2.3	Nombre moyen de racines secondaires.....	35
2.4	Nombre moyen des feuilles	35
2.5	Poids frais des feuilles	36
2.6	Poids frais des racines	37
3.	Effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires chez <i>Moringa Oleifera</i>	38
3.1.	Teneur en polyphénols totaux	38
3.2.	Teneur en flavonoïdes	39
3.3.	Teneur en tanins condensés	40
4.	Discussions	41
4.1.	Isolement et identification des PGPR	41
4.2.	Caractéristiques biochimiques des PGPR qui favorisent la croissance des plantes.....	42
4.3.	Effet des PGPR sur la croissance des plantes chez la <i>Moringa Oleifera</i> :	44
4.4.	Effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires chez la <i>Moringa oleifera</i> ...	45
	Conclusion.....	47
	Références bibliographiques	49
	Annexes	28
	Résumé	28

Introduction générale

Introduction

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir et se soigner (Fellah et *al.*, 2006). Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal (Jean et Jiri, 1983). Il existe dans le monde plus de 20000 espèces de végétaux, à usages condimentaires, médicinaux ou cosmétiques, dont 50% sont utilisés en industrie pharmaceutique (Bermness, 2005).

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en voie de développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS 2003) ; en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Ma et *al.*, 1997). Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (Salhi et *al.*, 2010). Elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Ameenah, 2006).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (Chaabi, 2008), telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les caroténoïdes ont été identifiées (Mansouri et *al.*, 2005). Elles peuvent être considérées comme des bibliothèques de métabolites secondaires riches en molécules antioxydantes naturelles ayant de multiples intérêts alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

Néanmoins, la teneur de ces métabolites est faible, alors la recherche actuelle dans la découverte des médicaments à partir des plantes médicinales implique des techniques de biotechnologies modernes innovantes (Roberts et Shuler, 1997). L'élicitation présente une des stratégies la plus efficaces pour améliorer la productivité des métabolites des plantes (Amdoun et *al.*, 2005). Elle consiste à stimuler la biosynthèse de métabolites, surtout les métabolites secondaires par des substances dites « éliciteurs » qui peuvent être classés sur la

base de leur nature en : (i) éliciteurs abiotiques, tel que les métaux lourds, les rayons UV, les produits chimiques...etc., ou (ii) éliciteurs biotiques, qui sont des organismes vivants comme les champignons, les levures et les bactéries (les PGPR).

Les PGPR «PlantGrowth-PromotingRhizobacteria » se sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et caractérisées par leurs effets bénéfiques sur les plantes (Dey et *al.*, 2004 ; Herman et *al.*, 2008). Elles peuvent améliorer la germination des graines, la croissance des racines et des pousses, le rendement, l'absorption des nutriments et la tolérance au stress des plantes et permettent de lutter contre diverses maladies (Jaborova et *al.*, 2013). Des études récentes montrent que les PGPR jouent un rôle important dans l'amélioration de la croissance des plantes médicinales et augmentent, aussi, les teneurs des constituants phytochimiques qui sont largement utilisés pour guérir diverses maladies (Bharti et *al.*, 2013).

Le Moringa (*Moringa Oleifera*) ou arbre de vie, est une des plantes tropicales/subtropicales résistantes à la sécheresse et qui se développe dans des conditions arides. Elle est originaire de l'Inde, et cultivée en Afrique. C'est un arbre résineux dont le bois est de faible qualité, mais qui est préconisé depuis des siècles pour des usages médicaux et industriels traditionnels. Toutes les parties de l'arbre de Moringa sont comestibles et ont longtemps été consommées par l'homme (Fuglie, 1999). Diverses parties du Moringa agissent comme stimulants cardiaques et circulatoires, possèdent des propriétés antitumorales, antipyrétiques, antiépileptiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses, antispasmodiques, diurétiques, antihypertensives, hypocholestérolémiantes, antioxydantes, antidiabétiques, hépatoprotectrices, antibactériennes et antifongiques (Tsaknis et *al.*, 1999).

Ce mémoire s'inscrit dans le but d'apporter une meilleure connaissance sur l'effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires chez *Moringa Oleifera*.

Pour ce faire, on a :

- ✚ Isoler des nouvelles souches PGPR à partir de la rhizosphère du palmier dattier ;
- ✚ Caractériser morphologiquement et biochimiquement les isolats.
- ✚ Étudier les effets de ces isolats sur la croissance des plantes de *Moringa Oleifera* et sur les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et en tanins, dans les feuilles et les racines de la plante.

Pour répondre à ces objectifs, le présent travail s'articule autour de trois parties.

La première partie aborde une étude bibliographique préalable réalisée sur l'espèce *Moringa Oleifera*, les métabolites secondaires, et les PGPR.

La deuxième, décrit le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail.

Et, la troisième décrit tous les résultats obtenus et les discute en les comparant avec d'autres travaux dans cet axe de recherche.

Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus et quelques perspectives ont été suggérées.

Chapitre 01 :

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1 Les PGPR

1.1 La rhizosphère

Le terme rhizosphère (du grec *Rhiza*: la racine, et de sphère : domaine d'influence) a été utilisé pour la première fois par Lorenz Ailtner (1904) (Morgan et *al.*, 2005). La rhizosphère (figure 01) est la zone de sol qui est sous l'influence des exsudats racinaires. Dans cette zone se trouve un groupe particulier de bactéries, appelé : les rhizobactéries. Ces dernières sont capables de se multiplier et de rivaliser avec les autres microorganismes pour occuper cette zone riche en éléments nutritifs (Beauchamp, 1993).

Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (Adam, 2008).

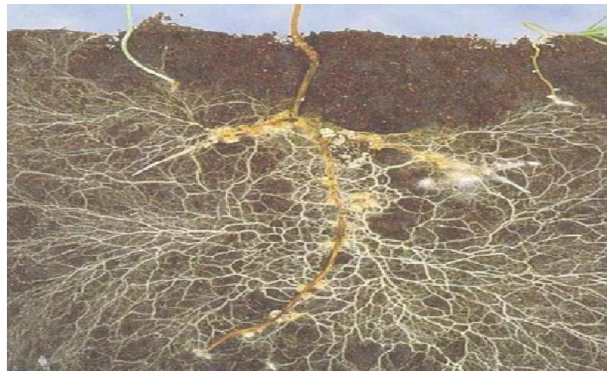


Figure 1 :Sol rhizosphérique

1.2 Les rhizobactéries

Les bactéries qui se trouvent dans la rhizosphère, dites rhizobactéries, sont capables de coloniser à l'intérieur ou à l'extérieur de la racine de nombreuses espèces des plantes et peuvent être divisées entre ceux qui forment une relation symbiotique avec la plante et ceux qui restent pathogènes (Kloepper et *al.*, 1989).

Les rhizobactéries sont généralement très compétitives et capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (Peter et *al.*, 2015), et sont des hétérotrophes typiques qui nécessitent des composés organiques comme source d'énergie, leurs besoins sont entièrement comblés à l'intérieur même de la rhizosphère (Campbell et Greaves, 1990). Quand

elles émettent des substances favorisant la croissance des plantes tout au long de leur cycle de développement (Kloepper, 1993).

1.3 Les PGPR (Les bactéries promotrices de la croissance)

1.3.1 Définition

Les PGPR ou « Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, on les considère comme rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (Dey et al., 2004 ; Herman et al., 2008 ; Microrsky, 2008). Ils sont connus par leurs effets bénéfiques sur le développement, la croissance et la santé de la plante. Les PGPR ont été tout d'abord décrits par Kloepper et Schroth en 1978 (Compant et al., 2005). Ils forment un groupe hétérogène de bactéries dont les genres les plus étudiés sont : *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* qui favorisent la croissance des plantes (Kloepper et al., 1999 ; Barraquio et al., 2000 ; Ahmad et al., 2008 ; Wang et al., 2014).

1.3.2 Modes d'action

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

1.3.2.1 Les mécanismes indirects

La stimulation de façon indirecte de la croissance des végétaux tout en agissant par effet antagoniste sur la microflore délétère, en se débarrassant des métabolites toxiques. Ces mécanismes sont en général, ceux qui se produisent en dehors de la plante (Hallmann et al., 1997 ; Saharan et Nehra, 2011) grâce à la concurrence pour les éléments nutritifs (ex ; la production des sidérophores) ou par l'induction d'une résistance systématique aux agents pathogènes (Shahabet al., 2009).

➤ L'antibiose

L'antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la

production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Peypouet *al.*, 1999; Bonmatinet *al.*, 2003 ; Lin *et al.*, 2005; Rahman *et al.*, 2007). Ces PGPR montrent non seulement un large spectre de diversité dans le type mais également dans le nombre d'antibiotiques produits (Raaijmakers *et al.*, 2002; McGowan *et al.*, 2005). Par exemple, certaines souches de PGPR ont la capacité d'excréter des métabolites qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines (Whipps, 2001).

➤ **Production des sidérophores**

Les micro-organismes ont la capacité de synthétiser des composés s'appropriant les ions ferriques présents dans la rhizosphère. Bien que le fer soit l'un des minéraux les plus abondants sur terre (Neilands *et al.*, 1987). Le fer inorganique se trouve sous sa forme oxydée Fe^{3+} qui donne des composés quasi insolubles (ex: oxydes, phosphates). Pour s'en procurer, les organismes doivent produire des petites molécules capables de chélater le Fe^{3+} et qui ont une haute affinité pour cet élément à faible poids appelés sidérophores (Gobat *et al.*, 2010). Les sidérophores libérés par les PGPR chélatent le fer minéral par la formation d'un complexe soluble de fer (Fe^{3+}) à l'aide d'un récepteur spécifique situé sur la membrane cellulaire externe de la bactérie (O'Sullivan *et al.*, 1991 ; Briat, 1992).

➤ **La production l'HCN**

L'acide cyanhydrique (HCN) est un composé volatil qui s'évapore rapidement dans l'air à des températures supérieures à 28°C et qui se dissout rapidement dans l'eau. Il peut être toxique pour les humains et les animaux et le degré de toxicité dépend de la quantité consommée (Meena *et al.*, 2001). Les cyanides sont des métabolites secondaires produits dans la rhizosphère par plusieurs micro-organismes, directement à partir de la glycine ou à partir des glycosides cyanogènes (Bakker *et al.*, 1987).

Il est l'un des mécanismes qui aident à améliorer la production végétale par les RFP liées à la lutte biologique, soit par induction des mécanismes de défense des plantes ou par antagonisme (Haas *et al.*, 1991 ; Voisard *et al.*, 1989).

1.3.2.2 Les mécanismes directs

La production de molécules organiques menant à la libération des nutriments et des régulateurs de croissance et l'augmentation de leurs biodisponibilités dans la rhizosphère, en

l'absence de pathogènes, elle traduit l'effet direct phytobénéfique des PGPR (Parrayet *al.*, 2015).

➤ **Fixation biologique de l'azote**

Les PGPR facilitent la croissance et le développement des plantes directement par l'apport d'azote aux plantes et par fixation de l'azote. L'azote est l'un des principaux éléments nutritifs pour les plantes. Il devient un facteur limitant dans les écosystèmes agricoles en raison des fortes pertes dues aux précipitations ou à la lixiviation des minéraux. L'azote est un élément essentiel pour toutes les formes de vie. La fixation biologique de l'azote par le biais de la nitrogénase réductase, fournissant des électrons à forte puissance réductrice à la nitrogénase qui les utilise pour réduire N₂ en NH₃, ce qui permet de concentrer sa disponibilité et son accessibilité aux racines (Kim et Rees, 1994). D'après Ahemad et Khan (2011) et Parray (2015), les cyanobactéries (*Anabaena* spp. et *Nostoc* spp.), *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. Et *Azoarcus* spp. Elles sont signalées parmi les bactéries libres, endophytes ou à symbioses associatives, au potentiel de fixation biologique d'azote le plus notable.

➤ **La solubilisation des phosphates**

Le phosphore (P) est le deuxième élément nutritif essentiel pour les plantes, mais la majeure partie de celui-ci reste fixée dans un sol non disponible pour les plantes. Le phosphore est nécessaire à la croissance des plantes et absorbé par les plantes du sol sous forme d'anions phosphates. Les plantes ne peuvent absorber le P que sous deux formes solubles, les ions monobasiques (H₂PO₄⁻) et dibasiques (HPO₄⁻) (Glass, 1989). L'inoculation avec un microorganisme efficace solubilise le phosphore, améliore la disponibilité de phosphore sous forme insoluble de phosphore dans le sol et améliore l'efficacité d'utilisation des engrais phosphatés tels que le superphosphate. Des genres bactériens comme *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Serratia* sont signalés comme les bactéries les plus importantes pour la solubilisation de phosphates (Mehnaz et Lazarovits, 2006).

➤ **Production de certaines hormones**

Plusieurs PGPR ainsi que certaines espèces de rhizobactéries pathogènes, symbiotiques et libres ont été signalés comme pouvant moduler les niveaux d'hormones végétales par la production d'auxines (l'acide indole 3- acétique AIA, particulièrement), de

gibbérellines et de cytokinines dans le sol rhizosphérique (Han et *al.*, 2005), ils modifient ainsi l'architecture racinaire par l'augmentation de la surface et de la longueur des racines donnant grand accès à la plante aux éléments nutritifs du sol (Glick, 2012).

1.4 Utilisation des PGPR

Dans les dernières décennies l'utilisation des PGPR est devenue alternative pour améliorer la production agricole (Vargas et *al.*, 2009). Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques, sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson, 2004). Ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et les éléments nutritifs (Siddiqui, 2003). Elles renforcent les capacités défensives des plantes contre les maladies (Van Loonet *al.*, 1998). Elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick et *al.*, 1999). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago, 2005).

1.5 Les PGPR en tant que éliciteurs biotiques

Il existe de nombreux rapports sur l'effet bénéfique des PGPR sur la croissance des plantes, l'absorption des nutriments et la défense contre les maladies. Cependant, il existe peu de travaux sur la production de métabolites secondaires dans les plantes médicinales, comme les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les tanins, l'ajmalicine, la serpentine, le picrocrocine, la crocétine, l'hyoscyamine, la scopolamine, les composés safranals et la tanshinone sont enregistrés comme les métabolites importants produits par les PGPR pour susciter les réactions physiologiques et morphologiques chez les plantes médicinales (Sekar S, Kandavel D2010).

Le tableau 1 résume quelques travaux sur l'effet des PGPR sur les constituants phytochimiques chez les plantes médicinales.

Banchio et *al.* (2008) ont étudié les effets de l'inoculation par les PGPR sur la biomasse et la composition qualitative et quantitative des huiles essentielles chez *Origanum Majorana L.* Ils ont constaté que la teneur en huile essentielle chez la plante est augmentée après inoculation par *Pseudomonas fluorescens*. Les principaux composés touchés par l'inoculation sont la terpinen-4-ol, le cis-sabinene hydrate, la trans-sabinene hydrate et l' α -terpinéol, leurs concentrations ont augmenté de 1000 fois par rapport à des plantes

témoins. L'augmentation de la teneur des huiles essentielles dans les pousses d'*Origanum* sp. (Khaosaad et al., 2006) et les espèces *Pélagonium* (Rao et al., 2002) par *Glomus mosseae* a été signalée. Des résultats similaires ont été observés par Gupta et al. (2002) où l'inoculation de *Mentha arvensis* avec *Glomus fasciculatum* augmente la hauteur des plantes, la croissance des pousses et la teneur en huiles essentielles. Selon (Del Rosario Cappellari et al., 2013), les *Pseudomonas fluorescens* et *Azospirillum brasilense* ont augmenté la biosynthèse des composantes majeures (azote) jusqu'à 70% et la teneur totale en phénol chez le tagète mexicain (*Tagetes minuta*).

Tableau 1 : Effets des PGPR sur la constitution de quelques plantes médicinales (Reddy, 2014; Egamberdieva et Da Silva, 2015)

PGPRs	Plante	Constituant phytochimique	Références
<i>Glomus macrocarpum</i> , <i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Anethum graveolens</i>	Limonène, α -phellandrene	Kapoor et al. (2002)
<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Mentha arvensis</i>	Huiles essentielles	Gupta et al. (2002)
<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Coléus forskohlii</i>	Forskoline	Sailo et Bagyaraj (2005)
<i>Glomus fasciculatum</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Ocimum</i> spp.	Huiles essentielles	Vinutha (2005)
<i>Glomus mosseae</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Huiles essentielles	Copetta et al. (2006)
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Anethum graveolens</i>	Carvone, limonène	Tajpoor et al. (2013)
<i>Glomus intraradices</i> , <i>Glomus etunicatum</i>	<i>Lonicera confuse</i>	Acide chlorogénique	Shi et al. (2013)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Tagetes minuta</i>	Huiles essentielles, phénols	Cappellari et al. (2013)
<i>Glomus mosseae</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Thymus daenensis</i>	Huiles essentielles	Bahadori et al. (2013)

2 Le Moringa

2.1 Généralités sur la *Moringa oleifera*

Le moringa (*Moringa oleifera*) est une plante tropicale /subtropicale pérenne ; de la famille des Moringaceae, à croissance rapide ; résistant à la sécheresse et qui se développe dans des conditions arides. Elle est originaire de l'Inde, et cultivée en Afrique. Elle est devenue l'une des plus utiles dans la nutrition humaine, la médecine traditionnelle, la nutraceutique, les utilisations industrielles et dans la purification de l'eau (Fahey, 2005).

2.2 Taxonomie

Moringa oleifera est connue plus généralement dans le monde sous le nom de moringa et elle est appelée aussi Acacia blanc, Ben ailé, moringa ailé, Benzolive, pois quenique, neverdie, Mother's Best Friend, Ne meurt jamais et l'arbre de vie (Fuglie, 2001 ; Lim, 2012).

La classification systématique de *Moringa oleifera* est comme suit (Arora et al., 2013) :

- **Règne** : Végétal
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous-classe** : Dillenida
- **Ordre** : Capparidales
- **Famille** : Moringaceae
- **Genre** : *Moringa*
- **Espèce** : *Moringa oleifera*

2.3 Description morphologique du *Moringa Oleifera*

Le Moringa est un arbre pérenne, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur, elle possède un tronc droit qui mesure 20 à 40 cm de diamètre, elle peut parfois atteindre les 3 mètres.

Ses feuilles sont caduques alternes et bi ou tripennées, sans stipules mais avec des glandes à la base des pétioles, elle se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles mesurent 20 à 70 cm de long, elle ont aussi un long pétiole avec 8 à 10 paires

de pennes(Botineau, 2010). Elles sont composées chacune de deux paires de folioles opposés (Figure 2A).

Ses fleurs sont zygomorphes, hermaphrodites, mesurant 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles ont une couleur blanche et généralement abondante et dégagent une odeur agréable (Foidl et al, 2001)(Figure 2B).

Ses fruits constituent des gousses à trois lobes mesurant 20 à 60 cm de long. Les gousses sèches s'ouvrent en trois parties en libérant 12 à 35 graines (Makkar et Becker, 1997) (Figure 2C).

Ses graines (Figure 2D) sont rondes avec une coque semi-perméable et brunâtre et leur poids varie de 130 à 320 mg(Panchal et al., 2010). La production annuelle est de 15 000 à 25 000 graines par arbre (Makkar et Becker, 1997).

Le système racinaire de *Moringa oleifera* a une structure tubulaire formée d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 mètre de profondeur lui offrant ainsi une grande résistance à la sécheresse. Des racines secondaires issues du pivot central se ramifient ensuite latéralement jusqu'à constituer une chevelure dense (Olson, 2001).

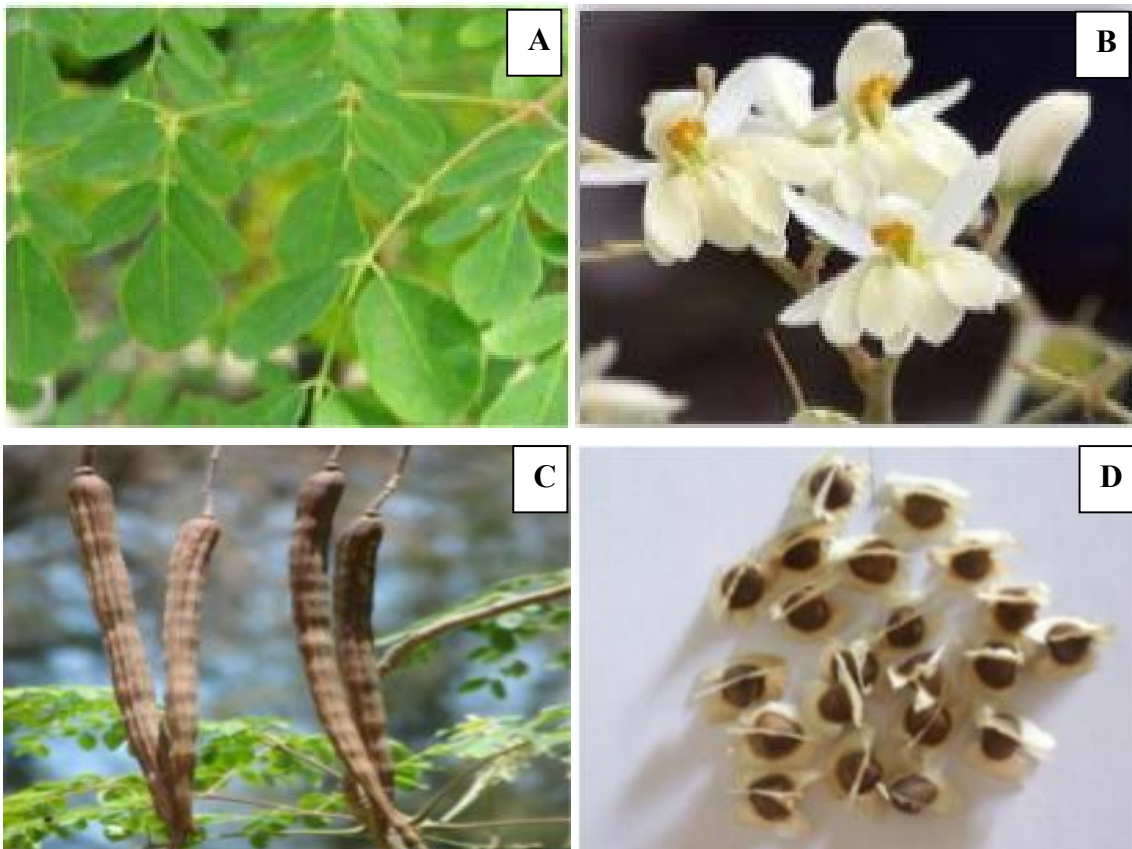


Figure 2 :Description de la plante *MoringaOleifera*. A : feuilles (Price, 2007) ; B : fleurs (Roloff et *al.*, 2009) ; C : gousses (Forest et Starr, 2007) et D : graines (Cleide et *al.*, 2013).

2.4 Utilisations de Moringa

2.4.1 Utilisation industrielle

L'huile de *Moringa oleifera* est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine ; comme l'horlogerie (pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante). Elle est également intéressante dans l'industrie cosmétique et de parfums (Foidl *et al.*, 2001). Le bois de *Moringa oleifera* constitue aussi une excellente pâte à papier (Price, 2007).

2.4.2 Culture et utilisation agricole

La culture du *Moringa oleifera* se prête à l'agroforesterie et à l'agriculture. L'arbre pousse de 3 à 4 mètres par an et présente donc un grand intérêt pour le reboisement et pour la protection des sols contre l'érosion. D'après Foidl et *al.*, (2001) *Moringa* joue un rôle dans l'accélération de croissance végétale. En agriculture biologique, le purin de feuilles de moringa est utilisé en pulvérisation comme fongicide et comme engrais.

2.4.3 Médecine et pharmacologie

De nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées à *Moringa oleifera*. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies inflammatoires, infectieuses, parasitaires, tumorales et prévention contre les dommages oxydatifs (Tahiliani et Kar, 2000; Ferreira *et al.*, 2007; Kumbhare et *al.*, 2012). Des études sur l'utilisation des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* ont confirmé les propriétés hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II et d'autres maladies cardiovasculaires (Jaiswalet *al.*, 2013 ; Anwar *et al.*, 2007). De même, les différentes parties de *Moringa* sont utilisées dans le traitement contre l'anémie, la perte d'appétit, les douleurs gastriques, l'ulcère à l'estomac, la diarrhée, la dysenterie, la colique, la régulation du diabète et de la tension artérielle (Nweze et *al.*, 2014).

2.4.4 Assainissement des eaux usées et purification de l'eau

Les graines de *Moringa oleifera* sont utilisées pour traiter l'eau usée (figure 03), grâce à sa richesse en polyélectrolytes cationiques actifs utilisés comme polypeptides naturels non toxiques qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques (Poumaye et *al.*, 2012).



Figure 3 : Eau d'étang non traitée (a) et traitée (b) avec des graines

2.4.5 Alimentation

Les feuilles, les fruits, les jeunes tiges, les racines et les fleurs sont consommables partout dans le monde. Les feuilles peuvent se consommer seules fraîches ou en poudre, après séchage (Broin, 2005) ou même associées aux épices comme le piment, elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme des haricots (Foidl et *al.*, 2001).

Les qualités nutritives de Moringa sont excellentes, ce qui en fait une source de fourrage de très bonne qualité (Foidel et *al.*, 2001). Leurs effets positifs sur le taux de croissance chez les moutons et sur le rendement en lait chez les vaches ont été rapportés par plusieurs auteurs (Reyes, 2006).

En outre, l'incorporation de farine de feuilles de *Moringa oleifera* dans les rations des poulets a montré une amélioration significative de la coloration du jaune d'œuf et de la productivité chez les poules pondeuses (Kakengi et *al.*, 2007; Tendonkeng et *al.*, 2009).

3 Métabolites secondaires

3.1 Définition

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel (1891) qui l'introduit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stéroïdes, les alcaloïdes, etc. Ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (Bourgaud, 2013).

Les métabolites secondaires sont produits dans différents endroits de la cellule et emmagasinés surtout dans les vacuoles. Ils sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre. En outre, leur concentration dans la plante varie selon, l'organe, le stade de développement et les conditions de l'environnement (Raven *et al.*, 2003).

3.2 Classification des métabolites secondaires

Trois grandes familles de métabolites secondaires ont été définies, sur la base de leurs voies de biosynthèses : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Bourgaud *et al.*, 2001).

3.2.1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière (Nkhili, 2009).

Leur structure chimique est comparable et caractérisé par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés (Figure 04). En outre, ils sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relie (Manallah, 2012).

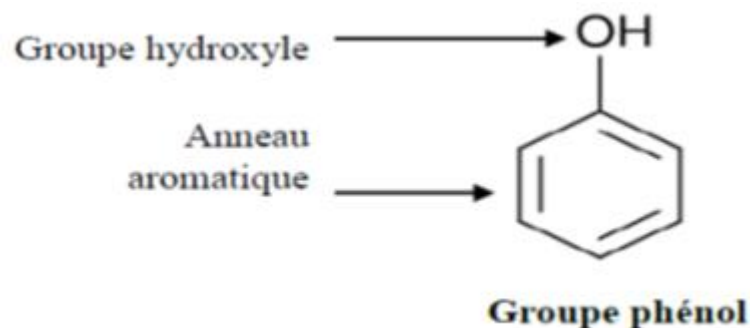


Figure 4 : Noyaux aromatiques des polyphénols

➤ *Les acides phénoliques*

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. On les trouve dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales et présents chez toutes les céréales (Laraoui, 2007).

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets probiotiques, antioxydants, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible. Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer œsophagien chez les rats (Laraoui, 2007).

➤ *Les flavonoïdes*

Le nom flavonoïde provient du terme Latin flavus ; (flavus=jaune) (MaleševićKuntić, 2007). Les flavonoïdes (figure 5) constituent un groupe de plus 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaunes, oranges et rouges de différents organes végétaux.

Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1% des fruits frais) et des légumes, des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Ils sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales (Derbel et Ghedire, 2005).

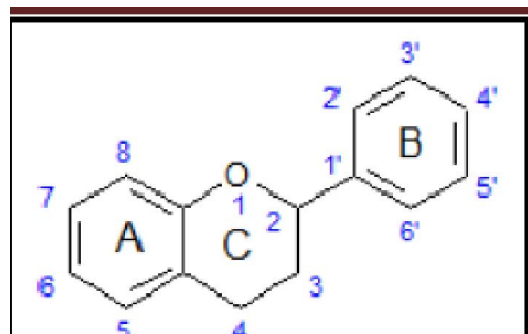


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003)

3.2.2 Les tanins

Les tanins sont des composés généralement amorphes localisés dans les vacuoles, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Aguilera-Carboet *al.*,2008) et ayant, les propriétés habituelles des phénols, (soit la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines). Les tannins peuvent être divisés en deux groupes principaux en fonction de leurs structures (Khanbabaee et Van Ree, 2001;Hagermane,2002).

3.2.2.1 Tanins hydrolysables

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (Mueller-Harvey, 2001). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol, tannins galliques, possèdent un acide gallique ou tannins éllagiques ont un acide hexahydroxyphénique.

3.2.2.2 Les tannins condensés

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999). Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine) liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Schofield et *al.*, 2001).

3.2.3 Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle(le plus souvent végétale), azoté plus ou moins basique, de distribution restreinte et douée, à faible dose. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitations avec les réactifs généraux des alcaloïdes (ex:réactif de Dragendorff) (Merghem,2009). Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. L'intérêt qu'on leur porte repose traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique et particulièrement violente chez l'Homme(William,2003).

On distingue plusieurs types d'alcaloïdes :

- **Les pseudo-alcaloïdes:** Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azotedans la structure se fait en phase finale.
- **Les proto-alcaloïdes:**L'azote n'est pas inclu dans un système hétérocyclique.Ils sont élaborés à partir d'acides aminés:exemples : mescaline, hordénine et colchicine.

- **Les alcaloïdes vrais** que l'on classe selon leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle; biosynthétiquement formée à partir d'acides aminés et possède une activité pharmacologique marquée (Merghem, 2009).

3.2.4 Les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011).

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011).

Ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa, 2011).

Chapitre 02 :

Matériel et méthodes

Chapitre 02 : Matériels et méthodes

Notre expérimentation s'est déroulée aux laboratoires d'analyse du sol et de microbiologie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

1. Matériels

1.1. Matériels utilisés aux laboratoires

Les matériels et appareillage utilisés aux laboratoires pour la réalisation des différentes expérimentations sont illustrés dans le tableau 02.

Tableau 2: Matériels utilisés aux laboratoires.

Appareillage	Microscope, PH mètre, Réfrigérateur, Spectrophotomètre, Vortex, Balance, Agitateur magnétique, Autoclave, Bain marie, Etuve, Bec bunsen, Chambre de culture et Agitateur soucoueur.
Verrerie	Erlenmeyers, Verre de montre, Tubes à essai, Pipettes graduées, Micropipette, Eprovette graduée, Pissette, Pince, Mortier, Compte gouttes, Spatule, Pipettes pasteur, Lames et lamelles, Boîtes de pétries, Flacons, Entonnoirs, Barreau magnétique et Bêchers
Produits chimiques	Eau distillé, Alcool, H ₂ O ₂ , Réactif Kovac, Eau de Javel, Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃), Chlorure d'aluminium (AlCl ₃), Solution de sulfate ferreux, Butanol et Méthanol et HCl
Milieux de cultures	King B, Milieu Ashby sans azote, Milieu Pikovskaya, Tryptone sel (bouillon), Milieu spécifique pour la solubilisation de zinc
Colorants	Lugol, Cristal violet et Safranine

1.2. Matériels bactériens

Quatre éisolats bactériennes (PGPR) ont été utilisées durant notre étude. Elles sont éisolé à partir de sol de la rhizosphère du palmier dattier dans la Wilaya de Oued souf.

1.2.1. Prélèvement des échantillons et isolement des souches bactériennes

Deux échantillons du sol ont été prélevés durant le mois de février 2019. L'isolement des souches PGPR est effectué selon la méthode décrite par Kushwaha et *al.* (2013). 10 g de chaque échantillon de sol rhizosphérique ont été dissous dans des flacons qui contiennent 90

ml d'eau distille stérilé sous agitation rotative à 150 tr/min (tour par minute) pendant 20 minutes. Une série de dilutions jusqu'au 10^{-7} a été réalisée pour chaque échantillon.

Dans un tube à essai stérile de 10 ml, on mit 1 ml prélevé de la solution initiale puis on rajoute 09 ml d'eau distillée stérile et on les mit sous agitation rotative pendant 2 min. de la même façon, des séries de dilution ont été réalisée jusqu'à une dilution de 10^{-7} .

1.2.2. Ensemencement et incubation

Le milieu de culture qui a été utilisé pour permettre la croissance des isolats dans les différents tests décrit dans cette étude est le King B. C'est un milieu spécifique pour les bactéries rhizosphériques.

Des boites de pétri contenant le milieu de culture King B (annexe 01) ont été ensemencés avec 0,1 ml de chaque dilution puis incubés dans l'étuve pendant 72 heures à une température de 28 °C.

1.2.3. Sélection des colonies bactériennes

Les colonies bactériennes ayant la même morphologie ont été observées sur les boites de pétri, après 72h de culture. Quatre colonies bien isolées ont été sélectionnées (figure 06), prélevées et ré-striées sur un milieu King B frais puis ont été incubées de manière similaire que précédemment. Les quatre souches sélectionnées ont été codées pour faciliter leurs utilisations plu tard, ensuite, elles ont subi une série de multiplication (3 fois), afin d'assurer leurs puretés.

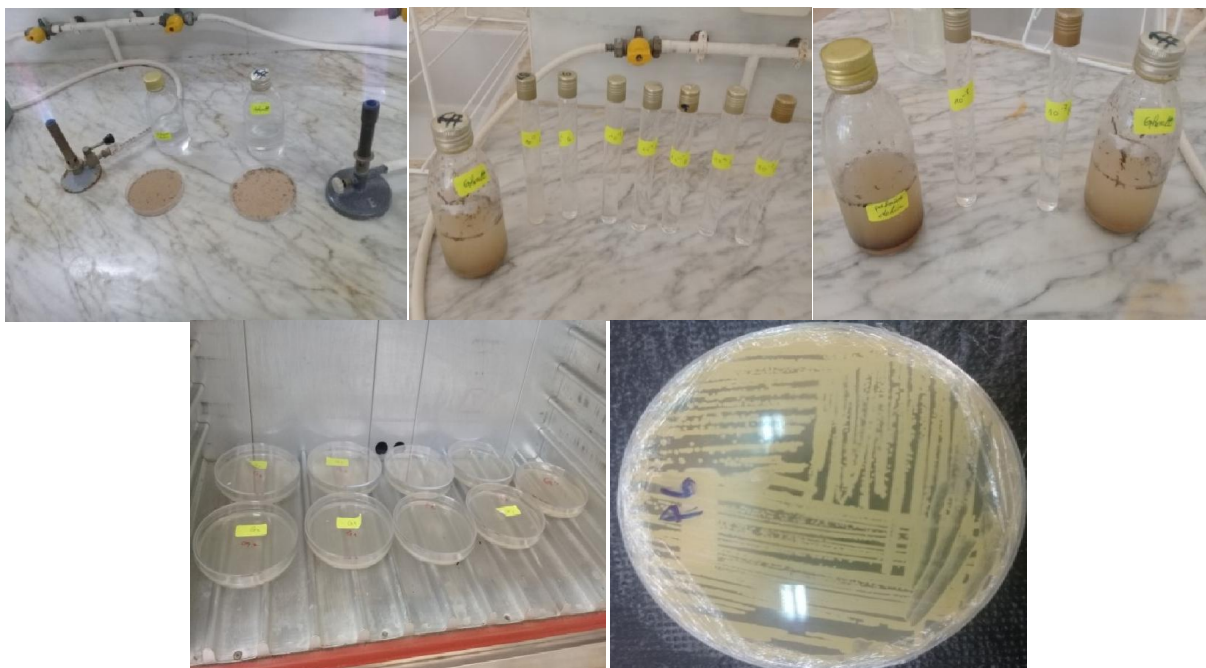


Figure 6: Différentes étapes d'isolement des PGPR.

1.2.4. Identification et caractérisation des PGPR

Après l'isolement on a nommé les quatre bactéries P2, P6, G1 et G4 et ensuite on fait des examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques ont été effectués dans le but d'identifier ces dernières.

1.2.4.1. Caractéristiques culturelles

Après 3 jours d'incubation des bactéries, les quatre isolats ont présentés des différentes caractéristiques des colonies telles que la forme des colonies (rondes, irrégulières...), la chromogène (couleur de la colonie), la surface des colonies (lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée). Ces variations ont été observées à l'aide d'un microscope optique.

1.2.4.2. Caractéristique morphologique

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet de diviser les bactéries en deux groupes : Gram+ (bien colorées en violet) et Gram- (colorées en rose). Avec la détermination de la forme (bacille, coccobacille, coque), la taille et le mode de regroupement (en amas, en chaînette, isole, diplocoque ou diplobacille). L'observation à l'état frais permet d'explorer la mobilité des cellules bactériennes.

Un frottis bactérien a été réalisé par dépôts d'une goutte d'eau distillée sur une lame de verre, prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée et dissociation soigneuse de l'inoculum dans la goutte d'eau et laisser sécher.

La préparation a été fixée à la flamme, séchée soigneusement puis laissée refroidir. La lame a été immergée dans la solution de Cristal Violet pendant 1 min puis a été lavée avec l'eau. La lame a été, par la suite, immergée dans du Lugol pendant 1 min en agitant et puis elle a été lavée à nouveau avec de l'eau.

La préparation a été décolorée dans l'alcool jusqu'à la disparition de la couleur violette et puis a été lavée avec de l'eau. A nouveau, la préparation a été colorée avec la solution de safranine diluée pendant 20 à 30 secondes, a été lavée avec l'eau et a été séchée à l'air (figure 07). L'ensemble, recouvert d'une lamelle, a été observé sous microscope optique à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile.



Figure 7: coloration de Gram

1.2.4.3. Caractéristique biochimique

➤ Fixation d'azote

Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, un test a été réalisé selon la méthode décrite par Rodge et *al.* (2016), les isolats ont été striés sur le milieu gélosé Ashby stérile, sans mannitol (ne contient aucune source d'azote) (annexe 2), et incubés dans l'étuve à 25 °C pendant 48 heures. La croissance des bactéries sur ce milieu de culture indique leurs capacités de fixer l'azote atmosphérique (figure 08B).

➤ Test Catalase

Les souches bactériennes ont été examinées pour leur activité catalase selon la méthode de Lévy et *al.* (1992). Des cultures bactériennes fraîches ont été transférées sur une lame en verre, puis une quantité appropriée de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3% a été ajouté sur les lames. La formation de bulles d'aires en 10 secondes confirme que la souche a une activité catalase (figure 08A).

➤ Test d'indole

Les isolats ont été inoculés dans des tubes à essai contenant un bouillon tryptone(annexe 1). Ensuite, les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 48 h. Après incubation, quelques gouttes de réactif Kovac ont été ajoutées aux tubes.L'apparition d'un anneau rouge cerise dans la couche supérieure indique que le test est positif alors que, son absence indique le que test est négatif (figure 08C).

➤ Solubilisation du phosphate

La capacité de la souche bactérienne à solubiliser le phosphate inorganique a été testée sur le milieu de Pikovskaya solide (PVK) contenant du Ca₃(PO₄)₂ comme seule source de phosphate (Annexe 01) (Pikovskaya, 1948). Les souches sélectionnées promotrices de la

croissance (P2, P6, G1et G4) ont été inoculées dans des puis sur Pikovskaya agaret ont incubée à une température de 30°C pendant 72h (figure 08D).Une lecture positive de la solubilisation du phosphate a été manifestée par la formation d'une zone claire autours des colonies (Alam et *al.*, 2002).

➤ **Solubilisation de Zinc**

Ce teste a été réalisé selon la méthode décrite par Goteti et *al.*, (2013), les isolats ont été striés sur le milieu gélosé stérilisé contenant l'Oxyde de zinc (ZnO) insoluble comme seule source de zinc (Tableau 2), puis ils ont été incubés à 30°C pendant 72h. La formation d'une zone claire autour des colonies bacteriennes indique la solubilisation du Zinc par ces bactéries (figure 08E).

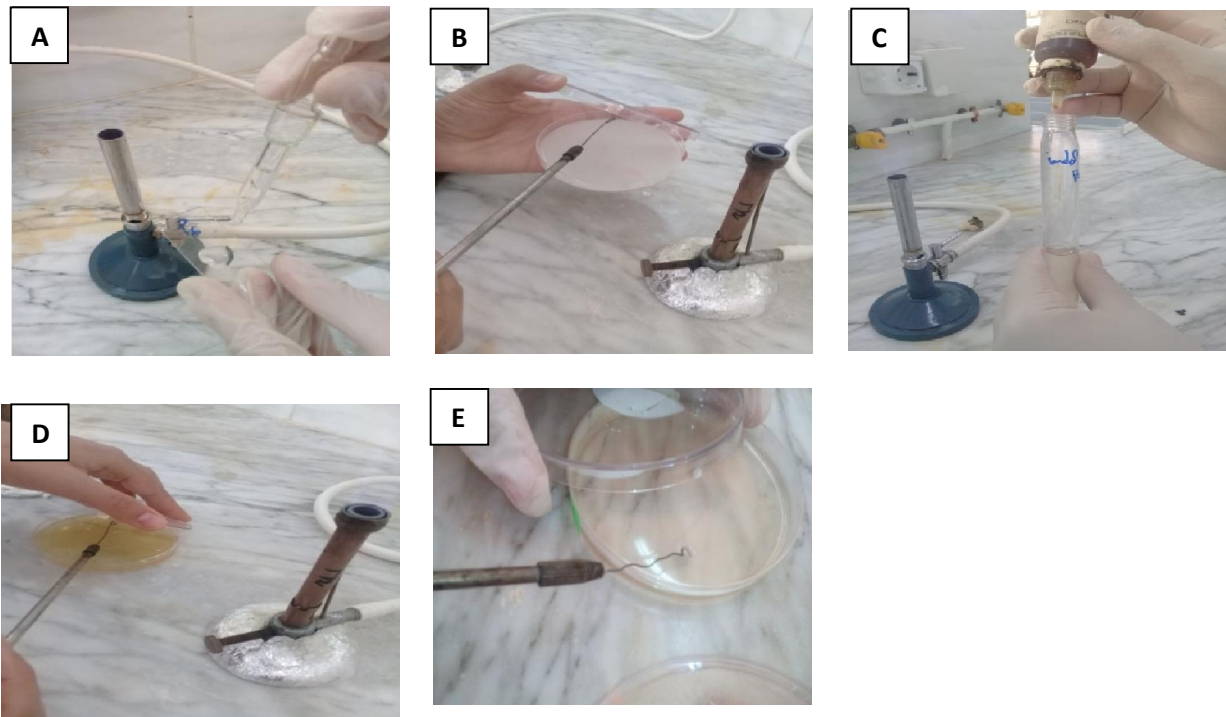


Figure 8 : Caractérisation biochimique des PGPR. (A) : Test catalase; (B) Test de fixation de l'azote; (C) : Test d'indole, (D) : Solubilisation du phosphate, (E) : Solubilisation du zinc.

1.3. Matériel végétal

Ce travail est mené sur les feuilles et les racines de la plante de moringa (*Moringa oleifera*), d'origine d'Oued souf Algérie.

1.3.1. Effet des PGPR sur la croissance de moringa

1.3.1.1. Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries ont été cultivées dans le milieu King B liquide et incubées, sous agitation à 120 tpm, pendant 24h à 28°C.

1.3.1.2. Désinfection des graines de moringa

Les graines de moringa oleifera ont subi une désinfection avec l'eau de Javel à une concentration de 10%, pendant 5 min. rincées abondamment (05 fois) avec de l'eau distillée stérilisé, pour l'élimination de l'eau de Javel.

1.3.1.3. Inoculation et semis des graines par les PGPR

Les graines traitées ont été immergés dans 04 erlenmeyers de 200 ml contenant des suspensions bactériennes sélectionnées promotrices de la croissance (G1, G4, P2, P6), pendant 2 heures.

Le semis des graines a été ensuite réalisé dans des pots en plastique de 10 cm, contenant le sol stérilisé humidifié. Les lots ont été organisés en cinq lot.les quatre premiers, ont été inoculés chacun par une souche de PGPR (P2, P6, G1 et G4) et le cinquième lot est considéré comme témoin négatif ne contenant aucun inoculum (figure 09).

Les lots ont été ensuite incubés dans une chambre de culture à 35°C avec une photopériode de 16 heures de lumière par jour. Ils ont été arrosés quotidiennement avec de l'eau. 15 jours après le semis, un rappel bactérien sur les plants inoculés a été procédé, chaque pot a été arrosé avec un volume de 13 ml des suspensions bactériennes de chaque souche.

4 Paramètres mesurés

On a mesuré les paramètres de croissance des plantules de la *Moringa Oleifera* dans le sstade de croissance.

4.1 Longueur de la racine principale et de la partie aérienne

Toute la partie qui s'étale du point d'initiation de la racine dans la graine jusqu'à la coiffe et toute la partie qui s'étale du point d'initiation de la tige dans la graine jusqu'à le sommet de la plantule ont été mesurées (figure 10).

4.2 Nombre de racines secondaires et de feuilles

Les racines secondaires sortant de la zone de ramification de la racine principale ainsi que le nombre de feuilles dans la partie aérienne ont été calculés.

4.3 La biomasse racinaire et aérienne totale fraîche

Les racines ont été séparées des parties aériennes par coupure au niveau du collet. Chaque partie est pesée à part pour déterminer les biomasses aériennes et racinaires fraîches.



Figure 9: Etapes d'inoculation de *Moringa oleifera* par les isolats bactériennes.



Figure 10 : Mesures des paramètres de croissance de *Moringa oleifera*.

4.4 Extraction et dosage des métabolites secondaires chez *Moringa Oleifera*

4.4.1 Préparation des extraits aqueux

Afin de préserver la totalité des molécules et des pigments, les racines et les feuilles de *Moringa oleifera* ont été conservés à température ambiante, à l'abri de la chaleur et de la lumière. L'extraction a été faite selon la méthode de macération décrite par Younesi et Zadeh (2002).

L'extraction utilisée dans cette étude est de type solide-liquide (contact direct entre le solide et le solvant). Son principe consiste à la séparation des composés phénoliques solubles par diffusion à partir d'une matrice solide (poudre) en utilisant une matrice liquide (solvant). Quand une matrice solide est en contact avec un solvant, les composants solubles dans le matériel migrent vers le solvant ; ainsi, l'extraction est due au transfert de matière du principe actif de la matrice vers le solvant, selon un gradient de concentration (Kamaliroosta et al., 2012).

La préparation des extraits aqueux a été effectuée selon le protocole de (Hossein zadeh et Younssi, 2002). Les racines et les feuilles séchées de *Moringa oleifera* ont été broyées à l'aide d'un mortier en porcelaine afin d'obtenir une poudre fine. La macération aqueuse a été utilisée pour l'obtention des extraits aqueux (figure 11). Elle consiste à mettre 1 g de broyat de chaque organe avec 10 ml d'eau distillée stérile dans des flacons hermétiques sous agitation horizontale à la température ambiante du laboratoire pendant 72h. Après, une filtration a été effectuée sur papier filtre. Le filtrat se prête aux dosages.



Figure 11 : Quelques étapes de la préparation des extraits aqueux

4.4.2 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif Folin-ciocalteu. Le réactif est constitué par un mélange

d'acide phospho-tungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-molybdène ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Son principe est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par le réactif Folin-ciocalteu. Cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde $\lambda=760$ nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon.

Dans des tubes à essai, 0,5 ml de chaque extrait aqueux (des feuilles) a été ajouté à 2,5 ml de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après une incubation de 3 minutes, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% a été ajouté. Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 15 minutes à la température ambiante et à l'obscurité (Singleton et Rossi, 1965).

La lecture des absorbances a été faite à longueur d'onde $\lambda=760$ nm contre un blanc sans extrait.

La concentration en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=0,001x+1,051$) (Annexe 02) et la teneur en polyphénols est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par 100 gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG 100/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Avec **T** : Teneur en polyphénols ;

C : Concentration en polyphénols déduite de la courbe d'étalonnage ;

V : Le volume de la prise d'essai ;

D : nombre de dilution (10 fois) ;

P : Prise d'essai initiale (1gramme).

4.4.3 Détermination de la teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} par la réaction chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) avec les flavonoïdes possédant un groupement hydroxyle (OH) libre. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbant dans le visible à 415 nm (Alyafi, 2007).

1 ml de la solution de chaque extrait a été ajouté à 1 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% (dissout dans le méthanol pur). Le mélange a été vigoureusement agité, puis l'ensemble a été incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 430 nm.

La concentration en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=72,749x-0.0714$) (Annexe 02) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

4.4.4 Détermination de la teneur en tanins condensés (Pro-anthocyanidines)

La méthode à la vanilline décrite par Deshpande *et al.*, (1986) : est utilisée pour le dosage des tanins condensés. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge mesuré à 500 nm (Hagerman, 2002).

A 250 μl de chaque extrait, ont été ajoutés 2,5 ml de la solution de sulfate ferreux (77 mg de sulfate d'ammonium ferrique $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ dissous dans 500 ml de (3 :2 butanol : HCl). Après une incubation à 95 °C dans un bain marie pendant 50 min, l'absorbance a été mesurée à 530 nm.

La concentration en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=72,749x-0.0714$) (Annexe 02) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

(On a fait les analyses statistique pour les parametres de croissances et les dosages en métabolites secondaires par le logéciele SPSS) .

Chapitre 03 :

Résultats et discussions

Chapitre 03 : Résultats et discussions

Les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens se nomment bactéries ou rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou PGPR : plant growth promoting rhizobacteria (Kloepper et Schroth, 1978 ; Lemanceau, 1992 ; Adesemoye et Kloepper, 2009). Ces rhizobactéries appartiennent à différents groupes taxonomiques (*Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobactérie*, *Bacillus*... etc.).

1. Caractérisation et identification des PGPR

Dans le cadre de notre travail, une analyse, de plusieurs types de données englobant les caractéristiques culturelles, morphologiques et biochimiques des quatre souches bactériennes, obtenues à partir de la rhizosphère de palmier dattier d'Oued Souf, a été effectuée. Les souches ont été nommées : G1, G4, P2 et P6.

1.1. Identification phénotypique des souches bactériennes

La caractérisation morphologique des bactéries a été faite par des techniques standardisées. Les tests effectués sont basés sur les critères classiques ou traditionnels utilisés dans les schémas d'identification pratiqués dans la plupart des laboratoires de microbiologie (Denis et al., 2007).

Le tableau 03 résume les caractères morphologiques des quatre souches bactériennes (G1, G4, P2, P6) isolées à partir du sol d'Oued Souf.

Tableau 3:Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolas

Isolats	Marge	Couleur	Odeur	Forme	Réaction de Gram
G1	Lisse	Jaune	++	Bacille	-
G4	Lisse	Crème	+++	Coque	-
P2	Lisse	Marron clair	+	Coque	+
P6	Lisse	Marron	+	Coque	+

Selon ce tableau, tous les isolats ont présenté des colonies avec des surfaces lisses.

Des observations microscopiques ont été effectuées afin de distinguer entre les formes, les marges et les couleurs des quatre souches isolées. Les résultats obtenus ont montré que les souches (G4, P2, P6) présentent une forme coque et la souche (G1) présente une forme bacille (figure 12).

En outre, après la coloration de gram (figure 12), les deux isolats G1, G4 ont été caractérisée par une couleur rose. Elles ont donc une réaction négative (Gram -). Les deux autres souches P2, P6 ont montré la couleur violette qui signifie une réaction positive (Gram +).

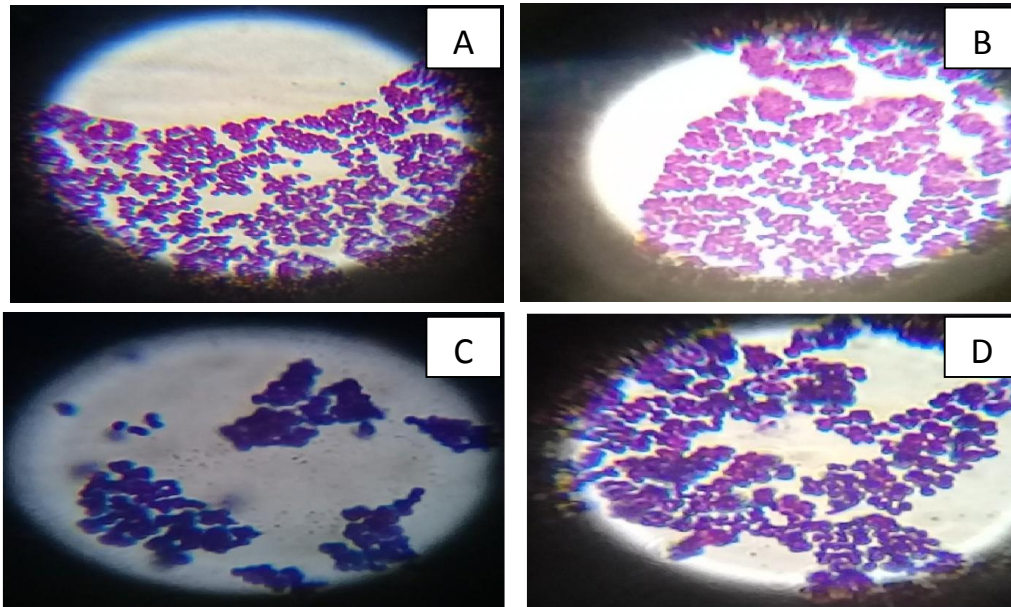


Figure 12 : Observation microscopique des bactéries isolées sous microscope optique (G x 100) : (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2,(D) : la souche P6.

La culture des différentes souches sur le milieu de culture « King B » (figure 13) révèle la manifestation de plusieurs colorations des bactéries qui sont : jaune pour la souche G1, crème pour souche G4, marron clair pour la souche P2 et marron pour la souche P6.

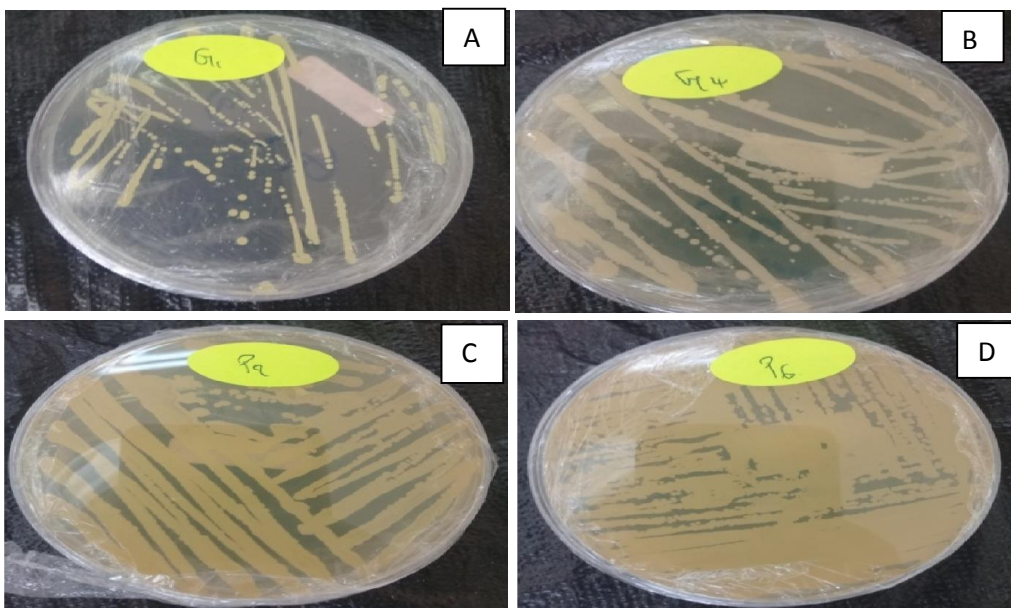


Figure 13:Aspect morphologique des rhizo-bactéries sur milieu « King B » après 72h d'incubation (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2, (D) : la souche P6.

1.2. Caractérisation biochimique des souches bactériennes

Les résultats de la caractérisation biochimiques des quatre souches bactériennes isolées du sol rhizosphérique d'Oued Souf sont résumés dans le tableau 04 et sont détaillés en dessous.

Tableau 4:Caractères biochimiques des isolats.

Souches bactériennes	Fixation d'azote	Solubilisation de phosphate	Solubilisation de zinc	Test de catalase	Test d'indole
G1	+	+	+	+	+
G4	+	+	+	+	+
P2	+	+	+	+	+
P6	+	+	+	+	+

1.2.1. Fixation de l'azote

Les résultats obtenus ont montré que les isolats G1, G4, P2 et P6 ont pu croître sur le milieu de culture « Ashby », qui ne contient aucune source d'azote, ce qui montre la capacité des quatre souches bactériennes à fixer l'azote atmosphérique (figure 14).

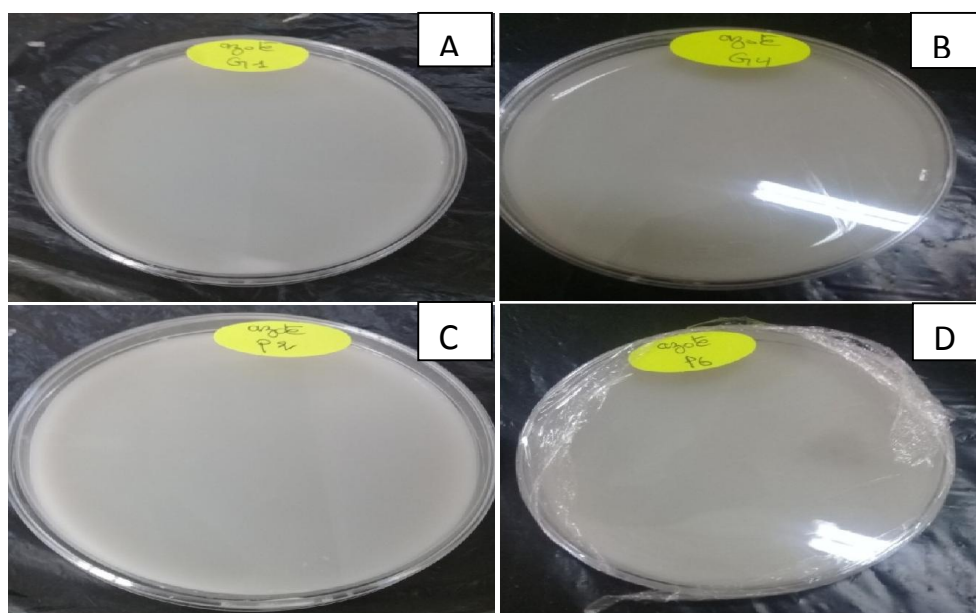


Figure 14:Croissance des bactéries isolées sur le milieu de culture Ashby: (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2, (D) : la souche P6.

1.2.2. Solubilisation du phosphate

Ce test a pour but de montrer la capacité des isolats de transformer le phosphore d'un format insoluble (phosphate tricalcique) et le rendre soluble (accessible pour les plantes). Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches bactériennes (G1, G4, P2 et P6) ont pu solubiliser le phosphore par la formation d'un anneau clair autour des colonies (figure 15).

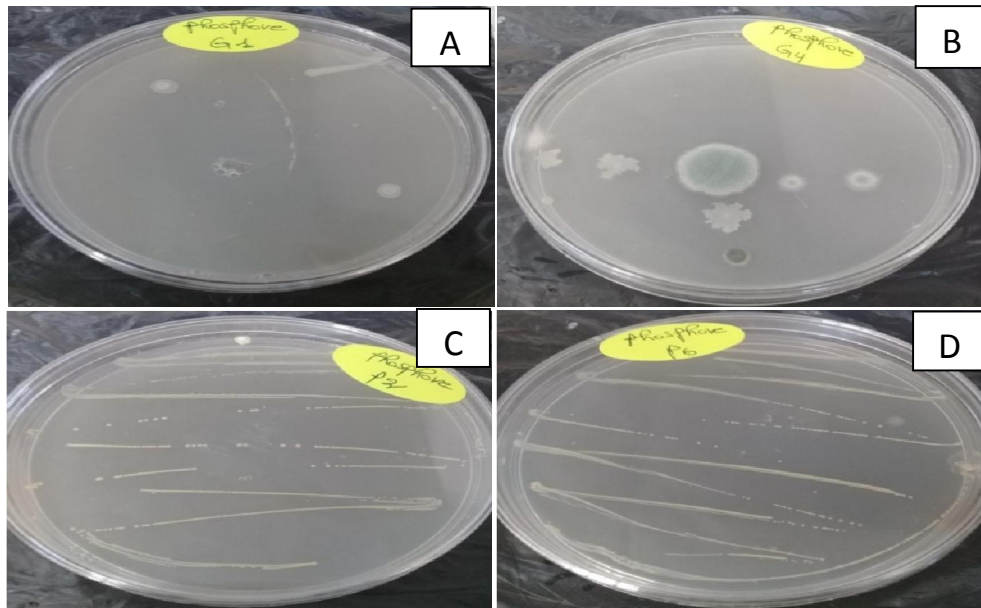


Figure 15 : Solubilisation de phosphore par les souches isolées : (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2, (D) : la souche P6

1.2.3. Solubilisation de zinc

Ce test est réalisé afin de montrer la capacité des isolats de transformer le zinc d'un format insoluble et le rendre soluble. Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches bactériennes (G1, G4, P2 et P6) ont pu solubiliser le zinc par la formation d'un anneau clair autour des colonies (figure 16).

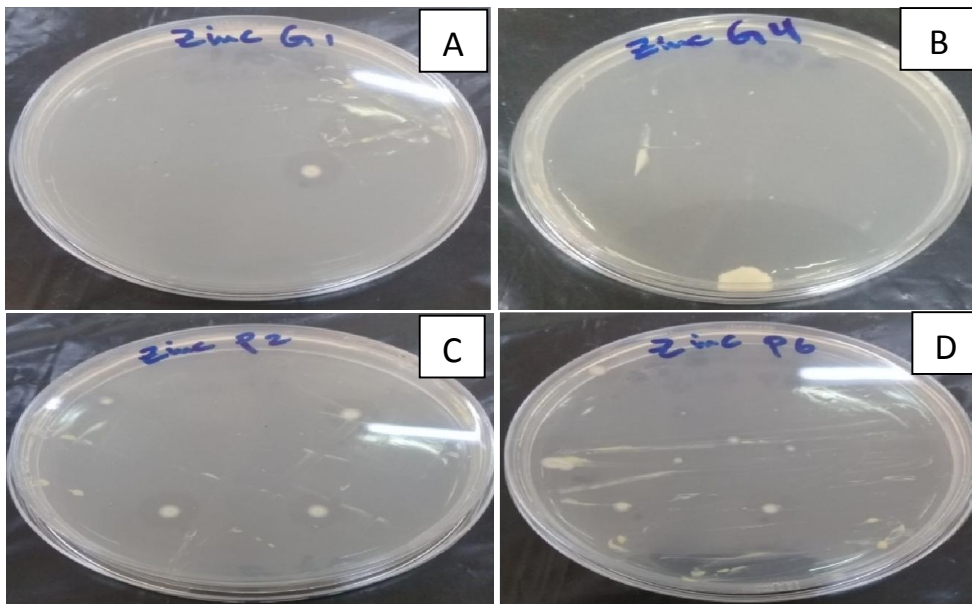


Figure 16: Solubilisation de zinc par les souches isolées : (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2, (D) : la souche P6.

1.2.4. Test d'indole

Les PGPR affectent la croissance des plantes par la synthèse des phytohormones tels que l'acide indole-3-acétique (AIA) (Zimmer et Bothe, 1989 ; Arshad et Frankenberger, 1993 ; Malhotra et Srivastava, 2008).

L'acide indole acétique (AIA) est l'un des auxines les plus physiologiquement actives, c'est un type de phytohormone connu (Malhotra et Srivastava, 2008). Il fonctionne comme un signal important dans la régulation du développement des plantes (Ryu et Patten, 2008). Il est connu pour induire une stimulation de l'élongation racinaire, de la division et de la différenciation cellulaire (Aloni *et al.*, 2006 ; Fukaki *et al.*, 2008).

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats (G1, G4, P2 et P6) ont réagi positivement avec ce test par la formation d'un anneau rouge cerise dans la couche supérieure des solutions bactériennes (figure 17).

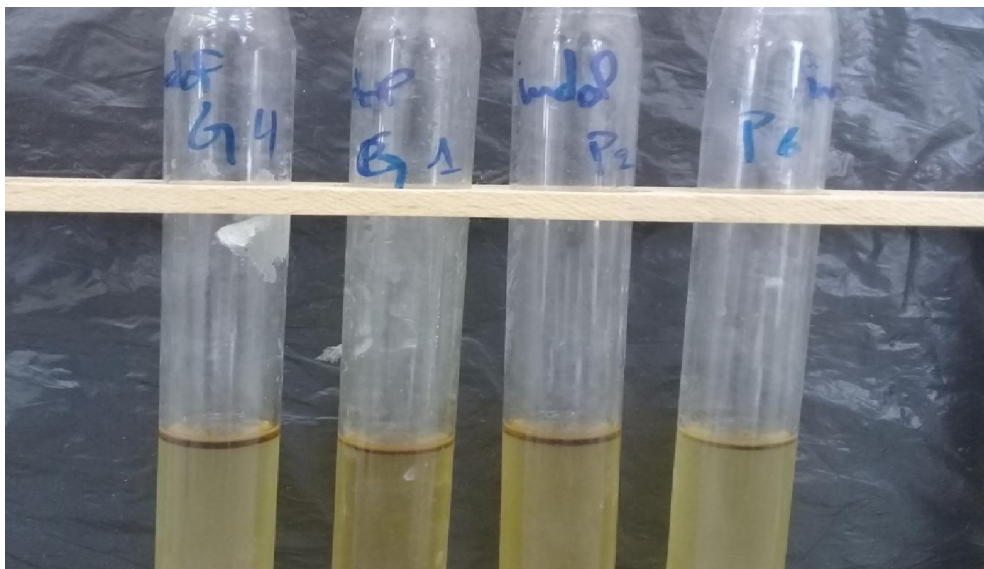


Figure 17: Réaction positive du test d'indole

1.2.5. Test de catalase

Pour effectuer l'identification d'une bactérie, il est préférable de connaître son type respiratoire. On trouve la catalase chez tous les organismes aérobies. C'est un cytochrome appartenant à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes.

Le test, illustré dans la figure 18, a montré que les quatre isolats sont catalases positives parce qu'ils ont dégagé des bulles d'air en contact avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

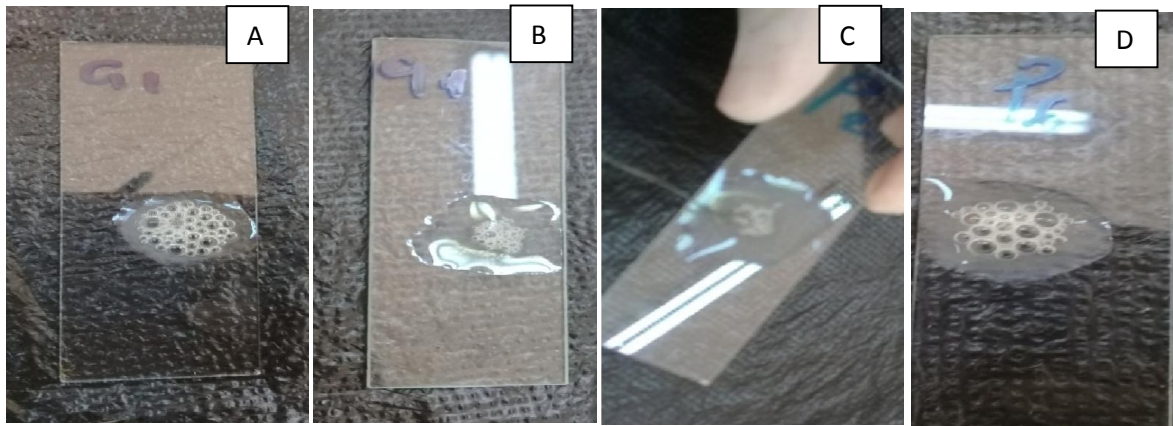


Figure 18: Test de catalase (A) : la souche G1, (B) : la souche G4, (C) : la souche P2, (D) : la souche P6.

Les résultats d'identifications des quatre souches bactériennes isolées, à partir de la rhizosphère de palmier dattier de la région d'Oued Souf, ont permis l'orientation vers trois genres bactériennes *Staphylococcus* (P2 et P6), *Pseudomonas*(G1) et *Neisseiria*(G4).

2. Effet des PGPR sur la croissance chez la *Moringa Oleifera*

Pour vérifier et confirmer l'effet des PGPR isolées sur la croissance de la plante *Moringa Oleifera*, cinq traitements ont été étudié. Les graines de *MoringaOleifera* sans inoculation (témoin) et les graines de *Moringa Oleifera* inoculées par les quatre isolats G1, G4, P2 et P6 (traités).

2.1. Longueur moyenne des racines

L'analyse de la variance au 30^{ème} jour de culture a révélé un effet non significatif ($p>0,05$) des bactéries sur la longueur moyenne des racines (Annexe 02).

Le test LSD de *Fisher* a montré l'existence d'un seul groupe homogène (Annexe 02).

Les isolats de PGPR ont augmenté de manière non significative la croissance en longueur des racines des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin.

Après un mois d'inoculation, les valeurs les plus élevées ont été obtenues chez les racines des plantes inoculées par les souches bactériennes P2 et G4 où la longueur moyenne des racines a dépassé de 25% la longueur des racines des plantes témoins. Les racines des plantes inoculées par la souche bactérienne G1 ont présenté une valeur moyenne similaire à celles des racines des plantes témoins (Figure 19).

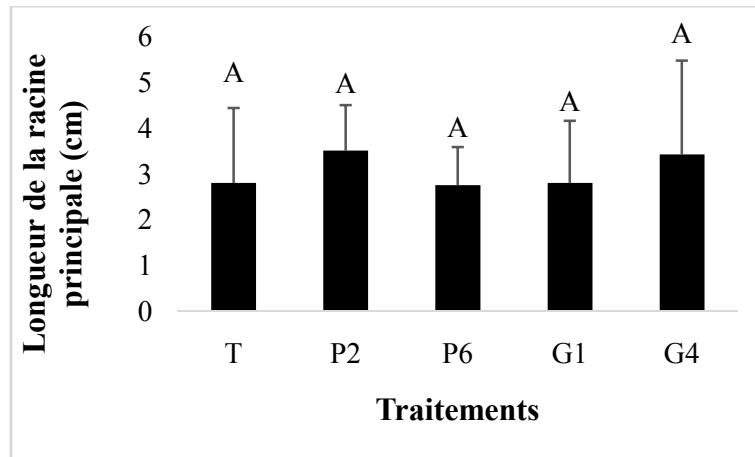


Figure 19: Variation des longueurs des racines des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

2.2. Longueur de la partie aérienne

L'analyse de la variance au 30^{ème} jour de culture a révélé un non significatif ($P > 0,05$) des bactéries sur la longueur moyenne des feuilles (Annexe 03).

Le test LSD de *Fisher* a montré l'existence d'un seul groupe homogène (Annexe 03).

Les isolats PGPR affectent de manière non significative la croissance de la partie aérienne des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin (figure 20).

Après un mois d'inoculation, la valeur la plus élevée a été obtenue au niveau des parties aériennes des plantes inoculées par la souche P6 où la longueur moyenne de la partie aérienne a dépassé de 17,74% par rapport aux plantes témoins. Les tiges des plantes inoculées par l'isolat G4 a présenté une supériorité de 13,19% par rapport aux tiges des plantes témoin. En dernière position, sont rencontrées les tiges des plantes inoculées par la souche bactérienne G1 qui a augmenté la longueur moyenne des tiges de 10,63% par rapport aux tiges des plantes témoins.

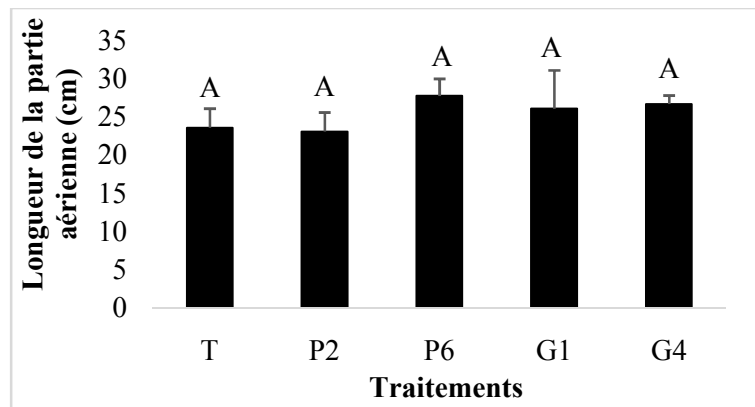


Figure 20 : Variation des longueurs des parties aériennes des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

2.3. Nombre moyen de racines secondaires

L'analyse de la variance, après 30^{ème} jour de la culture a montré, effectivement, un effet non significatif ($P > 0,05$) du traitement par les PGPR sur le nombre moyen de racines secondaires (Annexe 03).

Le test LSD de *Fisher* a montré l'existence d'un seul groupe homogène (Annexe 03).

L'inoculation par les isolats PGPR affecte de manière non significative le nombre moyen de racines secondaires des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin (figure 21).

Après un mois de culture, les plantes inoculées par les deux souches bactériennes G4 et G1 ont présenté une supériorité de 35,11 % et 33,33%, respectivement, en nombre moyen de racines secondaires par rapport aux plantes témoins. En dernière position, sont rencontrées le nombre moyen des racines secondaires des plantes inoculées par les deux souches bactériennes P2 et P6 qui ont augmenté le nombre moyen des racines secondaires de 9,62% par rapport aux témoins.

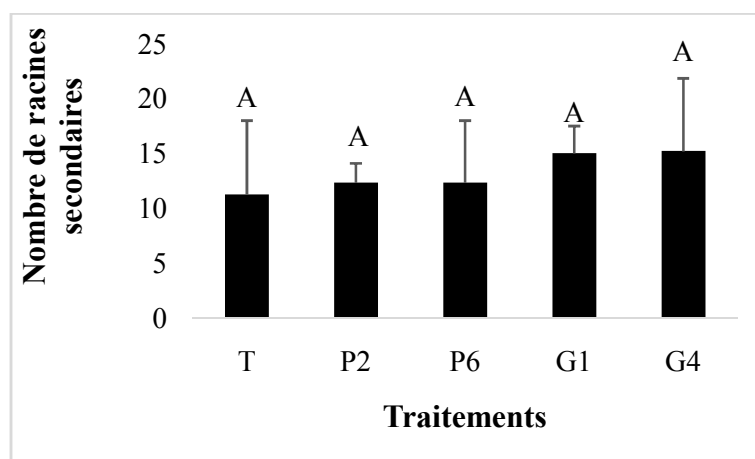


Figure 21: Variation du nombre moyen de racines secondaires des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

2.4. Nombre moyen des feuilles

L'analyse de la variance, après 30 jours de culture a montré, effectivement, un effet très hautement significatif ($P < 0,001$) du traitement par les PGPR sur le nombre moyen de feuilles (Annexe 03).

En effet, le test LSD de *Fisher* a révélé 03 groupes homogènes (Annexe 03).

L'inoculation des plantes par les quatre isolats des PGPR affecte de manière très hautement significative le nombre moyen des feuilles des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin (figure 22).

Après un mois de culture, la valeur la plus élevée a été obtenue chez les feuilles des plantes inoculées par la souche P2 où le nombre moyen des feuilles a présenté une augmentation de 76% par rapport aux plantes témoins. Les plantes inoculées par la souche P6 a présenté 65% de supériorité en nombre moyen de feuilles par plante par rapport aux plantes témoins. L'inoculation par la souche G4 a augmenté le nombre moyen des feuilles de 54% par rapport aux plantes témoins.

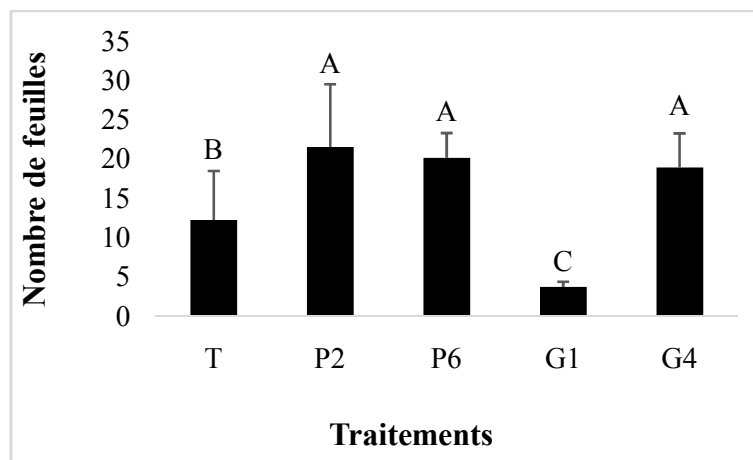


Figure 22: Variation du nombre moyen des feuilles des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

2.5. Poids frais des feuilles

L'analyse de la variance, après 30 jours de culture a montré, effectivement, un effet très hautement significatif ($P < 0,001$) du traitement par les PGPR sur le poids frais des feuilles (Annexe 03).

En effet, le test LSD de *Fisher* a révélé 03 groupes homogènes (Annexe 03).

L'inoculation des plantes par les quatre isolats des PGPR affecte de manière très hautement significative le poids frais des feuilles des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin (figure 23).

Après un mois de culture, la valeur la plus élevée du poids frais des feuilles a été obtenu chez les plantes inoculées par la souche P6 où le nombre moyen des feuilles a présenté une augmentation de 29% par rapport aux plantes témoins.

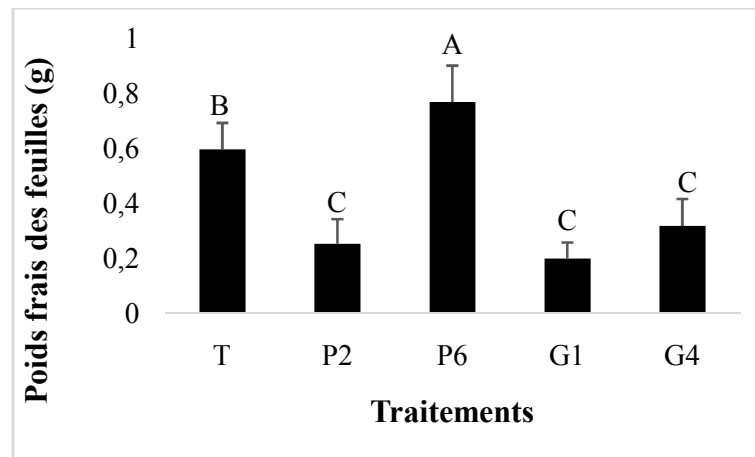


Figure 23: Variation du poids frais des feuilles des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

2.6. Poids frais des racines

L'analyse de la variance, après 30 jours de culture a montré, effectivement, un effet significatif ($P < 0,05$) du traitement par les PGPR sur le poids frais des racines (Annexe 03).

En effet, le test LSD de *Fisher* a révélé 03 groupes homogènes (Annexe 03).

L'inoculation des plantes par les quatre isolats des PGPR affecte de manière significative le poids frais des racines des plants de *Moringa Oleifera* par rapport au témoin (figure 24).

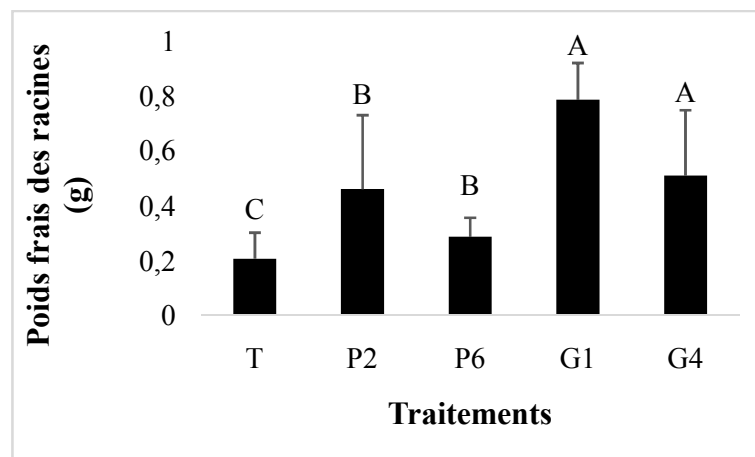


Figure 24: Variation du poids frais des racines des plantes témoins et des plantes inoculées par les quatre isolats des PGPR.

Après un mois de culture, la valeur la plus élevée de poids frais des racines a été obtenue chez les plantes inoculées par la souche G1 où le poids frais des racines a présenté une augmentation de 200% par rapport aux plantes témoins. La valeur obtenue chez les racines des plantes inoculées par la souche P6, présentant un poids faible par rapport aux

racines inoculées par les autres isolats, a présenté 45% de supériorité en poids frais par rapport aux plantes témoins.

3. Effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires chez *Moringa Oleifera*

Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins condensés a été effectué afin de caractériser l'effet des PGPR sur la teneur des extraits aqueux préparés à partir des plantes du *Moringa Oleifera*.

3.1. Teneur en polyphénols totaux

L'analyse de variance (Annexe 03) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les extraits aqueux des plantes inoculés par les PGPR et le témoin ($P < 0,001$), cela veut dire que les PGPR ont un effet positif sur la teneur des polyphénols totaux. Il y a aussi une différence très hautement significative ($P < 0,001$) des teneurs en polyphénols totaux entre les feuilles et les racines. Ces résultats indiquent que les teneurs en polyphénols totaux varient entre les plantes inoculées et non inoculées et aussi entre les feuilles et les racines (figure 25).

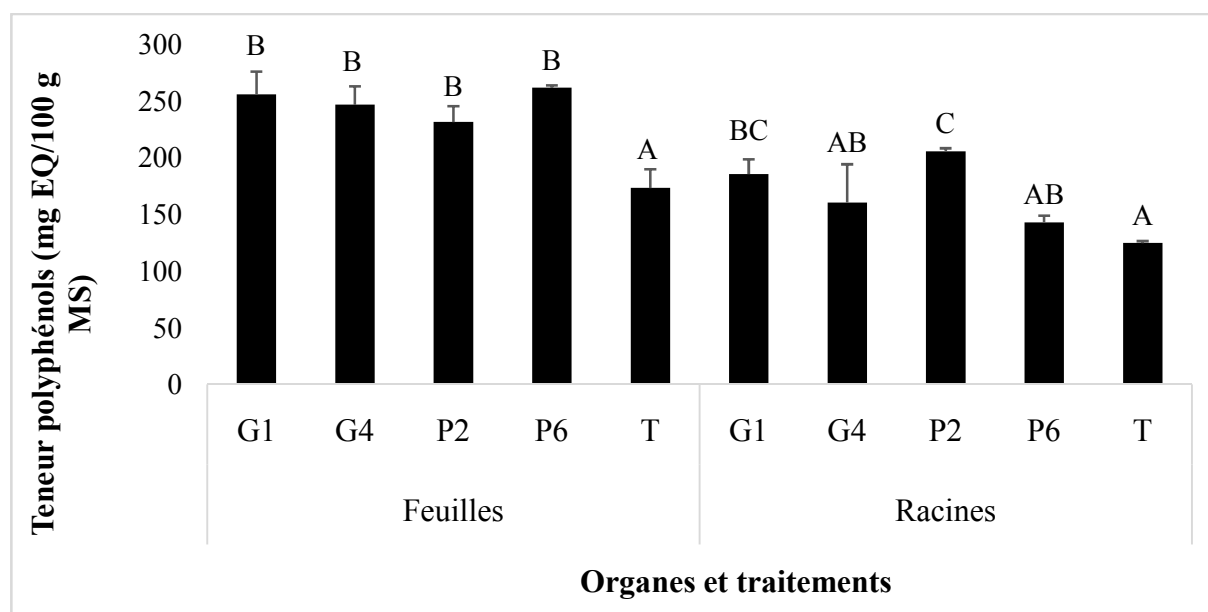


Figure 25: Variation de la teneur en polyphénol totaux des extraits aqueux des plantes de *Moringa Oleifera* témoins et des plantes inoculées par les quatres isolats des PGPR.

Les extraits aqueux des racines des plantes de *Moringa Oleifera* inoculées par les souches P2, G1, G4 et P6 présentent des teneurs plus élevées en polyphénols totaux. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 64,7% ; 48,8% ; 28,44% et 14,6% par rapport au témoin qui présente les teneurs les plus faibles en composés phénoliques.

Les extraits aqueux des feuilles des plantes de *Moringa Oleifera* inoculées par les souches P2, G1, G4 et P6 présentent des teneurs plus élevées en polyphénols totaux. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 33,45%, 42,35%, 42,31% et 50,9% par rapport au témoin qui présente les teneurs les plus faibles en composés phénoliques.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* (Annexe 3) révèle la présence, chez les racines, de deux groupes homogènes (A) et (C) et 02 groupes intermédiaires (AB) et (BC), et chez les feuilles, de deux groupes homogènes (A) et (B).

3.2. Teneur en flavonoïdes

L'analyse de variance (Annexe 03) montre qu'il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les extraits aqueux des plantes inoculés par les PGPR et le témoin, cela veut dire que les PGPR ont un effet positif sur la teneur en flavonoïdes. Sachant qu'il y a une différence des teneurs en flavonoïdes entre les feuilles et les racines. Ces résultats indiquent que la teneur en flavonoïdes se varie entre les plantes inoculées et non inoculées et aussi entre les feuilles et les racines (figure 26).

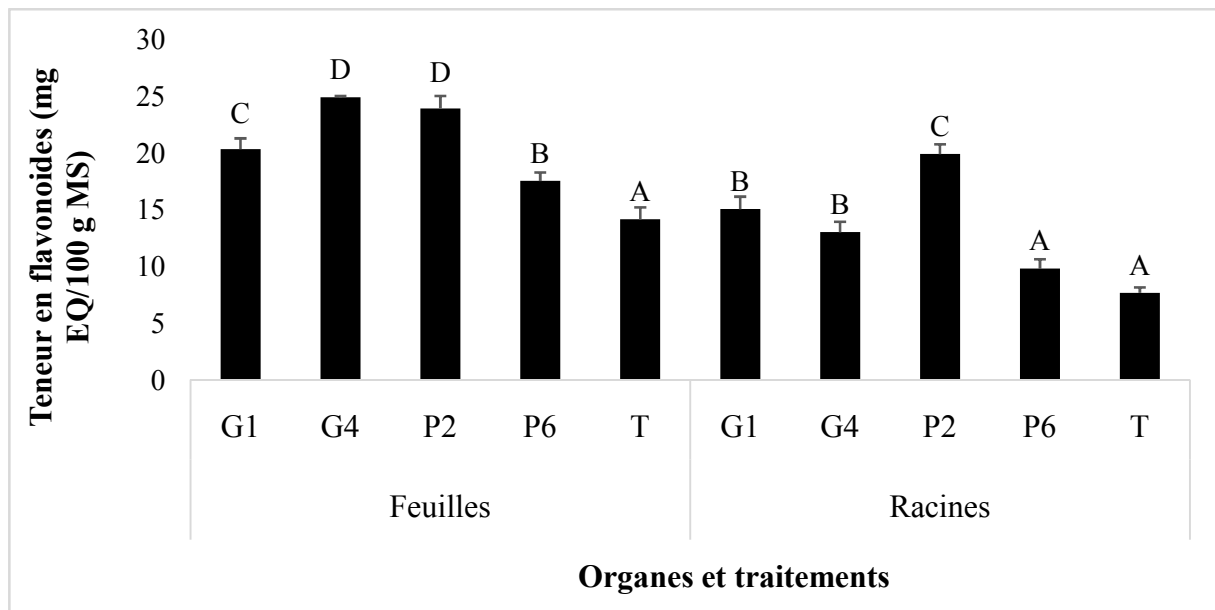


Figure 26: Variation de la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des plantes de *Moringa Oleifera*.

Les extraits aqueux des racines des plantes de *Moringa Oleifera* des souches P2, G1, G4 et P6 présentent des teneurs élevées en flavonoïdes. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 159,86% ; 96,2% ; 69,67% et 27,84 par rapport au témoin qui présente des teneurs faibles en flavonoïdes.

Les extraits aqueux des feuilles des plantes de *Moringa Oleifera* des souches G4, P2, G1 et P6 présentent des teneurs élevées en flavonoïdes. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 76,18% ; 69,31% ; 43% et 24% par rapport au témoin qui présente des teneurs faibles en flavonoïdes.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare 03 groupes homogènes chez les racines et 04 groupes homogènes chez les feuilles (Annexe 03).

3.3. Teneur en tanins condensés

Il ressort de l'analyse phytochimique que les extraits aqueux des plantes de *Moringa oleifera* contiennent des tanins.

Le tableau d'analyse de variance (Annexe 03) montre qu'il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les extraits aqueux des plantes inoculées par les PGPR et le témoin, cela veut dire que les PGPR ont un effet positif sur la teneur en flavonoïdes. Sachant qu'il y a une différence des teneurs en tanins entre les feuilles et les racines. Ces résultats indiquent que la teneur en tanins se varie entre les plantes inoculées et non inoculées et aussi entre les feuilles et les racines (figure 27).

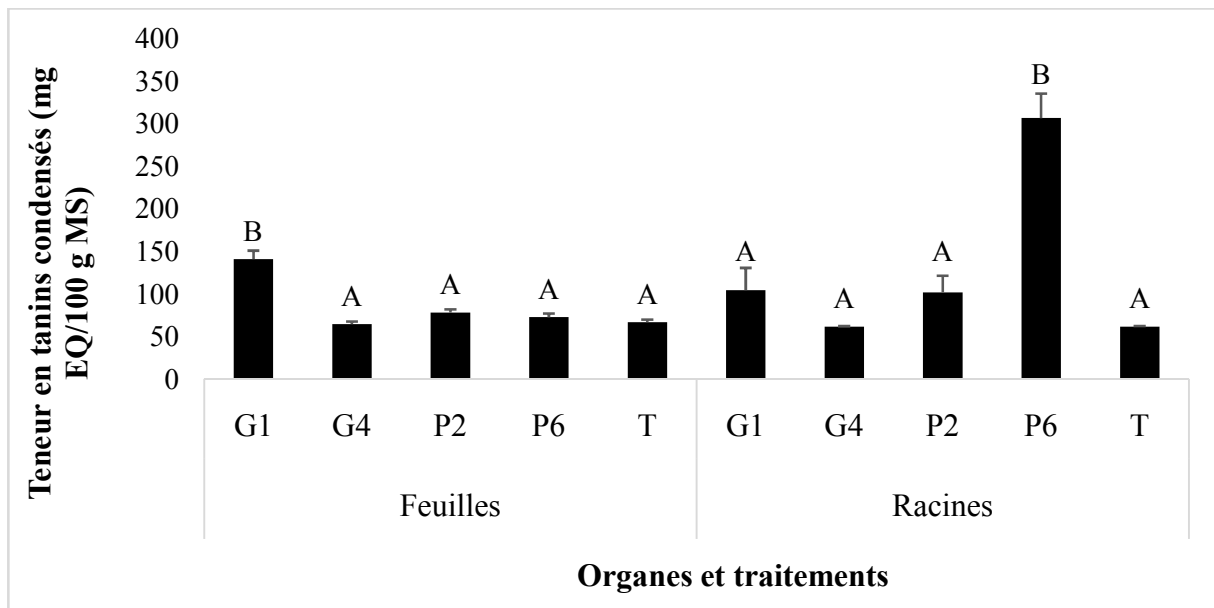


Figure 27: Variation de la teneur en tanins condensés dans extraits aqueux des plantes de *Moringa Oleifera*.

Les résultats ont indiqué que les teneurs en tanins condensés des extraits aqueux des racines des plantes de *Moringa Oleifera* inoculées par les quatre souches P2, P6, G1 et G4 présentent les valeurs les plus élevées. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 65,88% ; 400% ; 70,32% et 0,14% par rapport au témoin. Cependant, l'extrait

aqueux des racines des plantes de *Moringa Oleifera* non inoculées présente la teneur la plus faible en tanins condensés.

Les extraits aqueux des feuilles des plantes de *Moringa Oleifera* des souches P2, G1 et P6 présentent des teneurs élevées en tanins. Elles ont donné des augmentations respectives de l'ordre de 17,11% ; 111,38% et 8,7% par rapport au témoin qui présente des teneurs faibles en tanins.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare deux groupes homogènes (A) et (B) chez les racines et deux groupes homogènes (A) et (B) chez les feuilles (Annexe 03).

4. Discussions

La rhizosphère est colonisée plus intensément par des microorganismes que d'autres régions du sol (Lugtenberg et al., 2001). Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) constituent un groupe spécifique de bactéries du sol, qui colonisent la rhizosphère et améliorent considérablement la croissance et la productivité des plantes (Ghorbanpour et al., 2015). Elles peuvent améliorer la germination des graines, la croissance des racines et des pousses, le rendement, l'absorption des nutriments et la tolérance au stress des plantes, et sont capables de contrôler diverses maladies (Siddiqui, 2003).

Ces bactéries ont été classées dernièrement comme éliciteurs biotiques des métabolites secondaires chez les plantes médicinales (Jaleel et al., 2009). La production de métabolites secondaires tels que les phénols totaux, les alcaloïdes, les tanins, le lycopène et l'activité antioxydante de diverses plantes a également été stimulée après un traitement par les PGPR (Elango, 2004). Elles produisent des régulateurs de croissance qui agissent comme éliciteurs sur la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques, ce qui entraîne l'augmentation de leurs teneurs (Ghorbanpour et Hatami, 2013).

4.1. Isolement et identification des PGPR

Ainsi, afin d'étudier l'effet des isolats des PGPR sur la croissance et sur les teneurs en métabolites secondaires chez *Moringa Oleifera*, il faut tout d'abord les identifier.

Dans ce contexte, des méthodes classiques d'identification morphologiques et biochimiques, ont été utilisées pour déterminer les quatre souches bactériennes isolées qui ont été nommées : P2, P6, G1 et G4. Les clés de détermination classiques ont permis de les identifier comme étant appartenant aux genres : *Staphylococcus* (P2 et P6), *Pseudomonas* (G1), et *Neisseria* (G4).

Les *Pseudomonas* présentent avec les *Bacillus* les deux genres les plus abondantes dans les rhizosphères des différentes plantes. Lamari et al.(1996) ont trouvé que parmi 665 souches isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier, 374 (56.2 %) appartiennent au genre *Pseudomonas*. De même, dans une étude réalisée par Lambert et al. (1987) ont montré que les *Pseudomonas* est le genre dominant au niveau de la rhizosphère du palmier dattier.

Les *Pseudomonas* sont des bacilles, aérobies à Gram négatif, en forme de bâtonnets, mesurant de 2 à 4 µm de longueur.Ce sont des bactéries ubiquistes, rencontrées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (Saharan et Nohra, 2011). Elles ont la capacité à croître à des températures extrêmes qui varient de 4°C à 42°C. En outre, ces bactéries constituent un groupe complexe et hétérogène appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae* et contenant 211 espèces décrites de façon valide.

D'un autre côté, les *Neisseria* sont des bactéries coques le plus souvent par paire (diplocoques) ressemblant à des grains de café. Ce sont des bactéries à Gram négatif ; immobile, aérobie strict, et oxydase positive. Les colonies de cette bactérie sont grisâtres, visqueuses, arrondis bombées et opaques (pilet et al., 1979).

Staphylococcus est une bactérie à Gram positif, en forme de coque, non mobiles, est à catalase positive et aéro-anaérobies facultatives (Emilie, 2007). Elle est caractérisé par un grand potentiel de biofilm.Le PGPR *Staphylococcus kloosii* EY37 inoculé sur les semences améliore les performances d'émergence, la croissance et l'absorption de nutriments et peut réduire la tolérance au stress salin chez les radis (Yildirim et al., 2008).

4.2. Caractéristiques biochimiques des PGPR qui favorisent la croissance des plantes

L'azote est l'élément le plus important pour la croissance et la productivité des végétaux.Bien qu'il y a environ 78% de d'azote (N₂) dans l'atmosphère, il n'est pas disponible pour l'utilisation directe par les plantes. Certaines PGPR ont la capacité de fixer l'azote et sont aptes à former une interaction libre (non obligatoire) avec la plante hôte (Ahemad et Kibret, 2013). D'après Ahemad et Khan (2011) et Parray (2015), les *staphylococcus*, *Pseudomonas* spp. *Bacillus* spp. Et *Neisseria* sont signalés parmi les bactéries libres, endophytes ou à symbioses associatives, au potentiel de fixation biologique d'azote.

La croissance des bactéries sur le milieu «Ashby» dépend de leur aptitude à fixer l'azote. Dans notre étude, on a trouvé que tous les isolats ont pu croître sur ce milieu ce qui montre leurs capacité à fixer l'azote. Nos résultats sont ceux obtenus par Ahemad et Khan (2011) et Parray (2015).

Le phosphore est le second macronutriment requis pour la croissance des plantes après l'azote. Même dans les sols qui sont riches, cet élément se trouve sous forme insoluble et seulement une faible proportion (0.1%) est assimilable par les plantes (Mezaache, 2012). D'après Bhattacharyya et Jha (2012), les bactéries appartenant aux genres : *staphylococcus*, *Neisseria* et *Pseudomonas* sont signalées parmi les bactéries les plus compétentes en solubilisation du phosphate. Les bactéries *Pseudomonas* sp. et *Azospirillum* sp. Provenant de la rhizosphère de racines de *Piper nigrum* L. présentent une capacité élevée de solubilisation des phosphates *in vitro* (Ramachandran et al., 2007). Les microorganismes solubilisant les phosphates trouvés dans la rhizosphère de la plante médicinale sélectionnée peuvent être inoculés dans la rhizosphère de la plante, ce qui peut être utilisé pour augmenter la croissance des plantes (Kidoglu et al., 2007).

La solubilisation du phosphore inorganique se traduit par la formation d'un halo autour de la colonie (Zaidi et al., 2009). Dans notre travail, on a observé que toutes les bactéries ont solubilisé le phosphate. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Chitraselviet al. (2015), Gupta et al. (2014), Bhattacharyya et Jha, (2012), Mehnaz et Lazarovits (2006).

Le test d'indole est utilisé pour déterminer la capacité d'un organisme à split tryptophane, un acide aminé pour former le composé indolique. Le tryptophane est hydrolysé par les tryptophanase pour produire les trois produits de la fin, dont l'une est indole. La production de cette substance est détectée par Kovac ou le réactif d'Ehrlich qui contient le 4 (p)-p-diméthylaminobenzaldéhyde, il réagit avec l'indole pour produire un composé de couleur rouge. Par ailleurs, l'AIA est l'auxine (phytohormone) la plus importante produite par les plantes et de nombreuses bactéries rhizosphériques. Il a un rôle crucial à jouer dans diverses activités végétales, y compris le développement de l'embryon ; l'initiation et le développement des racines ; la dominance apicale ; la formation de feuilles et le développement de fruits.

Les résultats obtenus ont montré que les quatre souches isolées, G1, G4, P2 et P6 ont présenté une capacité de production de l'acide indole acétique. Patten et Glick (2002) ont démontré que l'AIA bactérienne de *P. putida* joue un rôle majeur dans le développement du système racinaire de la plante hôte. De même, la production d'IAA dans HP72 de *P. fluorescens* était corrélée à la suppression de la tache brune grimpante et rampante. L'avantage des bactéries associées aux racines est la richesse en nutriments, car une grande partie des produits métaboliques du carbone fixé par les plantes sont perdus des racines et

pénètrent dans la rhizosphère sous forme d'exsudats, de lysats et de mucilage (Hayat et *al.*, 2010). La plus forte concentration d'IAA est produite par les souches bactériennes *P. fluorescens* et *Kocuriavarians* (Egamberdieva, 2008).

Pour identifier une bactérie, il est préférable de connaître son type respiratoire. Dans notre étude, toutes les souches bactériennes que nous avons analysé sont des catalases positives (G1, G4, P2 et P6). L'activité de la catalase dans les souches bactériennes peut être potentiellement très avantageuse et les souches bactériennes montrant une activité catalase doivent être très résistantes aux stress environnementaux, mécaniques et chimiques (Singh et *al.*, 2016).

4.3. Effet des PGPR sur la croissance des plantes chez la *Moringa Oleifera* :

Dans nos travaux, après l'inoculation des graines de *Moringa Oleifera* par les quatre souches G1, G4, P2 et P6, provoquent des améliorations significatives, de la longueur moyenne des racines, du nombre moyen des racines secondaires, de la longueur moyenne de la partie aérienne et du nombre moyen de feuilles, le poids frais des racines et des feuilles a été enregistré.

La promotion de la croissance des plantes pourrait être le résultat des fonctions bénéfiques des isolats de PGPR appliqués, comme la production d'hormone de croissance végétale, la fixation de l'azote et la solubilisation du phosphore. En plus de certains autres paramètres influencés positivement, la production d'auxine par les isolats est proposée comme un moyen majeur d'atteindre la promotion de la croissance.

Ces résultats rejoignent ceux de Kloepper et *al.* (1978) qui ont rapporté que cette amélioration est due principalement à la capacité des bactéries PGPR à faciliter l'assimilation des nutriments chez la plante par la production des phytohormones agissant comme des régulateurs de la croissance dont l'auxine (Kloepper et *al.*, 2007). De même, Messaoudi (2015) a étudié l'effet l'inoculation avec des bactéries rhizosphérique sur la croissance du blé cultivées *in vitro*, leurs résultats ont montré un effet très hautement significatif du traitement avec les souches rhizobactériennes sur le taux de germination des graines, elles ont augmenté le taux de germination des plantes de 95% par rapport aux témoins. En outre, Kushwaha et *al.*, (2013), ont trouvé, que l'inoculation des graines de chou-fleur par les PGPR influe significativement la longueur des pousses de choufleur. Plusieurs études ont indiqué que les PGPR améliorent également la croissance et le développement des plantes et fournissent des nutriments minéraux aux plantes, en particulier du phosphore, précipité par des ions tels que

Ca, Mg et Zn (Al-Karaki et *al.*, 2001; Hameed et *al.*, 2014). Ils jouent un rôle clé dans le soulagement de la toxicité induite par le stress salin, normalisant ainsi le mécanisme d'absorption chez les plantes en fournissant des nutriments essentiels.

4.4. Effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires chez la *Moringa oleifera*

Les métabolites secondaires des plantes sont des sources uniques de produits pharmaceutiques, de parfums, d'arômes, d'additifs alimentaires et d'autres composés importants sur le plan industriel. Les métabolites secondaires des plantes ont pour rôle principal de protéger les plantes contre les attaques d'insectes nuisibles, d'herbivores et de phytopathogènes ou d'aider les plantes à survivre à d'autres stress biotiques et abiotiques. Les stress environnementaux (facteurs microbiens, physiques ou chimiques) peuvent fonctionner en tant qu'éliciteurs biotiques / abiotiques, ce qui entraîne une augmentation de la production de métabolites secondaires (Radman et *al.*, 2003 ; Ghorbanpour et *al.*, 2013, 2014). Les éliciteurs biotiques ont une origine biologique et sont dérivés de microorganismes tels que champignons, bactéries, virus ou composants de la paroi cellulaire végétale et de produits chimiques libérés par les plantes contre les phytopathogènes ou les herbivores. Ainsi, des éliciteurs pourraient être utilisés pour améliorer la production des métabolites secondaires chez les plantes (Namdeo, 2007). Les microbes de la rhizosphère, tels que les PGPR, sont mieux connus en tant qu'éliciteurs biotiques, qui pourraient induire la synthèse de métabolites secondaires chez les plantes.

Nos résultats, ont montré que l'inoculation du *Moringa oleifera* par les PGPR augmente significativement les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins condensés, dans les feuilles de la plante, aussi bien que dans les racines.

Dans les feuilles, la teneur en polyphénols totaux a été augmentée de 50,9% avec la souche P6, par rapport au témoin. De même, la teneur en flavonoïde et en tanins a été améliorée de 111,38% et 76,18% avec la souche G1 et la souche G4 respectivement. En outre, dans les racines les teneurs de ces métabolites ont été améliorées considérablement par l'application des PGPR.

Dans une étude réalisée par Harinathan et *al.* (2015), ont trouvé que la teneur en phénols chez *Moringa oleifera* est principalement élevée dans les plantes bioinoculées par *Enterobacter cancerogenus*. Des travaux ont montré que les PGPR peuvent provoquer des changements remarquables dans les activités des enzymes impliquées dans la production de

métabolites, en particulier les flavonoïdes, conduisant à des changements dans la structure de l'exsudation racinaire (Shaw et al., 2006). Selvaraj et Sumithra (2011), ont trouvé que l'inoculation des racines de *Glycyrrhizaglabra* L. par *Glomus aggregatum* et *Bacillus coagulans* augmente la teneur des flavonoïdes et des alcaloïdes. De même, dans les travaux de Tajpoor et al. (2013), la teneur la plus élevée en flavonoïdes, dans l'huile essentielle d'*Anethum graveolens* L. a été obtenue après inoculation par *Pseudomonas putida* combinée avec un vermicompost. *Ocimum basilicum* L. (basilic doux) est une plante riche en huiles essentielles et contient environ 40 métabolites différents, dont plus de 60% sont le terpinéol et l'eugénol (Banchio et al., 2009). La teneur en ces deux composants d'huile essentielle a été multipliée par dix chez les plantes exposées à l'inoculation de racines de *Bacillus subtilis* GB03. Dans d'autres études, la croissance des plantes et la teneur en huiles essentielles d'*Ocimum* spp. augmenté après l'inoculation des plantes avec *Glomus fasciculatum* et *Azotobacter chroococcum* (Vinutha, 2005), *Pseudomonas putida* et *A. chroococcum* (Ordoorkhani et al., 2011).

Conclusion

Conclusion

Les plantes constituent depuis toujours une importante ressource naturelle pour les sociétés humaines, elle fournissent également de nombreux composés, tels que les antioxydants, les huiles, les parfums, les cosmétiques et les molécules actives (médicaments). Pour améliorer le rendement de ces composés, de nombreuses stratégies ont été mises en œuvre.

Notre étude renferme trois volets : l'isolement et l'identification des PGPR, l'effet des PGPR sur la croissance des plantes de *Moringa oleifera* et l'effet des PGPR sur les teneurs en métabolites secondaires, dans les feuilles et les racines du *Moringa oleifera*.

Dans la première partie, quatre souches nommées G1, G4, P2 et P6 ont été isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier à Oued Souf. L'identification et la caractérisation morphologique des souches bactériennes isolées a permis de classer ces souches en 03 genres différents qui sont : *Staphylococcus* (P2 & P6), *Pseudomonas* (G1) et *Neisseria* (G4). Ces quatre souches ont été évaluées par quelques traits biochimiques. Les isolats ont pu : fixer l'azote atmosphérique ; solubiliser le phosphore ; solubiliser le zinc, produire de l'indole et ils ont montré une activité catalytique positive.

Dans la deuxième partie, pour confirmer l'effet positif des bactéries sur la croissance des plantes, une plante médicinale a été utilisée c'est *Moringa oleifera*. Les graines de cette plante ont été inoculées par les PGPR. Les résultats obtenus ont montré que, les quatre souches favorisent la croissance de *Moringa oleifera*, elles ont présenté une augmentation pour tous les paramètres de croissance étudiés, la longueur des racines (de 25 % avec les souches P2 et G4), la longueur de la partie aérienne (de 17,74 % avec la souche P6), le nombre moyen de feuilles (de 76 % avec la souche P2), et le nombre moyen des racines secondaires (de 35,11% avec la souche G4), mais avec des pourcentages variables d'une souche à une autre et pour chaque paramètre.

Et enfin la troisième partie où on a étudié l'effet des PGPR sur les teneurs en quelques métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et les tanins) chez *Moringa oleifera*. Les résultats ont montré que les plantes traitées par les PGPR présentent des teneurs très élevées en polyphénols, flavonoïdes et tanins par rapport aux plantes témoins. Par ailleurs, des améliorations importantes ont été enregistrées pour chaque famille avec les PGPR : pour les polyphénols (dans les racines, la teneur a été augmenté de 64,7% avec la souche P2) ; pour les

flavonoïdes (dans les feuilles, la teneur a été amélioré de 76,18% avec la souche G4); pour les tanins (dans les racines, la teneur a été augmenté de 400% avec la souche P6).

Ainsi, dans la perspective d'approfondir ce travail et afin d'optimiser la production des métabolites secondaires chez les plantes médicinales, il est judicieux de :

□ Tester d'autres types des éliciteurs biotiques et/ou abiotiques tel que : la température, l'hypoxie, la lumière, les métaux lourds, les champignons et les combinaisons de ces éliciteurs avec les PGPR ;

□ Améliorer les conditions de culture des plantes médicinales, en utilisant surtout des systèmes hydroponiques moderne et sophistiqués dans des serres contrôlées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Anwar F., Latif S., Ashraf M., et Gilani A.H. (2007).** *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *PhytotherRes.* 21: 17-25.
- Adam Akram (2008).** Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes, Thèse de Doctorat, Université de Liège, Belgique, 165p.
- Aguilera.C A., Augur C., Prado.BL .A., Favela.T E., et Aguilar C. N. 2008.** Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *ApplMicrobiol Biotechnol*78: 189-199.
- Ahemad, M. & Khan, M.S. (2011).** Insecticide-tolerant and plant growth promoting *Bradyrhizobium sp.* (vigna) improves the growth and yield of greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils. *Symbiosis* 54(1).
- Ahemad, M. & Kibret, M. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science* 26(01):
- Ahmad F, Ahmad I, et Khan M.S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research.* 163, 173-181.
- Ahmad F, Ahmad I. et Khan MS., 2006.** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiology Research* 163
- Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006).** Metabolic syndrome—a new world wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation. *Diabetic medicine*, 23(5), 469-480.
- Al-Karaki, G. N., Hammad, R., & Rusan, M. (2001).** Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza*, 11(1), 43-47.
- Aloni R, Aloni E, Langhans M et Ullrich CI. (2006).** Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Ann Bot*, 97:883-893.
- Alyafi A.G., (2007).** Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field. Ed. Damascus University. 54 P.
- Amdoun R, Khelifi-Slaoui M, Amroun S, Khelifi L, (2005)** L'élicitation : Outil incontournable pour optimiser la production des alcaloïdes tropaniques in vitro. Actes du séminaire international sur l'amélioration des productions végétales. Alger, Éd. Khelifi. p.p. : 156-157.
- Ameenah G. F., (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow *Molecular Aspects of Medicine*, 27:1-93.
- Arshad M et Frankenberger WT. (1993).** Microbial production of plant growth regulators. *Plant and Soil*, 133(1): 1-3 .

- Bakker AW et Schippers B. (1987)** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas s p* mediated plant growth stimulation *Soil Biol. Biochem*, 19: 451-457.
- Ballance, G. M., Lamari, L., Kowatsch, R., & Bernier, C. C. (1996).** Cloning, expression and occurrence of the gene encoding the Ptr necrosis toxin from *Pyrenophoratrifici-repentis*. *Mol. Plant Pathol*, 1209.
- Banchio, E., Bogino, P. C., Zygadlo, J., & Giordano, W. (2008).** Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(10), 766-771.
- Banchio, E., Xie, X., Zhang, H., & Pare, P. W. (2009).** Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 653-657.
- Barraquio, W. L., E. M. Segurbre, M. S. Gonzalez, S. C. Verma, E. K. James, J. K. Ladha, and A. K. tripathi. (2000).** p. 93-118. In the Quest for nitrogen fixation in rice, (ed.), IRRI, Los Banos, Philippines
- Beauchamp, C. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74.
- BermnessLesley ., Larousse ,2005 .** Plantes médicinales et aromatiques .
- Benaissa, O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- Bharti N, Yadav D, Barnawal D, Maji D, Kalra A (2013)** *Exiguobacterium oxidotolerans*, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell under primary and secondary salt stress. *World J Microbiol Biotechnol* 29:379–387.
- Bhattacharyya, P.N. & Jha, D.K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture *World J. Microbiol. Biotechnol* 28(04)
- biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 45: 73-80.
- Bjedov, I., Tenailon, O., Gerard, B., Souza, V., Denamur, E., Radman, M., .&**
- Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. (2001).** Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current opinion in plant biology*, 4(4), 343-350.
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 79-82.
- Bonmatin JM, Laprevot O et Peypoux F. (2003).** Diversity among microbial cyclic lipopeptides: iturins and surfactins. Activity–structure relationships to design new bioactive agents. *Comb. Chem. High Throughput Screen*, 6(6):541-556.

- Botineau, M. (2010).** botanique systematique et appliquee des plantes a fleures . PARIS: LAVOISIER.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E. 2001.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839–851
- Bourgaud.F. (2013) :** Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine INRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy
- Bresson, J. (2013).** Interaction plante-microorganismes : Implication de la rhizobactérie *Phyllobacterium brassicacearum* dans les réponses d'*Arabidopsis thaliana* au stress hydrique. Biologie végétale. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc. 220p
- Briat, J. F. (1992).** Iron assimilation storage in prokaryotes. *Microbiology*, 138(12), 2475-2483.
- Broin M. 2005.** Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. *CTA*. 5.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- Campbell, R., & Greaves, M. P. (1990).** Anatomy and community structure of the rhizosphere. *The rhizosphere*, 11-34.
- Chaabi M., (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : Euphorbiasteno-claBaill. (Euphorbiaceae), Anogeissus lio carpus Guill. Etperr. (Combrétaceae), Limoniastrum feei (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université, Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine (Alger): 179, 180.
- Chitraselvi P. E., Kalidass, S & Kant, R. (2015).** Efficiency of Rhizosphere Bacteria in Production of Indole Acetic Acid, Siderophore and Phosphate Solubilization. *International Journal of ChemTech Research*. 7(6).
- Dacosta, E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317
- del Rosario Cappellari, L., Santoro, M. V., Nievas, F., Giordano, W., & Banchio,**
- Deshpande, S. S., Cheryan, M., Salunkhe, D., and Luh, B. S. (1986).** "Tannin analysis of food products." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 24(4), 401-449.
- Del Rosario Cappellari L, Santoro MV, Nievas F, et al (2013)** Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl Soil Ecol* 70:16–22.
- Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M. (2004).** Growth promotion and yield
- Diem H.G., Dommergues Y.R.,** « Current and potential uses and management of Casuarinaceae in the tropics and subtropics », *The biology of Frankia and actinorhizal*

- plants, Schwintzer R., Tjepkema J.D. (eds) (1990), Academic press Inc., San Diego, pp. 317-342.
- Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M. (2004).** Growth promotion and yield Diem H.G., Dommergues Y.R., « Current and potential uses and management of Casuarinaceae in the tropics and subtropics », The biology of Frankia and actinorhizal plants, Schwintzer R., Tjepkema J.D. (eds) (1990), Academic press Inc., San Diego, pp. 317-342.
- E. (2013).** Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied soil ecology*, 70, 16-22.
- Egamberdieva, D. (2008).** Plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from wheat and pea grown in loamy sand soil. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 9-15.
- Egamberdieva D, da Silva JAT (2015)** Medicinal Plants and PGPR: A New Frontier for Phytochemicals. In: Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants. Springer, pp 287–303.
- Fellah S, Romadhan M, Abderraba M**-Extraction et etude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie-Journal de la Société Algérienne de Chimie J .Soc .Alger ,Chin. ;2006 ;N°2 ;pp 193-302.
- Ferreira P.M.P., Carvalho A.F.F.U., Sousa D.F., Ferreira J.M., Martins A.R.,Martins A.M.C., et Queiroz M.G.R. 2007.** Water extract of *Moringa oleifera* seeds: a toxicological approach. *Revista Eletrônica Pesquisa Médica*. 1 (4): 45 - 53.
- Feucht, W., Treutter, D. et Christ, E. (1997).** Role of flavanols in yellowing beech trees of the Black forest. *TreePhysiol*. p17, 335-340.
- Fleuriet, A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- Foidl N., Makkar H.P.S., et Becker K. (2001).** Potentiel de *Moringa Oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du Moringa. 29 octobre - 2 novembre 2001. Dar es Salaam, Tanzanie
- Fuglie, L.J., (1999)** The Miracle Tree: *Moringa oleifera*: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service, Dakar, 1: 68.
- Fuglie, L., (2001).** Le Moringa : une arme dans la lutte contre la malnutrition. Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 25/05/2015.
- Fukaki H, Okushima Y et Tasaka M. (2008).** International Review of Cytology: A Survey of Cell Biology, Ed. Kwang W. Jeon Elsevier, San Diego, CA, p: 300.
- Ghorbanpour M ,Hatami M , Kariman K, and Khavazi K, (2015)** Enhanced Efficiency of Medicinal and Aromatic Plants by PGPRs , 44
- Ghorbanpour M ,Hatami M , Kariman K, and Khavazi K, (2015)** Enhanced Efficiency of Medicinal and Aromatic Plants by PGPRs , 44

- Glick BR. (2012).** Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica, Waterloo.
- Gobat JM, Aragno M et Matthey W. (2010).** Le sol vivant Bases de pédologie- Biologie des sols. 3ème Ed, *Presses polytechniques et universitaires romandes*, p:705.
- Gopalakrishnan, K., Sowmiya, G., Sheik, S. S., & Sekar, K. (2007).** Ramachandran plot on the web (2.0). *Protein and peptide letters*, 14(7), 669-671.
- Goteti, P. K., Emmanuel, L. D. A., Desai, S., & Shaik, M. H. A. (2013).** Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays* L.). *International journal of microbiology*, 2013.
- Gupta A, Meyer JM, Goel R (2002)** Development of heavy metal-resistant mutants of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. NBRI 4014 and their characterization. *Curr Microbiol* 45:323–327
- Gupta G, Singh Parihar S, Kumar Ahirwar N, Kumar Snehi S et Singh V. (2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J Microb Biochem Technol*. Volume 7(2), 96-102.
- Haas D, Keel C, Laville J, Maurhofer M, Oberholtschläger T, Schnider U, Voisard C, Wüthrich B et Defago GD (1991).** Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions In: *Plant Science and Biotechnology in Agriculture*. Ed, Michael J. Daniels J. Allan Downie Anne E. Osbourn, 1: 450-456.
- Haas D. and Defago G., (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat rev microbiol*. 3(4):307-319
- Hagerman A. E. 2002.** Tannin chemistry. *Tannin Handbook*. 86: 104 -105.
- Hagerman, A. E. (2002).** "Hydrolyzable tannin structural chemistry." *Tannin Handbook* (<http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf>).
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF et Kloepper JW. (1997).** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J of Microbio*, 43: 895-914
- Han J, Sun L, Dong X, Cai Z, Sun X, Yang H, Wang Y, Song W. (2005).** Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia suruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Syst Appl Microbiol* 28(1):66–76.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010).** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of microbiology*, 60(4), 579-598.
- Herman MAB, Nault BA, Smart CD (2008).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.* 27: 996-1002.

- Herman MAB, Nault BA, Smart CD (2008).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.* 27: 996-1002.
- Hosseini, Z.H et Younesi,H.M (2002).**Antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Corchorus sativus* L. stigma and petal extracts in mice *BMC pharmacology*, 2:1-8
- Jaborova D, Egamberdieva D, Ra'sa'nen L, Liao H (2013)** Salt tolerant *Pseudomonas* strain improved growth, nodulation and nutrient uptake of soybean grown under hydroponic salt stress condition. In: XVII international plant nutrition colloquium and boron satellite meeting proceedings book, Istanbul, Turkey, pp 260–261.
- Jaiswal D., Rai P. K., Kumar A., Mehta Sh., et Watal G. 2009.** Effect of *Moringa oleifera* lam. Leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 123 (3): 392-396
- Jean V. et Jiri S., (1983)** Plantes médicinales. 250 illustrations en couleurs. Ed. Larousse, Paris, 319 p.
- Jean-Blain, C. (1998).** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Rev.Méd. Vét.* p149, 911-920.
- Kakengi A.M.V., Kaijage J.T., Sarwatt S.V., Mutayoba S.K., Shem M.N., et Fujihara T. 2007.** Effect of *Moringa oleifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Livest. Res. Rural Dev.* 9 (4). 446.
- Karlıdag, H., Yildirim, E., & Turan, M. (2009).** Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Scientia Agricola*, 66(2), 180-187.
- Karthikeyan B, Joe MM, Jaleel CA (2009)** Réponse de certaines plantes médicinales à vésiculaire mycorhiziens inoculations mycorhiziens. *J Sci Res*
- Khanbabaee K., et Van- Ree T. 2001.**Tannins: Classification and definition. *Nat. Prod. Rep.* 18: 641-649.
- Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K., & Novak, J. (2006).** Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza*, 16(6), 443-446.
- Kidoglu, F., Gül, A., Ozaktan, H., & Tüzel, Y. (2007, October).** Effect of rhizobacteria on plant growth of different vegetables. In *International Symposium on High Technology for Greenhouse System Management: Greensys2007 801* (pp. 1471-1478).
- Kim, J., & Rees, D. C. (1994).** Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33(2), 389-397
- Kloepper JW. (1993).** Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control agents, In: *Soil Microbial Ecology. Ed., F.B. Jjournal, Marcel Dekker inc., N.Y.* p. 255-273.
- Kloepper, J. W., Lifshitz, R., & Zablotowicz, R. M. (1989).** Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology*, 7(2), 39-44.

- Kloepper, J. W., R. Rodriguez-Ubana, G. W. Zehnder, J. F. Murphy, E. Sikora, and C. Fernandez. (1999).** Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Austral. Plant Pathol.* 28:21–26 Barraquio *et al.*, 2000
- Kloepper, J.W. & Schroth, M.N. (1978).** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. Dans Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Vol. 2. Institut national de la recherche agronomique (INRA), Angers, France. pp. 879-882.
- Kloepper, J.W. & Schroth, M.N. (1981).** Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology* 71(10): 1020-1024.
- Kloepper, JW, Gutierrez-Estrada, A. & McInroy, A. (2007).** Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol* 53(2):159-167.
- Kumbhare MR., Guleha V., et Sivakumar T. 2012.** Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 144-150.
- Kushwaha, A. S. B. BAILY, A. MAXTON1 AND G. D. RAM, 2013** "Isolation and characterization of PGPR associated with cauliflower roots and its effect on plant growth." *The Bioscan* 8.1 : 95-99.
- Lambert, B., Leyns, F., Van Rooyen, L., Coosele, F., Papon, Y., et Swings, J. 1987.** Rhizobacteria of maize and their antifungal activities. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1866-1871.
- Laraoui, H. (2007).** "Etude Phytochimique L'Extrait Chloroformique de Bupleurum Atlanticum" Docteur de l'université Louis Pasteur (Chimie Organique, UV
- Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2015).** Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khayasenegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5), 2682-2700.
- Lévy, E., Eyal, Z., Chet, I. & Hochman, A. (1992).** Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 40(3):163-71.
- Lim T.K. (2012).** Edible medicinal and non medicinal plants. Fruit. Volume 3. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 885 p.
- Lin, J., Handschin, C., & Spiegelman, B. M. (2005).** Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell metabolism*, 1(6), 361-370.
- Makkar H.P.S., et Becker K. 1997.** Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *J. Agric. Sci., Cambridge.* 128: 311–332.

- Malecky, M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- Malešev D., et Kuntić V. 2007.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society.* 72 (10): 921-939.
- Malhotra M et Srivastava S. (2008).** Stress-responsive indole-3-acetic acid
- Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea*L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p
- Mansouri, A ., Embarek ,G ., Kokkalou, E. and Kefalas , P. 2005.** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*) . *Food Chem.*89 ,411_420.
- Matic, I. (2003).** Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Science*, 300(5624), 1404-1409.
- McGowan SJ, Barnard AML, Bosgelmez G, Sebahia M, Simpson NJL, Thomson NR, Todd DE, Welch M, Whitehead NA et Salmond GPC. (2005).** *Carbapenem* antibiotic biosynthesis in *Erwinia carotovora*s regulated by physiological and genetic factors modulating the quorum sensing-dependent control pathway. *Mol Microbiol*, 55(2): 526-545
- Meena B, Marimuthu T, Vidhyasekaran P et Velazhahan R. (2001).** Biological control of root rots of groundnut with antagonistic *Pseudomonas fluorescens* strains *Journal of Plant Dis Protect*, 108: 369-381.
- Mehnaz, S., &Lazarovits, G. (2006).** Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. *Microbial Ecology*, 51(3), 326-335.
- Mergham.R2009.**.:Eléments de biochimie vegetale,Bahaeddine, Editions,Algérie
- Messaoudi, H. (2015).** Effets de l'inoculation avec des bactéries rhizosphériques sur la croissance du blé et le développement de quelques bio-agresseurs qui lui sont associés (Doctoral dissertation).
- Mezaacha, S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolée de la rhizosphère de la pomme de terre. Université Ferhat Abbas Sétif.
- Morgan J. A. W., Bending G. D. and White P. J. (2005).** Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.* 56 : 1729- 1739
- Mueller-Harvey, I. (2001).** Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci.Technol.* p91, 3-20.
- Mueller-Harvey, I. et Mc Allan, A.B. (1992).** Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* p1, 151-217.

- Namdeo, A. G. (2007).** Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1), 69-79.
- Neilands JB, Konopka K, Schwyn B, Coy M, Francis RT et Paw BH. (1987).** Comparative biochemistry of microbial iron assimilation. In: Iron Transport in Microbes, Plants and Animals. Winkelmann G, van der Helm D, and JB Neilands, Ed. *Weinheim: VCH-Verlagsgesellschaft*, p: 3-33.
- Nelson L. M., (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : Prospects for new inoculants. Crop Management, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/reviw/2004/rhizobacteria> .Paris : 172p.potential use as biological control agents, *Phytoprotection* 71:19-27.
- Nkhili, Ez-zohra. (2004).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier. 378p
- Olson, M. E. (2002).** "Intergeneric relationships within the Caricaceae-Moringaceae clade (Brassicales) and potential morphological synapomorphies of the clade and its families." *International Journal of Plant Sciences* **163**(1): 51-65 .
- Ordookhani, K., Sharafzadeh, S., & Zare, M. (2011).** Influence of PGPR on growth, essential oil and nutrients uptake of sweet basil. *Advances in Environmental Biol*, 5(4), 672-7.
- O'Sullivan DJ et O'Gara F. (1991).** Regulation of iron assimilation: nucleotide
- Panchal M. A., Murti K., Lambole V., et Gajera V. 2010.** Pharmacological properties of *Moringa oleifera lam.* A review. *Pharmacologyonline*. 2: 768-775.
- Parray J., A., Jan S., Kamili A., N., Qadri R., A., et al. (2015).** Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul* 121
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002).** Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(8), 3795-3801.
- Peter H, Georges BJ, Raven KA, Mason JB, Losos SR et Singer. (2015).** *Biologies, 9ème Ed. amirécaine du Raven*, p: 140
- Peypoux F, Bonmatin JM et Wallach J. (1999).** Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Appl. Environ Microbiol*, 51(5): 553-563.
- Pikovskaya R. I. 1948).** Mobilization of phosphates in soil in connection with the vital activities of some microbial species. *Microbiology*. 17 : 362-370.
- Pilet, P. E., Elliott, M. C., & Moloney, M. M. (1979).** Endogenous and exogenous auxin in the control of root growth. *Planta*, 146(4), 405-408.
- Poumayea N., Mabingua J., Lutgenb P., et Biganc M. 2012.** Contribution to the clarification of surface water from the *Moringa oleifera*: Case M'Poko River to

- Bangui, Central African Republic. Chemical engineering research and design. 90: 2346–2352.
- Price M.L 2007.** Le Moringa. *Note technique- ECHO* (revue en 2000, en 2002 et en 2007). 22p
- Raaijmakers J.M., Vlami M. & De Souza J.T., 2002.** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1-4):537-547.
- Rahman MS, Ano T et Shoda M. (2007).** Biofilm fermentation of *iturinA* by a
- Rajmohan, N., & Elango, L. (2004).** Identification and evolution of hydrogeochemical processes in the groundwater environment in an area of the Palar and Cheyyar River Basins, Southern India. *Environmental Geology*, 46(1), 47-61.
- Rao GV, Manoharachary C, Rao BR (2002)** Beneficial influence of arbuscular mycorrhizal fungal association on growth, yield and nutrient uptake of rose-scented geranium (*Pelargonium* species). *Philipp J Sci* 131:49–58.
- Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002).** Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20(2), 101-153.
- Reddy PP (2014)** Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop protection. Springer
- Raven.P.H ; Evert R.F ; Eichhorn.S.E ,(2003):**Biologie végétale, p32,527.
- Reddy, M.S., Ila, R.I. & Faylon, P.S. (2014).** Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) for Sustainable Agriculture , Cambridge Scholars Publishing 540p.
- Reed, M.a., Zhou, C., Muller, C.J., Burgin, T.P., Tour, J.M. (1997).** conductance off a molecular junction .science , 278(5336)252-254
- Reyes S.N. 2006.** *Moringa oleifera* and *Cratylia argentea*: potential fodder species for ruminants in Nicaragua. These pour obtenir le grade de docteur.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris. Francia.
- Roberts SC, Shuler ML (1997)** Large-scale plant cell culture. *Curr Opin Biotechnol* 8:154–159.
- Rodge, Seema P., et al. (2016)** "Isolation and Characterization of PGPR from Roots of *Ficus religiosa* growing on Concrete Walls and its Effect on Plant Growth in Drought Condition." *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 5.9 : 583-593.
- Roloff A., Weisgerber H., Lang U., et Stimm B. 2009.** *Moringa oleifera* Lam 1785. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*.
- Ryu Ret Patten CL. (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am Soc Microbiol*, 190: 1-35.

- Saharan BS et Nehra V (2011).** Plant Growth promoting rhizobacteria: *A critical review. Life Sci. Med, LSMR* ,2 :1-30.
- Saharan, Govind Singh, et al.(2014).** White rust of crucifers: Biology, Ecology and Management. Springer
- Schofield, P., Mbugua, D.M. et Pell, A.N. (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* p91, 21-40.
- Sekar S, Kandavel D (2010)** Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants—new avenues for phytochemicals. *J Phytol* 2:91–100
- Selvaraj, T., & Sumithra, P. (2011).** Effect of *Glomus aggregatum* and plant growth promoting rhizomicroorganisms on growth, nutrition and content of secondary metabolites in *Glycyrrhiza glabra* L. *Indian J Appl Pure Biol*, 26(2), 283-290.
- Shahab S, Ahmed N et Khan NS. (2009).** Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by *indigenous PSBs*. *African Journal of Agricultural Research*, 4(11):1312-1316.
- Siddiqui Z. A.,(2003).** PGPR : Prospective biocontrol agents of plant pathogens .In Siddiqui Z.A., (2006), PGPR : Biocontrol and Biofertilization, Springer, Netherlands, 313p.
- Singleton V.L., Rossi J.A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology Viticulture*, 16: 44-158.
- Souad S, Mohamed F, Lahcen Z & Allal D,(2010)** ,Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *LAZAROA* 31: 133-146.
- Tahiliani P., et Kar A. (2000).** Role of *Moringa oleifera* leaf extract in the regulation of thyroid hormone status in adult male and female rats. *Pharmacological Research*. 41 (3): 319-323.
- Tajpoor, N., Moradi, R., & Zaeim, A. N. (2013).** Effects of various fertilizers on quantity and quality of dill (*Anethum graveolens* L.) essential oil. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 6(19), 1334-1341.
- Tendonkeng F., Boukila B., Beguide A., et Pamo T.E. 2009.** Essai de substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de *Moringa oleifera* dans la ration finition des poulets de chair. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*. 7 (5).
- Tsaknis, J., S. Lalas, V. Gergis, V. Douroglou and V. Spiliotis, (1999),** Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4495-4499.
- Van Loon L.C., Bakker P. and Pieterse C. M. J., (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483
- Vargas L.K., Lisboa B. B., Schlindwein G., (2009).** Occurrence of plant growth promoting traits in clover nodulating rhizobia strains isolated from different soil sinriogrande do sulstate. *R. Bras. Ci. Solo*, 33, pp 1227-1235.

- Vinutha, T. (2005).** *Biochemical Studies on Ocimum Species Inoculated with Micorbial Inoculants* (Doctoral dissertation, University of Agricultural Sciences, GKVK).
- Voisard C, Keel C, Haas D et Dafago G. (1989).** Cyanid production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black mot rot of *tobacco* under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*, 8:351-358.
- Wang X., Mavrodi D.V., Ke L., Mavrodi O.V., Yang M., Thomashow L.S., Zheng N., Weller D.M. et Zhang J. (2014).** Biocontrol and plant growth-promoting activity of rhizobacteria from Chinese fields with contaminated soils. *Microbial Biotechnology*. 8: 404-418.91-112. New Delhi, Fertiliser Development and Consultation Organization
- Whipps JM. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot*, 52 :487-511.
- William G. H.(2003):** Physiologie végétale ,Éditeur, De Boeck Supérieur,p282
- Younesi H.M., Zadah H., (2002).** Antinociceptique and anti-inflammatory effect of *Corcussativas*L. stigma and petrol extracts in mice. *BMC pharmacology*, 2(7) :1-8.
- Yusuf, Y. (2006).** Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.
- Zaidi, A., Khan, MS., Ahemad, M., Oves, M., Wani, PA. et al. (2009).** Recent Advances in Plant Growth Promotion by Phosphate-Solubilizing Microbes. In: Khan MS, et al. editors. *Microbial Strategies for Crop Improvement*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Zimmer W et Both H. (1989).** The phytohormonal interactions between Azospirillum and Wheat. In: Nitrogen Fixation with Non-Legumes, Skinner Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p: 137-146.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de culture**1. Composition du milieu King B (King et al. 1954) en (g/l) (pH =7,2 ; autoclavage 20 minutes à 120 °C).**

Peptone (Difco).....	20 g
Glycérol (prolabo)	15 ml
K ₂ HPO ₄ (sigma)	1,5 g
.....	1,15 g
MgSO ₄ (sigma)	15 g
.....	1000 ml
Agar (sigma)	
Eau distillée	

2. Composition du milieu Ashby sans azote en (g/l)

Mannitol	20 g
Hydrogénophosphate de potassium (K ₂ HPO ₄)	0,20 g
Sulfate de magnésium (MgSO ₄)	0,20 g
Chlorur de sodium (NaCl)	0,20 g
Sulfat de potassium (K ₂ SO ₄).....	0,10 g
Carbonate de calcium (CaCO ₃).....	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

3. Composition du milieu Pikovskaya en (g/l)

Extrait de levure.....	0,5 g
Dextrose (Glucose).....	10 g
Phosphate de calcium.....	5 g
Sulfate d'ammonium ((NH ₄) ₂ SO ₄).....	0,5 g
Chlorure de potassium (Kcl).....	0,2 g
Sulfate de magnésium (MgSO ₄).....	0,1 g
Sulfate de manganès (MnSO ₄).....	0,0001 g
Sulfate de fer (FeSO ₄).....	0,0001 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

4. Composition du tryptone sel (bouillon) pour 500 ml litre

Peptone de caséine.....	5 g
NaCl	2,5 g
Eau distillée.....	500 ml

Annexe 02 : Courbes et tableaux d'étalonnage

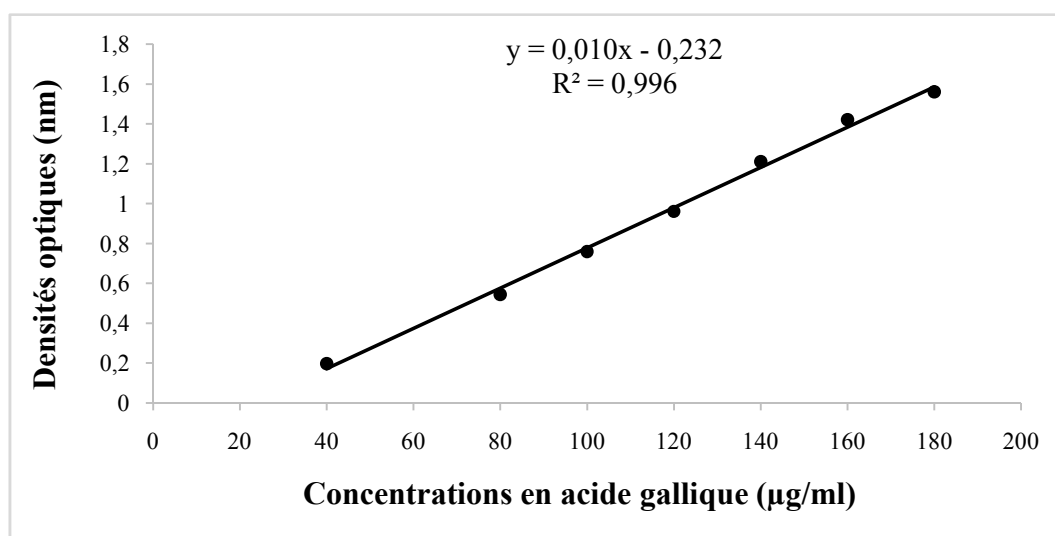


Figure 01 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Tableau 1 : Gamme d'étalonnages des polyphénols totaux

Concentration de la solution mère d'acide gallique (mg/ml)	0	0,2	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Quantité de la solution mère de la solution mère d'acide gallique (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Folin-Ciocalteu (10%) en ml	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Carbonate de sodium à 20% (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
Concentration finale en acide gallique (µg/ml)	0	40	80	100	120	140	160	180
Densités optiques	0	0,19	0,54	0,76	0,96	1,2	1,4	1,5

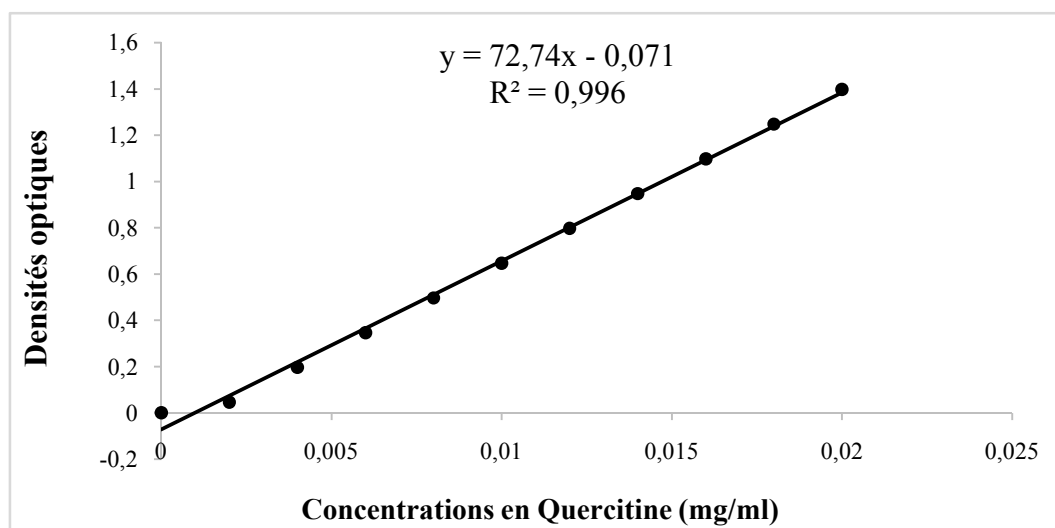


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de quercitine

Tableau 02 : Gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Concentration de la solution mère de quercitine (mg/ml)	0	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,024	0,028	0,032	0,036	0,04
Quantité de la solution mère de quercitine (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AlCl ₃ (20%) en ml	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Concentration finale en Quercitine (µg/ml)	0	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,014	0,016	0,018	0,02
Densités optiques	0	0,046	0,196	0,346	0,496	0,647	0,797	0,947	1,097	1,248	1,398

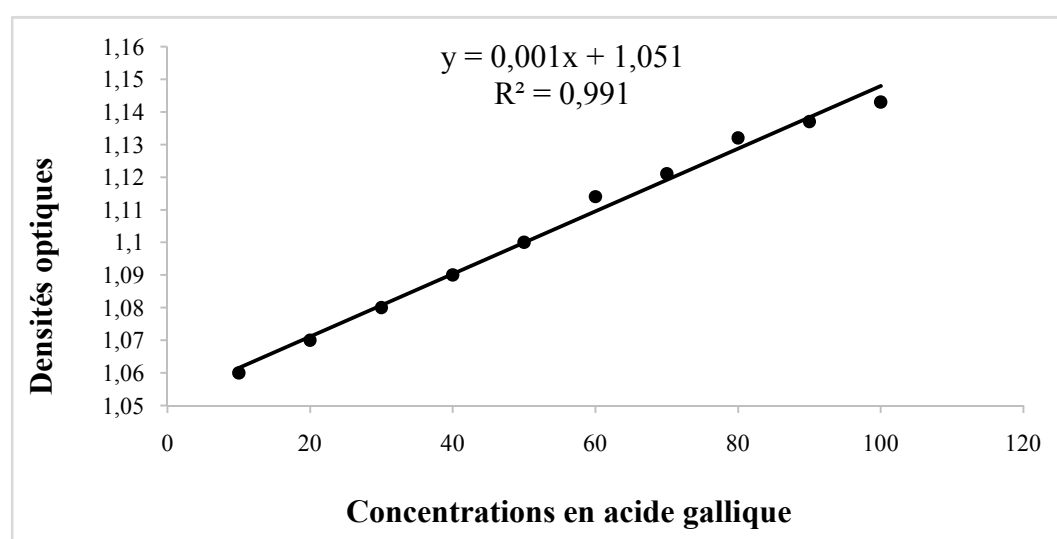


Figure 03 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Tableau 03 : Gamme d'étalonnage des tanins condensés (Pro-anthocyanidines)

Concentration de la solution mère d'acide gallique (mg/ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Quantité de la solution mère de la solution mère d'acide gallique (µl)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Sulfate ferreux (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Concentration finale en acide gallique (µg/ml)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
DO	1,06	1,07	1,08	1,09	1,1	1,114	1,121	1,132	1,137	1,143

Annexe 03 : Analyses statistiques**1. Longueur de la tige****Tableau d'analyse de la variance**

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	62,3182	4	15,5795	1,16	0,364 ns
Résiduelles	229,0	17	13,4706		
Total	291,318	21			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
P2	23,0	A
T	23,5	A
G1	26,0	A
G4	26,6	A
P6	27,2	A

2. Longueur des Racines

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	2,77821	4	0,694551	0,19	0,941 ns
Résiduelles	77,1833	21	3,6754		
Total	79,9615	25			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
P6	2,75	A
G1	2,8	A
T	2,8	A
G4	3,4	A
P2	3,5	A

2. Nombre de racines secondaires

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	54,8136	4	13,7034	0,32	0,859 ns
Résiduelles	725,55	17	42,6794		
Total	780,364	21			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
T	11,25	A
P2	12,33	A
P6	12,33	A
G1	15,0	A
G4	15,2	A

3. Nombre de feuille

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	1300,86	4	325,215	10,51	0,000***
Résiduelles	804,883	26	30,9571		
Total	2105,74	30			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
G1	3,66	C
T	12,2	B
G4	18,87	A
P6	20,12	A
P2	21,5	A

4. Poids frais des feuilles

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	1,53138	4	0,382844	21,79	0,000***
Résiduelles	0,439294	25	0,0175718		
Total	1,97067	29			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
G1	0,198	C
P2	0,252	C
G4	0,317	C
T	0,595	B
P6	0,768	A

5. Poids frais des racines

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	P
Traitements	0,567286	4	0,141821	2,72	0,0516 ns
Résiduelles	1,35709	26	0,0521957		
Total	1,92437	30			

Tableau de comparaison des moyennes

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
T	0,206	C
P6	0,286	B
P2	0,46	B
G4	0,508	A
G1	0,562	A

5. Teneur en polyphénols totaux

Tableau d'analyse des variances

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Organes végétal	36576,954	1	36576,954	145,397	0***
Traitements	20174,724	4	5043,681	20,049	0***
Organes * Traitements	7524,954	4	1881,238	7,478	0,001***
Résiduelle	5031,323	20	251,566		
Total	69307,955	29			

Tableau de comparaison des moyennes

Organes	Groupes homogènes	
	A	B
Racines	163,647	
Feuilles		233,482

Traitements (Racines)	Groupes homogènes		
	A	B	C
T	124,637		
P6	142,789	142,789	
G4	160,28	160,28	
G1		185,363	185,363
P2			205,165

Traitements (Feuilles)	Groupes homogènes	
	A	B
T	173,152	
P2		231,072
G4		246,419
G1		255,495
P6		261,271

6. Teneur en flavonoïdes

Tableau d'analyse des variances

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Organes végétal	375,382	1	375,382	490,8	0***
Traitements	455,313	4	113,828	148,827	0***
Organes * Traitements	54,563	4	13,641	17,835	0***
Résiduelle	15,297	20	0,765		
Total	900,555	29			

Tableaux de comparaison des moyennes

Traitements	Groupes homogènes	
	A	B
Racines	13,063	
Feuilles		20,137

Traitements (Racines)	Groupes homogènes		
	A	B	C
T	7,65		
P6	9,78		
G4		12,98667	
G1		15,01667	
P2			19,88

Traitements (Feuilles)	Groupes homogènes			
	A	B	C	D
T	14,11667			
P6		17,50667		
G1			20,31333	
P2				23,89
G4				24,86

7. Teneur en tanins

Tableau d'analyse de la variance

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Organes végétal	13554,24	1	13554,24	65,372	0***
Traitements	66642,034	4	16660,508	80,354	0***
Organes * Traitements	71346,383	4	17836,596	86,026	0***
Résiduelle	4146,801	20	207,34		
Total	155689,46	29			

Tableaux de comparaison des moyennes

Traitements	Groupes homogènes	
	A	B
Feuilles	84,427	
Racines		126,939

Traitements (Racines)	Groupes homogènes	
	A	B
T	61,24587	
G4	61,32838	
P2	101,59241	
G2	104,31518	
P6		306,21287

Traitements (Feuilles)	Groupes homogènes	
	A	B
G4	64,38119	
T	66,59241	
P6	72,38449	
P2	77,99505	
G1		140,78383

Résumé

Dans le but d'étudier l'effet des PGPR sur la teneur en métabolites secondaires dans les racines et les feuilles chez *Moringa oleifera*. Nous avons isolé quatre souches bactériennes, qui sont nommées G1, G2, P2 et P6, à partir de la rhizosphère du palmier dattier dans la wilaya d'Oued Souf.

Trois genres bactériens ont été identifiés en se basant sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques, il s'agit de *staphylococcus* pour les souches P2 et P6 ; *Pseudomonas* pour la souche G1 et de *Neisseria* pour la souche G4. Ensuite, ces bactéries ont été caractérisées selon des traits biochimiques pour leur capacité à produire des hormones de croissance végétales comme l'IAA, la fixation d'azote, la solubilisation du phosphore et du zinc et leurs activités enzymatiques (catalase). La majorité des souches testées ont présenté des résultats positifs avec les tests précités.

En outre, pour confirmer l'effet bénéfique des isolats PGPR sur la croissance des plantes, les quatre souches ont été inoculées avec les graines de *Moringa oleifera*. Nos résultats obtenus ont montré que toutes les souches ont amélioré significativement la longueur des racines, la longueur de la partie aérienne, le nombre moyen de racines secondaires, le nombre moyen de feuilles.

En outre, l'inoculation de *Moringa oleifera* par les PGPR a eu des effets significatifs sur les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins dans les feuilles et dans les racines de la plante. Les meilleurs teneurs, en polyphénols : 261,271 mg EQ/100g MS soit une augmentation de 50,9% est obtenue avec la souche P6), en flavonoïdes : 24,860 mg EQ/100g MS soit une augmentation de 76,18% avec la souche G4 et en tanins : 306,213 mg EQ/100g MS soit une augmentation de 400% avec la souche P6.

Les mots clés : PGPR, *Moringa oleifera* ; métabolites secondaires.

Abstract

In order to study the effect of PGPR on the secondary metabolites contents in the roots and the leaves of *Moringa oleifera*. Four bacterial strains were having isolated, named G1, G2, P2 and P6, from the date palm rhizosphere in Oued souf.

Based on the morphological and biochemical characteristics, three bacterial genera were identified; it is *staphylococcus* for strains P2 and P6; *Pseudomonas* for strain G1 and *Neisseria* for strain G4. Then, these bacteria have been characterized based on biochemical traits for their ability to produce plant growth hormones such as IAA, nitrogen fixation, phosphorus and zinc solubilization, and their enzymatic activities (catalase). Most of strains tested showed a positive results with the above tests.

Moreover, to confirm the beneficial effect of PGPR isolates on plant growth, the four strains were inoculated with *Moringa oleifera* seeds. Our results showed that all strains significantly improved root length, length of aerial part, number of secondary roots, number of leaves, and total weight of plants.

Furthermore, inoculation of *Moringa oleifera* by this PGPR significantly increases the polyphenols, flavonoids and tannins contents in the leaves and the roots. The higher contents, for polyphenols: 261,271 mg EQ/100g MS is an increase of 50,9% is obtained with the strain P6, for flavonoids: 24,860 mg EQ/100g MS is an increase of 76,18% with the strain G4 and for tannins: 306,213 mg EQ/100g MS is an increase of 400% with the strain P6.

Key words: PGPR; Nitrogen fixation, *Moringa oleifera*; secondary metabolites.

الملخص

بهدف دراسة تأثير البكتيريا المحفزة للنمو على محتوى نواتج الايض (المستقلبات) الثانوية للجذور و الأوراق عند نبتة المورينجا قمنا بعزل أربع سلالات بكتيرية المسماة بـ

(G1. G2.P2.P6)

أربعة أنواع بكتيرية تم تحديدها اعتمادا على الخصائص البنيوية و البيوكيميائية وهي المكورات العنقودية P6 و P2

Pseudomonas G1 و Neisseria G4,

لاحقا هذه البكتيريا تم تمييزها حسب الميزات البيوكيميائية كقدرتها على إنتاج هرمونات النمو النباتية مثل AIA وقدرتها على تثبيت النيتروجين، امادة الزنك والفسفور، وكذا نشاطها الانزيمي. غالبية العينات المختبرة أظهرت نتائج ايجابية .

لتأكيد تأثير عينات (PGPR) المعزولة على نمو النباتات ، تمت معالجة بذور المورينجا بالسلالات البكتيرية الأربع. نتائجنا أظهرت أن كل السلالات حسنت من طول الجذور ،طول الجزء الظاهر للنبتة ، متوسط عدد الجذور الفرعية، متوسط عدد الأوراق ،و الوزن الإجمالي للنبتة.

كما أن معالجة المورينجا بـ PGPR كان لها تأثير معتبر على محتوى flavonoïdes و tanin , polyphénols على مستوى الجذور والأوراق . افضل المحتويات

. P6 61,271mg EQ/100g polyphénols بزيادة بنسبة %50,9 تم الحصول عليها مع السلالة

. G4 24,860mg EQ/100g flavonoïdes بزيادة بنسبة %76,18 تم الحصول عليها مع

.P6 306,213 mg EQ/100g tanins بزيادة بنسبة %400 تم الحصول عليها مع السلالة

الكلمات المفتاحية : PGPR، المورينجا، تثبيت النيتروجين ، نواتج الايض .