

# SOMMAIRE

## Introduction

1

## Chapitre I : Etude Bibliographique

<b>Partie 1 : La dégradation anthropique des sols et son impact sur l'environnement</b>	<b>4</b>
1.1. Définition de la dégradation des sols	4
1.2. La dégradation dans la région méditerranéenne	5
1.3. Les sites miniers et les carrières	5
1.4. Impact des exploitations sur l'environnement	6
1.4.1. Impact biologique	6
1.4.2. Impact sur l'atmosphère	6
1.4.3. Impact sur le paysage	7
1.5. Les mines et les carrières en Algérie	8
1.6. La carrière de Terga	8
1.7. Impact environnemental de l'exploitation	10
1.7.1. Impact sur le paysage	10
1.7.2. Impact sur l'activité agricole	10
1.7.3. Impact sur la dynamique du littoral	10
1.7.4. Impact sur le sol	10
<b>Partie 2 : Revégétalisation des sites dégradés</b>	<b>12</b>
2.1. Définition de la revégétalisation	12
2.2. Avantages de la revégétalisation	12
2.3. La revégétalisation de la sablière de Terga	13
2.4. Les différents essais de la revégétalisation	14
<b>Partie 3: Diversité de la microflore du sol</b>	<b>15</b>
3.1. Les microorganismes du sol	16
3.2. Le rôle des microorganismes dans l'environnement	17
3.3. Différentes techniques d'étude de la diversité microbienne du sol	17
3.3.1. Les techniques classiques ou cultivables	17
3.3.1.1. Dénombrement des microorganismes	18
3.3.1.2. Isolement des microorganismes	18
3.3.1.3. Identification et classification des microorganismes	19
3.3.2. Les techniques moléculaires	20
3.3.2.1. Extraction d'acides nucléiques	20
3.3.2.2. Amplification des gènes extraits	22
3.3.2.3. Quantification par PCR en temps réel	23

3.3.3. Méthodes d'empreinte moléculaire (Fingerprinting)	24
3.3.3.1. DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) / TGGE (Temperature Gradient Gel Electrophoresis)	24
3.3.3.2. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) / CE-SSCP (Capillarity Electrophoresis Single Strand Conformation Polymorphism)	25
3.3.3.3. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) / ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) / T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)	25
3.3.3.4. RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) / ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)	26
3.3.4. Autres méthodes pour étudier les communautés microbiennes	26
3.3.4.1. FISH (Fluorescence <i>in situ</i> Hybridization)	27
3.3.4.2. SIP (Stable Isotope Probing)	27
3.3.4.3. Les micropuces à ADN	27
3.3.4.4. Le séquençage	28
3.3.4.5. Le séquençage haut débit	29
3.3.5. Les principaux inconvénients des techniques moléculaires	29

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Présentation du site	32
2. Echantillonnage	33
3. Dénombrement des microorganismes du sol	35
4. Analyses physicochimiques du sol	36
4.1. Analyse granulométrique	36
4.2. Mesure de la conductivité électrique	36
4.3. Mesure du pH	36
4.4. Matière organique	37
4.5. Phosphore assimilable	37
4.6. Azote total	37
4.7. Analyses statistiques des paramètres physicochimiques du sol	38
5. Extraction de l'ADN	38
6. Amplification de l'espace intergénique (IGS)	38
7. L'analyse de l'espace Intergénique ribosomal (RISA) des communautés bactériennes extraites des échantillons et l'analyse statistique	40
8. Comparaison entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques des sols	40

## Chapitre III : Résultats

1. Analyses physicochimique du sol	41
2. Dénombrement des microorganismes du sol	47
3. Extraction de l'ADN et amplification de la région IGS	51
4. Analyse de l'espace intergénique ribosomal (RISA)	52
5. Evolution de la structure des communautés bactériennes	54
5.1. Evolution de la structure des communautés bactériennes dans la forêt native et le site recolonisée	54
5.2. Evolution de la structure des communautés bactérienne des sols nus	56
5.3. Evolution de la structure des communautés bactériennes dans le site de revégétalisation	67
6. Relations entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques des sols	61

## Chapitre IV : Discussion

1. Dénombrement des microorganismes du sol	62
2. Analyses physicochimiques	63
3. Evolution de la structure des communautés bactériennes	63
3.1. Structure des communautés bactériennes dans la forêt native et le site recolonisé	64
3.2. Structure des communautés bactériennes dans le site de revégétalisation	65
<b>Conclusion</b>	70
<b>Références bibliographiques</b>	72
<b>Annexe</b>	98

# **INTRODUCTION GENERALE**



---

## Introduction

L'impact de l'anthropisation tel que l'exploitation des mines et des carrières génère une dégradation du sol qui affecte considérablement ses caractéristiques et son fonctionnement (Lehmann et Stahr, 2007 ; Citeau *et al.*, 2008). Cette dégradation entraîne par la suite des perturbations et des dommages d'autres milieux environnementaux (eau, air...) et au fonctionnement de l'écosystème (Jaffré et Rigault, 1991).

En Algérie, les activités humaines ont engendré un appauvrissement de la diversité biologique de manière considérable (Ghodbani, 2008) suite aux surexploitations des ressources naturelles (Benderradji *et al.*, 2006). Le sable en Algérie compte parmi les substances extraites les plus utilisées dans de nombreux aménagement du fait de l'accroissement démographique (Brahimi, 2011 ; Mansouri, 2010), cependant, son exploitation a un impact néfaste sur l'environnement. C'est pourquoi, dans de nombreux pays tel que l'Algérie, une réhabilitation des sites est mise en place après exploitation pour la préservation de l'environnement.

La revégétalisation des sites anthropisés est l'une des pratiques les plus utilisées afin de restaurer ces écosystèmes perturbés. Des recherches considérables ont été conduites pour déterminer l'approche la plus efficace pour la restauration des plantes et la succession écologiques (Crosaz, 1995 ; Aronson *et al.*, 1995 ; Ould Dah *et al.*, 2005 ; Mansouri, 2010 ; Laroche, 2011 ; Sanguin *et al.*, 2013). Les programmes de revégétalisation les plus utilisés sont l'introduction de plantes pionnières adaptées à ces environnements drastiques, capables de développer des symbioses avec des microorganismes (Franco *et al.*, 1994; Pelletier et Esterle, 1995; Brennan, 1996; Wilson et Hanlon, 2012) : (i) fixateurs d'azote, qui permettent aux plantes de survivre dans des sols pauvres en azote ; et (ii) les champignons mycorhiziens qui améliorent la nutrition des plantes, plus précisément l'absorption du phosphore (Requena *et al.*, 2001). Ces symbioses améliorent ainsi le développement des plantes et assurent une succession végétale (Lugo, 1992). Cette pratique a été utilisée dans divers écosystèmes anthropiques tel que les mines de nickel en Nouvelle Calédonie (Jaffré *et al.*, 2001 ; Herrera *et al.*, 2007) ou dans la stabilisation des dunes de sables au Sénégal (Diagne *et al.*, 2013). Outre les espèces pionnières, les espèces d'*Acacia* sont également utilisées dans la revégétalisation des sites dégradés du fait de leur capacité symbiotique (rhizobienne et mycorhizienne) ce qui leur permet de survivre dans

un environnement déficient (Räsänen et Lindström, 2003 ; Amrani *et al.*, 2010 ; Boukhatem *et al.*, 2012 ; Dou *et al.*, 2012). Elles ont été introduites pour la réhabilitation des sols dans de nombreux pays tel que l'Afrique du Nord (Sekkour, 2007 ; Poynton, 2009 ; Mansouri, 2010 ; Carruthers *et al.*, 2011).

Cependant, malgré les efforts de recherche, il est encore difficile de déterminer la meilleure stratégie de revégétalisation des sols, du fait du manque de connaissance des processus de l'environnement et de divers mécanismes du fonctionnement de l'écosystème (Chaussod, 1996). Dans ces écosystèmes, les microorganismes du sol jouent un rôle fondamental dans les divers processus de l'environnement et dans l'écosystème tel que la purification de l'eau, le recyclage des minéraux et de la matière organique (Swift *et al.*, 1998), la disponibilité des nutriments et les cycles du carbone et de l'azote (Hattenschwiler *et al.*, 2005). Malheureusement, il est également difficile de cultiver l'ensemble des microorganismes et de reproduire les conditions environnementales au laboratoire leur permettant d'exercer leur activité naturelle. Heureusement, dans les vingt dernières années, les importantes avancées dans le domaine de la biologie moléculaire ont rendu possible l'étude des communautés bactériennes complexes telles que les microorganismes indigènes sans passer par les étapes de mise en culture et d'isolement inadaptées pour l'étude de la totalité des microorganismes (Ranjard *et al.*, 2000 a,b ; Borneman et Triplett 1997 ; Engelen *et al.*, 1998 ; Ovreas et Torsvik 1998 ; Smit *et al.*, 1997). Les méthodes d'empreinte moléculaire ont été largement utilisées pour étudier les communautés bactériennes et sont basées sur l'analyse des séquences d'ADN ou d'ARNr, comme les séquences dépendantes de la séparation des fragments par gradient dénaturant ou par gradient de température sur gel d'électrophorèse (DGGE et TGGE) (Fischer et Lerman, 1979 ; Rosenbaum et Riesner, 1987 ; Muyzer, 1999), l'analyse des fragments de restriction de l'ADN ribosomique amplifié (ARDRA) (Liu *et al.*, 1997 ; Kirk *et al.*, 2004 ; Sette *et al.*, 2007 ; Jameson *et al.*, 2008) et l'analyse de l'espace intergénique ribosomal (RISA) (Fischer et Triplett, 1999 ; Ranjard *et al.*, 2001).

Dans ce travail, une étude des communautés bactériennes présentes dans un environnement perturbé d'une carrière situé dans la région de Terga (Algérie) est entreprise. Un suivi de l'évolution de leur structure après un programme de revégétalisation est effectué. La méthode d'empreinte génétiques RISA est retenue pour son utilisation rapide et sa rapidité à caractériser la composition des communautés bactériennes complexes (Ranjard *et al.*,

2000a ; Acinas *et al.*, 1999; Borneman et Triplett 1997 ; Felske et Akkermans, 1998). Le site dégradé a été revégétalisé par l'introduction de deux espèces forestières (*Schinus terebinthifolius* et *Tetraclinis articulata*) associées ou non à deux légumineuses (*Retama monosperma* et *Lotus creticus*). Le sol rhizosphérique a été prélevé à quatre périodes : au début de la plantation, après 6, 12 et 18 mois. En parallèle, le sol rhizosphérique des deux légumineuses (*Retama monosperma* et *Lotus creticus*) a été prélevé, à T = 0 et après 12 mois, dans un site anciennement revégétalisé par les services de la conservation des forêts de la Wilaya de Ain Témouchent en 1998 (site recolonisé) et dans un site non perturbé (forêt native) de la même région.

Rapport-Gratuit.com

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## Partie 1 : La dégradation anthropique des sols et son impact sur l'environnement

La présente partie vise à définir la dégradation des sols, plus précisément sous l'effet anthropique ainsi que son impact sur l'environnement. Ce phénomène qui touche également l'Algérie, sera illustré par notre site d'étude, la carrière d'extraction de sable de Terga situé dans la Wilaya de Ain Témouchent.

### 1.1. Définition de la dégradation des sols

La dégradation des sols correspond à un déclin prolongé de leurs propriétés provoqué par le développement de l'industrialisation, de l'urbanisation et de l'agriculture intensive (Bai et Dent, 2006 ; UNEP, 2007). C'est un phénomène fréquent qui peut avoir des causes naturelles (liées à la topographie et au climat), ou des causes humaines, dites anthropiques qui sont prépondérantes (Mimoune, 1995 ; Shifang *et al.*, 2008 ; Slimani *et al.*, 2010 ; Gan *et al.*, 2012). Les sols anthropisés représentent d'importants sujets d'études en raison de leur nombre qui ne cesse d'augmenter. En effet, dès la fin des années 40 jusqu'au début des années 90, la dégradation des terres agricoles, est attribuée, pour plus de 90%, au surpâturage, à la déforestation et à des pratiques agricoles inappropriées ainsi qu'aux pratiques culturales ou pastorales inadéquates (surexploitation) ou à la destruction du couvert végétal (FAO, 2008). Ajoutant à cela la pollution d'autres sites par des composites rejetés par l'homme lors de différentes opérations (exploitation minière, dépôts de boues de dragages ou l'utilisation des carrières...) (Kozdroj et Van Elsas, 2000 ; Zhang et Chu, 2011 ; Wilson et Hanlon, 2012 ; Theodorakopoulos, 2013). La conjugaison de l'effet néfaste de l'ensemble de ces facteurs affecte rapidement et de façon dramatique les caractéristiques et les fonctions naturelles du sol (pH, aération, cycles biogéochimiques...) (Lehmann et Stahr, 2007), en entraînant des modifications de la diversité taxonomique et de la fonctionnalité des communautés microbiennes natives (Dequiedt *et al.*, 2009). Ces pratiques peuvent aussi provoquer des perturbations et des dégâts de divers processus de l'écosystème (Jaffré et Rigault, 1991), engendrant ainsi une dégradation du sol notamment la rétention d'eau, la réduction de la concentration de minéraux essentiels et l'augmentation des métaux lourds toxiques (Ramakrishna et Narasimham, 1988; Sarrailh, 1990 ; Tsutui, 1991). Ce phénomène d'anthropisation est malheureusement largement observé sur le pourtour méditerranéen.

### 1.2. La dégradation dans la région méditerranéenne

La région méditerranéenne est connue pour avoir des écosystèmes extrêmement dégradés (Albaladejo *et al.*, 1998 ; Quézel et Médail, 2003), dû principalement aux activités anthropiques (pression urbaine, déforestation, surpâturage et exploitation du sol) associées aux conditions pédoclimatiques très contraignantes (aridité, salinité, pH extrême, vent, sols déficients en matière organique et en minéraux, sécheresse estivale et forte carbonatation). Combinés au déficit hydrique et à une diminution de l'activité microbienne du sol, ces phénomènes appauvrissent le sol et entravent la reconstitution de son couvert végétal (Requena *et al.*, 1997). Parmi les sols ayant malheureusement déjà subi une anthropisation extrême, les carrières et les mines constituent un exemple de dégradation de ces écosystèmes dont la remédiation s'avère nécessaire et urgente.

### 1.3. Les sites miniers et les carrières

Les sites miniers et les carrières existent depuis l'antiquité quand l'homme préhistorique a commencé à explorer le sol à la recherche de minerais pour fabriquer des armes, des pigments et des outils. Il trouvait des morceaux de cuivre, d'or et d'argent natifs ainsi que des pierres précieuses dans les ruisseaux et dans le sol. L'exploitation était déjà une activité courante quand Stonehenge et les pyramides d'Égypte ont été construits (Anonyme 1 *in* Taleb, 2012). À partir du XIX<sup>e</sup> siècle, les progrès des technologies et de la géologie ont permis d'exploiter plus rapidement des gisements de plus en plus profonds ou étendus selon le type d'exploitation.

Les sites exploités sont classées en deux catégories selon les substances (minérales ou fossiles) renfermées au sein de la terre ou existantes à la surface : les mines et les carrières. Les mines et les carrières, qu'elles soient des exploitations souterraines ou à ciel ouvert, ont pour but de récupérer les matières minérales présentes à la surface du globe et qui ont une valeur économique (GTZ : Agence pour la coopération technique, 2001). La distinction entre mines et carrières, ne dépend pas du mode d'extraction (souterraine ou à ciel ouvert) mais des substances extraites du site. En effet, les substances extraites des mines, utilisées à des fins industrielles, sont généralement des combustibles, des métaux, des éléments radioactifs et quelques minéraux, alors que les substances extraites des carrières, utilisées le plus souvent dans le domaine de la construction, englobent généralement le sable, l'argile, l'ardoise, le calcaire, le gypse...). Il faut noter que, près de

90% des substances extraites dans le monde proviennent d'exploitations à ciel ouvert (GTZ, 2001).

### **1.4. Impact des exploitations sur l'environnement**

Les sites d'exploitation sont une source potentielle de richesse dans les pays en développement, par contre elles ont des effets très visibles sur l'environnement et les biotes, en particulier pour les populations avoisinantes (Salomons, 1995 ; Thornton, 1996 ; Ogola *et al.*, 2002 ; Aliouche, 2008 ; Ghodbani, 2008 ; Laroche, 2011 ; Khalfi et Taleb, 2014). L'activité minière peut affecter, à différents niveaux, l'air, le sol, les eaux de drainage, les eaux souterraines et en conséquence la flore (Khalfi et Taleb, 2014). En effet, l'exploitation provoque la disparition de la faune indigène, la destruction de la végétation et le sol de couverture (Aliouche, 2008 ; Khalfi et Taleb, 2014). Les impacts néfastes liés à l'exploitation abusive des mines et des carrières sur l'environnement avoisinant peuvent être direct ou indirect. Ils sont très variables en fonction du type de matériau, du type d'exploitation et de l'environnement du site (Aliouche, 2008). Ces impacts peuvent se manifester à divers niveaux:

#### **1.4.1. Impact biologique**

Le développement de l'activité d'extraction des matériaux dans une région a un impact négatif non seulement sur la flore et la faune (Aliouche, 2008 ; Daho, 2012) mais également sur la santé humaine (OMS, 2013). En effet, les substances dangereuses et les déchets dans l'eau, l'air et le sol, qui peuvent être générés lors de ces activités notamment minières, ont souvent des répercussions graves sur la santé publique (incidence accrue de la tuberculose, l'asthme, la bronchite chronique et les maladies gastro-intestinales) et en octobre 2013, le Centre International de Recherche sur le Cancer déclare que les particules atmosphériques fines sont des agents cancérigènes (OMS, 2013).

#### **1.4.2. Impact sur l'atmosphère**

Les nuisances qui peuvent être occasionnées au cours des opérations de l'exploitation sur l'atmosphère, sont dues essentiellement aux polluants atmosphériques (poussières et effluents gazeux) aux bruits et aux vibrations (Aliouche, 2008 ; Khalfi et Taleb, 2014). En effet, les dégagements de poussières par les tirs à l'explosif et le trafic routier tel que les chargeurs, les wagons de mine et les camions-benne, qui transportent le minerai vers les installations de traitement, ainsi que les dégagements des gaz nocifs et des effluents gazeux

suite à l'ignition spontanée de terrils et les gaz d'échappement des engins et des automoteurs, créent un déséquilibre dans l'atmosphère (Aliouche, 2008 ; Khalfi et Taleb, 2014). En outre les déversements et fuites de matières dangereuses et les dépôts de poussières contaminées fouettées par le vent peuvent conduire à la contamination du sol.

### **1.4.3. Impact sur le paysage**

L'extraction des carrières entraîne aussi une transformation négative du paysage tel que la formation d'excavation, le stockage des remblais en particulier laisse des cicatrices dans le paysage, les contrastes de forme et de couleur, le déboisement (Aliouche, 2008 ; Khalfi et Taleb, 2014) ainsi que des rejets liquides et solides divers (Aliouche, 2008). En effet, si un projet minier implique l'extraction de quelques centaines de millions de tonnes métriques de minerai, le projet de mine générera une quantité similaire de résidus (Khalfi et Taleb, 2014).

Dans l'objectif de régler tous ces problèmes de nuisances pour l'environnement et pour la qualité de vie, on assiste à partir de 1970 à une mise en place d'une véritable réglementation en matière d'autorisation d'exploitation des carrières. Le décret n° 71-792 du 20 septembre 1971 complétant la loi de 1970 introduit notamment les premières dispositions relatives à la remise en état des lieux après exploitation. Les décrets les plus récents sont les suivants :

**Décret exécutif n° 06-198** du 31 mai 2006, définissant la réglementation applicable aux établissements classés pour la protection de l'environnement.

**Décret exécutif n° 07-144** du 19 mai 2007, fixant la nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement.

**Décret exécutif n° 07-145** du 19 mai 2007, déterminant le champ d'application, le contenu et les modalités d'approbation des études et des notices d'impact sur l'environnement.



### **1.5. Les mines et les carrières en Algérie**

Selon le bilan des activités minières de la Direction Générale des Mines (DGM) effectué en 2010, l'Algérie comptait, en 2009, 1147 exploitations minières en activité réparties dans les 48 wilayas (DGM, 2010). Ces exploitations ont permis de répondre aux besoins essentiels de l'économie nationale en produits miniers et notamment en substances minérales destinées aux matériaux de construction nécessaires à la réalisation d'importants programmes du gouvernement, à savoir la construction des infrastructures routières, ferroviaires, aéroportuaires, de santé, de logements etc. réparties à travers l'ensemble du territoire national (DGM, 2010).

Parmi les trente substances produites à travers le territoire national, le sable naturel compte parmi les plus importantes occupant ainsi la 3ème place (DGM, 2010). Il est extrait des différentes carrières du littoral et constitue la principale source d'approvisionnement dans le domaine des travaux publics. En effet, il est utilisé pour répondre à des besoins économiques et sociaux en procédant à de nombreux aménagements notamment en matière d'habitat et de réseaux routiers dus à l'accroissement démographique (Ighilhariz *et al.*, 2013 in Duponnois *et al.*, 2013 ; Brahimi, 2011 ; Mansouri, 2010). Selon un rapport officiel élaboré en 2010 par ENG (Entreprise nationale des granulats), 120 carrières de sable sont recensées à travers le littoral algérien.

L'exploitation du sable joue un rôle capital dans le développement du pays, mais comme toute activité, elle a des répercussions plus ou moins néfastes sur l'environnement, caractérisées par des bouleversements topographiques, la pollution et la diminution ou la disparition de la faune et de la flore (Aliouche, 2008 ; Khalfi et Taleb, 2014). La loi 01/10, du 03 juillet 2001, portant loi minière, met l'accent sur la remise en état des lieux soit au fur et à mesure de l'avancement des travaux, soit à la fin de l'exploitation. Parmi les carrières les plus importantes, actuellement en activité, la carrière de Terga occupe une grande surface de la Wilaya d'Ain Temouchent dans l'ouest algérien.

### **1.6. La carrière de Terga**

L'extraction de sable dunaire dans cette carrière était réalisée par une commune de cette région (Ain Témouchent) depuis l'instauration du site en 1941 jusqu'à la fin de 1996. A partir de 1997, la carrière est exploitée par l'Entreprise Publique Communale de Terga (EPCT).

L'extraction du sable, se faisait jusqu'en 2001 de façon anarchique et sans plan de gestion environnementale qui permettrait de limiter le volume de sable extrait et d'alléger les effets négatifs des extractions sur l'environnement et l'équilibre des écosystèmes. En effet, en 2008, l'EPCT produit environ 3200 m<sup>3</sup>/j de sable, dépassant ainsi la limite prescrite par le cahier des charges qui limite l'extraction à 3000 t/j (soit 2140 m<sup>3</sup>/j). Ces quantités extraites place la sablière de Terga, selon la loi minière algérienne, dans la catégorie des exploitations industrielles aux recettes de vente les plus importantes (Ghodbani, 2009). Actuellement, la sablière compte une surface exploitée de 388.044,88 m<sup>2</sup> (Fig.1). Malheureusement, les conséquences de cette extraction massive se répercutent négativement sur l'écosystème de la dune de Terga en provoquant divers impacts sur l'environnement et l'écosystème du littoral Témouchentois (Ghodbani, 2009).



**Figure 1** : Localisation de la sablière de Terga. 35°26'30.7"N 1°13'33.0"W  
<https://www.google.dz/maps/place/35%C2%B026'30.7%22N+1%C2%B013'33.0%22W/@35.4392704,-1.2216837,2480m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d35.441849!4d-1.225825>

## **1.7. Impact environnemental de l'exploitation**

Ghodbani (2009) a étudié l'impact de l'extraction du sable sur l'environnement entre 1972 et 2005 en faisant deux enquêtes sur terrain (1999 et 2005) et en comparant quatre photos aériennes (prises en 1972, 1980, 1992 et 2000). Ces travaux soulignent divers impacts sur l'environnement et le paysage :

### **1.7.1. Impact sur le paysage**

La chaîne de grands camions qui se forme le long de l'arrière plage de la sablière provoque des bruits contrariants et une qualité visuelle du site naturel désagréable, en plus de la disparition de 50% de la couverture végétale dont des genévriers centenaires (Ghodbani, 2009). Des pratiques d'extraction anarchique peuvent amener à la formation de grands trous servant parfois de dépôt d'ordures (Ghodbani, 2009).

### **1.7.2. Impact sur l'activité agricole**

La disparition du couvert végétal a favorisé la création de brèches éoliennes à travers les dunes provoquant ainsi une mobilisation des particules de sable qui menacent les zones agricoles, perturbent la pousse des jeunes plantes et la perte d'une grande partie du feuillage des plantes (Ghodbani, 2009).

### **1.7.3. Impact sur la dynamique du littorale**

L'extraction massive du sable a eu pour conséquence l'élargissement du lit de l'oued El Maleh augmentant les risques d'inondation, comme cela s'est produit en 2000 suite à des pluies torrentielles qui ont provoqué une inondation de toute la partie nord de la plage et causé des dégâts humains et matériels (Ghodbani, 2009).

### **1.7.4. Impact sur le sol**

La disparition de la couche supérieure du sol a entraîné la perte du couvert végétal provoquant par conséquent la détérioration des communautés microbiennes, essentielles dans les divers processus environnementaux et l'équilibre de la microflore rhizosphérique du sol et de son fonctionnement (Ghodbani, 2009).

Afin de limiter tous ses effets néfastes sur l'environnement, la restauration de ces sites et la remise en état de l'écosystème représente non seulement une nécessité mais aussi un défi majeur pour tous les acteurs concernés (collectivités locales, entreprises, chercheurs...) soucieux de préserver ces sites et leur remise en état. La revégétalisation des sites dégradés est l'une des pratiques les plus utilisées dans la restauration de ces écosystèmes perturbés (Crosaz, 1995 ; Aronson *et al.*, 1995 ; Sanguin *et al.*, 2013).

## Partie 2 : Revégétalisation des sites dégradés

Nous proposons dans cette partie de définir la revégétalisation, décrire ses principaux bénéfices, et montrer comment celle-ci peut réduire l'impact de l'anthropisation sur l'environnement, en particulier sur le site exploité dans la carrière de Terga. Et enfin, citer les différents essais de revégétalisation déjà élaborés.

### 2.1. Définition de la revégétalisation

La revégétalisation est définie comme le rétablissement d'un couvert végétal, elle peut conduire à une récupération du milieu sans envisager un retour à l'état d'origine, à sa réaffectation (nouvel usage de l'écosystème) ou encore à sa restauration écologique d'origine (Laroche, 2011). Cette pratique vise la restauration d'un écosystème détruit ou en cours de détérioration. Elle est fréquemment réalisée, par l'introduction d'espèces végétales pionnières à croissance rapide capable de coloniser des espaces vierges (Crosaz, 1995 ; Aronson *et al.*, 1995 ; Ould Dah *et al.*, 2005 ; Mansouri, 2010 ; Laroche, 2011 ; Sanguin *et al.*, 2013). Une fois installées ces espèces procurent aux autres essences forestières des conditions meilleures pour leur installation et ainsi assurer une succession végétale (Hutton, 1982 ; Hulugalle, 1992 ; Lugo, 1992 ; Parrotta, 1992 ; Bernhard-Reversat, 1993 ; Lamb et Lawrence, 1993 ; Parrotta, 1993 ; Brown et Lugo, 1994 ; Bradshaw, 1997 ; Hüttl et Schneider, 1998 ; Parrotta et Knowles, 2001). Au Brésil par exemple, les programmes de reforestation mis en place en particulier dans des zones d'exploitation de la bauxite utilisent soit la plantation d'espèces locales en mélange choisies pour leurs caractéristiques de croissance rapide ; soit la plantation d'espèces exotiques déjà éprouvées dans d'autres régions du monde, les *Acacia spp* ou les *Eucalyptus spp* en particulier (Parrotta et Knowles, 2001).

### 2.2. Avantages de la revégétalisation

Le rétablissement du couvert végétal sur un site dégradé offre de nombreux avantages, notamment, limiter l'érosion du sol provoquée soit par l'homme (pratiques agricoles, exploitations forestières, pâturages, exploitations minières...) ou par l'eau (érosion hydrique) ou le vent (érosion éolienne) (Jaffré *et al.*, 1977 ; El Euch, 2000 ; Amrani *et al.*, 2010 ; Laroche, 2011).

La recolonisation par les plantes permet au sol d'avoir une meilleure rétention d'eau et permet les échanges gazeux (Diaz-Zorita *et al.*, 2002). En effet, la formation d'acides



humiques et fulviques, due à la décomposition des résidus végétaux, permet la fixation des éléments minéraux et provoque le développement d'agrégats qui engendrent une augmentation de la porosité du sol, de sa perméabilité et de la rétention d'eau (Jaffré *et al.*, 1994; Dubourguier *et al.*, 2001) et améliore ainsi la circulation de l'air.

Les microorganismes du sol, en particulier les champignons mycorhizien à arbuscule (CMA) jouent également un rôle primordial dans l'agrégation des particules de sols (Tisdall et Odes, 1982; Miller et Jastrow, 2000; Rillig, 2004). Une corrélation positive entre la présence des hyphes fongiques et la stabilité des agrégats dans des écosystèmes a été décrite (Miller et Jastrow, 2000).

Les végétaux représentent également un réservoir notable de carbone, d'azote et d'autres éléments minéraux. Ils jouent un rôle de régulateur thermique en diminuant l'échauffement du sol lors de canicules (Rey *et al.*, 2004) et servent d'habitat à la faune. Cette dernière participe à son tour au fonctionnement de la flore en favorisant son développement *via* le transport de semences et la pollinisation (Charles-Dominique, 1995).

L'installation de la flore contribue également à la conservation de la biodiversité, à la lutte contre la désertification, à l'amélioration des propriétés physicochimiques du sol, à la préservation du paysage culturel et naturel ainsi qu'à valoriser les connaissances et méthodes locales de production. Tous ces bénéfices offerts par les végétaux font de la revégétalisation une technique de restauration efficace.

### **2.3. La revégétalisation de la sablière de Terga**

Terga est caractérisé par la richesse de son patrimoine écologique et de sa flore intéressante ce qui lui permet de jouer un rôle fondamental dans l'équilibre dynamique de tout le système côtier (Ghodbani, 2008).

La loi n° 03-10 du 19 juillet 2003 et la loi n° 02-02 du 5 février 2002, exige qu'avant la fermeture de toute exploitation de carrière, il est obligatoire d'envisager une stratégie de revégétalisation dont l'objectif est le maintien de l'équilibre environnemental du site et la préservation de la diversité biologique. Pour cela, différents essais de revégétalisation ont été effectués dans la carrière de Terga.

## 2.4. Les différents essais de la revégétalisation

Les premiers essais de revégétalisation de la sablière de Terga ont été réalisés par les services des forêts en 1998 (Ghodbani, 2009), en introduisant quelques espèces végétales tel que *Acacia saligna* et *Retama monosperma*. Cette revégétalisation a échoué, mais une recolonisation spontanée du site par les espèces autochtones, a permis de restituer un couvert végétal après plusieurs années. Il est constitué des deux espèces introduites (*Acacia saligna* et *Retama monosperma*) et des espèces herbacées fixatrices et non fixatrices d'azote tels que *Lotus creticus*, *Lotus variegata*, *Arundo donax*, *Phragmites communis*, *Ephedra fragilis*... (Nehila, 2016).

Suite à une convention entre le Laboratoire de Biotechnologie des Rhizobia et Amélioration des Plantes (LBRAP) de l'université d'Oran1 Ahmed Ben Bella et l'Entreprise Publique Communale de Terga (EPCT) et dans le cadre de divers projets de recherche nationaux (PNR, CNEPRU) et internationaux (Tassili, JEAI-IRD), une stratégie de revégétalisation a été entreprise dès 2009. Cette stratégie est basée sur l'association plantes-microorganismes sélectionnés. En effet, des légumineuses locales ont été introduites dans une parcelle du site de la carrière, inoculées au préalable et mis en culture en serre avec des bactéries fixatrices d'azote et des champignons mycorhiziens (CMA) testés au laboratoire et en pépinières (Mansouri, 2010). L'assemblage de ces trois éléments (plante-CMA-*Rhizobium*) a conduit à la constitution d'un système biologique plantes-microorganismes favorisant l'installation des végétaux dans les milieux fortement carencés en azote, un développement optimal du système racinaire et la formation de nombreuses nodosités fixatrices d'azote (Mansouri, 2010). Cette stratégie s'est avérée très efficace et constitue actuellement l'un des modèle les plus rentable pour d'éventuels programmes de revégétalisation.

Une autre stratégie de revégétalisation a été aussi proposée par le laboratoire LBRAP en concertation avec les partenaires nationaux et français en avril 2012 et qui consiste en l'introduction de deux essences forestières non fixatrices d'azote (*Tetraclinis articulata* et *Schinus terebinthifolius*) associées ou non à deux légumineuses (*Retama monosperma* et *Lotus creticus*).

Cependant, trouver une stratégie de revégétalisation durable exige plusieurs années de travaux et d'essais et les connaissances qu'on pourrait avoir sur les communautés microbiennes, leur évolution et leur fonctionnement pourraient indiquer précocement le succès de la revégétalisation (Sparling, 1992; Harris, 2003; Gomez *et al.*, 2006).

### **Partie 3 : Diversité de la microflore du sol**

Les méthodes classiques utilisées afin d'étudier la diversité microbienne dans leur habitat naturel montre que seule une faible proportion (0,1-10%) de microorganismes est cultivable dans les conditions du laboratoire (Bakken, 1985 ; Torsvik *et al.*, 1990 ; Amann *et al.*, 1995 ; Hugenholtz, 2002 ; Rappé et Giovannoni, 2003 ; Janssen, 2006). L'abstraction des interactions avec d'autres organismes et celles avec leur habitat (initié par Brock en 1987) ont stimulé le développement de progrès méthodologiques pour améliorer les méthodes de culture et avoir un meilleur accès à cette microflore et passer du niveau d'intégration de l'individu à la communauté. C'est ainsi qu'en 1985, Pace *et al.*, introduisent une approche basée sur l'extraction, l'amplification, le clonage et la caractérisation de gènes d'ADNr directement des environnements naturels. Ces premières expériences ont ouvert la voie vers d'autres innovations techniques majeures en biologie moléculaire et en biochimie (électrophorèse, amplification *in vitro* de l'ADN, bioinformatique) permettant l'étude du génome de ces populations (génomique). Beaucoup d'études ont été dédiées à ce type d'approche et ont fourni les bases pour comprendre le monde microbien et son rôle dans le fonctionnement des écosystèmes.

Depuis la fin des années 1990, des progrès notables ont été réalisés dans le domaine du transcriptome (étude des ARN) et du protéome (étude des protéines) grâce au développement de méthodologies d'extraction, d'amplification et de caractérisation des ARN et des protéines.

Actuellement, l'écologie microbienne est connue pour être une science intégrative avec des interconnexions fortes avec la systématique, la génétique, la biochimie, la biologie moléculaire, la physiologie, la modélisation, la paléobiologie, les sciences du sol, la parasitologie, l'épidémiologie... avec d'importantes perspectives d'application dans l'alimentation, la santé publique et l'environnement (Mathieu *et al.*, 2012).



### 3.1. Les microorganismes du sol

Tels que l'air, l'océan et les fleuves, le sol est l'un des nombreux types de biotopes rencontrés sur terre (Fredrickson *et al.*, 2004). Si un millilitre d'eau douce contient environ 1 million de cellules bactériennes c'est au niveau du sol que se trouve le principal réservoir en terme de nombre de cellules et de diversité avec environ  $10^{10}$  bactéries par gramme de sol et à près d'un million de champignons (Torsvik *et al.*, 1990 ; Bridge et Spooner, 2001 ; Hawksworth, 2001). En 1990, Torsvik *et al.*, par observation microscopique en utilisant l'acridine orange (fluorochrome qui se fixe sur les acides nucléiques), ont estimé qu'un gramme de sol forestier naturel contient près de  $1.5 \times 10^{10}$  bactéries.

### 3.2. Le rôle des microorganismes dans l'environnement

Les microorganismes du sol sont impliqués dans plusieurs processus environnementaux de l'écosystème : la dégradation et la minéralisation de la matière organique (Stursova *et al.*, 2012) ; décomposition de la cellulose (Winogradsky, 1887) ; leur participation dans les cycles biogéochimiques tel que le cycle du carbone, de l'azote, du phosphore, du soufre... (Hattenschwiler *et al.*, 2005).

Les microorganismes occupent un rôle important en agriculture, ils conditionnent la fertilité et le bon fonctionnement du sol (Babalola, 2010), ils sont utilisés en lutte biologique à la place de pesticides pour combattre les parasites des plantes (ex : *Bacillus thuringiensis*) (Lucy *et al.*, 2004), d'autres ont un effet bénéfique sur la croissance des plantes comme les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobia) (Lugtenberg et Kamilova, 2009) et les associations symbiotiques qui peuvent augmenter de façon plus ou moins directe la productivité des plantes (Bekki, 1986 ; Bekki *et al.*, 1987 ; Johnson *et al.*, 1997, Duponnois *et al.*, 2001, Merabet *et al.*, 2006 ; Benadis *et al.*, 2014).

En bioremédiation, la capacité des bactéries hétérotrophes à dégrader une large variété de composés organiques est exploitée pour le traitement des sols pollués ou le traitement des eaux usées (Furukawa, 2003 ; Dequiedt *et al.*, 2009) et la rétention de polluants métalliques (Dequiedt *et al.*, 2009).

Les microorganismes occupent donc une place centrale sur terre par leur abondance, leur diversité et leur implication dans les processus environnementaux et l'écosystème. Ainsi une meilleure compréhension de ces processus est nécessaire notamment dans un contexte de diminution de la biodiversité, du réchauffement global et l'effet de l'anthropisation tels

que les pollutions chroniques et la déforestation (Zinger, 2009). Il est donc fondamental d'étudier et de comprendre ce qui se passe dans le sol (Pimentel *et al.*, 1997 ; Laudicina *et al.*, 2011).

Cependant, en dépit de nombreuses recherches effectuées depuis les années 90 en écologie microbienne, les connaissances acquises sur la diversité des microorganismes du sol, leur distribution spatiale à petite et à grande échelle et leur implication dans le fonctionnement du sol restent insuffisantes (Maron *et al.*, 2011). Ce manque d'informations est dû aux nombreuses réactions fonctionnelles que peuvent avoir les microorganismes du sol et qui génèrent des changements au sein des communautés microbiennes dont l'intensité dépend entre autres des facteurs abiotiques (température, humidité, pH...) et des facteurs biotiques (compétition, commensalisme...) (McGill *et al.*, 1996 ; Gignoux *et al.*, 2001 ; Pascault *et al.*, 2010).

De ce fait, l'un des enjeux de l'étude de l'écologie microbienne est de mettre en relation la diversité génétique et les activités de la microflore et innover les techniques d'étude afin de prédire le fonctionnement des communautés microbiennes et leurs conséquences sur l'environnement.

### **3.3. Différentes techniques d'étude de la diversité microbienne du sol**

Accéder à la diversité bactérienne de manière exhaustive constitue, en écologie microbienne, un des défis majeurs de ces dernières décennies et les techniques qui y sont dédiées n'ont cessé d'évoluer (Fierer et Lennon, 2011).

#### **3.3.1. Les techniques classiques ou cultivables**

Une des premières techniques d'étude des microorganismes a consisté à ensemercer un échantillon issu de l'environnement (ex : sol) sur un milieu de culture (solide ou liquide) élaborée au laboratoire afin de permettre la croissance microbienne et leur multiplication. Les microorganismes requièrent une source d'énergie et un accepteur final d'électrons qui doivent être présents dans les milieux de culture (Hugenholtz, 2002).

Les approches dépendant de la culture sont mises en œuvre pour d'une part, dénombrer les cellule viables (Sait *et al.*, 2002) et d'autre part, isoler des microorganismes spécifiques dotés d'une activité particulière (Willison, 2004).

### **3.3.1.1. Dénombrement des microorganismes**

L'utilisation du milieu solide permet de dénombrer les colonies résultant de la multiplication clonale après ensemencement et ainsi estimer le nombre initial de bactéries « cultivables » présentes dans l'échantillon. Les bactéries sont dénombrées par comptage des colonies qui se sont formées (Sait *et al.*, 2002) exprimées en unité formant colonies (UFC) par gramme de sol, qui reflète leur abondance.

Le dénombrement des microorganismes peut également être réalisé sur milieu liquide par la méthode NPP (Nombre le Plus Probable) ou MPN (Most Probable Number) qui a pour principe de donner une estimation statistique sur le nombre probable de microorganismes présents dans 1 ml de dilution (Prescott *et al.*, 2003).

### **3.3.1.2. Isolement des microorganismes**

Lorsque des populations spécifiques sont visées, des paramètres de croissance sont pris en compte, tels que la température, le pH, le temps d'incubation, l'aération, la présence ou non de lumière, varient selon les populations que l'on cherche à isoler.

Les milieux de cultures sont utilisés comme paramètre de sélection afin de permettre la croissance bactérienne spécifique ou pour divers objectifs. Des milieux riches composés de sources complexes de nutriments (peptone, extrait de levure) métabolisables par un grand nombre de microorganismes, souvent copiotrophes (microorganismes qui ont des demandes élevées en nutriments et qui ont une croissance rapide lorsque les substrats sont abondants) (Fierer *et al.*, 2007). Des milieux minéraux, contenant un substrat et des sels minéraux, pour isoler par enrichissement des bactéries ayant une fonction métabolique spécifique (ex : dégrader un polluant) (Willison, 2004), et conviennent aussi aux microorganismes oligotrophes (microorganismes capables de croître à faible concentration en nutriments grâce à leur haute affinité pour le substrat et leur croissance plus lente).

L'isolement de souches bactériennes permet d'étudier des gènes responsables d'une voie métabolique, et de leur organisation ou de réaliser un piégeage pour les symbioses (Mansouri, 2010 ; Brahimi, 2011) ou encore pour tester des antibiotiques (Alef et Nannipieri, 1995).

### 3.3.1.3. Identification et classification des microorganismes

L'identification et la classification taxonomique de bactéries nécessitent leur isolement, leur mise en culture et leur caractérisation sur la base de différents critères : morphologiques (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés), physiologiques, métaboliques, biochimiques, enzymatiques, pathogéniques, de sensibilité aux antibiotiques, la composition de la paroi (après coloration de Gram), la morphologie microscopique (bactéries de type coque, bacille...), la capacité de sporuler, la température de croissance, le mode respiratoire (aérobie, anaérobie...), la capacité de photosynthèse. Ces critères de classification ont rapidement trouvé leurs limites du fait de la diversité phénotypique et physiologique des bactéries.

Une étape importante dans la classification des microorganismes a permis par la suite de prendre en compte les propriétés génomiques des bactéries qui sont principalement : le rapport entre les bases guanine, cytosine et adénine, thymine, dans la séquence d'ADN (exprimé par le pourcentage moléculaire en G+C) et la similarité de séquences d'ADN obtenue par la technique d'hybridation ADN-ADN (Oren, 2004).

Cependant, ces techniques sont plus ou moins précises, longues et laborieuses, basées sur des comparaisons deux à deux, ne pouvant donc concerner qu'un nombre restreint d'isolats. Elles imposent de plus de travailler sur d'importantes quantités d'ADN, compliquant l'étude des souches à croissance lente.

Le développement progressif des techniques de biologie moléculaire a permis ainsi le séquençage de l'ARNr 16S ou du génome (Janssen, 2006) des bactéries isolées. L'association de ces techniques au progrès de la bioinformatique a permis d'établir des arbres phylogénétiques à partir de gènes présents dans les espèces étudiées. En effet, Carl Woese a été le premier, en 1987 à proposer l'utilisation du gène de l'ARN ribosomique 16S comme marqueur de phylogénie. Ce gène de 1500 paires de bases répond à plusieurs critères essentiels pour la taxonomie (Wayne, 1987) : (i) il est ubiquiste c'est-à-dire présent chez tous les procaryotes, où il remplit la même fonction, (ii) il évolue lentement, (iii) il peut être facilement séquencé car il possède des domaines hautement conservés avec peu de mutations fixées au cours de l'évolution et (iv) il présente des régions de séquences plus variables qui sont d'autant plus différentes entre deux espèces que celles-ci sont phylogénétiquement éloignées.

Ainsi, pour positionner dans un groupe phylogénétique une nouvelle espèce, on procède à l'amplification et au séquençage de ce gène puis à sa comparaison avec les séquences déjà connues disponibles dans les banques de données.

Cependant, même si beaucoup de paramètres ont été utilisés pour identifier le plus de microorganismes, les approches dépendantes de la culture présentent un certain nombre de limitations, comme le fait de favoriser les microorganismes à croissance rapide (Sait *et al.*, 2002). Mais l'inconvénient le plus limitant est le nombre de bactéries isolées, en effet, les cultures de laboratoire reproduisent rarement les conditions qui existent dans l'environnement tel que le sol qui représente un environnement des plus complexes et des plus hétérogènes et la composition des milieux de culture permet difficilement de reproduire l'environnement originel des bactéries.

### **3.3.2. Les techniques moléculaires**

Aujourd'hui la majorité des études portant sur la diversité microbienne, fait appel à des techniques de biologie moléculaire puisqu'elles permettent l'identification d'organismes directement à partir d'échantillons environnementaux sans tenir compte de leur morphologie ou de leur stade de développement. La réalisation de ces techniques passe inévitablement par les étapes suivantes :

#### **3.3.2.1. Extraction d'acides nucléiques**

L'arrivée de la métagénomique dans les années 1990 a permis l'étude des bactéries à partir de leur ADN extrait directement de l'environnement (McHardy et Rigoutsos, 2007). L'ADN alors collecté à partir d'échantillons environnementaux (le métagénome) peut être analysé par des techniques permettant de caractériser la structure d'une communauté bactérienne complexe (Ramette, 2009). Ces méthodes nécessitent souvent une étape d'amplification (Faugier, 2010).

De nombreux efforts ont été consacrés pour optimiser une méthode d'extraction afin d'obtenir un extrait d'ADN représentatif et approprié pour des caractérisations quantitatives et qualitatives des communautés microbiennes (Zhou *et al.*, 1996 ; Kuske *et al.*, 1998 ; Delmont *et al.*, 2010 ; Terrat *et al.*, 2012). Ces efforts ont abouti à mettre au point différents protocoles d'extraction d'ADN élaborés au laboratoire ainsi que des kits commerciaux utilisés dans plus de 1000 articles publiés annuellement (Terrat *et al.*, 2012).

Les protocoles utilisés pour l'extraction de l'ADN directement à partir du sol englobent trois étapes essentielles : une lyse, une incubation avec une protéase et la précipitation des acides nucléiques (Meade *et al.*, 1982). Quelques techniques d'extraction nécessitent un traitement thermique en mettant l'échantillon dans un bain marie à 96 °C pendant 10 à 30 min.

En ce qui concerne les kits commercialisés, leurs principes consistent à lier l'ADN soit à une colonne de silice (membrane) (Boom *et al.*, 2000) soit aux billes magnétiques (Alderton *et al.*, 1992). De cette façon l'échantillon est débarrassé des contaminants, et l'ADN est séparé ensuite de son support (membrane / billes).

Différents kits et techniques sont décrits et comparés dans la littérature (Maarit Niemi *et al.*, 2001 ; Kirk *et al.*, 2004 ; Dong *et al.*, 2006 ; Rosa *et al.*, 2006 ; Whitehouse et Hottel, 2007) et des résultats très variables sont remarqués (Schuurman *et al.*, 2007 ; Duenngai *et al.*, 2008), de ce fait, le choix de la méthode d'extraction de l'ADN repose essentiellement sur le type d'échantillon à analyser. Par exemple, les matières fécales contiennent énormément d'inhibiteurs des réactions d'amplification (Duenngai *et al.*, 2008). Des résultats très variables sont remarqués lors de tests comparatifs entre les kits commerciaux et les techniques internes aux différents laboratoires (Schuurman *et al.*, 2007 ; Duenngai *et al.*, 2008). De même, les échantillons provenant de sols contiennent également des inhibiteurs de PCR (Kirk *et al.*, 2004), en particulier l'acide humique (Dong *et al.*, 2006) et les métaux lourds (Wilson, 1997).

D'autres éléments à prendre en compte lors du choix de la technique d'extraction est le temps nécessaire à la manipulation et le coût de revient de chaque extraction. Les techniques commerciales reviennent toujours plus chers (Zhang *et al.*, 2006) mais, à l'exception du traitement thermique, demandent moins de temps (Schuurman *et al.*, 2007).

Toutes ces différentes méthodes, ne permettent pas d'accéder à la totalité de l'information génétique microbienne du fait de l'existence de différents inhibiteurs dans l'échantillon d'extraction (Fortin *et al.*, 2004).

Souvent, une étape de purification de l'échantillon d'ADN, par des Kits commerciaux, est nécessaire afin de limiter toute inhibition à son amplification.

### 3.3.2.2. Amplification des gènes extraits

La quantité d'ADN récupéré lors de l'extraction est trop faible pour être considérée comme un échantillonnage représentatif. De ce fait, l'ADN extrait doit être amplifié par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), qui a été mise au point par Mullis *et al.* (1986), afin de comparer et d'étudier les microorganismes. Cette technique est largement utilisée depuis sa découverte (384 020 articles publiés (PubMed, Février 2016)). Elle a pour principe de multiplier le nombre de molécules d'ADN présente dans l'échantillon par un million après une vingtaine de cycles (Lalam, 2006). Il est également possible d'amplifier l'ADN ribosomal afin d'étudier la viabilité d'une population bactérienne (Van der Vliet *et al.*, 1994). Les ADNr sont fortement étudiés dans l'étude de populations en raison de la présence de zones très conservées et de zones variables.

Le ribosome bactérien est constitué de deux sous unités et 3 molécules d'ARNr: l'ARNr 16S, le 23S et le 5S codant pour les gènes ADNr 16S, 23S et 5S. Ces trois gènes sont très conservés et sont situés sur le même opéron au sein du génome bactérien. En fonction des espèces bactériennes, ils sont séparés par des zones plus ou moins longues, codantes ou non, que l'on appelle les InterGenicSpacer ou espaces intergéniques (IGS) (Jensen *et al.*, 1993).

L'ADNr 16S est constitué de régions conservées et de 9 zones hypervariables (Baker *et al.*, 2003) permettant la distinction de l'espèce (Van de Peer *et al.*, 1996). Cette séquence est utilisée pour clarifier la taxonomies de certains taxons (Mc Inerney *et al.*, 1995). Cependant, certaines espèces peuvent posséder entre 1 et 15 opérons ribosomiques dans leur génome (Forgel *et al.*, 1999), ce qui ne permet pas une étude quantitative des espèces présentes dans la flore.

L'ADNr 23S est l'homologue du 16S pour la grande sous unité du ribosome. La séquence contient également des zones conservées et d'autres variables (Van de Peer *et al.*, 1996). Les résultats obtenus avec le gène 23S sont similaires à ceux obtenus avec le 16S (Hopflet *et al.*, 1989).

Les IGS présentent une variabilité de taille et de séquences entre individus supérieure à celle des gènes, pouvant alors différencier des espèces très proches. Leur amplification est intéressante dans le but d'étudier la structure et la diversité des communautés microbiennes.



L'IGS situé entre les sous unités 16S et 23S (Gonzalez *et al.*, 2003) est le plus utilisé dans ce domaine, sa taille varie entre 400 et 1600 pb (Fisher et Triplett, 1999). Il peut contenir des séquences codantes pour des ARN de transfert ou aucune séquence codante (Boyer *et al.*, 2001).

D'autres gènes peuvent également être cible de PCR dans le cadre de l'étude de populations microbiennes, tel que, le gène **rpoC1** (RNA polymérase C1) qui existe en une seule copie dans le génome bactérien (Bergsland et Haselkorn, 1991), le gène **NifH** (nitrogénase réductase) très conservé chez beaucoup d'organismes mais pas présent chez toutes les espèces (Rösch *et al.*, 2006), ou encore le gène **gltA** (citrate synthetase) (Birtles et Raoult, 1996).

L'amplification par PCR est une technique très utilisée, cependant, elle est soumise à certains inconvénients. Les plus mineurs sont les erreurs de « recopiage » qui peuvent influencer les résultats (Qiu *et al.*, 2001). En effet, l'ADN polymérase ajoute une ou plusieurs bases d'adénine en fin de synthèse du brin d'ADN (Brownstein *et al.*, 1996). Ce phénomène modifie la taille initiale du fragment. Il est donc critique pour les analyses d'empreinte moléculaire.

### 3.3.2.3. Quantification par PCR en temps réel

La PCR quantitative en temps réel (qPCR) a pour principe de déterminer le nombre de copies d'un gène spécifique dans un échantillon d'ADN génomique. En connaissant le nombre de copies rencontrées dans le génome bactérien, le nombre de bactéries porteuses de ce gène présentes dans l'échantillon de départ peut alors être estimé. Cette technique permet de quantifier des groupes taxonomiques *via* les abondances de leur gène d'ARNr 16S spécifique (Fierer *et al.*, 2005). Le choix du gène permet de quantifier l'ensemble de la population, une famille ou une espèce bactérienne présente dans l'échantillon (Sharma *et al.*, 2007).

Dans le sol, l'utilisation de la qPCR permet de quantifier le potentiel fonctionnel des microorganismes du sol ou de suivre l'évolution de ce potentiel métabolique en fonction du temps ou des conditions environnementales (El Azhari *et al.*, 2008 ; Ding *et al.*, 2010 ; Peng *et al.*, 2010).



### 3.3.3. Méthodes d'empreinte moléculaire (Fingerprinting)

Une fois l'ADN amplifié, les amplicons peuvent soit être visualisés directement soit après traitement afin d'afficher les différences au sein de la population étudiée.

Ces techniques permettent la caractérisation de communautés microbiennes plus ou moins complexes, en séparant des fragments d'ADN selon leur composition en bases (DGGE, TGGE, SSCP) et leur taille (ARISA, ARDRA, T-RFLP).

#### 3.3.3.1. DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) / TGGE (Temperature Gradient Gel Electrophoresis)

La DGGE et la TGGE sont des techniques d'électrophorèse en conditions dénaturantes. La DGGE a été mise au point par Fischer et Lerman (1983) et la TGGE a été mise au point par Rosenbaum et Riesner (1987) et ont pour principe de séparer l'ADN double brin selon leurs propriétés de fusion ( $T_m$ ) (meltingtemperature) sur gel polyacrylamide sous l'action d'un dénaturant (DGGE) ou de la chaleur (TGGE) (Fischer et Lerman, 1979). La  $T_m$  varie en fonction de la séquence nucléique de l'ADN.

En 1993, Muyzer *et al.*, appliquent pour la première fois la DGGE à l'écologie microbienne dans la caractérisation des communautés microbiennes de biofilms en amplifiant l'ADNr 16S.

Ces deux techniques permettent de détecter la présence de populations bactériennes impliquées dans une fonction métabolique donnée (Pumphrey *et al.*, 2011), de suivre des taxons spécifiques lors de la contamination d'environnements naturels (Leys *et al.*, 2004), l'impact de pesticides (Cycoń *et al.*, 2013), de métaux (Li *et al.*, 2006) ou d'hydrocarbures (Viggor *et al.*, 2013). Elles permettent également d'estimer la diversité des populations bactériennes présentes sur un site pollué de longue date (Cebren *et al.*, 2009).

L'un des inconvénients majeur relié à cette approche, est que, les fragments d'ADN de différentes séquences peuvent avoir les mêmes caractéristiques de mobilité dans le gel polyacrylamide, donc une bande bien différenciée sur le gel ne représente pas forcément la présence dans la communauté d'une seule espèce bactérienne (Gelsomino *et al.*, 1999).

### **3.3.3.2. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) / CE-SSCP (Capillarity Electrophoresis Single Strand Conformation Polymorphism)**

Le polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP) est une technique mise au point par Orita *et al.* (1989) dans le cadre de l'analyse du génome humain. Elle a été utilisée pour la première fois dans l'étude des populations microbiennes par Lee *et al.* (1996). Cette technique a pour principe de séparer l'ADN double brin en utilisant une substance dénaturante (formamide, hydroxyde de sodium, urée et l'hydroxyde de méthyl mercurique) (Nataraj *et al.*, 1999). Par la suite, les simples brins d'ADN adoptent des conformations différentes en fonction de leurs séquences, ils sont séparés par la suite sur gel de polyacrylamide (Hayashi, 1991). Ils peuvent également être séparés par électrophorèse capillaire (Baba *et al.*, 2003), dans ce cas, la méthode sera appelé CE-SSCP. Une sonde fluorescente ajoutée à une amorce permet de détecter les brins marqués en sortie de capillaire (Zinger *et al.*, 2007).

Cette méthode permet de suivre la répartition spatiale de communautés bactériennes (Rodriguez-Blanco *et al.*, 2009) et de comprendre leur structuration en réponse à des conditions environnementales particulières (Zinger *et al.*, 2007).

Des inconvénients peuvent survenir liés au fait qu'un ADN simple brin peut avoir plus d'une conformation stable, de ce fait une même séquence d'ADN peut être représentée sur le gel d'agarose par plus d'une bande (Tiedje et Stain, 1999).

### **3.3.3.3. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) / ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) / T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism).**

La RFLP, connu aussi sous le nom d'ARDRA, est une technique qui se base sur le polymorphisme des fragments d'ADN (Liu *et al.*, 1997). Les amplicons obtenus après PCR, sont digérés par une enzyme de restriction approprié pour obtenir à la fin des fragments d'ADN de différentes tailles. Cette différence de taille est due à une différence du nombre de sites de restriction qui varie selon les individus. Les fragments peuvent alors être visualisés sur gel d'agarose (Toth *et al.*, 2001), de polyacrylamide (Prieto *et al.*, 2007) ou par électrophorèse en champs pulsé (Satokari *et al.*, 2003 ; Soutos et Madden, 2007). Les fragments sont ensuite séquencés après extraction du gel et clonage (Nocker *et al.*, 2007) ce qui permet l'identification des clones (Smit *et al.*, 1997).

Malgré que cette méthode ne donne pas d'information sur la biodiversité globale de l'échantillon étudié, elle est particulièrement intéressante pour détecter les changements au sein de populations connues (Kirk *et al.*, 2004) ou pour caractériser et comparer des populations bactériennes (Toth *et al.*, 2001 ; Medina *et al.*, 2005 ; Sette *et al.*, 2007 ; Zeng *et al.*, 2007 ; Jameson *et al.*, 2008 ; Gandolfi *et al.*, 2010).

La T-RFLP (Avanis-Aghajani *et al.*, 1994) est une RFLP automatisé grâce à des produits PCR marqués par des amorces fluorescentes et à la migration des fragments sur capillaires. Les tailles des fragments sont enregistrées par des pics de fluorescence à différents moments.

Cette méthode permet l'analyse de communautés complexes en fournissant des informations sur la diversité (Tiedje, 1999 ; Jensen *et al.*, 2007 ; Singh *et al.*, 2007).

#### **3.3.3.4. RISA (Ribosomal IntergenicSpacerAnalysis) / ARISA (Automated Ribosomal IntergenicSpacerAnalysis)**

Cette technique est basée sur l'amplification par PCR de la région IGS (intergenicspacer) située entre les sous unités ribosomales 16S et 23S. Cette région d'ADN présentant une variabilité de taille et de séquences entre individus pouvant alors différencier des espèces très proches. Les amplicons de différentes tailles sont séparés sur gel de polyacrylamide sous conditions dénaturantes (Fisher et Triplett, 1999).

L'ARISA est un profil automatisé de la RISA grâce à l'ajout de marqueurs fluorescents aux amorces. Les amplicons sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire et les pics de fluorescence sont enregistrés (Nocker *et al.*, 2007).

Cette méthode fournit rapidement des profils contenant peu d'informations sur la diversité microbienne mais permet des comparaisons entre populations.

La structure, la comparaison et la dynamique des populations bactériennes sont souvent étudiées en utilisant la RISA (Ranjard *et al.*, 2001 ; Carson *et al.*, 2007 ; Scupham, 2007 ; Ramette, 2009).

Pour conclure, l'utilisation de ces méthodes permet d'estimer la diversité, de comparer des communautés microbiennes et de suivre des changements spatio-temporelles des populations microbiennes des sols (Prosser *et al.*, 2010).

Certaines techniques telles que la DGGE, TGGE et la T-RFLP, peuvent en plus fournir des éléments de séquence utilisable pour identifier les taxons majoritaires.

L'automatisation des techniques RFLP, RISA, SSCP augmente les capacités d'analyse, permettant ainsi la comparaison de plusieurs populations et surtout le traitement de plusieurs répliques, ce qui rend possible une analyse statistique des données (Ramette, 2007).

### **3.3.4. Autres méthodes pour étudier les communautés microbiennes**

Les méthodes décrites précédemment font intervenir, préalablement aux analyses, une étape d'extraction d'ADN génomique, suivie d'une amplification par PCR du gène cible. Afin de s'affranchir de certains inconvénients qui leur sont associés, des méthodes de surveillance des populations bactériennes par hybridation ont été développées (Amann *et al.*, 1995).

#### **3.3.4.1. FISH (Fluorescence *in situ* Hybridization)**

Cette méthode consiste à marquer, à l'aide de sondes fluorescentes, des cellules entières afin de les observer dans leur habitat naturel. Les sondes nucléotidiques fluorescentes ciblant des régions variables du gène d'ARN 16S sont introduites dans les bactéries rendues poreuses par certains traitements. Combinée à la microscopie d'épifluorescence, la méthode FISH permet d'étudier les caractères morphologiques des microorganismes et d'analyser leur distribution spatiale. Couplée à la cytométrie de flux, les bactéries appartenant à un taxon peuvent être enrichies par tri sélectif voire même individualisées (Gall et Pardue, 1969).

#### **3.3.4.2. SIP (Stable Isotope Probing)**

Cette méthode consiste à marquer la biomasse microbienne par un isotope stable (Boschker *et al.*, 1998) en introduisant, dans un écosystème microbien, un substrat uniformément marqué contenant le plus souvent l'isotope  $^{13}\text{C}$  du carbone ou l'isotope  $^{15}\text{N}$  de l'azote. Les bactéries capables d'assimiler ce substrat vont incorporer l'isotope dans leurs acides nucléiques, acides gras et protéines. L'analyse de marqueurs biologiques enrichis en isotope conduit ensuite à l'identification des bactéries qui ont assimilé le substrat *in situ*.

Cette technique a permis d'identifier une population bactérienne impliquée dans la réduction du sulfate *via* l'oxydation de l'acétate (ajouté sous forme  $^{13}\text{C}$ ) en analysant les

profils et la variation des ratios isotopiques des acides gras dérivés des phospholipides (PLFA) (Boschker *et al.*, 1998). Par la suite, beaucoup d'études ont utilisé la SIP afin d'identifier des populations microbiennes impliquées dans différents mécanismes, tel que, la dégradation du méthanol (Radajewski *et al.*, 2000), implication dans le métabolisme du phénol (Manefield *et al.*, 2002).

### **3.3.4.3. Les micropuces à ADN**

Les micropuces à ADN ont été développées pour étudier de manière plus commode et plus rapide la diversité microbienne des environnements naturels. Ces micropuces sont composées d'un ensemble de sondes nucléotidiques ciblant des gènes d'intérêt, immobilisées sur des micro-suppports. L'ADN génomique est marqué par des sondes fluorescentes, soit directement soit après amplification (Wang *et al.*, 2011). L'hybridation de fragments d'ADN génomique marqué sur les sondes nucléotidiques immobilisées crée des signaux fluorescents révélateurs de la présence de gènes particuliers dans l'échantillon environnemental (Martin, 2011). Le signal de chaque hybridation est quantifié pour être analysé et sa valeur dépendra de la concentration en molécules marquées de l'échantillon complémentaire de la sonde et du degré de complémentarité (% d'identité) avec la sonde (Glaser, 2005).

Plusieurs puces à ADN ont été développées soit pour des analyses phylogénétiques soit pour des analyses fonctionnelles.

Les puces phylogénétiques utilisent des sondes ciblant les gènes d'ARNr 16S. Elles ont été employées pour estimer la diversité bactérienne de sols contaminés (Nemir *et al.*, 2010; Neufeld *et al.*, 2006), et pour caractériser les effets de la pollution du Golfe du Mexique sur la structure des populations bactériennes marines (Hazen *et al.*, 2010).

Les sondes dédiées à l'analyse fonctionnelle sont conçues à partir de gènes spécifiques de processus métaboliques propres à certaines espèces bactériennes. He *et al.* (2010) ont développé une micropuce ciblant 150 fonctions métaboliques relatives aux cycles de l'azote, du carbone, du soufre et du phosphore, ainsi que celles associées à la biodégradation de polluants organiques ou à la résistance aux métaux lourds (Wang *et al.*, 2011).

Les micropuces à ADN apparaissent comme des outils performants d'analyse phylogénétique et fonctionnelle de populations bactériennes utilisables pour la surveillance d'écosystèmes, par exemple des sites contaminés.

#### **3.3.4.4. Le séquençage**

Le séquençage est une technique qui permet une analyse plus fine des communautés microbiennes (Zinger, 2009) en apportant le plus d'informations phylogénétiques (Nocker *et al.*, 2007). Cette technique est utilisée pour l'identification taxonomique des souches et principalement pour l'étude de communautés microbiennes complexes en donnant accès à la composition, la richesse et la diversité des communautés microbiennes.

#### **3.3.4.5. Le séquençage haut débit**

Le séquençage à haut débit est une nouvelle technique de séquençage qui permet d'éviter la pré-amplification et le clonage des échantillons qui sont des activités chronophages (prennent beaucoup de temps) (Cardenas et Tiedje, 2008). Cette technique permet de séquencer des milliers de simples brins d'ADN en même temps (Huybens *et al.*, 2009).

#### **3.3.5. Les principaux inconvénients des techniques moléculaires**

Les inconvénients des différentes techniques sont présentés dans le tableau I.

**Tableau 1 :** Principaux inconvénients des techniques citées dans ce chapitre. D’après Amann *et al.* (1995) ;Torsvik *et al.* (1998) ; Cho et Tiedje (2001); Ranjard *et al.* (2001) ; Kirk *et al.* (2004) ; Nocker *et al.* (2007); Huybens *et al.*, (2009) ; Monier et Cécillon (2015).

Méthodes		Inconvénients	
Amplification par PCR	PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erreurs de « recopiage » avec l’ADN polymérase.</li> <li>- Ne permet pas de quantifier le nombre et l’activité des séquences ciblées.</li> <li>- Nécessite de connaître au moins partiellement la séquence de la cible.</li> </ul>	
	qPCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ne permet pas de mettre en évidence l’activité des microorganismes ou fonctions ciblée.</li> <li>- Nécessite de connaître au moins partiellement la séquence de la cible.</li> </ul>	
Empreinte génétique	DGGE/TGGE	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensibilité et résolution limitées.</li> <li>- Longue et laborieuse à mettre en œuvre.</li> <li>- Comparaison inter-gels difficile.</li> <li>- La pince GC diminue la rentabilité de la PCR et favorise la formation de dimère.</li> </ul>	<p>Toutes ces méthodes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthodes fournissant une information relative, non quantitative.</li> <li>- Microorganismes abondants peuvent dominer les profils et masquer la diversité apparente.</li> <li>- Ne permettent pas de mettre en évidence les activités de biodégradation.</li> </ul>
	RFLP/ARDRA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plusieurs restrictions nécessaires pour trouver une résolution adéquate.</li> <li>- Perte d’information si le profil génétique est complexe.</li> </ul>	
	T-RFLP	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Restriction incomplète entraîne une surestimation d’une espèce.</li> <li>- Plusieurs restrictions sont nécessaires pour une analyse complète.</li> <li>- Les profils complexes sont difficiles à interpréter phylogénétiquement.</li> </ul>	
	SSCP/CE-SSCP	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Taux élevé de réassociation des simples brins d’ADN.</li> <li>- Une espèce peut présenter plusieurs bandes.</li> </ul>	
	RISA/ARISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Une seule espèce peut avoir plusieurs signaux.</li> <li>- Amplification préférentielle des séquences les plus courtes.</li> </ul>	
Micropuces		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disponibilité commerciale limitée.</li> <li>- Nécessite une haute technicité pour la mise en œuvre et l’interprétation.</li> <li>- Détection non exhaustive, limitée à la spécificité des sondes présentes sur la puce.</li> </ul>	
Séquençage		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prend du temps</li> </ul>	
Séquençage à haut débit		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Couteuse</li> </ul>	
Analyse cellulaire	FISH	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nombre et diversités des sondes nécessaires à la visualisation des cellules encore limités ou nécessitant un développement en interne.</li> </ul>	
Analyse isotopique	SIP	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthode peu disponible commercialement.</li> <li>- Coût de synthèse de certains composés.</li> <li>- Durée d’incubation de la molécule marquée dans l’échantillon parfois empirique et difficile à évaluer.</li> </ul>	

Malgré les inconvénients et les limitations des techniques d'empreintes moléculaires, elles restent toujours des outils à forts potentiels pour l'étude de la diversité microbienne (Yannarell et Triplett, 2005). La richesse d'informations générée par ces techniques permet de corrélérer la structure d'une communauté à différents facteurs abiotiques et biotiques (Dorigo *et al.*, 2005; Loisel *et al.*, 2006).

Ainsi, afin de réduire ces limitations, il est nécessaire d'optimiser les étapes qui précèdent l'électrophorèse (extraction et amplification de l'ADN) et de choisir la technique la plus adéquate avec les projets d'études.



## **MATERIEL ET METHODES**

Rapport-Gratuit.com

## 1. Présentation du site

L'impact de l'anthropisation et de la revégétalisation sur la diversité des communautés microbiennes du sol a été étudié dans la sablière de Terga. C'est une dune bordière sur la partie centrale du littoral Témouchentois dans l'ouest algérien à environ 90 km d'Oran et s'étend sur une superficie d'environ 120 ha dont une partie (45%) est exploitée pour la production de sable ( $35^{\circ} 26'24.35'' \text{N}$ ,  $1^{\circ} 13'35.20'' \text{O}$ ) (Fig. 2) qui alimente presque tous les chantiers de la région Ouest (Ghodbani, 2009). Cette sablière est limitée au nord par l'Oued El Malah, à l'ouest par la Nationale 96A la séparant de la plage de Terga et au sud-est par un plateau.



**Figure 2 :** Localisation de la sablière de Terga. a : les différents sites de la sablière de Terga; b : site de revégétalisation. Image par satellite (Google Maps) : <https://www.google.fr/maps/@35.4264506,-1.2167242,5161m/data=!3m1!1e3>.

Cette région est caractérisée par un couvert végétal important dont une partie (51%) fut supprimée par l'homme pour l'extraction de sable (Ghodbani, 2008). La forêt native et le site recolonisé sont caractérisés par différentes espèces végétales, de type psammophile (plante habitant les régions sableuses) et tolérantes à la salinité (Ghodbani, 2008) telles que *Acacia saligna*, *Retama monosperma*, *Lotus creticus*, *Juniperus phoenicea*...

La structure des communautés bactériennes et leur évolution spatio-temporelle a été étudiée sur trois sites : un site revégétalisé de 120 m<sup>2</sup> mis en place en Avril 2012 par la plantation de deux espèces végétales, *Tetraclinis articulata* et *Schinus terebinthifolius* âgées de 2 ans provenant d'une pépinière, associées ou non à deux légumineuses, *Lotus creticus* et/ou *Retama monosperma* (Annexe 1). Le dispositif expérimental est totalement randomisé avec 10 répétitions pour chaque traitement et 40 plants pour chaque espèce végétale. Un deuxième site revégétalisé par les services forestiers en 1998 (site recolonisé) par l'introduction de quelques espèces végétales telles que *Acacia saligna* et *Retama monosperma* et un troisième site qui correspond à la forêt native du même site (Fig. 2).

### 2. Echantillonnage

Afin de suivre l'effet des plantes sur les communautés bactériennes, un échantillonnage temporel des sols rhizosphériques et des sols nus, dans les trois sites a été effectué au début de l'essai de revégétalisation (15 jours après l'introduction des plantes (T0)), à 6, 12 et à 18 mois. Dans le site nouvellement revégétalisé, les échantillons de sols correspondent à des sols rhizosphériques de *Tetraclinis articulata* et de *Schinus terebinthifolius* associés ou non aux deux légumineuses *Lotus creticus* et/ou *Retama monosperma*. Le sol de ces échantillons a été prélevé autour des racines afin de préserver la survie de la plante. Le dispositif d'échantillonnage est présenté dans la figure 3.

SM	S	T	TM	SL	TL	S	TM	SL	TM	
TR	TL	S	TL	T	T	TM	SL	S	SL	
T	SL	TM	SN	SR	TR	TM	SM	SL	TM	SR
SR	SM	TL	S	TR	SR	SR	TL	T	SM	
SM	S	TR	SL	T	TL	SR	SR	TL	T	
TR	SM	TM	TM	TR	SL	TR	TR	S	SL	
SM	S	TL	SR	TM	TR	S	SM	T	SM	
SR	TL	SM	S	S	T	SR	TL	T	TR	

**Figure 3 :** Dispositif du site revégétalisé. T, TR, TL, TM marqués en rouge : différents essais de *Tetraclinis articulata*. S, SR, SL, SM marqué en bleu : différents essais de *Schinus terebinthifolius*. SN : sol nu. (Voir abréviation Tab. 2).

Les prélèvements de sol dans le site recolonisé et la forêt native sont effectués dans la rhizosphère de *L. creticus* et *R. monosperma* en déterrants les racines. Ces deux légumineuses ont été choisies pour leur présence dans les trois sites. Tous les échantillons de sol sont prélevés en triplicata.

Le prélèvement se fait dans les 10 premiers centimètres de profondeur à l'aide d'une pelle nettoyée avant chaque prélèvement avec de l'éthanol 70° et essuyée avec du papier. Dans le site revégétalisé, les sols de la rhizosphère sont prélevés autour des racines sans détruire les plantes alors que dans les deux autres sites le sol rhizosphérique correspond au sol adhérent aux racines. Après le prélèvement, les échantillons de sols au nombre de 144 sont

séchés pendant 24 heures à température ambiante, puis tamisé à l'aide d'un tamis d'une porosité de 2 mm de diamètre préalablement désinfecté à l'éthanol 70°.

Les échantillons sont décrits dans le tableau 2.

Tableau 2: description et nom des échantillons de sol dans les trois sites

Nom	Site	Type de sol	Plante
SN	Site revégétalisé	Sol nu	-
T	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Tetraclinis articulata</i>
TR	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Retama monosperma</i>
TL	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Lotus creticus</i>
TM	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Tetraclinis articulata</i> , <i>Lotus creticus</i> et <i>Retama monosperma</i>
S	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Schinus terebinthifolius</i>
SR	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Schinus terebinthifolius</i> et <i>Retama monosperma</i>
SL	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Schinus terebinthifolius</i> et <i>Lotus creticus</i>
SM	Site revégétalisé	Sol rhizosphérique	<i>Schinus terebinthifolius</i> , <i>Lotus creticus</i> et <i>Retama monosperma</i>
FNN	Forêt native	Sol nu	-
FNR	Forêt native	Sol rhizosphérique	<i>Retama monosperma</i>
FNL	Forêt native	Sol rhizosphérique	<i>Lotus creticus</i>
SRN	Site recolonisé	Sol nu	-
SRR	Site recolonisé	Sol rhizosphérique	<i>Retama monosperma</i>
SRL	Site recolonisé	Sol rhizosphérique	<i>Lotus creticus</i>

NB : Les noms des échantillons sont suivis par 0, 6, 12 ou 18 qui correspondent au temps de prélèvement en mois.

### 3. Dénombrement des microorganismes du sol

Le dénombrement a été effectué sur les sols des trois sites prélevés au début de la plantation et les colonies de chaque échantillon sont dénombrées avec trois répétitions.

Le milieu de culture GN (gélose nutritive) a été utilisé pour le dénombrement des microorganismes (Annexe 2).

La solution mère est préparée en diluant 5 g de sol dans 45 ml de sérum physiologique (9 g de NaCl / 1000 ml d'eau distillée stérile) puis agitée en utilisant un Blender pendant 10 à 15 min afin de bien séparer les agrégats du sol. Nous procédons par la suite à une dilution décimale allant jusqu'à  $10^{-10}$ .

Pour chaque dilution, 100µl sont prélevés et étalés dans une boîte de Pétri contenant le milieu de culture. Les boîtes sont incubées à 28 °C pendant 8 jours. Une lecture des résultats est faite chaque 24 h.

Les bactéries sont dénombrées par comptage de colonies qui se sont formées à la surface de chaque boîte puis exprimées en UFC (Unité Formant Colonies) par gramme de sol, qui reflète leur abondance.

#### **4. Analyses physicochimiques du sol**

Les caractéristiques physicochimiques ont été analysées sur des sols provenant du site de revégétalisation prélevés au début de la plantation (sol nu) et après 18 mois, sur des sols provenant de la forêt native et le site recolonisé prélevés à T = 0 et T = 12 mois. Les échantillons ont été prélevés en triplicata puis séchés et par la suite regroupés pour créer un seul échantillon composite pour chaque essai. La texture, le pH, la conductivité électrique, l'azote total, la matière organique et le phosphore assimilable, ont été analysés par le laboratoire agronomique de la société FERTIAL d'Arzew (Annexe 3) et l'Institut National de Recherche Agronomique d'Alger (INRAA) :

##### **4.1. Analyse granulométrique**

Le sol est tamisé au tamis à mailles de 2 mm. Les particules grossières (>50 µm) sont séparées. Les particules moyennes et fines sont obtenues par la mesure de la sédimentation après avoir éliminé la matière organique par un oxydant ( $H_2O_2$ ). Les particules minérales sont ensuite dispersées à l'aide d'un dispersant alcalin (Hexamétaphosphate de sodium).

##### **4.2. Mesure de la conductivité électrique**

L'analyse de la conductivité électrique est faite selon la méthode décrite par Aubert (1978). Un mélange de sol et d'eau distillée (1V : 4V) est agité pendant quelques minutes puis chauffé à une température de 25 °C (T) pour une première lecture de la conductivité (CT),



puis chauffé à une température de 35 °C (T') pour une deuxième lecture (CT') (Aubert, 1978).

Le coefficient de température  $\beta$  est calculé comme suit :

$$\beta = (CT' - CT) \times 100 / (T' - T) \times CT.$$

### 4.3. Mesure du pH

Après avoir séché le sol, 20 g sont ajoutés à 50 ml d'eau distillée afin de mesurer le pH. La solution est agitée pendant quelques minutes, puis laissée à reposer 2 h. le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre après une brève agitation (Callot et Dupuis, 1980).

### 4.4. Matière organique

La teneur en matière organique totale du sol est obtenue généralement en dosant la teneur en carbone. On estime que le rapport matière organique / carbone est à peu près constant et égal à :

$$MO/C=1.72$$

Le carbone de la matière organique est oxydé par un mélange de bichromate de potassium et d'acide sulfurique. On admet que l'oxygène consommé est proportionnel au carbone que l'on veut doser (Anne, 1945).

### 4.5. Phosphore assimilable

L'extraction et le dosage du phosphore sont réalisés par la méthode de Joret - Hebert (1955) qui utilise une solution d'oxalate d'ammonium avec une agitation pendant 2 h. Le phosphore assimilable P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (ppm) est déterminé par colorimétrie basée sur la formation et la réduction d'un complexe de l'acide phosphorique et de l'acide molybdique par l'acide ascorbique. Les lectures à l'aide du colorimètre sont faites à 650 nm (Joret et Hebert, 1955).

### 4.6. Azote total

L'azote est déterminé par la méthode Kjeldahl (1883), en attaquant à chaud la matière vivante par l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré et en présence d'un catalyseur. La solution

d'extraction est distillée avec un excès de soude et titrée par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,05 N) Kjeldahl, 1883).

#### **4.7. Analyses statistiques des paramètres physicochimiques du sol**

Afin d'évaluer les changements physicochimiques, des analyses statistiques en utilisant le logiciel Statistica (StatSoft, 2003) ainsi que des analyses en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel R (R DevelopmentCore Team, 2011) avec le package ADE4TkGUI (Thioulouse et Dray, 2007) ont été réalisées.

### **5. Extraction de l'ADN**

L'extraction de l'ADN a été faite à partir de 1 g de sol des échantillons prélevés dans la forêt native et le site recolonisé et de 10 g de sol des échantillons prélevés dans le site de revégétalisation en utilisant les kits Ultra Clean Soil DNA (1g) et Ultra Clean MegaSoil DNA (10g) suivant les recommandations du fournisseur (Mobio, CA) (Annexe 4). Ce kit commercial est basée sur une lyse cellulaire mécanique et chimique (et thermique pour le Ultra Clean Megasoil DNA) et est fréquemment utilisée dans la littérature (Terrat *et al.*, 2012).

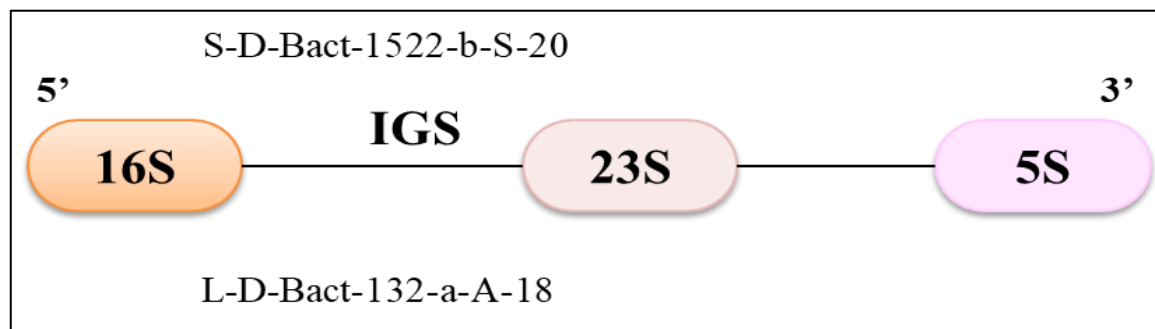
Une électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % (Annexe 5) a été faite après extraction afin de visualiser l'ADN extrait. L'ADN extrait a été ensuite purifié avec le kit NucleoTrap® Nucleicacid et Protein purification (Macherey-Nagel), le kit PowerClean® DNA Clean-Up (Mobio) ou le kit illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare Life Sciences) en fonction de la pureté de la solution d'ADN extraite (Annexe 6). La concentration d'ADN a été déterminée sur 1 µl d'ADN extrait avec le kit Qubit BR ou le kit Qubit High Sensitivity (Invitrogen, Fisher Scientific, Illkirch, France) en utilisant le Qubit Fluorometer 2.0 (Invitrogen).

### **6. Amplification de l'espace intergénique (IGS)**

Les régions de l'espace intergénique (IGS) sont des séquences très variables en taille et en composition selon l'espèce auxquels appartient la bactérie situées dans l'opéron ribosomique (16S, 23S, 5S) (Olsen *et al.*, 1986) (Fig. 4). l'IGS le plus utilisé est localisé entre l'extrémité 3' du 16S rDNA et l'extrémité 5' du 23S rDNA (Gonzalez *et al.*, 2003) (Fig. 4) et sa taille varie de 400 à 1600 pb (Fisher et Triplett, 1999). Cette région peut se trouver en plusieurs copies dans le génome (Sadeghifard *et al.*, 2006), mais également



variable d'une copie à l'autre sur le chromosome (Nagpal *et al.*, 1998). Les régions conservées du gène 16S et 23S l'entourant permettent l'appariement des amorces universelles ou plus spécifiques et donc l'amplification de l'IGS afin d'étudier la structure des communautés bactériennes.



**Figure 4** : Localisation de la région de l'espace Intergénique

La réaction d'amplification de l'IGS des échantillons d'ADN a été réalisée dans un volume final de 25  $\mu$ l contenant : 0.5  $\mu$ l de chacune des amorces universelles : S-D-Bact-1522-b-S-20 et L-D-Bact-132-a-A-18 (Ranjard *et al.*, 2000a) à une concentration de 0,2  $\mu$ M, 6.5  $\mu$ l de bétaïne [1,3 M], 5 $\mu$ l du réactif ADN polymérase Cesium KlenTaq polymerase AC LA PCR Kit (DNA Polymerase Technology, St. Louis, Missouri) [1X], 10  $\mu$ l de la solution d'ADN à une concentration de 1 ng et 2.5  $\mu$ l d'eau distillée ultra pure. Les conditions PCR utilisées pour l'amplification sont les suivantes : un préchauffage jusqu'à 95 °C, suivi de 30 cycles : dénaturation à 94 °C pendant 50 s, hybridation à 55 °C pendant 50 s puis une extension à 68 °C pendant 2 min, une extension finale de 5 min à 68 °C et enfin une étape de refroidissement à 10 °C. Afin d'éliminer les inhibiteurs, les produits PCR ont été purifiés avec le Gel NucleoSpin et PCR Clean-Up Kit (Macherey-Nagel). Les profils d'amplification ont été vérifiés sur un gel d'agarose à 1,2 % (Annexe 5) en déposant 5  $\mu$ l de l'échantillon final avec 1  $\mu$ l de bleu de charge. La migration se fait à 100 V pendant 30 min.

## **7. L'analyse de l'espace Intergénique ribosomal (RISA) des communautés bactériennes extraites des échantillons et l'analyse statistique**

Les profils RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) ont été réalisés à l'aide du Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies, USA) en utilisant les puces ADN High Sensitivity et à l'aide du kit Agilent DNA High Sensitivity selon les recommandations du fournisseur. Le Bioanalyser détecte à l'aide de micro-capillaires la fluorescence de différentes bandes au cours du temps, basé sur des micro-flux. Le logiciel 2100 expert convertit la fluorescence détectée en électrophérogramme, les pics représentant les différentes tailles de fragment et leur hauteur représente la proportion relative des fragments dans le produit total. Les données sont exportées dans un format CSV en tableau constitué de 1481 lignes représentant les temps (en seconde) et les valeurs de fluorescence enregistrées à ces différents temps (Faugier, 2010). Les données RISA obtenues à l'aide du Bioanalyser sont importées dans le programme RISA Aligner (Navarro *et al.*, 2015), alignées et normalisées.

Afin de comparer les profils RISA pour évaluer l'évolution des communautés microbiennes, l'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée en utilisant le logiciel R (R Development Core Team, 2011) avec le package ADE4TkGUI (Thioulouse et Dray, 2007).

## **8. Comparaison entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques des sols**

Afin d'analyser les relations potentielles qui peuvent exister entre les caractéristiques physicochimiques et la structure des communautés bactériennes, nous avons effectué une analyse de Co-Inertie. Cette technique est une analyse multivariée standard qui décrit la relation entre les données de deux tableaux (Doledec et Chessel, 1994; Dray *et al.*, 2003). Afin de réaliser l'analyse de Co-Inertie, deux analyses en composantes principales (ACP) ont été effectuées. Le premier décrit la structure génétique des communautés bactériennes. Le second décrit les caractéristiques physicochimiques. Les ACP, Co-Inertie et le test de Monte Carlo, utilisé pour vérifier l'importance de l'analyse, ont été effectuées en utilisant le logiciel R (R Development Core Team, 2011) avec le package Ade4TkGUI (Thioulouse et Dray, 2007).

Rapport-Gratuit.com

## **RESULTATS**

## 1. Analyses physicochimique du sol

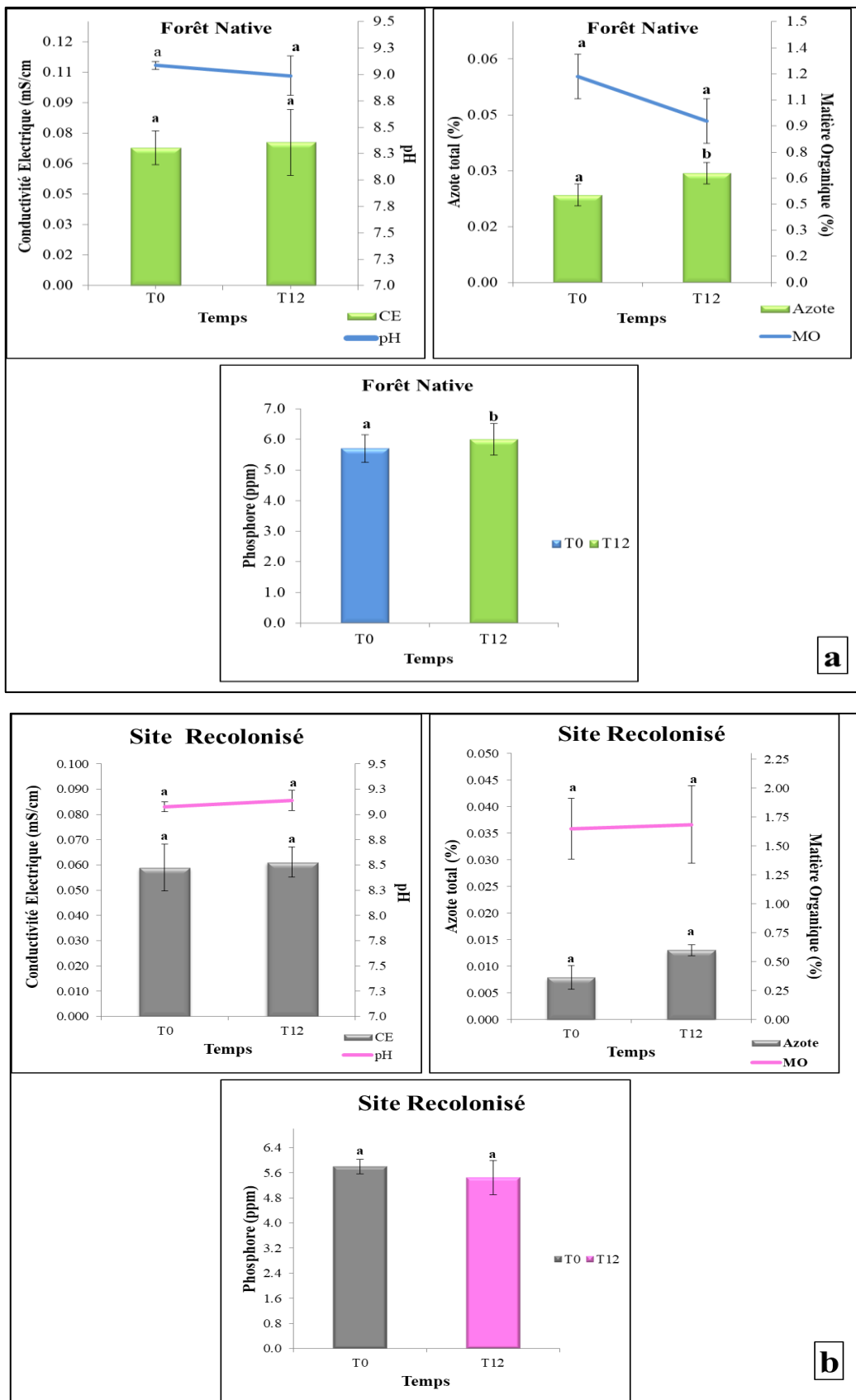
Les résultats des paramètres physicochimiques des différents sols analysés sont représentés dans le tableau 3.

L'analyse granulométrique (Tab.3) montre que les sols des trois sites contiennent un pourcentage élevé de sable ( $\approx 95\%$ ) avec un faible pourcentage de limon ( $\approx 3\%$ ) et d'argile ( $\approx 3\%$ ). Selon le diagramme de Jamagne (1976) (Annexe 7), la texture du sol est sableuse. Il s'agit d'un sol bien aéré avec une faible capacité de rétention d'eau, pauvre en éléments nutritifs et une faible capacité d'échange anionique et cationique.

**Tableau 3 :** Caractéristiques physicochimiques du sol de la forêt native, du site recolonisé et du site revégétalisé à différentes périodes de prélèvement.

Sols	Texture (%)			Conductivité (1/5 mS.cm <sup>-1</sup> )	pH	Azote total (%)	Phosphore assimilable (ppm)	Matière organique (%)
	sable	limon	argile					
<b>FNN0</b>	94	4	2	0.07±0.006	9.1±0.010	0.015±0.013	6.1±0.02	0.300±0.31
<b>FNR0</b>	94	4	2	0.06±0.000	9.1±0.021	0.028±0.002	5.1±0.03	0.873±0.29
<b>FNL0</b>	92	4	4	0.08±0.006	9.0±0.010	0.028±0.002	5.9±0.03	2.383±0.38
<b>SRN0</b>	94	4	2	0.07±0.00	9.0±0.01	0.005±0.001	5.8±0.04	1.540±0.51
<b>SRR0</b>	94	4	2	0.05±0.01	9.1±0.01	0.009±0.0000	6.1±0.07	2.400±0.37
<b>SRL0</b>	95	4	2	0.06±0.01	9.1±0.02	0.009±0.0015	5.6±0.04	1.003±0.31
<b>FNN12</b>	96	0	4	0.05±0.000	9.2±0.012	0.019±0.004	6.6±0.07	0.897±0.26
<b>FNR12</b>	94	2	4	0.09±0.005	8.8±0.012	0.042±0.002	6.1±0.08	1.860±0.55
<b>FNL12</b>	94	2	4	0.08±0.006	9.0±0.032	0.027±0.001	5.4±0.04	0.027±0.05
<b>SRN12</b>	94	2	4	0.06±0.00	9.2±0.01	0.003±0.0015	5.10±0.05	1.217±0.25
<b>SRR12</b>	96	2	2	0.07±0.00	9.2±0.01	0.009±0.0000	5.08±0.07	3.353±0.00
<b>SRL12</b>	96	2	2	0.06±0.01	9.06±0.01	0.027±0.0006	6.16±0.06	0.49±0.14
<b>SN0</b>	94	4	2	0.12±0.015	8.8±0.153	0.021±0.002	6.3±0.10	0.007±0.0003
<b>SN18</b>	94	4	2	0.20±0.025	7.8±0.200	0.021±0.002	6.2±0.53	0.003±0.001
<b>T18</b>	96	2	2	0.18±0.021	7.9±0.231	0.020±0.000	6.6±0.51	0.007±0.0004
<b>TR18</b>	94	4	2	0.21±0.026	7.2±0.231	0.033±0.012	9.0±0.00	0.011±0.005
<b>TL18</b>	94	3	3	0.21±0.012	7.1±0.115	0.039±0.009	10.6±1.65	0.014±0.0002
<b>TM18</b>	94	4	2	0.22±0.017	7.2±0.058	0.030±0.000	8.9±0.53	0.007±0.001
<b>S18</b>	94	3	2	0.17±0.017	7.7±0.231	0.025±0.009	6.5±0.50	0.007±0.0004
<b>SR18</b>	93	2	5	0.23±0.017	6.1±0.115	0.040±0.000	10.1±1.15	0.007±0.003
<b>SL18</b>	94	3	3	0.20±0.030	7.2±0.200	0.048±0.016	11.7±1.16	0.014±0.002
<b>SM18</b>	95	2	3	0.23±0.006	7.3±0.265	0.036±0.005	10.2±0.35	0.012±0.002

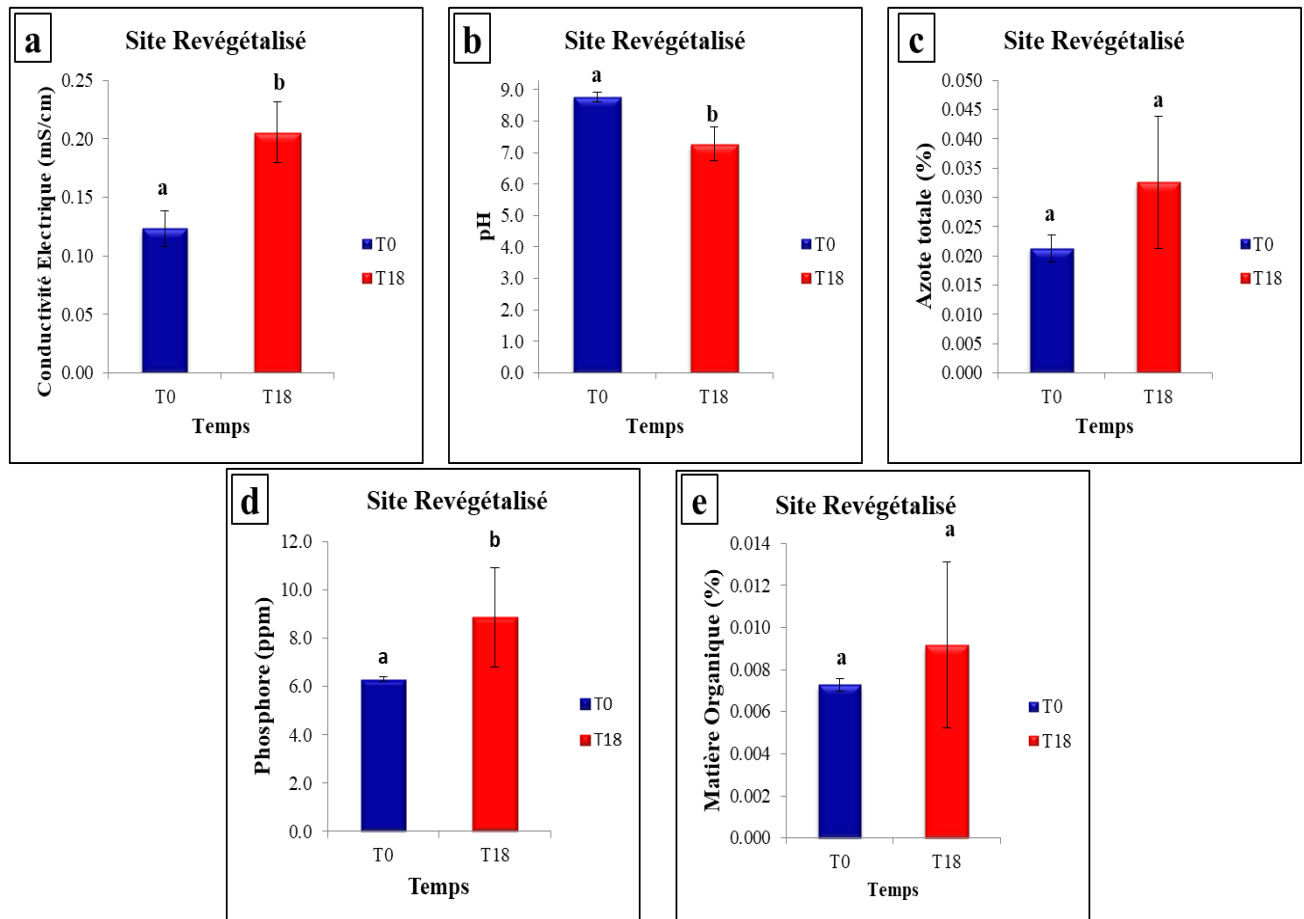
Dans les sites les plus anciens (forêt native et site recolonisé), aucune modification significative des caractéristiques physicochimiques du sol n'est observée quelle que soit la période de prélèvement (Fig. 5). Cependant, un changement de ces paramètres est noté dans le site nouvellement revégétalisé après 18 mois de l'introduction des plantes (Fig. 6).



Les valeurs représentées par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan à  $p < 0,05$ .

**Figure 5 :** Représentation graphique des différentes caractéristiques physicochimiques au début de la plantation et après 12 mois dans la forêt native (a) et dans le site recolonisé (b).

Conformément à la classification de Durand (1983), la salinité des sols dans les trois sites est négligeable (Tab. 3), avec une conductivité électrique inférieure à la norme (0,5 ms/cm) quel que soit le temps de prélèvement (Fig. 5, 6) et l'espèce de plante (Fig. 7).



Les valeurs représentées par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan à  $p < 0,05$ .

**Figure 6 :** Représentation graphique des différentes caractéristiques physicochimiques au début de la plantation et après 18 mois. a : Conductivité électrique; b : pH; c : Azote totale; d : phosphore assimilable; e : Matière Organique.

Le pH du sol est alcalin dans les sites plus anciens, quel que soit la période de prélèvement, et présente des valeurs de 8,8 à 9,2 (Tab. 3). Dans le site de revégétalisation, le pH du sol est alcalin au début de la plantation, mais diminue significativement ( $p < 0,05$ ) après 18 mois sous l'effet des plantes. Les taux les plus marquants sont observés dans le sol des plantes associées (Fig. 7b). En effet, après 18 mois, le pH du sol a diminué jusqu'à 7,1 pour *T. articulata* associé au *L. creticus* et jusqu'à 6,1 dans le cas de *S. terebinthifolius*

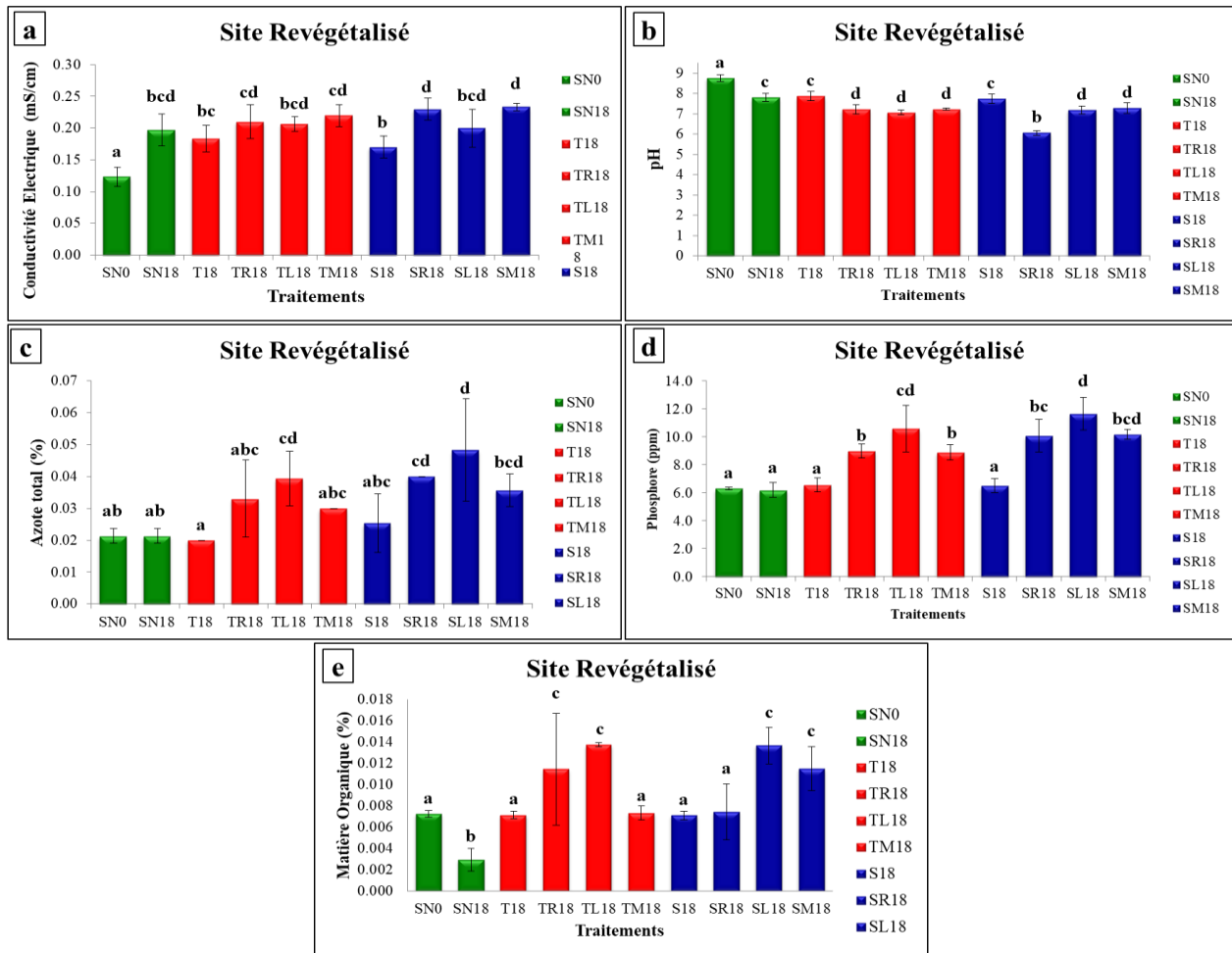
associé au *R. monosperma* comparé au sol nu dont le pH diminue mais reste néanmoins alcalin (de 8,8 à 7,8).

Les teneurs en azote total (N) et phosphore assimilable (P) dans les trois sites sont très faibles, plus particulièrement dans la forêt native et le site recolonisé avec des teneurs allant respectivement de 0,003 % à 0,042 % pour l'azote et de 5,1 ppm à 6,6 ppm pour le phosphore et cela quel que soit le temps de prélèvement (Tab. 3).

Dans le site nouvellement revégétalisé, l'azote et le phosphore augmentent significativement ( $p < 0,05$ ) sous l'effet des plantes introduites et plus particulièrement lorsqu'elles sont associées au *L. creticus*. En effet, après 18 mois de l'introduction des plantes, les taux d'azote augmentent de 0,021 % à 0,048 % et celles du phosphore de 6,2 ppm à 11,7 ppm (Fig.7c, d).

Les trois sites sont caractérisés par des teneurs très faibles en matière organique (MO) (Tab. 3). Dans les sites les plus anciens (forêt native et site recolonisé) les taux varient de 0,027% à 3,35%. Ces taux qui restent néanmoins faibles dans le site revégétalisé, augmentent après l'introduction des plantes avec des teneurs allant de 0,003% à 0,140% (Tab.3 ; Fig. 7e). Cette augmentation est significative ( $p < 0,05$ ) dans le cas des sols rhizosphériques des plantes associées au *L. creticus*.





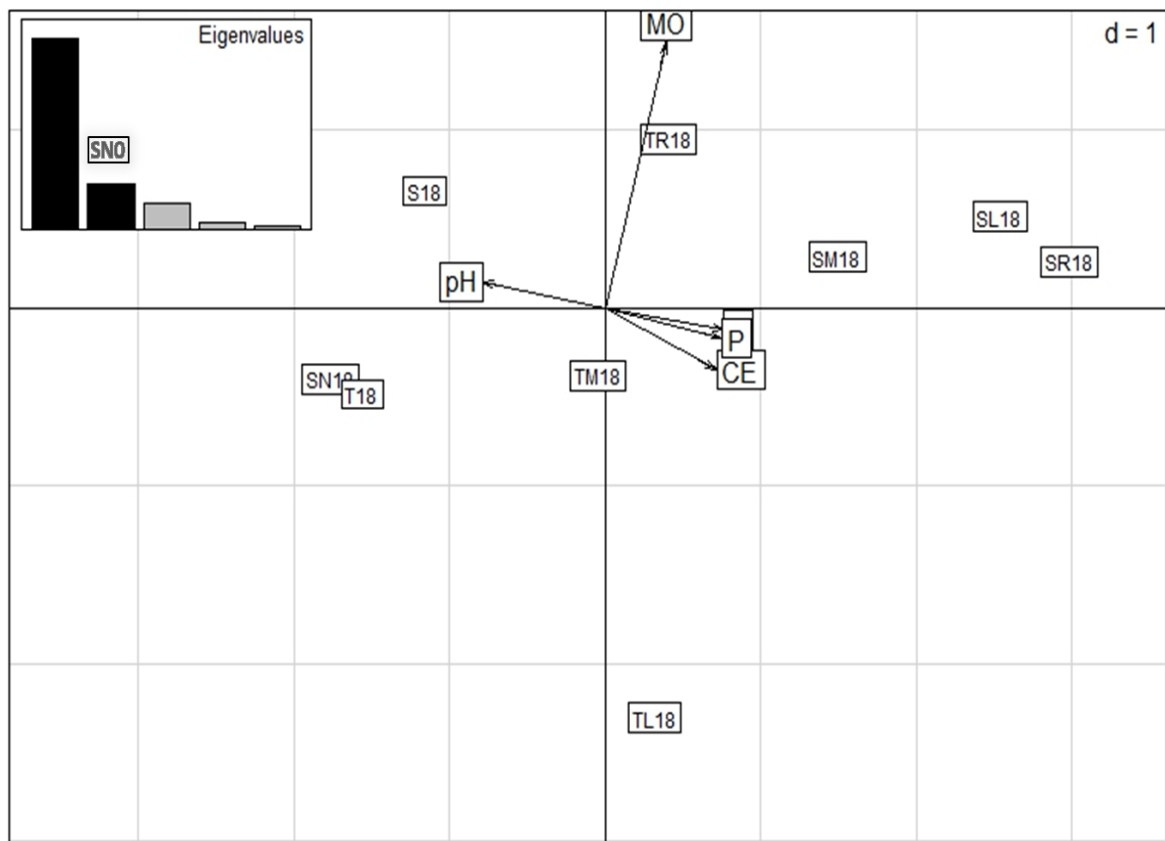
Les valeurs représentées par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan à  $p < 0,05$ .

**Figure 7 :** Représentation graphique des différentes caractéristiques physicochimiques du sol des différents traitements, au début de la plantation (0) et après 18 mois (18). a : Conductivité électrique ; b : pH ; c : Azote totale ; d : Phosphore assimilable ; e : Matière Organique.

Ces différents résultats montrent une stabilité des paramètres physicochimiques du sol dans les sites les plus anciens (forêt native et site recolonisé). Cependant, dans le site de revégétalisation l'introduction des plantes influence globalement mais faiblement sur les caractéristiques physicochimiques du sol.

L'analyse en composantes principales (ACP) des caractéristiques physicochimiques du site revégétalisé montre qu'elles sont significativement différentes à travers le temps et sous l'effet de plantes ( $< 0,05$ ) avec une variabilité de 63% par rapport à l'axe 1 après

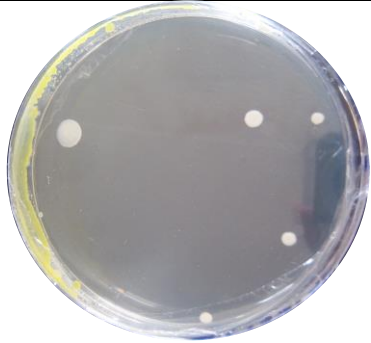

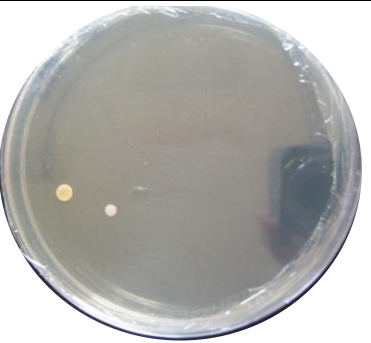
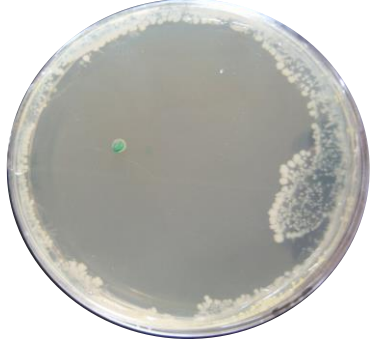
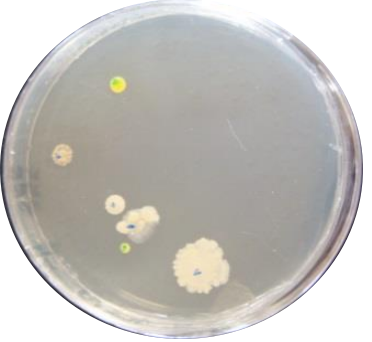
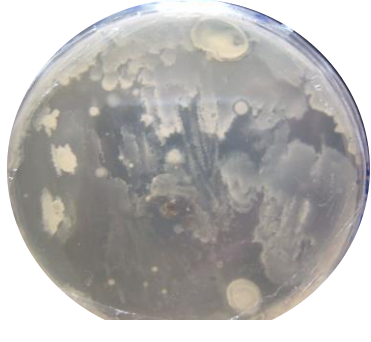

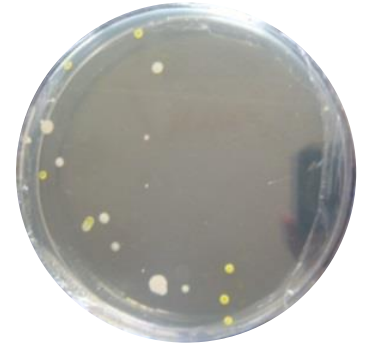

l'introduction des deux espèces ligneuses (*T. articulata* et *S. terebinthifolius*) associées aux deux légumineuses (*R. monosperma* et *L. creticus*) (Fig. 8). L'analyse montre que la conductivité électrique, le phosphore et l'azote sont plus élevés après 18 mois dans les sols rhizosphériques de TR18, TL18, TM18, SR18, SL18 et SM18.



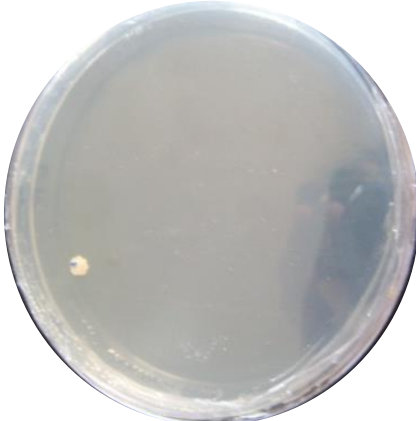
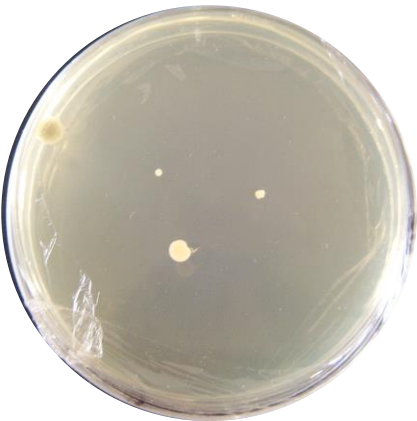

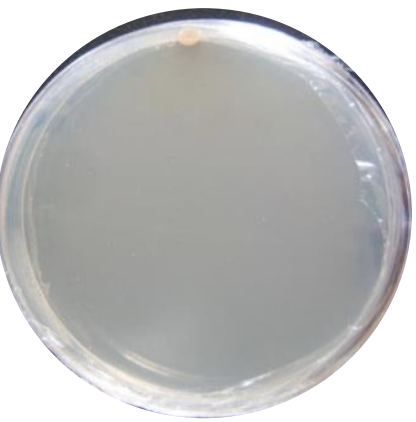

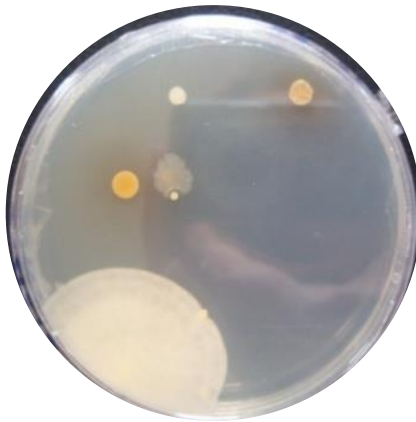
**Figure 8** : Analyse en Composante Principale (ACP) des caractéristiques physicochimiques des différents sols. MO : Matière organique ; CE : Conductivité électrique ; P : Phosphore assimilable ; N : Azote total ; pH.

## 2. Dénombrement des microorganismes du sol

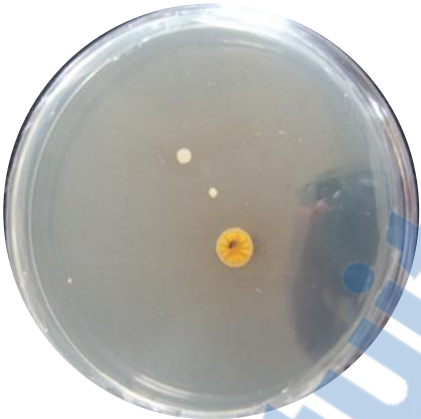
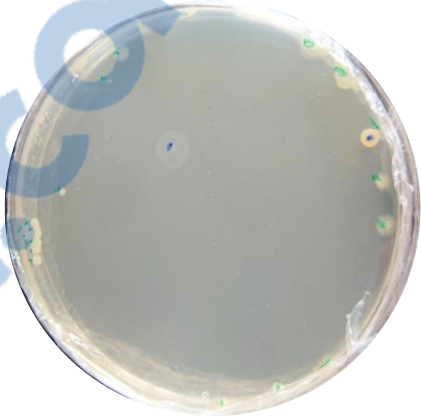


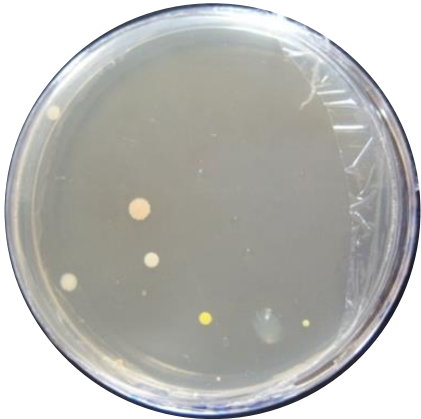

La mise en culture des bactéries des différents sols n'a pas pu donner de colonies distinctes dans la plupart des échantillons pour pouvoir effectuer le dénombrement des microorganismes, que ce soit dans le sol provenant de la forêt native, le site recolonisé ou le site de revégétalisation. Les figures 9, 10 et 11 montrent l'aspect des colonies sur milieu GN de différents échantillons de sol :

Dilution	10-3	10-4	10-5
Sol nu dégradé			
Sol rhizosphérique de <i>Tetraclinis articulata</i> associé à <i>Retama monosperma</i>			
Sol rhizosphérique de <i>Schinus terebinthifolius</i> associé à <i>Retama monosperma</i>			

**Figure 9** : Dénombrement des microorganismes sur milieu GN solide de trois échantillons de sol provenant du site revégétalisé prélevé au début de la plantation (Sol nu, sols rhizosphériques de *Tetraclinis articulata* associé à *Retama monosperma* et *Schinus terebinthifolius* associé à *Retama monosperma*), pendant 8 jours à 28 °C.

Dilution	10-3	10-4	10-5
Sol nu (FNN)			
Sol rhizosphérique de <i>Retama monosperma</i> (FNR)			

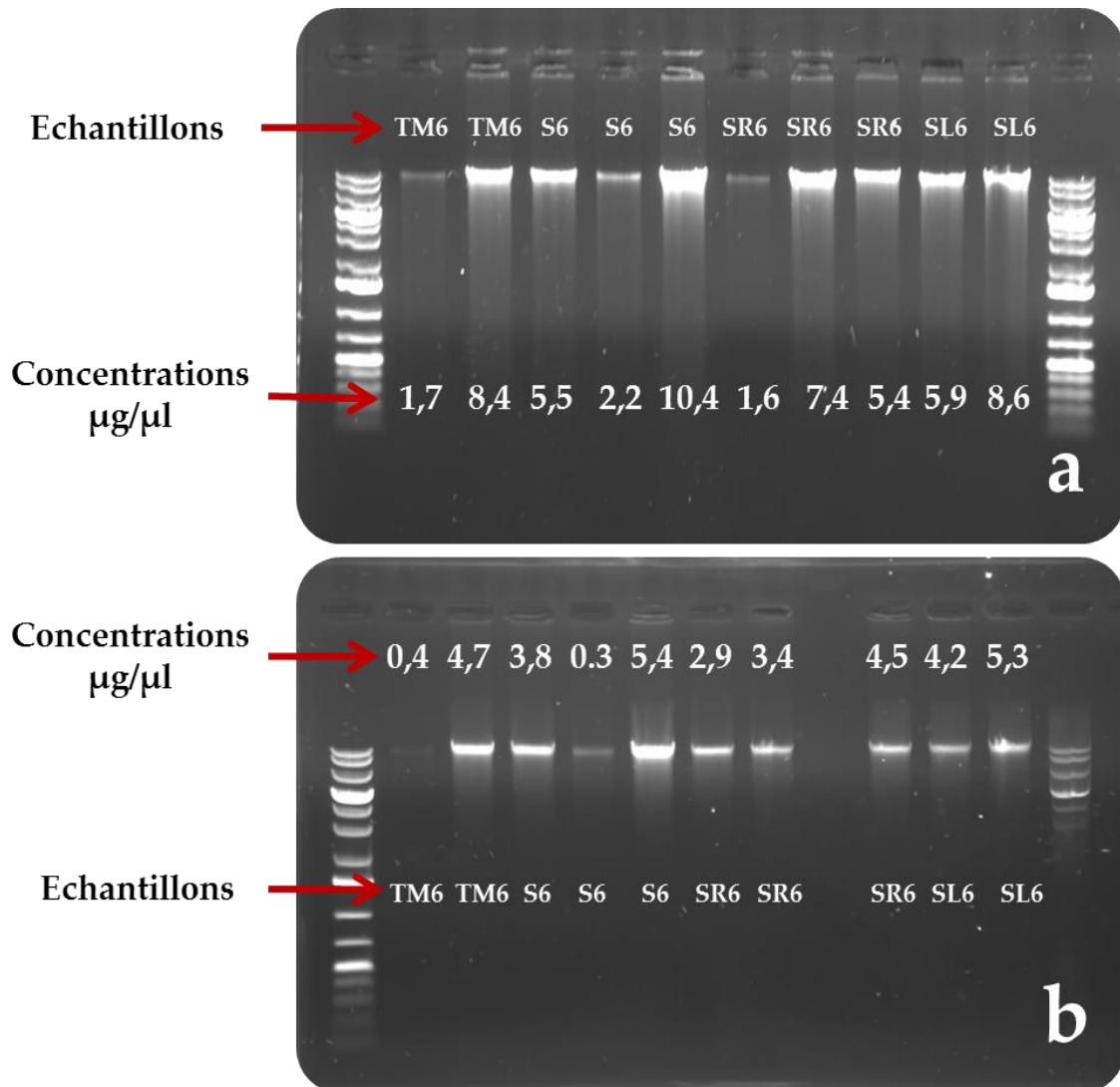
**Figure 10** : Dénombrement des microorganismes sur milieu GN solide de deux échantillons de sol provenant de la forêt native prélevé au début de la plantation (Sol nu et sol rhizosphérique de *Retama monosperma*), pendant 8 jours à 28 °C.

Dilution	10-3	10-4	10-5
Sol nu (SRN)			
Sol rhizosphérique de <i>Retama monosperma</i> (SRR)			

**Figure 11** : Dénombrement des microorganismes sur milieu GN solide de deux échantillons de sol provenant du site recolonisé par les services des forêts en 1998 prélevé au début de la plantation (Sol nu et sol rhizosphérique de *Retama monosperma*), pendant 8 jours à 28 °C.

### 3. Extraction de l'ADN et amplification de la région IGS

L'ADN a été extrait puis purifié à partir de tous les échantillons de sol prélevés. Cependant, dans le site revégétalisé l'ADN extrait à partir de 1 g de sol présentait une très faible concentration, aussi, l'extraction a été réalisée à partir de 10 g de sol afin d'avoir une concentration d'ADN suffisante pour étudier l'évolution de la structure des communautés bactériennes. L'ADN du sol provenant de la forêt native et du site recolonisé a pu être extrait à partir de 1 g sol. Un exemple d'électrophorèse sur gel d'agarose de l'ADN extrait de quelques échantillons et leur concentration avant et après purification de l'ADN est présenté dans la figure 12.

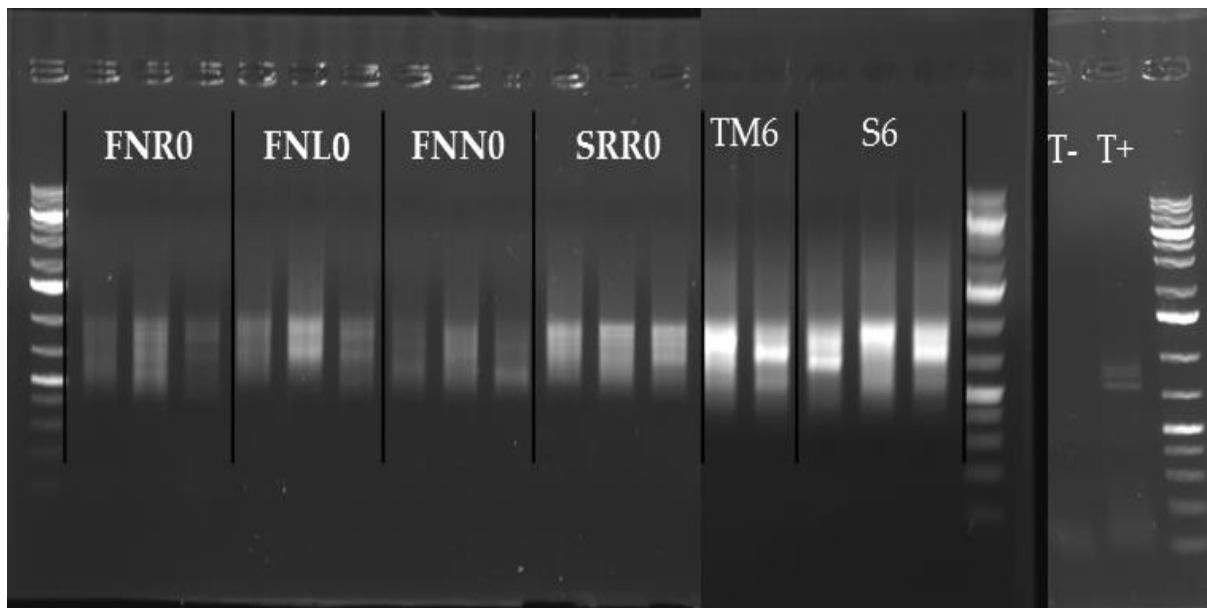


**Figure 12** : Electrophorèse sur gel d'agarose (0.8 %) de l'ADN de quelques échantillons et leur concentration. **a** : l'ADN extrait avant purification ; **b** : l'ADN extrait après purification



Une amplification de l'espace intergénique (IGS) a été effectuée sur tous les échantillons de sol. Cependant, un échantillon de sol nu prélevé dans le site recolonisé (SRN0) n'a pu être amplifié qu'après avoir extrait l'ADN à plusieurs reprises puis purifié avec trois différents kits (Annexe 6).

La figure 13 montre l'amplification de la région IGS de quelques échantillons de sol sur gel d'agarose à 1.2 %.

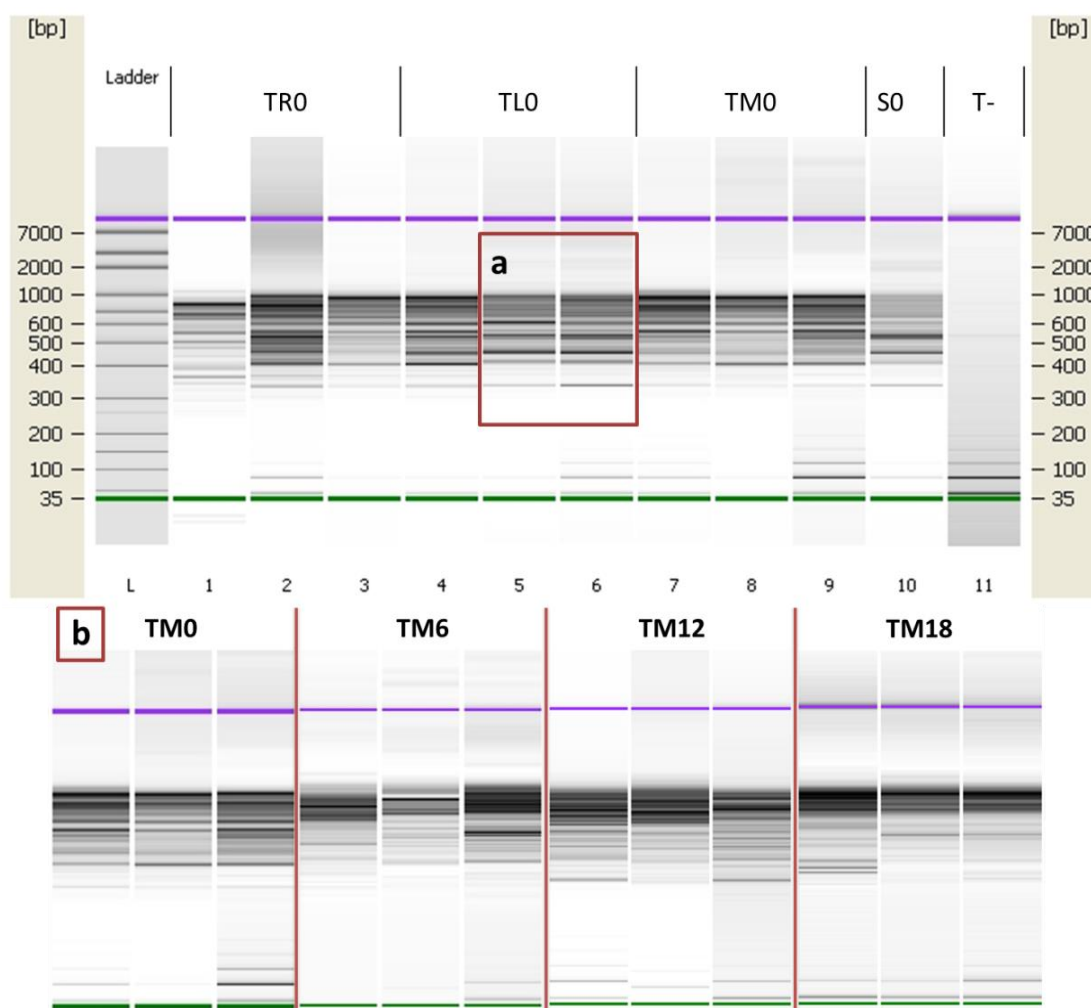


**Figure 13** : Amplification de la région IGS à partir de quelques échantillons d'ADN extraits du sol.

**T-** : témoin négatif ; **T+** : témoin positif ; **FNR** : sol rhizosphérique de *R. monosperma* dans la forêt native ; **FNL** : sol rhizosphérique de *L. creticus* dans la forêt native ; **FNN** : sol nu dans la forêt native ; **SRR** : sol rhizosphérique de *R. monosperma* dans le site recolonisé ; **TM** : sol rhizosphérique de *T. articulata* et *R. monosperma* et *L. creticus* ; **S** : sol rhizosphérique de *S. terebinthifolius* ; **0 et 6** : représente le temps de prélèvement à 0 et 6 mois.

#### 4. Analyse de l'espace intergénique ribosomal (RISA)

Les profils RISA obtenus à partir de tous les échantillons sont complexes et différents les uns des autres (Fig. 14, Annexe 8). Les répétitions de chaque prélèvement présentent quelques bandes d'IGS similaires entre eux (Fig. 14a). Temporellement, les profils deviennent de plus en plus complexes (Fig. 14b).



**Figure 14** : Profils RISA à partir de quelques échantillons d'ADN extraits du sol. a : profils de deux répétitions avec quelques bandes d'IGS similaires ; b : profils d'un échantillon de sol à T = 0, 6, 12 et 18 mois.

**T-** : témoin négatif ; **TR** : sol rhizosphérique de *T. articulata* et *R. monosperma* ; **TL** : sol rhizosphérique de *T. articulata* et *L. creticus* ; **TM** : sol rhizosphérique de *T. articulata* et *R. monosperma* et *L. creticus* ; **S** : sol rhizosphérique de *S. terebinthifolius* ; les chiffres **0, 6, 12 et 18** : représentent le temps de prélèvement à 0, 6, 12 et 18 mois.

A partir des profils RISA, une base de données complète de tous les échantillons a été réalisée sur Excel (Fig. 15). Les données brutes sont normalisées avec le logiciel RISA Aligner (Navarro *et al.*, 2015) afin de procéder à l'analyse en composante principale (ACP) des populations bactériennes.



A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	045276479158
65.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.55	0	0	0	0	0	0	0.000445598	0	0	0	0	0	0	0	0
65.6	0	0	0	0	0	0	0.002419199	0	0	0	0	0	0	0	0
65.65	0	0	0	0	0	0	0.003241768	0	0	0	0	0	0	0	0
65.7	0	0	0	0	0	0	0.00317089	0	0	0	0	0	0	0	0
65.75	0	0	0	0	0	0	0.002130551	0	0	0	0	0	0	0	0
65.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65.95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figure 15 : Exemple du tableau Excel utilisé pour les traitements de données sur Logiciel R

## 5. Evolution de la structure des communautés bactériennes

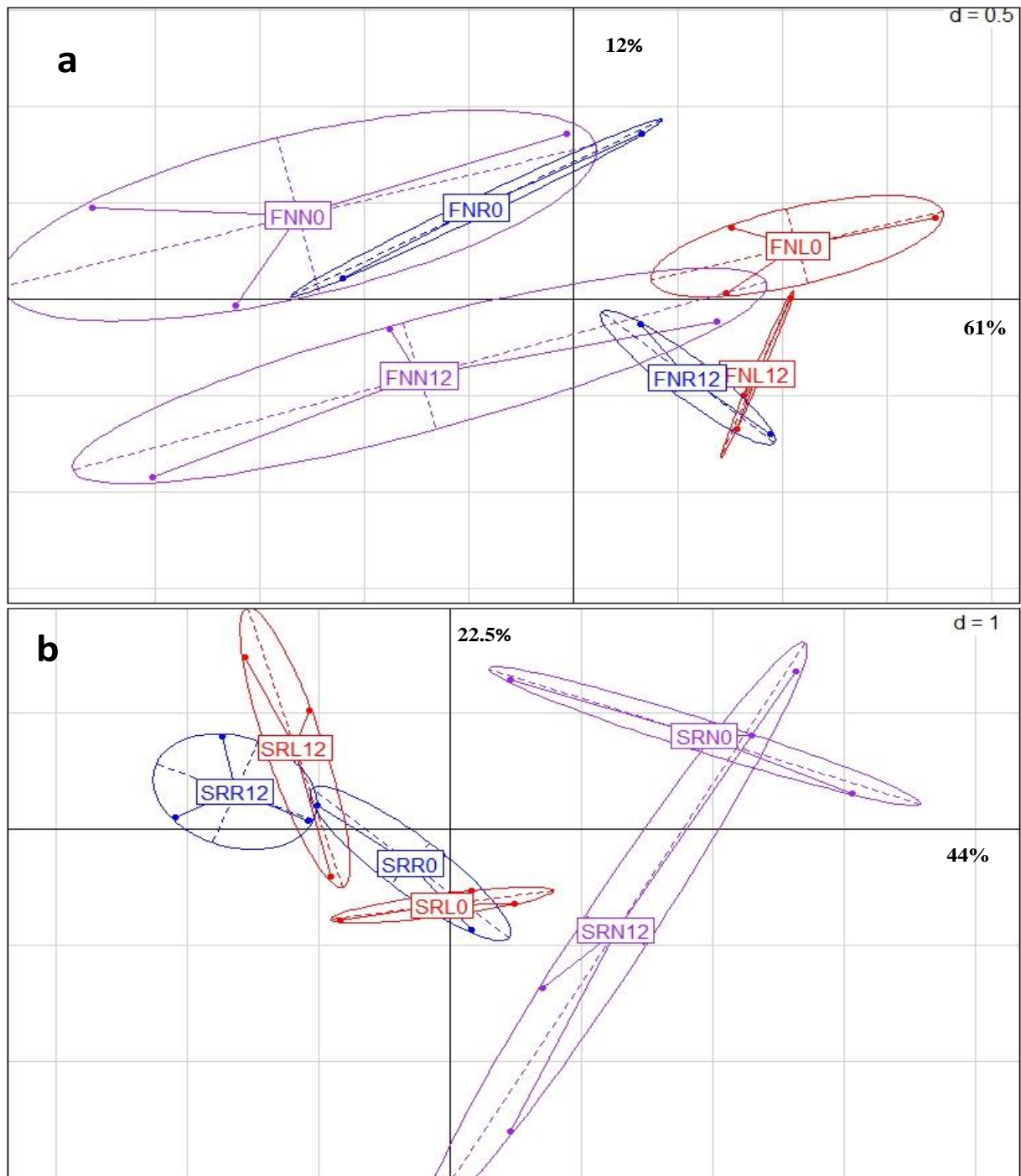
### 5.1. Evolution de la structure des communautés bactériennes dans la forêt native et le site recolonisée

Dans un premier temps, la structure des communautés bactériennes est étudiée dans les plus anciens sites : la forêt native et le site recolonisé. L'évolution de la structure bactérienne est différente selon le site.

En effet, dans la forêt native les structures des communautés bactériennes sont relativement proches et cela quel que soit le type de sol (rhizosphérique ou nu), le temps de prélèvement et l'espèce de plante (Fig. 16a).

Dans le site recolonisé, l'analyse montre que les plantes ont un impact sur la structure des communautés bactériennes (Fig. 16b). L'axe 1 explique 44.2 % de la variabilité et montre une forte séparation entre les sols nus et les sols rhizosphériques. Cependant l'ACP montre

un impact moins important de l'espèce végétale sur la structure des communautés bactériennes.

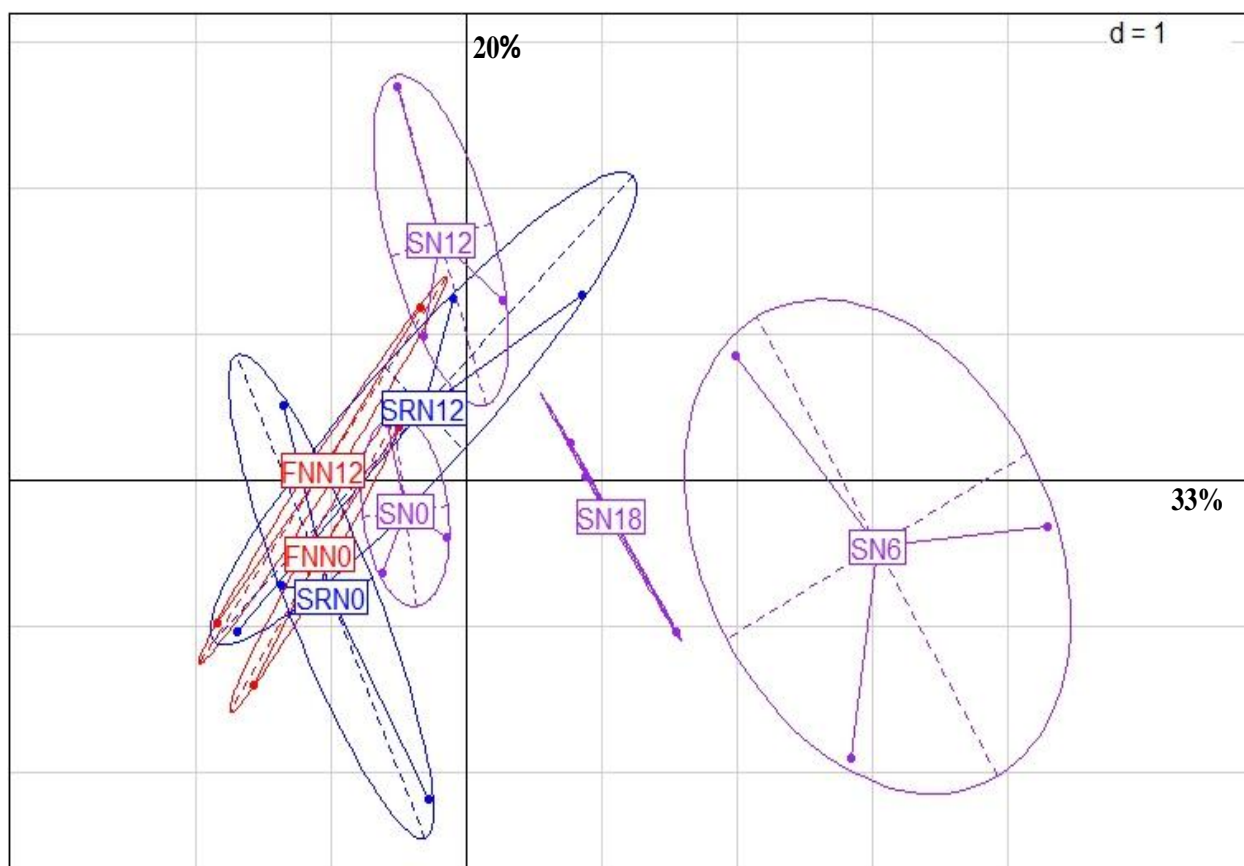


**Figure 16 :** Analyse de données en ACP (Analyses en Composantes Principales) des sols de la forêt native (a) et du site recolonisé (b) prélevés au début de la plantation et après 12 mois.

Bleu : sol rhizosphérique de *Retama monosperma* ; rouge : sol rhizosphérique de *Lotus creticus* ; violet : sol nu

## 5.2. Evolution de la structure des communautés bactérienne des sols nus

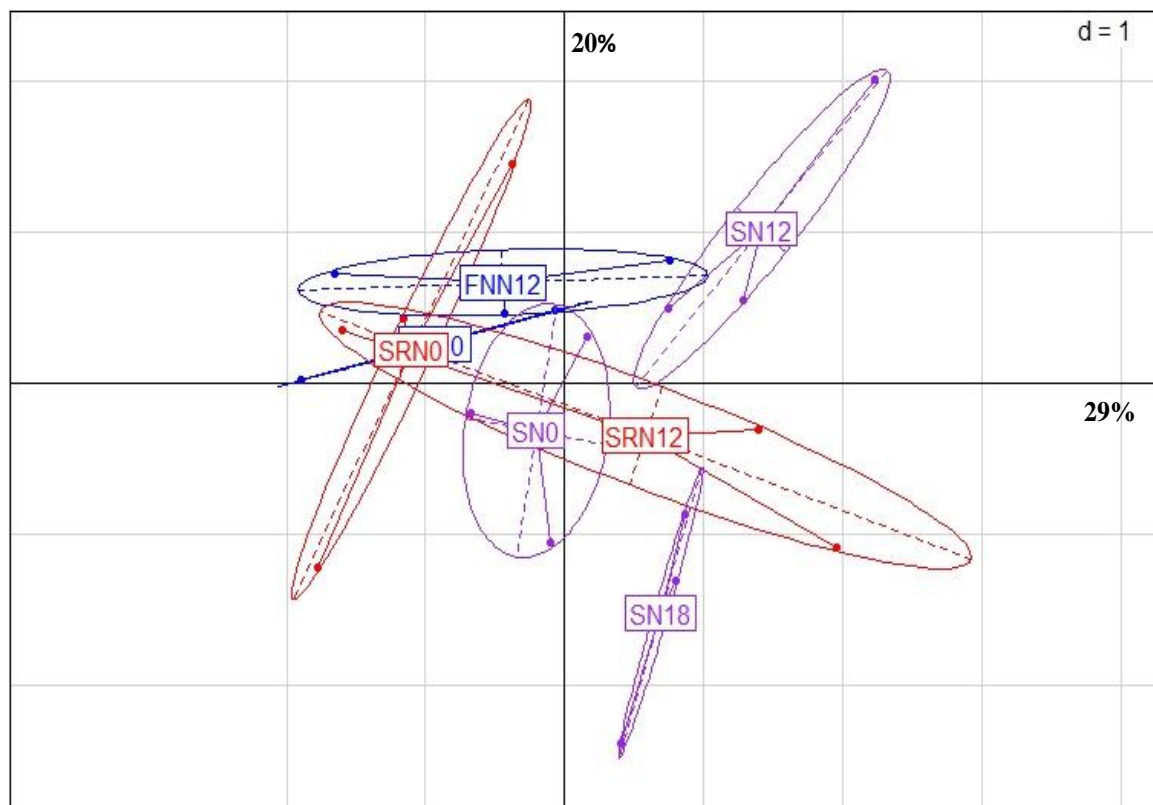
L'ACP des populations bactériennes des sols nus provenant des trois sites montre que leurs structures sont proches et restent stables quel que soit le site et le temps de prélèvement, excepté pour le cas des communautés bactériennes analysées après 6 mois dans le site revégétalisé qui présentent une structure communautaire différente avec une variabilité de 33 % sur l'axe 1 par rapport aux autres échantillons (Fig. 17).



**Figure 17** : Analyse de données en ACP (Analyse en Composantes Principales) des sols nus des trois sites prélevés à temps = 0, 6, 12 et 18 mois.

Rouge : sol nu de la forêt native ; Bleu : sol nu du site recolonisé ; Violet : sol nu du site revégétalisé

Nous avons réalisé par la suite une analyse des sols nus sans introduire les échantillons du sol prélevés à 6 mois et l'ACP montre que les communautés bactériennes sont proches quel que soit le site et le temps de prélèvement et montre seulement 29 % d'explication de la variabilité sur l'axe 1 (Fig. 18).



**Figure 18 :** Analyse de données en ACP (Analyse en Composantes Principales) des sols nus des trois sites prélevés à temps = 0, 12 et 18 mois.

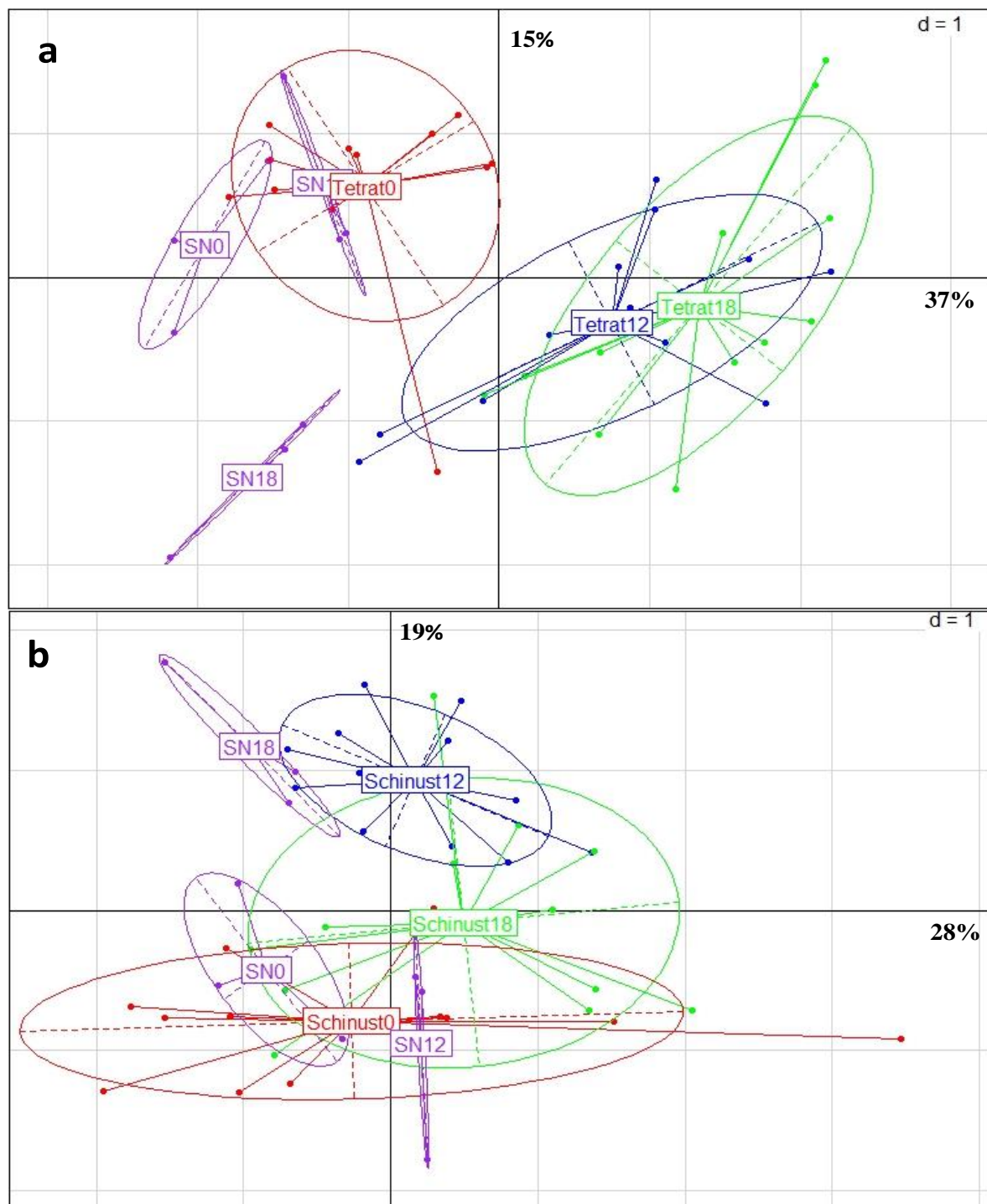
Rouge : sol nu de la forêt native ; Bleu : sol nu du site recolonisé ; Violet : sol nu du site revégétalisé.

### 5.3. Evolution de la structure des communautés bactériennes dans le site de revégétalisation

Afin de mieux observer l'évolution de la structure des communautés bactériennes, une comparaison a été faite à partir des échantillons de sol prélevés au début de la plantation, après 12 et 18 mois seulement.

Une analyse globale de l'évolution des données des différents sols rhizosphériques de *Tetraclinis articulata* et de *Schinus terebinthifolius* à travers le temps est réalisée.

Les résultats montrent qu'il existe une évolution de la structure des communautés bactériennes après 12 mois de la plantation de *T. articulata* qui a encore évolué après 18 mois (Fig. 19a) quel que soit le type de sol et cela malgré l'échec de la transplantation. Cependant, dans le cas de *S. terebinthifolius*, l'évolution temporelle des communautés bactériennes n'est pas observée dans les sols rhizosphériques et dans les sols nus (Fig. 19b).



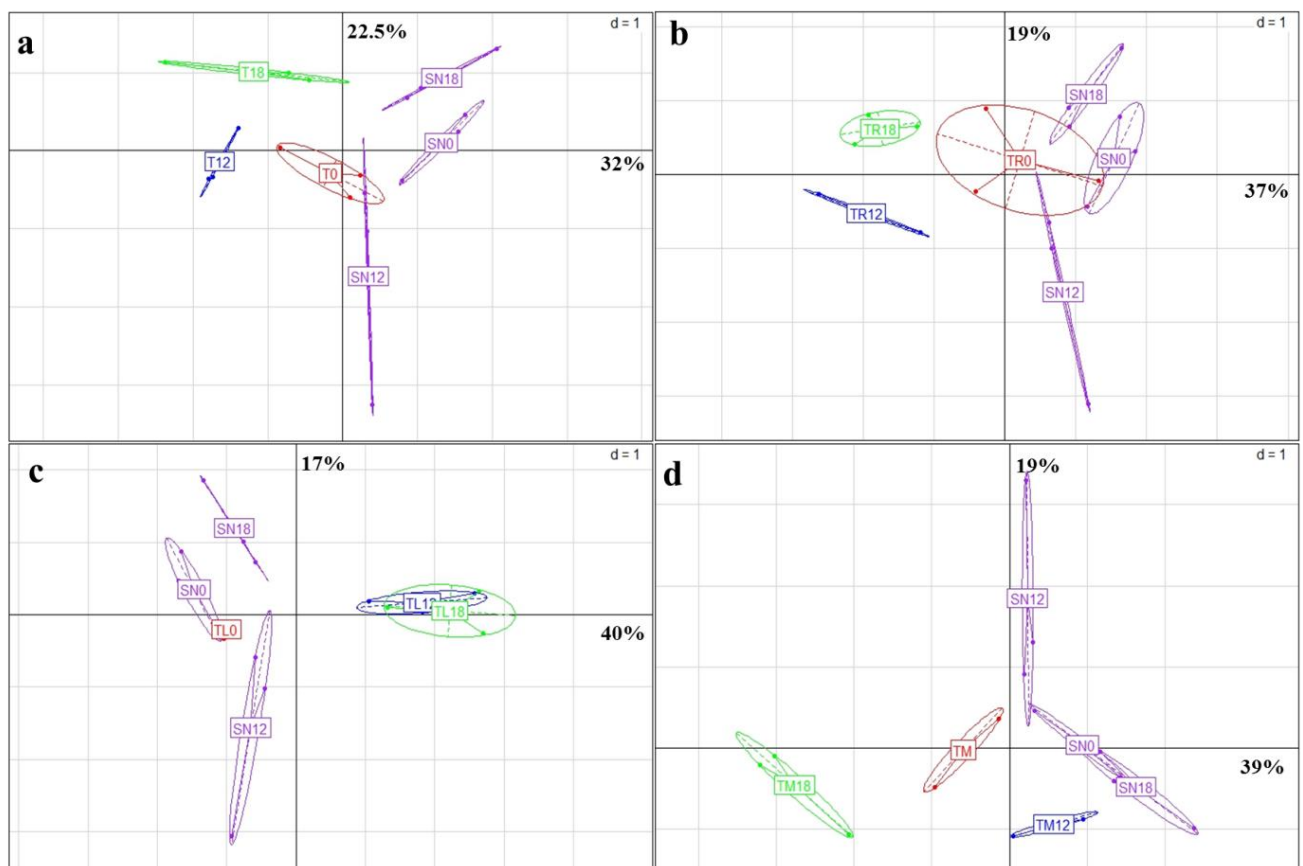
**Figure 19** : Analyses en Composantes Principales (ACP) des sols rhizosphériques et des sols nus du site revégétalisé. a : essais de *T. articulata* à T= 0, 12 et 18 mois ; b : essais de *S. terebinthifolius* à T= 0, 12 et 18 mois.

Rouge : 0 mois ; Bleu : 12 mois ; vert : 18 mois Violet : sols nus à temps 0, 12 et 18 mois.

Pour voir l'effet de plantes sur la structure des communautés bactériennes, une analyse est effectuée pour chaque essai.

L'introduction de *T. articulata* dans un site dégradé a eu un effet sur la structure des communautés bactériennes et cela dès le début de la plantation. En effet, l'analyse ACP de *T. articulata* (T) et son association avec *R. monosperma* (TR) ou *L. creticus* (TL) (Fig. 20a, 20b, 20c), montre une évolution temporelle de la structure des populations bactériennes quel que soit le type de sol. Au début de la plantation, la structure des communautés bactériennes est différente de celle des sols nus (Fig. 20). Après 12 et 18 mois de la plantation, la structure des populations évolue et montre une variabilité de 32 ; 37 et 40 % sur l'axe 1 pour T, TR et TL respectivement par rapport à celles des sols nus. En ce qui concerne le dernier essai constitué par l'association des trois plantes : *T. articulata*, *R. monosperma* et *L. creticus* (TM), les communautés bactériennes évoluent différemment pendant les 18 mois (Fig. 20d).

Une séparation de la structure des communautés bactériennes des échantillons de sol rhizosphérique prélevés à 12 et 18 mois par l'axe 2 est observée à l'exception de l'essai TL où les communautés sont proches et n'ont pas marqué d'évolution entre T12 et T18.

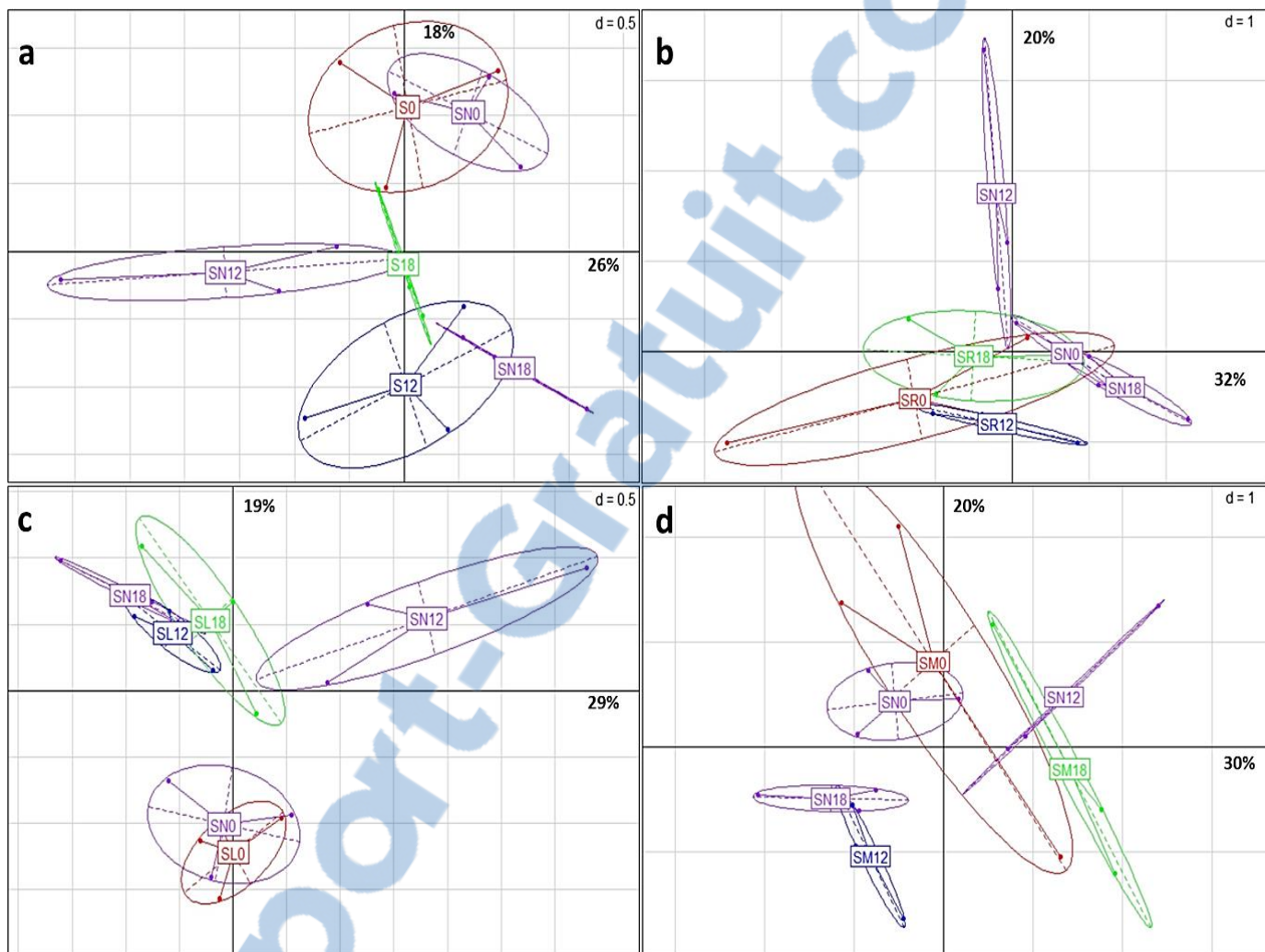


**Figure 20 :** ACP des sols rhizosphériques des différentes associations de *T. articulata* à travers le temps (T0, 12 et 18 mois). a : *T. articulata* ; b : *T. articulata* + *R. monosperma* ; c : *T. articulata* + *L. creticus* ; d : *T. articulata* + *R. monosperma* + *L. creticus*.

Rouge : T0 mois ; Bleu : 12 mois ; vert : 18 mois Violet : sols nus à T 0, 12 et 18 mois.



Concernant les analyses de sol de *S. terebinthifolius*, l'ACP montre que les structures des communautés bactériennes sont proches et sont très semblables à celle des sols nus et cela quel que soit le temps de prélèvement et la plante utilisé (Fig.21).

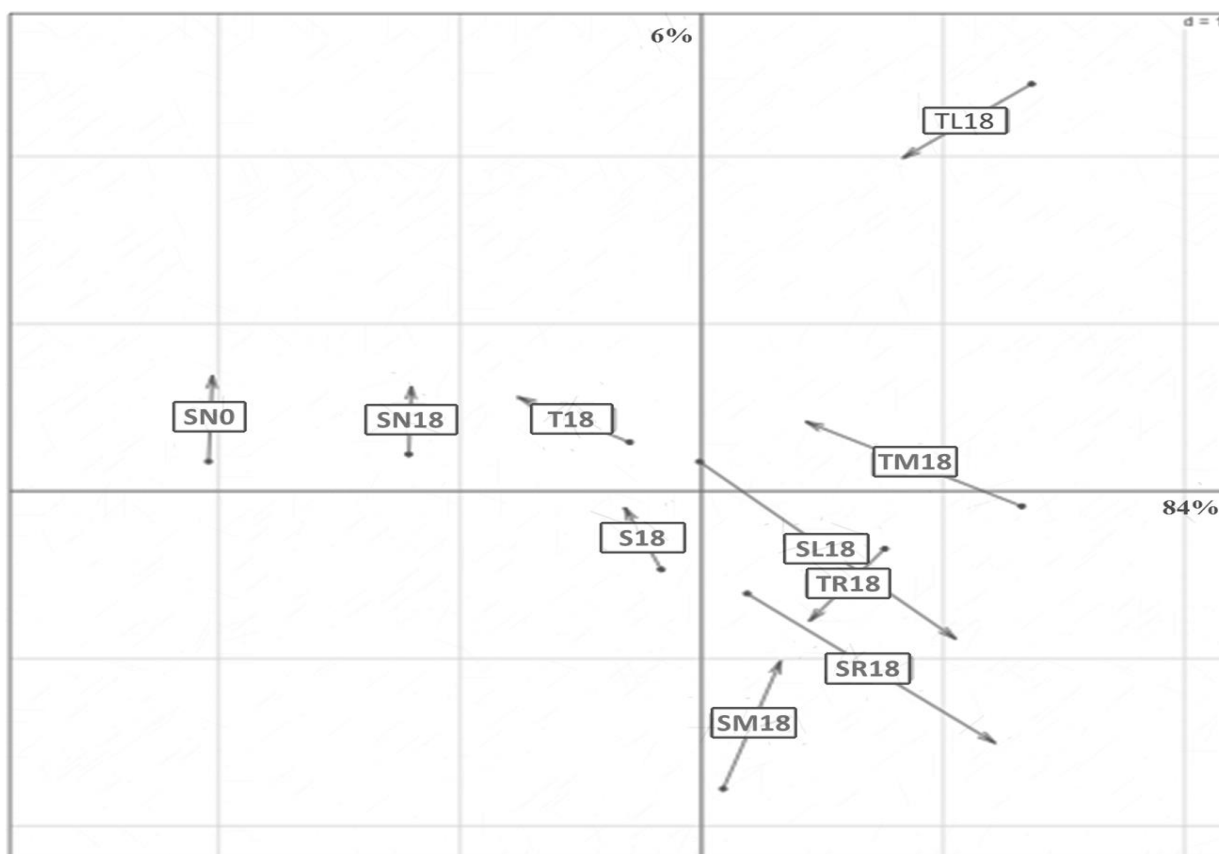


**Figure 21** : ACP (Analyse en Composantes principales) des sols rhizosphériques des différentes associations de *S. terebinthifolius* à travers le temps (T0, 12 et 18 mois). a : *S. terebinthifolius*; b : *S. terebinthifolius* et *R. monosperma* ; c : *S. terebinthifolius* et *L. creticus* ; d : *S. terebinthifolius* et *R. monosperma* et *L. creticus*.

Rouge : T0 mois ; Bleu : 12 mois ; vert : 18 mois Violet : sols nus à T 0, 12 et 18 mois.

## 6. Relations entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques des sols

Afin d'analyser la corrélation qui pourrait exister entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques, une analyse de Co-Inertie a été réalisée (Fig. 22). L'analyse indique que la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques des sols sont corrélés ( $P = 0,036$  ; coefficient  $RV = 0,55$ ). Le premier axe exprime 84 % de l'inertie expliquée, alors que, le deuxième axe exprime 6% de l'inertie expliquée (Fig. 22). Le premier axe sépare les sols nus et les sols rhizosphériques de *T. articulata* ou *S. terebinthifolius*, des plantes associées. Pour ces sols, il existe une bonne corrélation entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques. Dans la rhizosphère de deux ou trois plantes associées, la corrélation est moins évidente.



**Figure 22 :** Corrélation entre la structure des communautés bactériennes et les caractéristiques physicochimiques par analyse de Co-inertie. Chaque sol est représenté par deux points: l'un correspond à la structure des communautés bactériennes du sol et l'autre correspond aux caractéristiques physicochimiques du sol.

Remarque: 0 et 18 correspondent à la période de prélèvement en mois.



## DISCUSSION

Dans ce travail, l'évolution de la structure des communautés bactériennes a été suivie sur une échelle spatiotemporelle dans trois sites situés dans la sablière de Terga : (1) un site nouvellement revégétalisé par l'introduction de deux essences forestières *Tetraclinis articulata* et *Schinus terebinthifolius* associées ou non à deux légumineuses *Retama monosperma* et *Lotus creticus*, (2) un site recolonisé par les services de la conservation des forêts de la Wilaya de Ain Témouchent en 1998 et (3) la forêt native. Pour cela, nous avons effectué un dénombrement des microorganismes du sol, une analyse physicochimique de ces sols et un suivi de l'évolution de la structure des communautés bactériennes par une analyse RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis).

### 1. Dénombrement des microorganismes du sol

Les microorganismes des sols provenant des différents sites d'étude (site revégétalisé, site recolonisé, forêt native), cultivés sur milieu GN, n'ont pas pu être dénombrés dans la plupart des échantillons étudiés du fait de l'absence de colonies distinctes. Le dénombrement est une technique basée sur une approche culturale, elle est l'une des méthodes utilisées pour étudier la diversité microbienne des environnements naturels ou anthropiques (Rastogi et Rajesh, 2011). Cependant, l'utilisation de milieux de culture restreint l'étude de la diversité microbienne en sélectionnant les populations microbiennes les plus abondantes. En 1985, Staley et Konopka, ont utilisé le terme « Great plate count anomaly » (grande anomalie de comptage sur boîte) en comparant le nombre de bactéries observées par microscope (marqueur fluorescent) et le nombre de bactéries cultivables. En effet, grâce aux avancées moléculaires, il a été révélé dans de nombreuses études que les méthodes dépendantes de la culture ne révèlent que 1 % du nombre total des espèces microbiennes présentes dans un échantillon (Bakken, 1985 ; Torsvik *et al.*, 1990a ; Amann *et al.*, 1995 ; Hugenholtz, 2002 ; Rappé et Giovannoni, 2003). Par ailleurs, l'impossibilité de dénombrer les microorganismes du sol provenant du site à réhabiliter peut être également liée à la régression des processus biologiques dans les sols dégradés, tel que la réduction du carbone total, de la biomasse et le déclin de la biodiversité, et par conséquent, une faible viabilité des microorganismes du sol (Lal, 1997). Ce qui prouve que l'utilisation des méthodes culturales est beaucoup plus restreinte et inefficace dans des sols dégradés (pauvres) aussi, l'utilisation de la métagénomique et les méthodes moléculaires sont des approches qui ont révolutionné l'étude du monde microbien.

## 2. Analyses physicochimiques

Les analyses physicochimiques des différents sites montrent des caractéristiques différentes selon le site.

Concernant la forêt native et le site recolonisé, aucune modification significative des caractéristiques physicochimiques du sol n'est observée et cela quelle que soit la période de prélèvement et le type de plante. Ceci pourrait être dû à l'absence de toute perturbation naturelle ou anthropique. En effet, plusieurs études montrent que les paramètres physicochimiques sont soumis à des changements lorsque le sol subit des perturbations naturelles ou humaines (Mathieu et Ruellan, 1980 ; Lee, 1985 ; Farhat, 1995 ; Badraoui *et al.*, 1998 ; Decaëns *et al.*, 2001 ; Gros *et al.*, 2004 ; Tapia-Coral *et al.*, 2006 ; Goutal, 2012).

Dans le site revégétalisé, des changements de quelques caractéristiques physicochimiques sont observés sous l'influence des plantes introduites, plus particulièrement dans le cas où les deux essences forestières sont associées au *Lotus creticus*. Des changements dans les paramètres édaphiques sont observés dans plusieurs travaux suite aux associations symbiotiques plantes-microorganismes (Koske et Halvorson, 1981 ; Brundrett, 1991 ; Hodge *et al.*, 2001 ; Hatimi et Tahrouche, 2007 ; Mouffak *et al.*, 2014 ).

Selon Drouet (2010), la teneur en matière organique dans le sol dépend globalement des facteurs climatiques, la végétation, la texture du sol, les conditions topographiques, le drainage et les pratiques culturales. Les faibles teneurs en matière organique des différents sols étudiés, peuvent probablement être dus à la texture sablonneuse du sol, aux conditions topographiques ainsi que l'absence de végétation dans le cas du site revégétalisé.

## 3. Evolution de la structure des communautés bactériennes

La restauration écologique est le processus d'aide au rétablissement d'un écosystème dégradé, endommagé ou détruit (Harris, 2003). Les communautés microbiennes du sol et leur évolution pourraient être un bon indicateur pour une réussite précoce de la revégétalisation (Sparling, 1992 ; Harris, 2003 ; Gomez *et al.*, 2006). L'évolution de ces espèces microscopiques a fréquemment été étudiée : dans des sols contaminés par exemple au mercure (Ranjard *et al.*, 2000a ; Héry *et al.*, 2005), au cuivre (Smit *et al.*, 1997), au nickel en Nouvelle Calédonie (Héry *et al.*, 2003), dans la biodégradation des hydrocarbures polycycliques aromatiques des sites pollués (Massol-Deya *et al.*, 1997;

Eriksson *et al.*, 2003), pour comparer la structure des communautés bactériennes associées à différents microenvironnements de sol (Ranjard *et al.*, 2000a), dans la contamination aux pesticides (Engelen, 1998), les produits de confinements (radioactifs) (Schäfer *et al.*, 2000) ou également dans les milieux naturels (Muyzer, 1999).

### **3.1. Structure des communautés bactériennes dans la forêt native et le site recolonisé**

L'évolution de la structure des communautés bactériennes des sols nus et des sols rhizosphériques ne sont pas similaires dans les deux anciens sites (forêt native et site recolonisé). Dans la forêt native, la structure des communautés bactériennes des sols nus et des sols rhizosphériques sont proches quelle que soit l'espèce végétale. Ceci pourrait être expliqué par la difficulté de trouver dans cet écosystème non perturbé, lors de l'échantillonnage, un sol dépourvu de racines, ce qui montre, que dans cet environnement de dunes, les processus naturels ont conduit à une couverture végétale dense.

Dans le site recolonisé, la structure des communautés bactériennes est différente entre les sols nus et les sols rhizosphériques ce qui pourrait être expliqué par le fait que, même si les plantes introduites par les services forestiers n'ont pas entièrement persisté, l'essai de revégétalisation a permis la colonisation par d'autres espèces, mais, n'a pas permis aux sols, 14 ans après l'introduction des plantes, d'atteindre la phase finale du rétablissement de l'écosystème ce qui correspond à un état transitoire de la résilience. Cette dernière, est définie comme étant la capacité d'un écosystème à retrouver son fonctionnement initial après avoir subi une perturbation importante (Peterson *et al.*, 1998). Il est difficile de prévoir la période de temps nécessaire à cet écosystème pour parvenir à sa résilience puisqu'il existe plusieurs facteurs qui influent sur la capacité et le taux de récupération (Lal, 1997) tel que le type de sol et le type de dégradation. Une forte dégradation est souvent associée à une faible résilience (Lal, 1997 ; Brabant, 2008).

La structure des communautés bactériennes dans ces deux sites (forêt native et site recolonisé) n'a pas été influencée au cours du temps. Ceci est probablement dû à la stabilité et l'absence de toute perturbation et cela quel que soit le type de sol (sol nu et sol rhizosphérique). Ces observations sont en accord avec ceux de Schloter *et al.* (2003) qui ont montré que, dans des sols non perturbés, les microorganismes présentent généralement une croissance limitée et exploitent très peu leur capacité. En effet, la structure des communautés microbiennes du sol est influencée lorsque le sol est soumis à des

perturbations naturelles (Lee, 1985 ; Gros *et al.*, 2004) ou générées par l'homme (Buckling *et al.*, 2000, Héry *et al.*, 2003; Kang et Mills, 2004; Herrera *et al.*, 2007).

### 3.2. Structure des communautés bactériennes dans le site de revégétalisation

Les principaux changements de la structure des communautés bactériennes du sol sont observés, dans certains cas, dès le début de la plantation. Ce type de résultats a été signalé par Herrera *et al.* (2007). Ces derniers ont remarqués un changement dans les communautés bactériennes suite à la revégétalisation d'un site minier.

Gros *et al.* (2004), en analysant le fonctionnement bactérien du sol suite aux différentes étapes de la restauration de la couverture herbacée des pistes de ski, ont également constaté un changement dans la structure des communautés bactériennes. Mincheol *et al.* (2013), l'ont aussi démontré dans leurs travaux, en soumettant des microcosmes de sol à des perturbations physiques, en stérilisant à chaque fois 90 % du volume du sol, à une gamme de fréquences.

Dans le site revégétalisé, la transplantation de l'espèce végétale *Tetraclinis articulata* (thuya de Barbarie) a échoué après un mois de son introduction. En effet cette espèce est caractérisée par un fort taux de mortalité lors des essais de transplantation comme l'ont signalé Abbas *et al.* (2013).

Néanmoins, lorsque cette plante est introduite seule, un effet rhizosphérique sur les communautés bactériennes du sol est observé après 12 mois. Ceci pourrait être probablement expliqué par l'évolution des communautés bactériennes initialement associées au sol introduit avec la plante lors de la plantation ce qui a pu avoir un impact *in situ* sur la diversité bactérienne. Ceci suggère, qu'en cas de futures tentatives de revégétalisation de la sablière de Terga, le topsoil (sol arable) pourrait être utilisé pour stimuler la biologie du sol et la croissance des plantes. En effet, il a été utilisé avec succès dans d'autres environnements, tel que dans des sites de bauxite exploités dans la forêt de Jarrah en Australie (Warren et Glossop, 1980), dans la réhabilitation des régions boisées de l'ouest de l'Australie (Rokich *et al.* 2001), dans des sites miniers (Wong, 2003 ; Rate *et al.*, 2004) et dans la remise en état des bords de routes contre l'érosion (Mola *et al.*, 2011).

Après 12 mois de la transplantation, l'association de *Tetraclinis articulata* à *Retama monosperma* ou *Lotus creticus* a eu un impact sur la structure des communautés bactériennes, en particulier en présence de *L. creticus*. Cette évolution pourrait être due au génotype de la plante, puisque, parmi l'immense biodiversité tellurique, la plante

sélectionne des populations microbiennes particulières bien adaptées à l'environnement rhizosphérique. Cette sélection repose également sur l'aptitude physiologique des populations microbiennes à tirer au mieux profit des composés organiques libérés, mais également sur une signalisation moléculaire entre plantes et microorganismes à l'origine de phénomènes de reconnaissance spécifiques (Lemanceau *et al.*, 2012). De nombreux travaux ont montré que la libération de composés carbonés et azotés dans le sol pourrait être à l'origine de la sélection de certains groupes microbiens (Grayston *et al.*, 1998 ; Duineveld *et al.*, 2001 ; Smalla *et al.*, 2001 ; Kowalchuk *et al.*, 2002 ; Kuske *et al.*, 2002 ; Grayston *et al.*, 2004 ; Costa *et al.*, 2006).

Cependant, l'association des trois plantes a eu un moindre impact sur l'évolution de la structure des populations bactériennes. Schlatter *et al.* (2015) rapportent que la diversité végétale est un pilote de la structure des populations bactériennes et peut réduire ou annuler les effets de plantes individuelles par l'intermédiaire d'interactions microbiennes comme la compétitivité et l'antagonisme.

*Schinus terebinthifolius* (poivre brésilien) est un arbre exotique, envahissant et caractérisé par un taux de croissance élevé et une grande tolérance environnementale. Pour cela il a été introduit dans plus de 20 pays (Ewel *et al.*, 1982) occupant plusieurs écosystèmes (Woodall, 1982 ; Laroche et Baker, 1994 ; Langeland et Burks, 1998). En effet, après son introduction, cette espèce a eu une bonne croissance durant 18 mois, cependant, son effet sur la structure des communautés bactériennes est moins observé qu'elle soit introduite seule ou associée à *R. monosperma* et/ou *L. creticus*. Ceci pourrait être dû aux propriétés allélopathiques de cette espèce végétale exotique (Mahendra *et al.*, 1995; Nickerson et Flory, 2015), qui a pu avoir un effet négatif sur la structure de la communauté bactérienne. En effet, cette espèce est connue pour avoir un impact négatif, direct ou indirect, sur d'autres organismes (plantes, micro-organismes...) *via* la production de composés biochimiques libérés dans le milieu (Rice, 1984). C'est le cas de plusieurs espèces exotiques tel que *Centaurea maculosa* (Ridenour et Callaway, 2001 ; Bais *et al.*, 2002) ; *Gmelina arborea* utilisée dans des programmes de reboisement au Burkina Faso (Ouédraogo, 1995) et au Sénégal (Diouf *et al.*, 2013). D'autres études ont également mis en évidence l'effet négatif des interactions entre les espèces végétales en provoquant une compétition pour la lumière et les nutriments (Donald, 1958 ; Stevens, 1986 ; Chesson, 2000 ; Bais *et al.*, 2002).

Par ailleurs, après l'introduction de plusieurs espèces d'*Acacia* au Sénégal (Remigi *et al.*, 2008), en Algérie (Boudiaf *et al.*, 2013) et au Portugal (Marchante *et al.*, 2003; Marchante *et al.*, 2009; Rascher *et al.*, 2011a; Rascher *et al.*, 2011b; Rodriguez Echeverria *et al.*, 2011 ; Lorenzo *et al.*, 2013), une modification considérable des caractéristiques chimiques du sol est observée par rapport aux espèces indigènes, ce qui par la suite influence l'évolution structurelle des populations microbiennes.

L'absence d'évolution de la structure de ces populations dans le cas de *S. terebinthifolius*, pourrait être également expliquée par l'existence d'une compétitivité entre les communautés bactériennes de chacune des plantes associées. En effet, l'association de plus d'une plante pourrait créer une compétitivité entre les microorganismes de la rhizosphère associés à deux ou plusieurs espèces végétales, comme déjà rapporté dans les travaux de Bever (2003) qui, en examinant l'effet concurrentiel des bactéries rhizosphériques de deux communautés végétales adjacentes a estimé que chaque plante construit sa propre microflore et prend en compte les réactions qui peuvent interagir autour d'elle. D'autres études montrent que les champignons mycorhiziens agissent également sur les populations bactériennes du sol. Les travaux de Benelhadj Djelloul *et al.* (2016) ont mis en évidence la mycorhization de *S. terebinthifolius* témoin ou associé à *L. creticus* et/ou *R. monosperma*. Aussi, la présence de ces champignons pourrait avoir un impact sur l'évolution de la structure des communautés bactériennes. La symbiose mycorhizienne peut ainsi affecter la croissance et modifier la structure et l'activité bactérienne (Ames *et al.*, 1984) ; Secilia et Bagyaraj, 1987 ; Paulitz et Linderman, 1989 ; Founoune *et al.*, 2002 ; Ramanankierana *et al.*, 2006).

L'introduction de plantes dans le site dégradé de Terga a généré des changements non seulement sur la structure des populations bactériennes mais également sur les paramètres physicochimiques du sol. En effet, Schlatter *et al.* (2015) montrent que les plantes ont un impact sur les teneurs en nutriment du sol (MO, C, N, P et K).

Dans des essais de revégétalisation de carrières (Sourkova *et al.*, 2005; Pietrzykowski et Krzaklewski, 2007 ; Zhang et Chu, 2011), les teneurs en azote total sont améliorées. C'est le cas du site revégétalisé, où l'introduction des plantes a induit une légère augmentation de l'azote et du phosphore mais qui restent néanmoins faible.

L'introduction des plantes a également modifiée le pH du sol plus particulièrement dans le cas de *S. terebinthifolius* en association avec les légumineuses ce qui a pu ne pas favoriser la croissance des communautés bactériennes du sol rhizosphérique de cette espèce. Ceci a été démontré dans les travaux de Rousk *et al.*, (2009), qui ont étudié l'effet du pH du sol

sur les communautés bactériennes et fongiques et ont montré que des conditions neutres ou légèrement alcalines favorisent la croissance bactérienne, alors qu'un pH acide favorise la croissance fongique, par conséquent, le pH du sol peut considérablement influencer la diversité bactérienne (Fierer et Jackson, 2006 ; Theodorakopoulos, 2013).

Ainsi, il existe une corrélation entre les caractéristiques physicochimiques du sol et la structure des communautés bactériennes. De nombreux auteurs ont rapporté dans leurs travaux les relations qui existent entre les paramètres édaphiques et la structure des communautés microbiennes du sol (Bardgett *et al.*, 1997 ; Fierer et Jackson, 2006 ; Lejon *et al.*, 2007 ; Lauber *et al.*, 2008 ; Lauber *et al.*, 2009 ; Nacke *et al.*, 2011) aussi bien à l'échelle spatiale (Myers *et al.*, 2001; Wilkinson et Anderson, 2001; Fierer *et al.*, 2003; Lejon *et al.*, 2005; Dequiedt *et al.*, 2009) que temporelle (Myers *et al.*, 2001; Rogers et Tate, 2001; Fierer *et al.*, 2003; Medeiros *et al.*, 2006).

Les faibles teneurs en azote, phosphore et matière organique observées dans cette étude, pourraient être un facteur majeur qui engendre une compétition entre les communautés bactériennes et ainsi une modification de leur structure. Tilman (1986), rapporte dans ces recherches que le manque de ressources et la concurrence qui peut être générée par la suite sont deux principaux facteurs qui influencent la structure des communautés bactériennes.

La présence d'espèces végétales dans le site revégétalisé a induit également des changements de la structure des communautés bactériennes du sol nu mais reste néanmoins différente de celle des sols rhizosphériques. Selon plusieurs études portant sur les communautés microbiennes, la densité et l'activité de la microflore sont significativement plus élevées à proximité des racines que dans le sol nu (Bowen et Rovira, 1999; Dakora et Phillips, 2002; Siciliano *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2003; Dazy *et al.*, 2008; Hartmann *et al.*, 2009; Dennis *et al.*, 2010 ; Nihorimbere *et al.*, 2011). Ce phénomène est communément connu sous le terme « effet rhizosphère » (Krafczyk *et al.*, 1984 ; Lynch et Whipps, 1990 ; Merbach *et al.*, 1999). En effet, la plante libère, à travers ses racines, environ 10 à 20 % d'exsudats sous forme de composés solubles tels que des sucres, des acides organiques et des acides aminés, ce qui constitue une source majeure de composés organiques et d'énergie directement utilisables par les microorganismes du sol (Warembourg, 1975 ; Meharg et Killham, 1988 ; Whipps, 1990 ; Xu et Juma, 1993 ; Bowen et Rovira, 1999), et leur offre ainsi un environnement plus favorable. Norton et Firestone (1991), considèrent dans leur travaux que 57 % de cellules bactériennes sont actives dans la rhizosphère d'une espèce de pin (*Pinus ponderosa* L.) contre 41 % dans le sol nu environnant.



Enfin, l'introduction des plantes (*Tetraclinis articulata* et de *Schinus terebinthifolius* associés à *Lotus creticus* et/ou *Retama monosperma*) dans le cadre de la revégétalisation d'un site dégradé de la sablière de Terga a induit des modifications des caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du sol. Ces résultats démontrent, encore une fois, que la plante modifie les paramètres physicochimiques du sol et induit des changements dans la structure des communautés microbiennes.

Rapport-Gratuit.com

# **CONCLUSION**

## Conclusion

Dans notre étude nous avons utilisé une technique d'empreintes génétiques (analyse de l'espace intergénique ribosomal RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)), afin de suivre l'évolution de la structure des communautés bactériennes d'un sol nouvellement revégétalisé après l'exploitation du sable dans la carrière de Terga. La stratégie de réhabilitation adoptée par Benlhadj Djelloul *et al.* (2016) consiste en l'introduction sur le site dégradé de deux espèces forestières (*Tetraclinis articulata* et *Schinus terebinthifolius*) associées ou non à deux légumineuses (*Retama monosperma* et/ou *Lotus creticus*). Parallèlement, la structure des communautés bactériennes des sols rhizosphériques des deux légumineuses provenant de la forêt native et d'un site recolonisé par les services des forêts en 1998 est étudiée afin de suivre l'évolution des communautés bactériennes à l'échelle spatiale.

Il ressort de notre étude que l'évolution de la structure des communautés bactériennes diffère selon l'espèce de plante. En effet, dans le cas de *Tetraclinis articulata*, même si la transplantation a échoué, la structure des communautés bactériennes du sol a évolué avec le temps et plus précisément sous l'association *Retama monosperma* ou *Lotus creticus* malgré sa bonne croissance et son efficacité à coloniser un milieu dégradé. Cependant, il n'en ait pas de même pour *Schinus terebinthifolius* qui présente une bonne croissance durant les 18 mois. Nous remarquons aucune évolution significative de la structure des communautés bactériennes n'a été observée.

En ce qui concerne les caractéristiques physicochimiques des différents sols étudiés, les teneurs en azote, phosphore et en matière organique sont très faibles, cependant après l'introduction des plantes une légère augmentation de ces paramètres est observée.

Les sols présentent un pH alcalin en début de la plantation qui devient neutre à acide après 18 mois de la transplantation. De plus, une corrélation est observée par l'analyse de co-inertie qui démontre que l'introduction de plantes influence la structure des communautés bactériennes en procurant des nutriments et en modifiant les paramètres édaphiques du sol.

Les espèces végétales introduites dans le cadre de la revégétalisation du site dégradé de la sablière de Terga peuvent également avoir une influence sur les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du sol.

Dans les sites les moins perturbés (forêt native et site recolonisé), les résultats montrent, à 12 mois d'intervalle, que la structure des populations bactériennes reste stable entre les deux prélèvements et sont différentes de celles du site revégétalisé. Les paramètres physicochimiques sont également stables tout au long des 12 mois.

Ces résultats suggèrent que l'introduction de plantes dans des sols anthropiques peut améliorer la dynamique des communautés microbiennes dans le sol et ainsi permettre la réhabilitation de ces sites. Cependant, le choix de plante reste un point essentiel pour une réhabilitation réussie et durable.

Le topsoil pourrait être également utilisé pour améliorer la qualité biologique du sol et permettre une réhabilitation rapide du site.

Afin de mieux comprendre le fonctionnement des communautés microbiennes en réponse aux perturbations anthropiques et à la revégétalisation, une analyse de la structure des communautés fongiques serait nécessaire pour la suite de ce travail. Une analyse de séquences d'ADNr 16S serait également intéressante pour connaître la composition des communautés microbiennes et comment elle évolue à travers le temps et sous l'effet de l'introduction de plantes.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbas Y., Bakkali Yakhlef S.E., Prin Y., Arahou M., Abourouh M. and Duponnois R. 2013. Growth and nutrition of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. cultivated in different rhizosphere soils collected from *Tetraclinis* stand. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. **17** (1) : 3-11pp.
- Acinas S.G., Anton J. and Rodriguez-Valera F. 1999. Diversity of free-living and attached bacteria in offshore western Mediterranean waters as depicted by analysis of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. **65**: 514-522pp.
- Albaladejo J., Martinez-Mena M., Roldan A. and Castillo V. 1998. Soil degradation and desertification induced by vegetation removal in a semiarid environment. *Soil Use and Management*. **14**: 1-5pp.
- Alderton R.P., Eccleston L.M., Howe R.P., Read C.A., Reeve M.A. and Beck S. 1992. Magnetic bead purification of M13 DNA sequencing templates. *Analytical Biochemistry*. **201**: 166-169pp.
- Alef K. and Nannipieri P. (Eds.). 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London: *Academic press*. 576p.
- Aliouche M. 2008. Exploitation des substances utiles à ciel ouvert et impact sur l'environnement; Etude de cas dans l'Est Algérien (Les gisements de Djebel Salah, Région de Constantine). Université Mentouri de Constantine. 113p.
- Amann R.I., Ludwig W. and Schleifer K.H. 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Review*. **59**: 143-169pp.
- Ames R.N., Reid C.P.P. and Ingham E.R. 1984. Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*. **96**: 555-563pp.
- Amrani S., Nazhat-Ezzaman N., Bhatnagar T., Montserrat Argandoña. Nieto J. and Vargas C. 2010. Phenotypic and genotypic characterization of rhizobia associated with *Acacia saligna* (Labill.) Wendl. in nurseries from Algeria. *Systematic and Applied Microbiology*. **33** (1): 44-51pp.
- Anne P. 1945. Le dosage rapide du carbone organique dans les sols. *Ann. Agron.* **2** : 161-172pp.
- Aronson J., Floret C., Le Floch E., Ovalle, C. et Pontanier R. 1995. Restauration et réhabilitation des écosystèmes dégradés en zones arides et semi-arides. Le vocabulaire et les concepts. L'homme peut-il refaire ce qu'il a défait. 11-29pp.
- Aubert G. 1978. Méthodes d'analyses des sols. *CRDP Marseille*. 191.
- Avanis-Aghajani E., Jones K., Chapman D. and Brunk C. 1994. A molecular technique for identification of bacteria using small subunit ribosomal RNA sequences. *BioTechniques*. **17**: 144-149pp.
- Baba S., Kukita Y., Higasa K., Tahira T. and Hayashi K. 2003. Single-stranded conformational polymorphism analysis using automated capillary array electrophoresis apparatuses. *Biotechniques*. **34**: 746-750pp.

- Babalola O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*. **32**: 1559-1570pp.
- Badraoui M., Souidi B., Merzouk A., Farhat A., M'hamdi A. 1998. Changes of soil qualities under irrigation in the Bahira region of Morocco: Salinization. *Advances in GeoEcology*. 31p.
- Bai Z.G. and Dent D.I. 2006. Global assessment of land degradation and improvement: Pilot study in Kenya, Report 2006/01, ISRIC-World Soil Information, Wageningen. 42p.
- Bais H.P., Walker T.S., Stermitz F.R., Hufbauer R.A. and Vivanco J.M. 2002. Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of ( $\pm$ ) catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology*. **128**: 1173-1179pp.
- Baker G.C., Smith J.J. and Cowan D.A. 2003. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J. Microbiol. Methods*. **55**: 541-555pp.
- Bakken L.R. 1985. Separation and purification of bacteria from soil. *Applied and Environmental Microbiology*. **49**: 1482-1487pp.
- Bardgett R. D., Leemans D. K., Cook R., and Hobbs P. J. 1997. Seasonality of the soil biota of grazed and ungrazed hill grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*. **29**: 1285–1294pp.
- Bekki A. 1986. Fixation d'azote en conditions de stress salin chez *Medicago* : sensibilité respective des partenaires symbiotiques. Thèse de doctorat. Université des Sciences techniques de Nice. France. 88p.
- Bekki A., Trinchant J.C. and Rigaud J. 1987. Nitrogen fixation ( $C_2H_4$  reduction) by *Medicago* nodules and bacteroids under sodium Chloride stress. *Physiologia Plantarum*. **71**: 61-67pp.
- Benadis, C., Bekki, A., Khoulassa, S., Boukhatem Z.F. et Drevon J.J. 2014. Mycorrhizal colonization decreases respiration of common bean nodulated root in hydroaerobic culture. *Symbiosis*. **62** : 135-142pp.
- Benderradji M., Alatou D., Arfa A. et Benachour K. 2006. Problèmes de dégradation de l'environnement par la désertification et la déforestation-Impact du phénomène en Algérie. Université Mentouri, Constantine. *New Medit*. **4** : 22p.
- Benlhadj Djelloul S., Ighilhariz Z., Boukhatem Z. F., Duponnois R., de Lajudie P. and Bekki A. 2016. Plant soil symbioses, role in Terga (West of Algeria) sandpit rehabilitation. *International Journal of Biosciences*. **9(1)**: 148-161pp.
- Bergsland K.J. and Haselkorn R. 1991. Evolutionary relationships among *eubacteria*, *cyanobacteria*, and chloroplasts: evidence from the rpoC1 gene of *Anabaena sp.* strain PCC 7120. *Journal of Bacteriology*. **173**: 3446-3455pp.
- Bernhard-Reversat F. 1993. Dynamic of litter and organic matter at the interface in fast growing tree plantations non sandy ferrallitic soils (Congo). *Acta Oecologica*. **14**: 179-195pp.

- Bever J.D. 2003. Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist*. **157**:465-473pp.
- Birtles R.J. and Raoult D. 1996. Comparison of partial citrate synthase gene (gltA) sequences for phylogenetic analysis of *Bartonella* species. *International journal of systematic bacteriology*. **46**: 891-897pp.
- Boom R., Sol C., Weel J., Lettinga K., Gerrits Y., Van Breda A., Wertheim- Van Dillen P. 2000. Detection and quantitation of human cytomegalovirus DNA in *faeces*. *Journal of Virological Methods*. **84**: 1-14pp.
- Borneman J., and Triplett E. W. 1997. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**: 2647-2653pp.
- Boschker H.TS., Nold S.C., Wellsbury P., Bos D., de Graaf W., Pel R. *et al.*, 1998. Direct linking of microbial populations to specific biogeochemical processes by C-13-labelling of biomarkers. *Nature*. **392**: 801-805pp.
- Boudiaf I., Baudoin E., Sanguin H., Beddiar A., Thioulouse J., Galiana A., Prin Y., Le Roux C., Lebrun M. and Duponnois R. 2013. The exotic legume tree species, *Acacia mearnsii*, alters microbial soil functionalities and the early development of a native tree species, *Quercus suber*, in North Africa. *Soil Biology & Biochemistry*. **65**: 172-179pp.
- Boukhatem Z.F., Domergue O., Bekki A., Merabet C., Sekkour S., Bouazza F., Duponnois R., de Lajudie P. and Galiana A. 2012. Symbiotic characterization and diversity of rhizobia associated with native and introduced acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. *FEMS Microbiology Ecology*. **80(3)** : 534-547pp.
- Bowen G.D. and Rovira A.D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. In: Sparks D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy* (66). *Academic Press*. 1-102.
- Boyer S.L., Flechtner V.R. and Johansen J.R. 2001. Is the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in *Cyanobacteria*. *Molecular Biology and Evolution*. **18**: 1057-1069pp.
- Brabant, P. 2008. Activités humaines et dégradation des terres. Indicateurs et indices. *Planète terre, Géosciences au Service de l'Humanité, IRD*, 1-3p. Consulté dans <http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010045188>
- Bradshaw A. 1997. Restoration of mined lands using natural processes. *Ecological Engineering*. **8**: 255-269pp.
- Brahimi S. 2011. Valorisation du potentiel des associations symbiotiques (Légumineuses spontanées-*Rhizobia*) pour la revégétalisation des carrières. Mémoire de Magistère. Université Oran1 Ahmed Ben Bella. 142p.
- Brennan K. 1996. Flowering and fruiting phenology of native plants in the Alligator Rivers Region with particular reference to the Ranger uranium mine lease area. *Supervising Scientist*. 45p.



- Bridge P. and Spooner B. 2001. Soil fungi: diversity and detection. *Plant Soil*. **232**: 147-154pp.
- Brock T.D. 1987. The study of microorganisms *in situ*: progress and problems. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* **41**: 1-17pp.
- Brown S. and Lugo A.E. 1994. Rehabilitation of tropical lands: a key to sustaining development. *Restoration Ecology*. **2**: 97-111pp.
- Brownstein M.J., Carpten J. D and Smith J.R. 1996. Modulation of non-templated nucleotide addition by Taq DNA polymerase: primer modifications that facilitate genotyping. *BioTechniques*. **20**: 1004-1010pp.
- Brundrett M.C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*. **21**: 171–313pp.
- Buckling A., Kassen R., Bell G. and Rainey P.B. 2000. Disturbance and diversity in experimental microcosms. *Nature*. **408**: 961-964pp.
- Callot G. and Dupuis M. 1980. The active limestone soils and its significance. *Science of soil, Ball AFES*. **1** : 17-26pp.
- Cardenas E. and Tiedje J.M. 2008. New tools for discovering and characterizing microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology*. **19**: 544-549pp.
- Carruthers J., Robin L., Hattingh J., Kull C. Rangan H. and Van Wilgen B. W. 2011. A native at home and abroad: the history, politics, ethics and aesthetics of *Acacia*. *Diversity and Distributions*. **17**: 810-821pp.
- Carson J.K., Rooney D., Gleeson D.B. and Clipson N. 2007. Altering the mineral composition of soil causes a shift in microbial community structure. *FEMS Microbiology Ecology*. **61**: 414- 423pp.
- Cebron A., Beguiristain T., Faure P., Norini M.P. Masfaraud J.F. and Leyval C. 2009. Influence of vegetation on the *in situ* bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-Contaminated or thermal-desorption-treated soil. *Applied and Environmental Microbiology*. **75 (19)**: 6322–6330pp. doi:10.1128/AEM.02862-08.
- Charles-Dominique P. 1995. Interactions plantes-animaux frugivores, conséquences sur la dissémination des graines et la régénération forestière. *Revue de l'Ecologie (Terre et Vie)*. Vol. **50** : 223-235pp.
- Chaussod R. 1996. La qualité biologique des sols: Evaluation et implications. Forum “le sol, un patrimoine menacé?”. Paris. 261-278pp.
- Chesson P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **31**: 343-366pp.
- Cho J.C. and Tiedje J.M. 2001. Bacterial species determination from DNA–DNA hybridization by using genome fragments and DNA microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**: 3677–3682pp.

- Citeau L., Bispo A., Bardy M. and King D. 2008. Gestion durable des sols. In Quae (Ed.), *Référentiel pédologique*. Versailles, France. 320p.
- Costa R., Götz M., Mrotzek N., Lottmann J., Berg G. and Smalla K. 2006. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS Microbiology Ecology*. **56**: 236-249pp.
- Crosaz Y. 1995. Le matériel végétal: un outil pour la protection des sols. Bulletin du réseau Érosion. **5** : 449-460pp.
- Cycoń M., Markowicz A. and Piotrowska-Seget Z. 2013. Structural and functional diversity of bacterial community in soil treated with the herbicide napropamide estimated by the DGGE, CLPP and r/K-strategy approaches. *Applied Soil Ecology*. **72**: 242-250pp.
- Daho I. 2012. Etude du potentiel local en granulats pour une utilisation optimale. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Génie Civile. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. 124p.
- Dakora F. D. and Phillips D. A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*. **245**: 35-47pp.
- Dazy M., Jung V., Féraud J.F. and Masfaraud J.F. 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere*. **74**: 57-63pp.
- Decaëns T., Galvis J.H. et Amézquita E. 2001. Propriétés des structures produites par les ingénieurs écologiques à la surface du sol d'une savane colombienne. *Sciences de la vie / Life Sciences*. **324** : 465 – 478pp.
- Delmont T.O., Robe P., Cecillon S., Clark I.M., Constancias F., Simonet P., Hirsch P.R. and Vogel T.M. 2010. Accessing the soil metagenome for studies of microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*. **77**: 1315-1324pp.
- Dennis P.G., Miller A.J. and Hirsch P.R. 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiology Ecology*. **72**:313-327pp.
- Dequiedt S., Lelièvre M., Jolivet C., Saby N.P.A., Martin M., Thioulouse J., Maron P.A., Mougé C., Chemidlin Prévost-Bouré N., Arrouays D., Lemanceau P. et Ranjard L. 2009. ECOMIC-RMQS : biogéographie microbienne à l'échelle de la France. Etat d'avancement et premiers résultats. *Étude et Gestion des Sols*. **16**: 219-231pp.
- DGM 2010. Direction Générale des mines. Bilan des Activités minières de 2009 Ed. 104p.
- Diagne N., Svistoonoff S., Bogusz, D. and Duponnois R. 2013. *Casuarina* in Africa : Distribution, role and importance of arbuscular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and *Frankia* on plant development. *Journal of Environmental Management*. 204-209pp.
- Diaz-Zorita M., Perfect E. and Grove J.H. 2002. Disruptive methods for assessing soil structure. *Soil & Tillage Research*. **64**: 3-22pp.

- Ding G.C., Smalla K., Heuer H., Zuhlke S., Spiteller M., Pronk G.J. *et al.* 2010. Soil type-dependent responses to phenanthrene as revealed by determining the diversity and abundance of polycyclic aromatic hydrocarbon ring-hydroxylating dioxygenase genes by using a novel PCR detection system. *Applied and Environmental Microbiology*. **76**: 4765-4771pp.
- Diouf D., Fall D., Kane A., Bakhoum N., Ba A. T., Ba A.M. and Duponnois R. 2013. Effet de l'inoculation avec des souches de *mesorhizobium* sp. et/ou des champignons mycorrhiziens à arbuscules sur la croissance et la nutrition minérale de plants d'A. *Seyal Del.* In Duponnois R., Hafidi M., Ndoeye B., Ramanankierana H. and BÂ M.A. (2013). *Des Champignons Symbiotiques Contre La Désertification*. IRD Ed. Marseille. 511p.
- Doledec S. and Chessel D. (1994). Co-inertia analysis - an alternative method for studying species environment relationships. *Freshwater Biology*. **31(3)**: 277–294pp.
- Donald C.M. 1958. The interaction of competition for light and for nutrient. *Australian Journal of Agricultural Research*. **9**: 421-435pp.
- Dong D., Yan A., Liu H., Zhang X. and Xu Y. 2006. Removal of humic substances from soil DNA using aluminium sulfate. *Journal of Microbiological Methods*. **66**: 217-222pp.
- Dorigo U., Volatier L. and Humbert J.F. 2005. Molecular approaches to the assessment of biodiversity in aquatic microbial communities. *Water Research*. **39**: 2207–2218pp.
- Dou Y., Lu J., Kang L., Wang S., Jiang Y. and Liao S. 2012. Biodiversity of Rhizobia associated with *Acacia melanoxylon* grown in South China. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. **52(12)** : 1439-1448pp.
- Dray, S., Chessel, D. and Thioulouse, J. 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology*, **84 (11)** : 3078–3089pp.
- Drouet T. 2010. Cours de pédologie. <http://www.ulb.ac.be/sciences/lagev>. **81**.
- Dubourguier H.C., Petit D., Deram A. et Logeay C. 2001. Le phytomanagement : éléments de synthèse. Pôle de compétence sites et sédiments pollués, Lille, 53p.
- Duengai K., Sithithaworn P., Rudrappa U.K., Iddya K., Laha T., Stensvold C.R., Strandgaard H. and Johansen M.V. 2008. Improvement of PCR for detection of *Opisthorchis viverrini* DNA in human stool samples. *Journal of Clinical Microbiology*. **46**: 366-368pp.
- Duineveld B.M., Kowalchuk G.A., Keijzer A., van Elsas J.D. and van Veen J.A. 2001. Analysis of bacterial communities in the rhizosphere of chrysanthemum via denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rRNA as well as DNA fragments coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**: 172-178pp.
- Duponnois R., Hafidi M., Ndoeye B., Ramanankierana H. et Amadou B. 2013. *Des Champignons Symbiotiques Contre La Désertification*. IRD Ed. Marseille. 511p.
- Duponnois R., Plenchette C., Ba A.M. 2001. Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology*. **124** :181–186pp.

- Durand J.H. 1983. Les sols irrigables, Etude pédologique. Ed. Département de géographie de l'université de Paris – Sorbonne. 389p.
- El Azhari N., Bru D., Sarr A. and Martin-Laurent F. 2008. Estimation of the density of the protocatechuate-degrading bacterial community in soil by real-time PCR. *European Journal of Soil Science*. **59**: 665-673pp.
- El Euch F. 2000. Rôle de l'*Acacia cyanophylla* dans l'alimentation du Cheptel en Tunisie. CIHEAM-Options Méditerranéennes, Zaragoza, Spain. 431-434pp.
- Engelen B., Meinken K., Witzingerode F., Heuer H., Malkomes P. H. and Backhaus H. 1998. Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprint in addition to conventional testing procedures. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**: 2814–2821pp.
- Eriksson M., Sodersten E., Yu Z., Dalhammar G. and Mohn W.W. 2003. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing conditions in enrichment cultures from northern soils. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**:275–284pp.
- Ewel J., Ojima D., Karl D., *et al.*, 1982. *Schinus* in successional ecosystems of Everglades National Park. National Park Service, South Florida Research Center, Everglades National Park. Homestead. 676–141pp.
- FAO 2008. [http://www.goodplanet.info/Pollutions/Sols/Degradation-des-sols/\(theme\)/1662](http://www.goodplanet.info/Pollutions/Sols/Degradation-des-sols/(theme)/1662).
- Farhat A. 1995. Effets de l'irrigation par pivot sur la qualité des sols dans la Bahira: situation actuelle et perspectives de développement. Thèse de 3ème cycle, IAV Hassan II, Département Sci. Sol. Maroc.
- Faugier A., 2010. Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires « the rare biosphere ». Thèse de doctorat. Ecole centrale de Lyon. Lyon, France. 174p.
- Felske A., and Akkermans A.D.L. 1998. Spatial homogeneity of abundant bacterial 16SrRNA molecules in grassland soils. *Microbial Ecology*. **36**: 31–36p.
- Fierer N. and Jackson R.B. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **103**: 626–631p.
- Fierer N. and Lennon J.T. 2011. The generation and maintenance of diversity in microbial communities. *American Journal of Botany*. **98**: 439-448pp.
- Fierer N., Bradford M.A. and Jackson R.B. 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*. **88**: 1354–1364pp.
- Fierer N., Jackson J.A., Vilgalys R., Jackson R.B. 2005. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 4117–4120pp.

- Fierer N., Schimel J. P. and Holden P. A. 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology & Biochemistry*. **35(1)**: 167-176pp.
- Fischer S.G. and Lerman L.S. 1979. Length-independent separation of DNA restriction fragments in two-dimensional gel electrophoresis. *Cell*.**16**:191–200pp.
- Fischer S.G. and Lerman L.S. 1983. CNA fragments differing by single base-pair substitutions are separated in denaturing gradient gels: correspondence with melting theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* **80**: 1579-1583pp.
- Fisher M.M. and Triplett E.W. 1999. Automated approach for ribosomal intergenic spacer analysis of microbial diversity and its application to freshwater bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. **65**: 4630-4636pp.
- Fogel G.B., Collins C.R., Li J. and Brunk C.F. 1999. Prokaryotic genome size and SSU rDNA copy number: estimation of microbial relative abundance from a mixed population. *Microbial Ecology*. **38**: 93-113pp.
- Fortin N., Beaumier D., Lee K. and Greer C.W. 2004. Soil washing improves the recovery of total community DNA from polluted and high organic content sediments. *Journal of Microbiological Methods*. **56**: 181-191pp.
- Founoune H., Duponnois R., Bâ A.M., El Bouami F. 2002. Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal / ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn. ex G. Don) in glasshouse conditions. *Annals of Forest Sciences*. **59**: 93-98pp.
- Franco A.A., Campello E.F., Dias L.E. and De Faria S.M. 1994. Revegetation of acidic residues from Bauxite mining in Porto Trombetas-PA using nodulated and mycorrhizal legume trees. To be presented at Ist Latin American symposium on soil reclamation, *Foz de Iguaçu*, Brasil, 8p.
- Fredrickson J.K., Zachara J.M., Balkwill D.L., Kennedy D., Li S.M., Kostandarithes H.M., Daly M.J., Romine M.F. and Brockman F.J. 2004. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state. *Applied and Environmental Microbiology*. **70**: 4230-4241pp.
- Furukawa K. 2003. 'Super bugs' for bioremediation. *Trends Biotechnol.* **21**: 187-190pp.
- Gall J.G. and Pardue M.L. 1969. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytogenetical preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **63** : 378-383pp.
- Gan L., Peng X., Peth S. and Horn R. 2012. Effects of grazing intensity on soil water regime and flux in Inner Mongolia grassland, China. *Pedosphere*. **22(2)**: 165-177pp.
- Gandolfi I., Bestetti G., Sicolo M., Franzetti A., Fontanarosa E. and Santagostino A. 2010. Influence of compost amendment on microbial community and ecotoxicity of hydrocarbon- contaminated soils. *Bioresource Technology*. **101**: 568-575pp.



- Gelsomino A., Keijzer-Wolters A.C., Cacco G. and van Elsas J.D. 1999. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Microbiological Methods*. **38**: 1-15pp.
- Ghodbani T. 2008. Extractions du sable dunaire à Terga plage, Algérie ouest, impacts sur l'environnement, conflits d'usagers et outils de gestion. In Proceedings of the international pluridisciplinary conference "Le littoral : subir, dire, agir". Lille, France, 11p.
- Ghodbani T. 2009. Environnement et littoralisation dans l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algérie et Université de Paris 8, Vincennes, Saint-Denis, France. 306p.
- Gignoux J., House J., Hall D., Masse D., Nacro H.B. and Abbadie L. 2001. Design and test of a generic cohort model of soil organic matter decomposition: the SOMKO model. *Global Ecology and Biogeography*. **10**: 639–660pp.
- Glaser P. 2005. Les puces à ADN vont-elles révolutionner l'identification des bactéries? *Medecine Sciences*. **21**: 539-544pp.
- Gomez E., Ferreras L. and Toresani S. 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technology*. **97**: 1484–1489pp.
- Gonzalez N., Romero J. and Espejo R.T. 2003. Comprehensive detection of bacterial populations by PCR amplification of the 16S-23S rRNA spacer region. *Journal of Microbiological Methods*. **55**: 91- 97pp.
- Goutal N. 2012. Modifications et restauration de propriétés physiques et chimiques de deux sols forestiers soumis au passage d'un engin d'exploitation. Thèse de doctorat à L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech). Paris. 224p.
- Grayston S.J., Wang S., Campbell C.D. and Edwards A.C. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*. **30**: 369-378pp.
- Gros R., Monrozier L.J., Bartoli F., Chotte J.L. and Faivre P. 2004. Relationships between soil physicochemical properties and microbial activity along a restoration chronosequence of alpine grasslands following ski run construction. *Applied Soil Ecology*. **27**:7-22pp. doi:10.1016/j.apsoil.2004.03.004
- GTZ 2001. Guide des études d'impact sur l'environnement, projet : renforcement des capacités institutionnelles de l'environnement, ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement.
- Harris J. 2003. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science*. 801–808pp.
- Hartmann A., Schmid M., Van Tuinen D. and Berg G. 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*. **321(1-2)**: 235–257pp.
- Hatimi A. et Tahrouch S. 2007. Caractérisation chimique, botanique et microbiologique du sol des dunes littorales du Souss-Massa. *Biomatec Echo*. **2(5)**: 85-97pp.

- Hattenschwiler S., Tiunov A.V. and Scheu S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **36**: 191-218pp.
- Hawksworth D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*. **105**: 1422p.
- Hayashi K. 1991. PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *PCR Methods and Application*. **1**: 34-38pp.
- Hazen T.C., Dubinsky E.A., DeSantis T.Z., Andersen G.L., Piceno Y.M., Singh N. *et al.*, 2010. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. *Science*. **330**: 204-208pp.
- He Z., Deng Y., Van Nostrand J.D., Tu Q., Xu M., Hemme C.L. and Zhou J. 2010. GeoChip 3.0 as a high-throughput tool for analyzing microbial community composition, structure and functional activity. *The ISME Journal*. **4(9)**: 1167–1179pp.
- Herrera A., Héry M., Stach J. E. M. Jaffré, T. Normand P. and Navarro E. 2007. Species richness and phylogenetic diversity comparisons of soil microbial communities affected by nickel-mining and revegetation efforts in New Caledonia. *European Journal of Soil Biology*. **43**: 130–139pp.
- Héry M., A. Herrera, T.M. Vogel, P. Normand, E. Navarro 2005. Effect of carbon and nitrogen input on the bacterial community structure of Neocaledonian nickel mine spoils, *FEMS Microbiol. Ecol.* **51**: 333-340pp.
- Héry M., Nazaret S., Jaffré T., Normand P. and Navarro E. 2003. Adaptation to nickel spiking of bacterial communities in neocaledonian soils. *Environmental Microbiology*. **5**: 3-12pp.
- Hodge A., Campbell C.D. and Fitter A.H. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature*. **413**: 297-299pp.
- Hopfl P., Ludwig W., Schleifer K.H. and Larsen N. 1989. The 23S ribosomal RNA higher-order structure of *Pseudomonas cepacia* and other prokaryotes. *European Journal of Biochemistry*. **185**: 355-364pp.
- Hugenholtz P. 2002. Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biology*. 3p.
- Hulugalle N.R. 1992. Amelioration of highly degraded tropical alfisol by planting. I Changes in soil physical and chemical properties 1989-91. *Land degradation & Rehabilitation*. **3**: 141-152pp.
- Hüttl R.F. and Schneider B.U. 1998. Forest degradation and rehabilitation. *Ecological Engineering*. **10**: 19-31pp.
- Hutton E.M.A. 1982. Selection and breeding of *Leucaena* for very acid soils. In: *Leucaena research in the Asian-Pacific region*. IRDC, Ottawa, Canada. 23-26pp.

- Huybens N., Mainil J. et Marlier D. 2009. Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. Synthèse. *Annales de Médecine Vétérinaire*. **153** : 112-128pp.
- Ighilhariz Z., Benguesmia R., Benelhadj Djelloul S., Sekour S., Mansouri M. L. et Bekki A. 2013. In Duponnois R., Hafidi M., Ndoye B., Ramanankierana H. et Amadou B. 2013. Des champignons symbiotiques contre La désertification. IRD Ed. Marseille. 511p.
- Jaffré T. et Rigault F. 1991. Recherches sur les possibilités d'implantation végétales sur sites miniers. In: rapport n°4. Convention ORSTOM/SLN, Nouméa.
- Jaffré T., Latham M. et Schmid M. 1977. Aspects de l'influence de l'extraction du minerai de nickel sur la végétation et les sols en Nouvelle Calédonie. Cahier O.R.S.T.O.M., série Biologie, vol. XII. **4** : 307-321pp.
- Jaffré T., McCoy S., Rigault F. and Navarro E. 2001. A comparative study of flora and symbiotic microflora diversity in two *Gymnostoma* formations on ultramafic rocks in New Caledonia. *South African journal of science*. **97**: 599-603pp.
- Jaffré T., Rigault F. et Sarrailh J.M. 1994. La végétalisation des anciens sites miniers. *Bois et Forêts des Tropiques*. **242**:45-57pp.
- Jamagne M. 1967. Bases et techniques d'une cartographie des sols. *Ann. Agron.* **18**: 142p.
- Jameson E., Joint I., Mann N. and Mühling M. 2008. Application of a novel rpoC1 -RFLP approach reveals that marine *Prochlorococcus* populations in the Atlantic gyres are composed of greater microdiversity than previously described. *Microbial Ecology*. **55**: 141-151pp.
- Janssen P.H. 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*. **72**: 1719-1728pp.
- Jensen M.A., Webster J.A. and Straus N. 1993. Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Applied and Environmental Microbiology*. **59**: 945-952pp.
- Jensen S.I., Kuhl M. and Prieme A. 2007. Different bacterial communities associated with the roots and bulk sediment of the seagrass *Zosteramarina*. *FEMS Microbiology Ecology*. **62**: 108-117pp.
- Johnson N.C., Graham J.H. and Smith F.A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*. **135**:575-586pp.
- Joret G. et Hebert J. 1955. Contribution à la détermination du besoin des sols en acidephosphorique. *Annual Agronomy*. **2** : 233-299pp.
- Kang S.H. and Mills A.L. 2004. Soil bacterial community structure changes following disturbance of the overlying plant community. *Soil Science*. **169**: 55-65pp.
- Khalfi A. et Taleb C. 2014. Contribution à l'étude d'impact environnemental de l'exploitation minière souterraine et de rejets de traitement (cas de la mine de Chaabet el-Hamra, Ain Azel, Wilaya de Sétif). Master en Géorressources et Substances Utiles. Université de Tlemcen. 67p.



- Kirk J.L., Beaudette L.A., Hart M., Moutoglis P., Klironomos J.N., Lee H. and Trevors J.T. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*. **58**: 169-188pp.
- Kjeldahl J. 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Zeitschreft fur Analytische chemie*. **22** : 366-382pp.
- Koske R.E. and Halvorson W.L. 1981. Ecological studies of vesicular-arbuscular mycorrhizae in barrier sand dune. *Canadian Journal of Botany*. **59**: 1413-1422pp.
- Kowalchuk G.A., Buma D.S., de Boer W., Klinkhamer P.G.L. and van Veen J.A. 2002. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *AV Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*. **81**: 509-520pp.
- Kozdroj J. and Van Elsas J. D. 2000. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches. *Soil Biology and Biochemistry*. **32** : 1405–1417pp.
- Krafczyk I., Trolldenier G. and Beringer H. 1984. Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biology & Biochemistry*. **16**: 315-322pp.
- Kuske C.R., Banton K.L., Adorada D.L., Stark P.C., Hill K.K. and Jackson P.J. 1998. Small-scale DNA sample preparation method for field PCR detection of microbial cells and spores in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**: 2463–2472pp.
- Kuske C.R., Ticknor L.O., Miller M.E., Dunbar J.M., Davis J.A., Barns S.M. and Belnap J. 2002. Comparison of soil bacterial communities in rhizospheres of three plant species and the interspaces in an arid grassland. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**: 1854- 1863pp.
- Lal R. 1997. Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **352**: 997–1010pp.
- Lalam N. 2006. Estimation of the reaction efficiency in polymerase chain reaction. *J. Theor. Biol.* **242**: 947-953pp.
- Lamb D. and Lawrence P. 1993. Mixed plantations using high value rainforest trees in Australia. In: *Restoration of tropical forest ecosystems* (ed. Lieth H, Janzen H). Kluwer Academic Publishers. 101-108pp.
- Langeland K. A. and Burks K.C. 1998. Identification and biology of non-native plants in Florida's natural areas. Gainesville, FL: University of Florida, 165p.
- Laroche F.B. and Baker G.E. 1994. Evaluation of several herbicides and application techniques for the control of Brazilian pepper. *Aquatics*. **16**: 18–20pp.
- Laroche O. 2011. Revégétalisation de sites miniers et valorisation de boues de stations d'épuration : cas de la Nouvelle-Calédonie. Obtention du grade de Maitre en Environnement. Centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke, Canada. 128p.

- Lauber C. L., Strickland M.S., Bradford M.A. and Fierer N. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*. **40**: 2407–2415pp.
- Lauber C.L., Hamady M., Knight R. and Fierer N. 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *c*. **75**: 5111–5120pp.
- Laudicina V.A., Dennis P. G., Palazzolo E. and Badalucco L. 2011. Key biochemical attributes to assess soil ecosystem sustainability in environmental protection strategies for sustainable development, strategies for sustainability. eds. Malik A. and Grohmann E. 2012. 193-224pp.
- Lee D.H., Zo Y.G. and Kim S.J. 1996. Non-radioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR single strand conformation polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology*. **62**: 3112–3120pp.
- Lee K.E. 1985. Earthworms. Their ecology and relationships with soils and land use. *Academic press*. 411p.
- Lehmann A. and Stahr K. 2007. Nature and significance of anthropogenic urban soils. *J Soils Sediments*. **7**: 247–260pp.
- Lejon D., Nowak, V., Bouko S., Pascault N., Mougél C., Martins J. and Ranjard L. 2007. Fingerprinting and diversity of bacterial copA genes in response to soil types, soil organic status and copper contamination. *FEMS Microbiology Ecology*. **61** : 424–437pp.
- Lejon D.P.H., Chaussod R., Ranger J. and Ranjard L. 2005. Microbial community structure and density under different tree species in an acid forest soil (Morvan, France). *Microbial Ecology*. **50(4)**: 614-625pp.
- Lemanceau P., Pivato B., Mougél C., Avoscan L. et Mazurier S. 2012. Diversité et activités microbiennes dans la rhizosphère : des atouts majeurs en agroécologie. Colloque Alliances au pays des racines. Inra, UMR1347 Agroécologie. Dijon. 42-45pp.
- Leys N.M., Ryngaert A., Bastiaens L., Verstraete W., Top E.M. and Springael D. 2004. Occurrence and phylogenetic diversity of Sphingomonas strains in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol*. **70**: 1944-1955pp.
- Li Z., Xu J., Tang C., Wu J., Muhammad A. and Wang H. 2006. Application of 16S rDNA-PCR amplification and DGGE fingerprinting for detection of shift in microbial community diversity in Cu-, Zn-, and Cd-contaminated paddy soils. *Chemosphere*. **62**: 1374-1380pp.
- Liu W.T., Marsh T.L., Cheng H. and Forney L.J. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**: 4516–4522pp.
- Loisel P., Harmand J., Zemb O., Latrille E., Lobry C., Delgenès J.P. and Godon J.J. 2006. Denaturing gradient electrophoresis (DGE) and single-strand conformation polymorphism (SSCP) molecular fingerprintings revisited by simulation and used as a tool to measure microbial diversity. *Environmental Microbiology*. **8**: 720–731pp.

- Lorenzo P., Pereira C.S. and Rodríguez-Echeverría S. 2013. Differential impact on soil microbes of allelopathic compounds released by the invasive *Acacia dealbata* Link. *Soil Biology Biochemistry*. **57**: 156-163pp.
- Lucy M., Reed E. and Glick B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **86**: 1-25pp.
- Lugo A.E. 1992. Tree plantations for rehabilitating damaged forest lands in tropics. In: *Ecosystems Rehabilitation*, volume 2 : *Ecosystem analysis and synthesis* (ed. Wali MK). SPB Academic Publisher, The Hague, Netherlands. 247-255pp.
- Lugtenberg B. and Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*. **63**: 541-556pp.
- Lynch J.M. and Whipps J.M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*. **129**: 1-10pp.
- Maarit Niemi R., Heiskanen I., Wallenius K. and Lindstrom K. 2001. Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia. *Journal of Microbiological Methods*. **45**: 155-165pp.
- Mahendra J.K., Yu B.Z., Rogers J.M., Smith A.E., Boger E.T., Ostrander R.L. and Rheingold A.L. 1995. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry*. **39 (3)**: 537-547pp.
- Manefield M., Whiteley A.S., Griffiths R.I. and Bailey M.J. 2002. RNA stable isotope probing, a novel means of linking microbial community function to Phylogeny. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**: 5367-5373pp.
- Mansouri L.M. 2010. Production d'inoculum de *Rhizobium* nodulant *Acacia saligna* pour la revégétalisation de la carrière de Terga (Ain Témouchent). Mémoire de Magistère. Université Oran 1 Ahmed Benbella. 118p.
- Marchante E., Kjølner A., Struwe S. and Freitas H. 2009. Soil recovery after removal of the N<sub>2</sub>-fixing invasive *Acacia longifolia*: consequences for ecosystem restoration. *Biological Invasions*. **11**: 813-823pp.
- Marchante H., Marchante E. and Freitas H. 2003. Invasion of the Portuguese dune ecosystems by the exotic species *Acacia longifolia* (Andrews) Willd. : effects at the community level. In: *Plant Invasion: Ecological Threats and Management Solutions*. Edited by: Child L.E., Brock J.H., Brundu G., Prach K., Pyšek P., Wade P.M. and Williamson M. *Backhuys Publishers*. 75-85pp.
- Maron J.L., Marler M., Klironomos J.N. and Cleveland C.C. 2011. Soil fungal pathogens and the relationship between plant diversity and productivity. *Ecology letters*. **14**: 36-41pp.
- Martin F. 2011. Biodiversité bactérienne dans un sol pollué par les hydrocarbures: analyse par marquage isotopique du potentiel métabolique et de la dynamique des communautés. Thèse de Doctorat. Université de Grenoble. 278p.
- Massol-Deya A., Weller R., Rios-Hernandez L., Zhou Z., Hickey R.E. and Tiedje M. 1997. Succession and convergence of biofilm communities in fixed-film reactors treating

- aromatic hydrocarbons in groundwater. *Applied of Environmental Microbiology*. **63** : 270-276pp.
- Mathieu C. et Ruellan A. 1980. Evolution morphologique des sols irrigués en région méditerranéenne semi-aride. Cahier ORSTOM, Série pédologie. **13** : 3-25pp.
- Mathieu T., Bermont L., Boyer J.C., Versuyft C., Evrard A., Cuvelier I., Couderc R., Peoc'h K. 2012. Champs lexicaux de la médecine prédictive et personnalisée. *Annales de Biologie Clinique*. **70(6)** : 651-658pp.
- Mc Inerney J.O., Wilkinson M., Patching J.W., Embley T.M. and Powell R. 1995. Recovery and phylogenetic analysis of novel archaeal rRNA sequences from a deep-sea deposit feeder. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**: 1646-1648pp.
- McGill W.B. in: Powlson D.S., Smith P., Smith J.U. (Eds.) 1996. Evaluation of Soil Organic Matter Models. *Springer*, Published in cooperation with *NATO Scientific Affairs Division*. 111-132pp.
- McHardy A.C. and Rigoutsos I. 2007. What's in the mix: phylogenetic classification of metagenome sequence samples. *Current Opinion in Microbiology*. **10**: 499-503pp.
- Meade H.M., Long S.R., Ruvkun G.B., Brown S.E. and Ausubel F.M. 1982. Physical and genetic characterization of symbiotic and auxotrophic mutants of *Rhizobium meliloti* induced by transposon Tn5 mutagenesis. *Journal of Bacteriology*. **149**: 114-122pp.
- Medeiros P.M., Fernandes M.F., Dick R.P. and Simoneit B.R.T. 2006. Seasonal variations in sugar contents and microbial community in a ryegrass soil. *Chemosphere*. **65**: 832-839pp.
- Medina A., Mateo R., Lopez- Ocana L., Valle-Algarra F.M. and Jimenez M. 2005. Study of Spanish grape mycobiota and ochratoxin A production by isolates of *Aspergillus tubingensis* and other members of *Aspergillus* section Nigri. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**: 4696-4702pp.
- Meharg A.A., Killham K. 1988. A comparison of carbon flow from pre-labelled and pulse-labelled plants. *Plant and Soil*. **112**: 225-231pp.
- Merabet C., Bekki A., Benrabah N., Baba-Hamed B.M. Bouchentouf L., Ameziane H., Rezki M.A., Domergue O., Cleyet-Marel J.C., Avarre J.C., Bnab G., Bailly X. et de Lajudie P. 2006. Distribution of *Medicago* Species and Their Microsymbionts in a Saline Region of Algeria. *Arid Land Research and Management*. **20(3)**: 219-231pp.
- Merbach W., Mirus E., Knof G., Remus R., Ruppel S., Russow R., Gransee A. and Schulze J. 1999. Release of carbon and nitrogen compounds by plant roots and theirs possible ecological importance. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. **162**: 787-796pp.
- Miller R.M. and Jastrow J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In *Kapulnik Y. and Douds D.D. Jr. (eds.), Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 3-18pp.

- Mimoune S. 1995. Gestion des sols salés et désertification dans une cuvette endoréique d'Algérie (Sud du Chott El Hodna). Thèse Doctorat. Université Aix-Marseille I, France. 209p.
- Mincheol K., Eunjung H., Hojeong K. and Jonathan A. 2013. Changes in soil bacterial community structure with increasing disturbance frequency. *Microbial Ecology*. **66** (1): 171–181pp. doi:10.1007/s00248-013-0237-9.
- Mola I., Jiménez M. D., López-Jiménez N., Casado M. A. and Balaguer L. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology*. **19**: 83–92pp.
- Monier J.M. et Cécillon S. 2015. Les outils de biologie moléculaire et leur utilisation dans le domaine de la gestion des sites pollués. *Synthèse. ADEME*. 39p.
- Mouffak A., Tsaki H. Bekki A. and Krabia L. 2014. Bio-revegetation impact on the physicochemical characteristics of a sandy quarry soil in Terga beach region in Algeria. *Journal of Agriculture Science*. 6p.
- Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G. and Erlich H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. **51**: 263-273pp.
- Muyzer G. 1999. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*. **2**: 317-322pp.
- Muyzer G., de Waal E.C. and Uitterlinden A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. **59**:695–700pp.
- Myers R.T., Zak D. R., White D. C. and Peacock A. 2001. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*. **65**(2): 359-367pp.
- Nacke H., Thurmer A., Wollherr A., Will C., Hodac L. *et al.*, 2011. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLOS ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0017000.
- Nagpal M.L., Fox K.F. and Fox A. 1998. Utility of 16S-23S rRNA spacer region methodology: how similar are interspace regions within a genome and between strains for closely related organisms? *J. Microbiol. Methods*. **33**: 211-219pp.
- Nataraj A.J., Olivos-Glander I., Kusukawa N. and Highsmith W.E. 1999. Single strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for gel-based mutation detection. *Electrophoresis*. **20**: 1177-1185pp.
- Navarro E., Fabrègue O., Scorretti R., Reboulet J., Simonet P. *et al.*, 2015. Risa Aligner software for aligning fluorescence data between Agilent 2100 Bioanalyzer chips: Application to soil microbial community analysis. *Biotechniques, Eaton Publishing*. **59**(6): 347-358pp.



- Nehila A. 2016. Symbioses telluriques : Rôle et mécanisme de Tolérance aux stress abiotiques. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella. Algérie. 198p.
- Nemir A., David M.M., Perrussel R., Sapkota A, Simonet P., Monier J.M. *et al.* 2010. Comparative phylogenetic microarray analysis of microbial communities in TCE-contaminated soils. *Chemosphere*. **80**: 600-607pp.
- Neufeld J.D., Mohn W.W. and de Lorenzo V. 2006. Composition of microbial communities in hexachlorocyclohexane (HCH) contaminated soils from Spain revealed with a habitat-specific microarray. *Environmental Microbiology*. **8**: 126-140pp.
- Nickerson K. and Flory S.L. 2015. Competitive and allelopathic effects of the invasive shrub *Schinus terebinthifolius* (Brazilian pepper tree). *Biological Invasions*. 555–564pp.
- Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M. and Thonart P. 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnologie Agronomie Société Et Environnement*. **15 (2)**: 327–337pp.
- Nocker A., Burr M. and Camper A. 2007. Genotypic microbial community profiling: a critical technical review. *Microbial Ecology*. **54**: 276-289pp.
- Norton J.M. and Firestone M.K. 1991. Metabolic status of bacteria and fungi in the rhizosphere of *Ponderosa pine* seedlings. *Soil Biology & Biochemistry*. **22**: 449-455pp.
- Ogola S.J., Mitullah W.N. and Omulo M.A. 2002. Impact of Gold mining on the Environment and Human Health: A Case Study in the Migori Gold Belt, Kenya. *Environmental Geochemistry and Health*. **24 (2)**: 141p.
- Olsen G.J., Lane D.J., Giovannoni S.J., Pace N.R. and Stahl D.A. 1986. Microbial ecology and evolution: a ribosomal RNA approach. *Annu. Rev. Microbiol.* **40**: 337-365pp.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- Oren A. 2004. Prokaryote diversity and taxonomy: current status and future challenges. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B: Biological sciences*. **359**: 623-638pp.
- Orita M., Iwahana H., Kanazawa H., Hayashi K. and Sekiya T. 1989. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Processing National Academy of Sciences of the USA*. **86**: 2766–2770pp.
- Ouédraogo, S.J. 1995. Les parcs agroforestiers au Burkina Faso. Rapport AFRENA N°79.
- Ould Dah M., Khaldi A. et Rejeb M. 2005. Essai de végétalisation de dunes littorales : cas du complexe dunaire d'Eghirane (Mogods, Tunisie). *Sècheresse*. **16 (4)** : 255-260pp.
- Ovreas L. and Torsvik V. 1998. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microbial Ecology*. **36**: 303–315pp.
- Pace N.R., Stahl D.A., Lane D.J. and Olsen G.J. 1985. Analyzing natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *ASM News*. **51** : 4-12pp.

- Parrotta J.A. 1992. The role of plantation forests in rehabilitating degraded tropical ecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **41**: 115-133pp.
- Parrotta J.A. 1993. Secondary forest regeneration on degraded tropical lands. In: *Restoration of tropical forest ecosystems* (eds. Lieth H., Janzen H. and Lohmann M.A.). Kluwer Academic Publishers. 63- 73pp.
- Parrotta J.A. and Knowles O.H. 2001. Restoring tropical forests on lands mined for bauxite: Examples from the Brazilian Amazon. *Ecological Engineering*. **17**: 219-239pp.
- Pascault N., Cécillon L., Mathieu O., Hénault C., Sarr A., Lévêque J., Farcy P., Ranjard L. and Maron P.A. 2010. *In situ* dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape and alfalfa residues. *Microbial Ecology*. **60** : 816-828pp.
- Paulitz T. and Linderman R.G. 1989. Interactions between fluorescent *pseudomonas* and VA mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. **113**: 37-45pp.
- Pelletier B. and Esterle M. 1995. Revegetation of nickel mines in New Caledonia. Colloquium : Quelle recherche française en environnement dans le Pacifique Sud?. Bilan et Perspectives. Paris, France. 9p.
- Peng J.J., Cai C., Qiao M., Li H. and Zhu Y.G. 2010. Dynamic changes in functional gene copy numbers and microbial communities during degradation of pyrene in soils. *Environmental Pollution*. **158**: 2872-2879pp.
- Peterson G., Allen C.R. and Holling C.S. 1998. Ecological resilience, biodiversity, and scale. *Ecosystems*. **1**: 6-18pp.
- Pietrzykowski M. and Krzaklewski W. 2007. Soil organic matter, C and N accumulation during natural succession and reclamation in an open cast sand quarry (southern Poland). *Archives of Agronomy and Soil Science*. **53**: 473–483pp.
- Pimentel D., Wilson C., McCullum C., Huang R., Dwen P., Flack J., Tran Q., Saltman T. and Cliff B. 1997. Economic and environmental benefits of biodiversity. *BioScience*. **47** : 747-757pp.
- Poynton R. J. 2009. Tree planting in Southern Africa. Other genera. Pretoria, Afrique du Sud, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries. Vol. 3.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. 2003. Microbiologie. 2e éd. française. De Boeck. 1137p.
- Prieto C., Jara C., Mas A. and Romero J. 2007. Application of molecular methods for analysing the distribution and diversity of acetic acid bacteria in Chilean vineyards. *International Journal of Food Microbiology*. **115**: 348–355pp.
- Prosser J., Jansson J.K. and Liu W. 2010. Nucleic-acid-based characterization of community structure and function. In: Liu W.T. and Jansson J.K. (eds). Environmental Molecular Microbiology. *Caister Academic Press*. 63-86p.

- Pumphrey G.M., Ranchou-Peyruse A. and Spain J.C. 2011. Cultivation-independent detection of autotrophic hydrogen-oxidizing bacteria by DNA stable-isotope probing. *Applied and Environmental Microbiology*. **77**: 4931-4938pp.
- Qiu X.Y., Wu L.Y., Huang H.S., McDonel P.E., Palumbo A.V., Tiedje J.M. and Zhou J.Z. 2001. Evaluation of PCR-generated chimeras: Mutations, and heteroduplexes with 16S rRNA gene-based cloning. *Applied And Environmental Microbiology*. **67**: 880-887pp.
- Quézel P. et Médail F. 2003. Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. *Elsevier (Collection Environnement)*. Paris. 573p.
- Radajewski S., Ineson P., Parekh N.R. and Murrell J.C. 2000. Stable isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature*. **403**: 646– 649pp.
- Ramakrishna R.S. and Narasimham R.L. 1988. Effects of soil compaction in sugarcane: part I on soil moisture, porosity and nitrification. *International Journal of Tropical Agriculture*. **6**: 221-226pp.
- Ramanankierana N., Rakotoarimange N., Thioulouse J., Kisa M., Randrianjohany E., Ramaroson L. and Duponnois R. 2006. The Ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences*. **1**: 8-19pp.
- Ramette A. 2007. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*. **62**: 142-160pp.
- Ramette A. 2009. Quantitative community fingerprinting methods for estimating the abundance of operational taxonomic units in natural microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. **75**: 2495-2505pp.
- Ranjard L., Brothier E. and Nazaret S. 2000a. Sequencing bands of ribosomal intergenic spacer analysis fingerprints for characterization and microscale distribution of soil bacterium populations responding to mercury spiking. *Applied and Environmental Microbiology*. **66**: 5334–5339pp.
- Ranjard L., Poly F., Combrisson J., Richaume A., Gourbiere F., Thioulouse J. and Nazaret S. 2000b. Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (RISA). *Microbial Ecology*. **39**: 263–272pp.
- Ranjard L., Poly F. and Nazaret S. 2001. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. *Research in Microbiology*. **151** :167-177pp.
- Rappé M.S. and Giovannoni S.J. 2003. The uncultured microbial majority. *Annual Review of Microbiology*. **57**: 369-394pp.
- Räsänen L.A. and Lindström K. 2003. Effects of biotic and abiotic constraints on the symbiosis between Rhizobia and the tropical leguminous trees *Acacia* and *Prosopis*. *Indian Journal of Experimental Biology*. **41**: 1142-1152pp.
- Rascher K.G., Große-Stoltenberg A., Máguas C. and Werner C. 2011a. Understorey Invasion by *Acacia longifolia* alters the water balance and carbon gain of a Mediterranean pine forest. *Ecosystems*. **14**: 904-919pp.



- Rascher K.G., Große-stoltenberg A., Máguas C. and Meiraneto J.A.A. 2011b. *Acacia longifolia* invasion impacts vegetation structure and regeneration dynamics in open dunes and pine forests. *Biological Invasions*. **13**: 1099-1113pp.
- Rastogi G. and Rajesh Sani .K. 2011. Molecular Techniques to Assess Microbial Community Structure, Function, and Dynamics in the Environment. 29-58p. In Ahmad I. *et al.* (eds.), *Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications*.
- Rate W., Lee K. M. and French P.A. 2004. Application of biosolids in mineral sands mine rehabilitation: use of stockpiled topsoil decreases trace element uptake by plants. *Bioresour Technol* Application of biosolids in mineral sands mine rehabilitation : use of stockpiled topsoil decreases trac. *Bioresource Technology*. 223–231pp.
- Remigi P., Faye A., Kane A., Deruaz M., Thioulouse J., Cissoko M., Prin Y., Galiana A., Dreyfus B. and Duponnois R. 2008. The exotic legume tree species *Acacia holosericea* alters microbial soil functionalities and the structure of the Arbuscular mycorrhizal community. *Applied and Environmental Microbiology*. **74 (5)**: 1485-1493pp.
- Requena N., Jimenez I., Toro M. and Barea J.M. 1997. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium spp.* in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystems. *New Phytologist*. **136**: 667–677pp.
- Requena N., Perez-solis E., Azcon-Aguilar C., Jeffries P. and Barea J. 2001. Management of indigenous Plant-Microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*. **67(2)** : 495–498pp. doi:10.1128/AEM.67.2.495
- Rey F., Ballais J.L., Marrec A. et Rovérad G. 2004. Rôle de la végétation dans la protection contre l'érosion hydrique de surface. *Comptes Rendus Geosciences*. **336** : 991-998pp.
- Rice E.L. 1984. Allelopathy. 2<sup>nd</sup> edition. Orlando: Academic Press. 422p.
- Ridenour W.M. and Callaway R.M. 2001. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia*. **126**: 444-450pp.
- Rillig M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*. **7**: 740–754pp. doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00620.x
- Rodriguez-Blanco A., Ghiglione J.F., Catala P., Casamayor E.O., Lebaron P. 2009. Spatial comparison of total vs. active bacterial populations by coupling genetic fingerprinting and clone library analyses in the NW Mediterranean Sea. *FEMS Microbiology Ecology*. **67**: 30-42pp.
- Rodriguez-Echeverria S., Le Roux J. J., Crisóstomo J. A. and Ndlovu J. 2011. Jack-of-all-trades and master of many? How does associated rhizobial diversity influence the colonization success of Australian *Acacia* species? *Diversity and Distributions*. **17**: 946-957pp.
- Rogers B.F. and Tate R.L. 2001. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. *Soil Biology and Biochemistry*. **33**: 1389–1401pp.

- Rokich D.P., Dixon K. W., Sivasithamparam K. and Meney K.A. 2001. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology*. **8**: 196–208pp.
- Rosa G.L., Carolis E.D., Sali M., Papacchini M., Riccardi C., Mansi A., Paba E., Alquati C., Bestetti G. and Muscillo M. 2006. Genetic diversity of bacterial strains isolated from soils, contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, by 16S rRNA gene sequencing and amplified fragment length polymorphism fingerprinting. *Microbiological Research*. **161**: 150- 157pp.
- Rösch C., Eilmus S. and Bothe H. 2006. Approaches to assess the biodiversity of bacteria in natural habitats. *Biochemical Society Transactions*. **34**: 169-173pp.
- Rosenbaum V. and Riesner D. 1987. Temperature-gradient gel electrophoresis: thermodynamic analysis of nucleic acids and proteins in purified form and in cellular extracts. *Biophysical Chemistry*. **26**: 235-246pp.
- Rousk J., Brookes P.C. and Baath E. 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*. **75(6)**: 1589–1596pp. doi:10.1128/AEM.02775-08.
- Sadeghifard N., Gurtler V., Beer M. and Seviour R.J. 2006. The mosaic nature of intergenic 16S-23S rRNA spacer regions suggests rRNA operon copy number variation in *Clostridium difficile* strains. *Applied and Environmental Microbiology*. **72** : 7311-7323pp.
- Sait M., Hugenholtz P. and Janssen P.H. 2002. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. *Environ Microbiol*. **4** : 654-666pp.
- Salomons N. 1995. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention. *Journal of Geochemical Exploration*. **52**: 5-23pp.
- Sanguin H., Khouliissa S., Zarik L., Gryta H., Boumezzough A., Ouahmane L., Hafidi M., Ouhammou A., Prin Y., Dreyfus B., Cambecedes J., Miché L., Gauquelin T. et Duponnois R. 2013. Rôles potentiels de la symbiose mycorhizienne dans la conservation des populations méditerranéennes de Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.). *Ecologia Mediterranea*. **39 (1)** : 99-107pp.
- Sarrailh J.M. 1990. L'opération ECEREX. Etudes sur la mise en valeur de l'écosystème forestier guyanais. Après déboisement. Le point sur les recherches en cours. Bois et Forêts des Tropiques, 219, Spécial Guyane. 79-97pp.
- Satokari R.M., VAughan E.E., Smidt H., Saarela M., Matto J. and De Vos W.M. 2003. Molecular approaches for the detection and identification of *bifidobacteria* and *lactobacilli* in the human gastrointestinal tract. *Systematic and Applied Microbiology*. **26**: 572-584pp.
- Schäfer H., Servais P. and Muyzer G. 2000. Successional changes in the genetic diversity of a marine bacterial assemblage during confinement. *Archives of Microbiology*. **173**:138–145pp.

- Schlatter D. C., Bakker M. G., Bradeen J. M. and Kinkel L. L. 2015. Plant community richness and microbial interactions structure bacterial communities in soil. *Ecology*. **96(1)**: 134–142pp.
- Schlöter M., Dilly O. and Munch J.C. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric Ecosyst Environ*. **98**:255-262pp.
- Schuurman T., De Boer R., Patty R., Kooistra-Smid M. and Van Zwet A. 2007. Comparative evaluation of in-house manual, and commercial semi-automated and automated DNA extraction platforms in the sample preparation of human stool specimens for a *Salmonella enterica* 5'-nuclease assay. *Journal of Microbiological Methods*. **71**: 238-245pp.
- Scupham A.J. 2007. Succession in the intestinal microbiota of preadolescent turkeys. *FEMS Microbiology Ecology*. **60**: 136-147pp.
- Secilia J. and Bagyaraj D.J. 1987. *Bacteria* and actinomycetes associated with pot cultures of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Canadian Journal of Microbiology*. **33**: 1067-1073pp.
- Sekkour S. 2007. Essai d'introduction d'un couple symbiotique *Rhizobium-Acacia saligna* pour la revégétalisation de la Sablière de Sidi Lakhdar (Wilaya de Mostaganem). Mémoire de magister, laboratoire de Biotechnologie des Rhizobiums et Amélioration des Plantes. Département de Biotechnologie. Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algérie.
- Sette L., Simioni K., Vasconcellos S., Dussan L., Neto E. and Oliveira V. 2007. Analysis of the composition of bacterial communities in oil reservoirs from a southern offshore Brazilian basin. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **91**: 253- 266pp.
- Sharma S., Radl V., Hai B., Kloos K., Mrkonjic Fuka M., Engel M., Schauss K. and Schlöter M. 2007. Quantification of functional genes from procaryotes in soil by PCR. *Journal of Microbiological Methods*. **68**: 445-452pp.
- Shifang P., Hua F. and Changgui W. 2008. Changes in soil properties and vegetation following exclosure and grazing in degraded Alxa desert steppe of Inner Mongolia. *China Agriculture, Ecosystems and Environment*. **124**: 33-39pp.
- Siciliano S. D., Germida J. J., Banks K. and Greer C. W. 2003. Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**: 483–489pp.
- Singh B.K., Tate K.R., Kolipaka G., Hedley C.B., Macdonald C.A., Millard P. and Murrell J.C. 2007. Effect of afforestation and reforestation of pastures on the activity and population dynamics of methanotrophic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. **73**: 5153-5161pp.
- Slimani H., Aidoud A. and Roze F. 2010. 30 Years of protection and monitoring of a steppic rangeland undergoing desertification. *Journal of Arid Environments*. **74** : 685-691pp.
- Smalla K., Wieland G., Buchner A., Zock A., Parzy J., Kaiser S., Roskot N., Heuer H. and Berg G. 2001. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**:4742–4751pp.

- Smit E., Leeftang P. and Wernars K. 1997. Detection of shifts in microbial community structure and diversity in soil caused by copper contamination using amplified ribosomal DNA restriction analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. **23**: 249–261pp.
- Soultos N. and Madden R.H. 2007. A genotyping investigation of the colonization of piglets by *Campylobacter coli* in the first 10 weeks of life. *Journal of Applied Microbiology*. **102**: 916-920pp.
- Sourkova M., Frouz J. and Santruckova H. 2005. Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma*. **124**: 203–214pp.
- Sparling G. 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research*. **30**: 195.
- Staley J.T. and Konopka, A. (1985). Measurement of *in situ* activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annual Review of Microbiology*. **39**: 321–346pp.
- StatSoft Inc. 1984-2003. Version 6.
- Stevens K.L. 1986. Allelopathic polyacetylenes from *Centaurea repens* Russian knapweed. *Journal of Chemical Ecology*. **12**: 1205-1212pp.
- Stursová M., Zifčáková L., Leigh M.B., Burgess R. and Baldrian P. 2012. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiology Ecology*. **80**:735–746pp.
- Swift M.J., Andren O., Brussard L., Briones M., Couteaux M. M., Ekschmitt K., Kjoller A., Loiseau P. and Smith P. 1998. Global change, soil biodiversity, and nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: three case studies. *Global Change Biology*. **74**: 729– 743pp.
- Taleb Narsis S. 2012. Contribution à l'étude d'impact de l'exploitation du gisement ferrifère de la mine de l'Ouenza sur l'environnement. *Thèse de Magistère*. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 90p.
- Tapia-Coral S., Luizão F.J., Barros E., Pashanasi B. and Castillo D., 2006. Effect of *Pontoscolex corethrurus* Muller, 1857 (Oligochaeta: Glossoscolecidae) inoculation on litter weight loss and soil nitrogen in mesocosms in the peruvian Amazon. *Caribbean Journal of Science*. **42 (3)** : 410 – 418pp.
- Terrat S., Christen R., Dequiedt S., Lelievre M., Nowak V., Regnier T., Bachar D., Plassart P., Wincker P., Jolivet C., Bispo A., Lemanceau P., Maron P. A., Mougél C. and Ranjard L. 2012. Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microbial Biotechnology*. **5**:135–141pp.
- Theodorakopoulos N. 2013. Analyse de la biodiversité bactérienne d'un sol contaminé de la zone d'exclusion de Tchernobyl et caractérisation de l'interaction engagée par une souche de *Microbacterium* avec l'uranium. Thèse de Doctorat. Université d'Aix-Marseille. 198p.

- Thioulouse J. and Dray S. 2007. Interactive multivariate data analysis in R with the ade4 and ade4TkGUI packages. *Journal of Statistical Software*. **22**: 1-14pp.
- Thornton L. 1996. Impacts of mining on the environment; some local, regional and global issues. *Applied Geochemistry*. **11**: 355-361pp.
- Tiedje J.M. and Stein J.L. 1999. Microbial Biodiversity: Strategies for its recovery. In Demain A.L. and Davie J. (eds.). *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Amer. Soc. Microbiol. 682-692pp.
- Tiedje J.M., Asuming-Brempong S., Nusslein K., Marsh T.L. and Flynn S.J. 1999. Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied Soil Ecology*. **13**: 109-122pp.
- Tilman D.T. 1986. Evolution and differentiation in terrestrial plant communities: The importance of the soil resource : light gradient. Case T., Diamond J. (Eds.). *Community ecology*. Harper and Row. New York. 359-380pp.
- Tisdall J.M. and Oades J.M. 1982. Organic matter and water-sable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science*. **33**: 141-163pp.
- Torsvik V., Daae F.L., Sandaa R.A., Oslash, Vreas L. 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology*. **64**: 53-62pp.
- Torsvik V., Goksoyr J. and Daae F.L. 1990a. High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. **56**: 782-787pp.
- Torsvik V., Salte K., Sørheim R. and Goksøyr J. 1990. Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. **56**: 776-781pp.
- Toth I.K., Avrova A.O. and Hyman L.J. 2001. Rapid identification and differentiation of the soft rot erwinias by 16S-23S intergenic transcribed spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**: 4070-4076pp.
- Tsutui H. 1991. Agricultural development and environmental conservation (Policy of FAO). *Irrigation Engineering and Rural Planning*. **21**: 49-65pp.
- UNEP 2007. United Nations Environment Program, Global Environment Outlook (GEO-4), Nairobi. 572p.
- Van De Peer Y., Chapelle S. and De Wachter R. 1996. A quantitative map of nucleotide substitution rates in bacterial rRNA. *Nucleic Acids Research*. **24**: 3381-3391pp.
- Van Der Vliet G.M., Schepers P., Schukkink R.A., Van Gemen B. and Klatser P.R. 1994. Assessment of mycobacterial viability by RNA amplification. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **38**: 1959-1965pp.
- Viggor S., Juhanson J., Jõesaar M., Mitt M., Truu J., Vedler E., Heinaru A. 2013. Dynamic changes in the structure of microbial communities in Baltic Sea coastal seawater

- microcosms modified by crude oil, shale oil or diesel fuel. *Microbiological Research*. **168**: 415-427pp.
- Walker T. S., Bais H. P., Grotewold E. and Vivanco J. M. 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology*. **132**: 144–151pp.
- Wang J., Van Nostrand J.D., Wu L.Y., He Z.L., Li G.H. and Zhou J.Z. 2011. Microarray-based evaluation of whole-community genome DNA amplification methods. *Applied and Environmental Microbiology*. **77**: 4241-4245pp.
- Warembourg F.R. 1975. Applications de techniques radioisotopiques à l'étude de l'activité biologique dans la rhizosphère des plantes. *Revue d'Ecologie et de Biologie des Sols*. **12**: 261-272pp.
- Warren H.T. and Glossop B.L. 1980. Assessment of topsoil handling techniques for rehabilitation of sites mined for Bauxite within the Jarrah Forest of Western Australia. *Journal of Applied Ecology*. **17(1)**: 195-201pp.
- Wayne L.G. Brenner D.J., Colwell R.R., Grimont P.A.D., Kandler O., Krichevsky M.I., Moore L.H., Moore W.E.C., Murray R.G.E., Stackebrandt E., Starr M.P. and Truper H.G. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International journal of systematic bacteriology*. **37**: 463-464p.
- Whipps J.M. 1990. Carbon economy. *In*: Lynch J.M., ed. The rhizosphere. Chichester, UK: Wiley & Son. 59-87pp.
- Whitehouse C.A. and Hottel H.E. 2007. Comparison of five commercial DNA extraction kits for the recovery of *Francisella tularensis* DNA from spiked soil samples. *Mol. Cell. Probes*. **21**: 92- 96pp.
- Wilkinson S. C. and Anderson J. M. 2001. Spatial patterns of soil microbial communities in a Norway spruce (*Picea abies*) plantation. *Microbial Ecology*. **42(3)**: 248-255pp.
- Willison J.C. 2004. Isolation and characterization of a novel sphingomonad capable of growth with chrysene as sole carbon and energy source. *FEMS Microbiology Letters*. **241**: 143-150pp.
- Wilson I.G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**: 3741-3751pp.
- Wilson M. and Hanlon E.A. 2012. Florida reclaimed phosphate mine soils : Characteristics, potential uses, and management landforms in phosphate mine areas. Gainesville, FL: University of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences. 1–11pp.
- Winogradsky S. 1887. Über Schwefelbakterien. *Bot Ztg*. **45**:489–600pp.
- Woese C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*. **51**: 221-271pp.
- Wong M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. **50**: 775–780pp. doi:10.1016/S0045-6535(02)00232-1.



- Woodall S.L. 1982. Herbicide tests for control of Brazilian Pepper and *Melaleuca* in Florida. Southeastern Forest Experiment Station, Asheville, N. C. USDA Forest Service Research. 10p.
- Xu J.G. and Juma N.G. 1993. Above-and below-ground transformation of photosynthetically fixed carbon by two barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in a typical cryoboroll. *Soil Biology & Biochemistry*. **25**: 1263-1272pp.
- Yannarell A.C. and Triplett W. 2005. Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**: 227–239pp.
- Zeng Y., Liu W., Li H., Yu Y. and Chen B. 2007. Effect of restriction endonucleases on assessment of biodiversity of cultivable polar marine planktonic bacteria by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *Extremophiles*. **11**: 685-692pp.
- Zhang B.W., Li M., Ma L.C. and Wei F.W. 2006. A widely applicable protocol for DNA isolation from fecal samples. *Biochemical Genetics*. **44**: 503-512pp.
- Zhang H. and Chu L.M. 2011. Plant community structure, soil properties and microbial characteristics in revegetated quarries. *Ecological Engineering*. **37**: 1104–1111pp.
- Zhou J., Bruns M.A. and Tiedje J.M. 1996. DNA recovery from soils of diverse composition. *Applied and Environmental Microbiology*. **62**: 316–322pp.
- Zinger L. 2009. Variations spatio-temporelles de la microflore des sols alpins. Thèse de doctorat. Biodiversité Ecologie Environnement. Laboratoire d'Ecologie Alpine. Université Joseph Fourier Grenoble. 258p.
- Zinger L., Gury J., Giraud F., Krivobok S., Gielly L., Taberlet P. and Geremia R.A. 2007. Improvements of polymerase chain reaction and capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism methods in microbial ecology: toward a high-throughput method for microbial diversity studies in soil. *Microbial Ecology*. **54**: 203–216pp.

# **ANNEXES**



## ANNEXE

### Annexe 1

Tableau représentant tous les échantillons prélevés avec : leurs plantes associées, le site de prélèvement, la date de prélèvement, type de sol et le code de chaque échantillon

	Nom		Site	Date de prélèvement	Sol	Code
	Nom abrégé	Sols				
<b>T=0</b>	FNR1	Forêt Native. Sol Rhizosphérique de <i>Retama monosperma</i>	<b>Forêt Native</b>	07.05.2012	rhizosphérique	1
	FNR2			07.05.2012	rhizosphérique	2
	FNR3			07.05.2012	rhizosphérique	3
	FNL1	Forêt Native. Sol Rhizosphérique de <i>Lotus creticus</i>		07.05.2012	rhizosphérique	4
	FNL2			07.05.2012	rhizosphérique	5
	FNL3			07.05.2012	rhizosphérique	6
	FNN1	Forêt Native. Sol Naturel Nu		07.05.2012	nu	7
	FNN2			07.05.2012	nu	8
	FNN3			07.05.2012	nu	9
	SRR1	Site Recolonisé. Sol Rhizosphérique du <i>Retama monosperma</i>	<b>Site Recolonisé</b>	07.05.2012	rhizosphérique	10
	SRR2			07.05.2012	rhizosphérique	11
	SRR3			07.05.2012	rhizosphérique	12
	SRL1	Site Recolonisé. Sol Rhizosphérique du <i>Lotus creticus</i>		07.05.2012	rhizosphérique	13
	SRL2			07.05.2012	rhizosphérique	14
	SRL3			07.05.2012	rhizosphérique	15
	SRN1	Site Recolonisé. Sol Naturel Nu		07.05.2012	nu	16
	SRN2			07.05.2012	nu	17
	SRN3			07.05.2012	nu	18
	T1	<i>Tetraclinis articulata</i>	<b>Site de revégétalisation</b>	02.05.2012	rhizosphérique	19
	T2			02.05.2012	rhizosphérique	20
	T3			02.05.2012	rhizosphérique	21

	TR1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i>	02.05.2012	rhizosphérique	22
	TR2		02.05.2012	rhizosphérique	23
	TR3		02.05.2012	rhizosphérique	24
	TL1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Lotus creticus</i>	02.05.2012	rhizosphérique	25
	TL2		02.05.2012	rhizosphérique	26
	TL3		02.05.2012	rhizosphérique	27
	TM1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i> + <i>Lotus creticus</i>	02.05.2012	rhizosphérique	28
	TM2		02.05.2012	rhizosphérique	29
	TM3		02.05.2012	rhizosphérique	30
	S1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	02.05.2012	rhizosphérique	31
	S2		02.05.2012	rhizosphérique	32
	S3		02.05.2012	rhizosphérique	33
	SR1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Retama monosperma</i>	02.05.2012	rhizosphérique	34
	SR2		02.05.2012	rhizosphérique	35
	SR3		02.05.2012	rhizosphérique	36
	SL1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i>	02.05.2012	rhizosphérique	37
	SL2		02.05.2012	rhizosphérique	38
	SL3		02.05.2012	rhizosphérique	39
	SM1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i> + <i>Retama monosperma</i>	02.05.2012	rhizosphérique	40
	SM2		02.05.2012	rhizosphérique	41
	SM3		02.05.2012	rhizosphérique	42
	SN1	Sol Dégadé	02.05.2012	nu	43
	SN2		02.05.2012	nu	44
	SN3		02.05.2012	nu	45
<b>T= 6 mois</b>	T+1'	<i>Tetraclinis articulata</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	46
	T+1''		07.11.2012	Rhizosphérique	47
	T 1		07.11.2012	Rhizosphérique	48
	T 2		07.11.2012	Rhizosphérique	49
	T 3		07.11.2012	Rhizosphérique	50
	TR 1		<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i>	07.11.2012	Rhizosphérique

	TR 2		07.11.2012	Rhizosphérique	52
	TR 3		07.11.2012	Rhizosphérique	53
	TL +1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Lotus creticus</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	54
	TL 1		07.11.2012	Rhizosphérique	55
	TL 2		07.11.2012	Rhizosphérique	56
	TL 3		07.11.2012	Rhizosphérique	57
	TM +1		<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i> + <i>Lotus creticus</i>	07.11.2012	Rhizosphérique
	TM1	07.11.2012		Rhizosphérique	59
	TM2	07.11.2012		Rhizosphérique	60
	TM 3	07.11.2012		Rhizosphérique	61
	S1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	62
	S2		07.11.2012	Rhizosphérique	63
	S3		07.11.2012	Rhizosphérique	64
	SR1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Retama monosperma</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	65
	SR2		07.11.2012	Rhizosphérique	66
	SR3		07.11.2012	Rhizosphérique	67
	SL1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	68
	SL2		07.11.2012	Rhizosphérique	69
	SL3		07.11.2012	Rhizosphérique	70
	SM1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i> + <i>Retama monosperma</i>	07.11.2012	Rhizosphérique	71
	SM2		07.11.2012	Rhizosphérique	72
	SM3		07.11.2012	Rhizosphérique	73
	SN1	SolDégradé	07.11.2012	Rhizosphérique	74
	SN2		07.11.2012	Rhizosphérique	75
	SN3		07.11.2012	Rhizosphérique	76
<b>T= 12 mois</b>	FNR1	Forêt Native. Sol Rhizosphérique du <i>Retama monosperma</i>	23.05.2013	rhizosphérique	77
	FNR2		23.05.2013	rhizosphérique	78
	FNR3		23.05.2013	rhizosphérique	79
	FNL1	Forêt Native. Sol Rhizosphérique du <i>Lotus creticus</i>	23.05.2013	rhizosphérique	80
	FNL2		23.05.2013	rhizosphérique	81
			<b>Forêt Native</b>		

FNL3			23.05.2013	rhizosphérique	82
FNN1	Forêt Native. Sol Naturel Nu		23.05.2013	nu	83
FNN2			23.05.2013	nu	84
FNN3			23.05.2013	nu	85
SRR1		Site Recolonié. Sol Rhizosphérique du <i>Retama monosperma</i>		23.05.2013	rhizosphérique
SRR2			23.05.2013	rhizosphérique	87
SRR3			23.05.2013	rhizosphérique	88
SRL1	Site Recolonisé. Sol Rhizosphérique du <i>Lotus creticus</i>	<b>Site Recolonisé</b>	23.05.2013	rhizosphérique	89
SRL2			23.05.2013	rhizosphérique	90
SRL3			23.05.2013	rhizosphérique	91
SRN1	Site Recolonisé. Sol Naturel Nu		23.05.2013	nu	92
SRN2			23.05.2013	nu	93
SRN3			23.05.2013	nu	94
T+1'	<i>Tetraclinis articulata</i>	<b>Site de revégétalisation</b>	09.05.2013	Rhizosphérique	95
T+1"			09.05.2013	Rhizosphérique	96
T 1			09.05.2013	Rhizosphérique	97
T 2			09.05.2013	Rhizosphérique	98
T 3			09.05.2013	Rhizosphérique	99
TR 1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	100
TR 2			09.05.2013	Rhizosphérique	101
TR 3			09.05.2013	Rhizosphérique	102
TL +1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Lotus creticus</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	103
TL 1			09.05.2013	Rhizosphérique	104
TL 2			09.05.2013	Rhizosphérique	105
TL 3			09.05.2013	Rhizosphérique	106
TM +1	<i>Tetraclinis articulata</i> + <i>Retama monosperma</i> + <i>Lotus creticus</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	107
TM1			09.05.2013	Rhizosphérique	108
TM2			09.05.2013	Rhizosphérique	109
TM 3			09.05.2013	Rhizosphérique	110
S1	<i>Schinus terebinthifolius</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	111

	S2			09.05.2013	Rhizosphérique	112
	S3			09.05.2013	Rhizosphérique	113
	SR1	<i>Schinus terebinthifolius + Retama monosperma</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	114
	SR2			09.05.2013	Rhizosphérique	115
	SR3			09.05.2013	Rhizosphérique	116
	SL1	<i>Schinus terebinthifolius + Lotus creticus</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	117
	SL2			09.05.2013	Rhizosphérique	118
	SL3			09.05.2013	Rhizosphérique	119
	SM1	<i>Schinus terebinthifolius + Lotus creticus + Retama monosperma</i>		09.05.2013	Rhizosphérique	120
	SM2			09.05.2013	Rhizosphérique	121
	SM3			09.05.2013	Rhizosphérique	122
	SN1	Sol Dégadé	<b>Site de revégétalisation</b>	09.05.2013	Nu	123
	SN2			09.05.2013	Nu	124
	SN3			09.05.2013	Nu	125
<b>T= 18 mois</b>	T+1'	<i>Tetraclinis articulata</i>	<b>site de revégétalisation</b>	21.11.2013	Rhizosphérique	126
	T+1"			21.11.2013	Rhizosphérique	127
	T 1			21.11.2013	Rhizosphérique	128
	T 2			21.11.2013	Rhizosphérique	129
	T 3			21.11.2013	Rhizosphérique	130
	TR 1	<i>Tetraclinis articulata + Retama monosperma</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	131
	TR 2			21.11.2013	Rhizosphérique	132
	TR 3			21.11.2013	Rhizosphérique	133
	TL +1	<i>Tetraclinis articulata + Lotus creticus</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	134
	TL 1			21.11.2013	Rhizosphérique	135
	TL 2			21.11.2013	Rhizosphérique	136
	TL 3			21.11.2013	Rhizosphérique	137
	TM +1	<i>Tetraclinis articulata + Retama monosperma + Lotus creticus</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	138
	TM1			21.11.2013	Rhizosphérique	139
	TM 2			21.11.2013	Rhizosphérique	140
TM 3	21.11.2013		Rhizosphérique	141		

S1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	<b>Site de revégétalisation</b>	21.11.2013	Rhizosphérique	142
S2			21.11.2013	Rhizosphérique	143
S3			21.11.2013	Rhizosphérique	144
SR1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Retama monosperma</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	145
SR2			21.11.2013	Rhizosphérique	146
SR3			21.11.2013	Rhizosphérique	147
SL1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	148
SL2			21.11.2013	Rhizosphérique	149
SL3			21.11.2013	Rhizosphérique	150
SM1	<i>Schinus terebinthifolius</i> + <i>Lotus creticus</i> + <i>Retama monosperma</i>		21.11.2013	Rhizosphérique	151
SM2			21.11.2013	Rhizosphérique	152
SM3			21.11.2013	Rhizosphérique	153
SN1	Sol Dégadé		21.11.2013	Rhizosphérique	154
SN2			21.11.2013	Rhizosphérique	155
SN3			21.11.2013	Rhizosphérique	156

## **Annexe 2**

### **Composition de la Gélose Nutritive (GN) :**

Peptone	5 g/l
Extrait de viande de bœuf	1 g/l
Extrait de levure	2 g/l
Chlorure de Sodium	5 g/l
Gélose	15 g/l
pH	7,4 +/- 0,2

### **Annexe 3**

Méthode d'analyses physicochimiques du sol (Laboratoire de FERTIAL).

Analyse granulométrique : ISO 11277

pH : ISO 10390

Conductivité électrique : ISO 11265

Teneur en Azote : ISO 13878

Teneur en Phosphore : ISO 11263



## Annexe 4

### Protocole UltraClean Soil DNA (1g)

- Ajouter 1 g de sol aux tubes « Bead Solution ». Vortexer doucement pour mélanger
- Mélanger solution S1. Si elle est précipitée, chauffer à 60 °C avant utilisation jusqu'à dissolution
- Ajouter 60 µl de solution S1 - inverser plusieurs fois ou vortexer doucement.
- Ajouter 200 µl de Solution IRS (Inhibitor Removal Solution)
- Vortexer à vitesse maximum 10 min (jusqu'à 20 minutes selon le nombre).
- Centrifuger à 10 000 g pendant 30s à température ambiante
- Transférer le surnageant dans un tube de 2 ml (fourni)
- Ajouter 250 µl de solution S2 - Vortexer 5s. Incuber à 4 °C pendant 5min
- Centrifuger à 10 000 g pendant 1 min à température ambiante
- Transférer tout le surnageant dans un tube de 2 ml (fourni)
- Ajouter 650 µl de solution S3, vortexer 5 s.
- Charger environ 700 µl dans un "Spin Filter"
- Centrifuger à 10 000 g pendant 1 min à température ambiante
- Éliminer le liquide écoulé et ajouter le reste de surnageant
- Centrifuger à 10 000 g pendant 1 min à température ambiante. Répéter avec le reste du surnageant
- Ajouter 300 µl de solution S4 - Centrifuger à 10 000 g pendant 30 s à température ambiante. Éliminer le liquide écoulé
- Centrifuger à 10 000 g pendant 1 min à température ambiante
- Placer avec précaution le "Spin filter" dans un tube de 2 ml propre (fourni)
- Ajouter 50 µl de solution S5 au centre de la membrane - On peut utiliser de l'eau UP
- Centrifuger à 10 000 g pendant 30 s à température ambiante
- Enlever le Spin filter
- La solution d'ADN est prête

## Protocole UltraClean Mega Soil DNA (10g)

- Régler un bain-marie à agitation à 65°C avant de commencer.
- Ajouter pour chaque préparation 50ml de solution Bead au tube de 50 Mega bead (**Tubes bead solution**).
- Ajouter 5-10 g de sol au **tube Bead solution**.
- Vortexer vigoureusement pendant 1 min pour mixer.
- Mélanger solution S1. Si elle est précipitée, chauffer à 60 °C avant utilisation jusqu'à dissolution.
- Ajouter 1.2 ml de solution S1 et vortexer vigoureusement 30 s ;
- Ajouter 4 ml de la solution IRS (Inhibitor Removal Solution)
- Placer le **tube bead solution** sur le vortex Adapter. Vortexer fortement pendant 10mn. Alternativement on peut placer les tubes dans le bain marie à 65 °C et mélanger à une vitesse maximale pendant 30min.
- Centrifuger à 2500g pendant 3 min.
- Transférer le surnageant dans un tube (fourni). Le surnageant peut contenir quelques particules du sol.
- Ajouter 2 ml de la solution S2. Vortexer rapidement pour mixer.
- Incuber 4 °C pendant 10min.
- Centrifuger pendant 4 min à 2500 g.
- Transférer le surnageant dans un tube propre (fourni). Eviter de prendre le culot.
- Mélanger solution S3. Ajouter 30 ml de la solution S3 au surnageant puis vortexer rapidement.
- Charger la solution dans le spin Filter. Centrifuger à 2500 g pendant 2 min. Eliminer le liquide écoulé, puis refaire l'étape avec le surnageant restant.
- Ajouter 6 ml de solution S4 et centrifuger pendant 3min à 2500 g.
- Eliminer le liquide écoulé.
- Recentrifuger à 2500g pendant 5 min.
- Placer prudemment le spin Filter dans un nouveau tube propre (fourni). Attention à ne pas prendre de la solution S4 dans le spin filter.
- Ajouter 8 ml de la solution S5 au centre de la membrane du Spin Filter.
- Centrifuger pendant 3min à 2500g.
- Enlever le Spin Filter.
- La solution d'ADN est prête.

## **Annexe 5**

### **Préparation du gel d'agarose à 0,8 %**

Le gel d'agarose est préparé avec

- 0,8 g d'agarose
- 100 ml de TBE (Tris Borate EDTA) à 0,5X
- 5 µl de BET (Bromure d'Ethidium).

### **Préparation du gel d'agarose à 1.2 %**

Le gel d'agarose est préparé avec

- 1,2 g d'agarose
- 100 ml de TBE (Tris Borate EDTA) à 0,5X.
- 5 µl de BET (Bromure d'Ethidium).

## Annexe 6

### **Purification après extraction avec NucleoTrap® Nucleic acid et Protein purification kit**

Rq : vérifier si le buffer NT3 est préparé.

- Ajuster la solution d'ADN :

Ajouter 4 Volumes de NT2 à 1 volume d'échantillon (ex : 400 µl NT2 et 100 µl d'échantillon).

- Lier l'ADN à la silice :

Vortexer la suspension de NucleoTra PCR jusqu'à l'homogénéisation totale.

Pour chaque µg d'ADN ajouter 4µl de silice (ne pas dépasser 10µl).

Incuber le mélange pendant 10min à Température ambiante et vortexer chaque 2-3 min.

Centrifuger pendant 30 s à 10000 x g puis éliminer le surnageant.

- Laver la silice :

1<sup>er</sup> lavage : ajouter 400 µl NT2 au culot puis vortexer pour la resuspension du culot. Centrifuger à 10000 x g pendant 30 s puis éliminer le surnageant.

2<sup>ème</sup> lavage : ajouter 400 µl NT3 au culot puis vortexer pour resuspension du culot. Centrifuger 30 s à 10000 x g puis éliminer le surnageant.

3<sup>ème</sup> lavage : ajouter 400 µl NT3 au culot puis vortexer pour resuspension du culot. Centrifuger 30 s à 10000 x g puis éliminer le surnageant.

- Sécher le culot :

Sécher le culot à 37° C pendant 15 min.

- Eluer l'ADN :

Ajouter 150 µl d'H<sub>2</sub>O Ultra Pure au culot. Vortexer pour la resuspension du culot.

Incuber 15 min à 55° C. vortexer chaque 2-3 min.

Centrifuger à 10000 x g pendant 30 s.

Transférer le surnageant dans un tube propre.

Répéter 2 fois cette dernière étape

### **Purification après extraction avec PowerClean® DNA Clean-Up kit**

- Mettre jusqu'à 150 µl d'échantillon (ADN) dans un tube de 2 ml (fourni). Si le volume est inférieur à 150 µl ajuster avec de l'H<sub>2</sub>O Ultra Pure.
- Ajouter 70 µl de solution 1 Retourner doucement 3 à 5 fois pour mixer
- Ajouter 20 µl de la solution 2 et mélanger doucement 3 à 5 fois pour mixer. Si la solution est précipitée, chauffer à 60°C et retourner doucement le tube (périodiquement) jusqu'à ce qu'il soit complètement dilué.

- Ajouter 85 µl de la solution 3 et mélanger doucement 3/5fois pour mixer. Incuber à 4° C pendant 5 min.
- Centrifuger à 10000 xg pendant 1 min à température ambiante.
- Transférer le surnageant dans un tube de 2 ml (fourni) en évitant le culot.
- Ajouter 70 µl de solution 4 et mélanger doucement 3/5 fois pour mixer. Incuber 4° C pendant 5 min.
- Centrifuger à 10000 xg pendant 1min à température ambiante.
- Transférer le surnageant dans un tube de 2 ml (fourni).
- Mélanger solution 5. Ajouter 800 µl de la solution 5 au surnageant (faire attention pour que la solution ne dépasse pas le tube) puis vortexer 5 s.
- Charger environ 600 µl au spin filter puis centrifuger à 10000 xg pendant 30 s à température ambiante. Eliminer le liquide écoulé, puis refaire l'étape avec le surnageant restant.
- Ajouter 500 µl de la solution 6. Centrifuger à 10000 xg pendant 30 s à température ambiante.
- Eliminer le liquide écoulé. Ajouter 650 µl éthanol 100%, centrifuger à 10000 xg pendant 30s.
- Centrifuger à 16000 xg pendant 2 min à température ambiante.
- Placer prudemment le spin filter dans un nouveau tube de 2 ml (fourni).
- Si le volume de l'échantillon de départ était 50 µl ajouter 50 µl de la solution 7 au centre de la membrane du spin filter. Si le volume de l'échantillon de départ était 100 ou 150 µl ajouter 100 µl de la solution 7 au centre de la membrane du spin filter.
- Centrifuger à 10000 xg pendant 30 s à température ambiante.
- Jeter le spin filter. La solution d'ADN est prête.

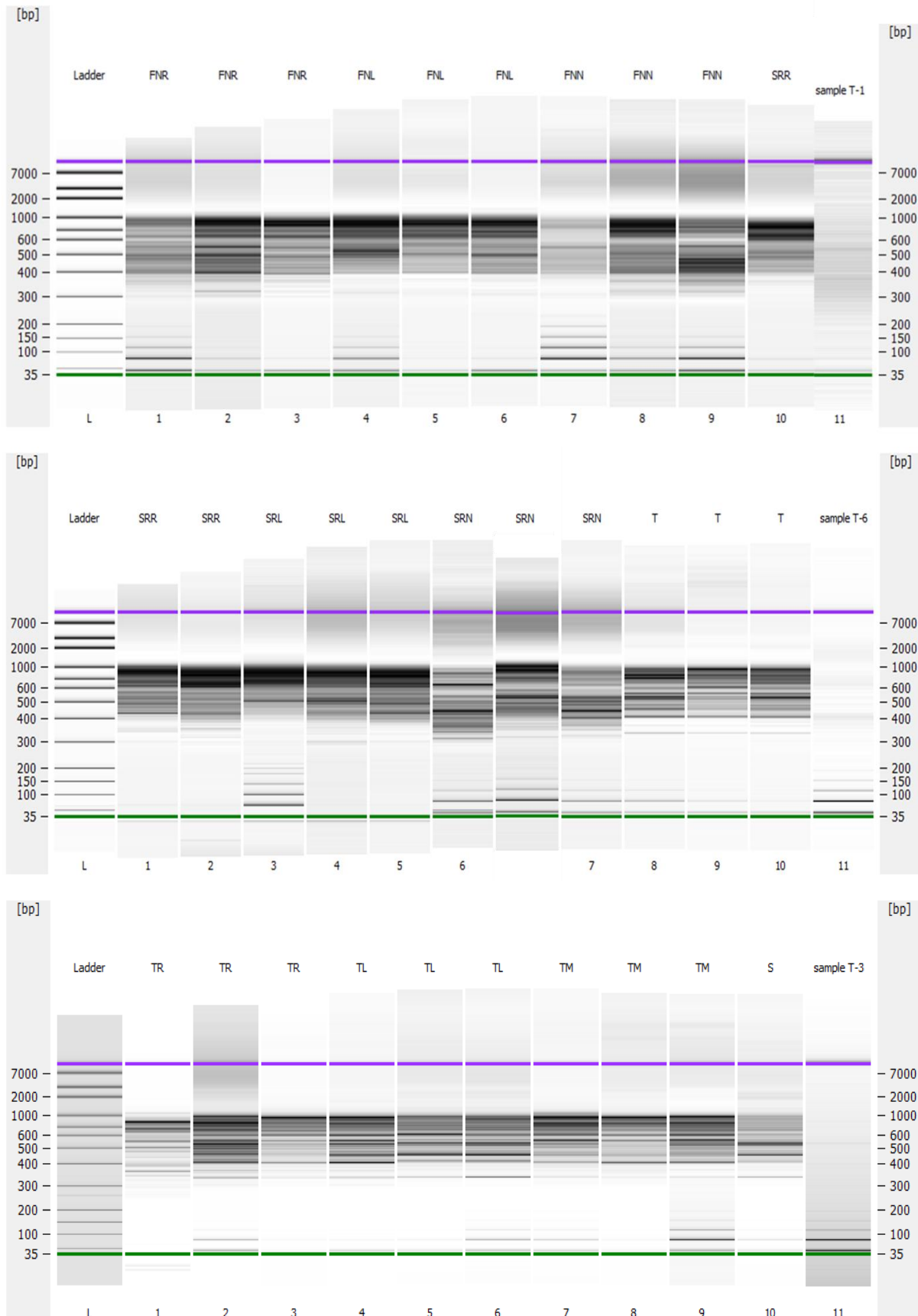
**Purification après extraction avec Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit :**

1. Ajouter 500 µl du tampon type 3 à 100 µl d'échantillon. vortexer.
2. Placer un MicroSpin GFX dans un tube fourni.
3. Charger l'échantillon au MicroSpin. Centrifuger à 16000 x g pendant 30 s. Eliminer le liquide écoulé. Répéter si nécessaire.
4. Ajouter 500 µl du tampon de lavage type1. Centrifuger à 16000 x g pendant 30 s. Eliminer le liquide écoulé.
5. Placer le MicroSpin dans un tube fourni
6. Ajouter 10 à 50 µl du tampon d'élution type4 au centre de la membrane
7. Incuber à température ambiante pendant 1 min. Centrifuger à 16000 x g pendant 30 s.
8. Jeter le spin filter. La solution d'ADN est prête.

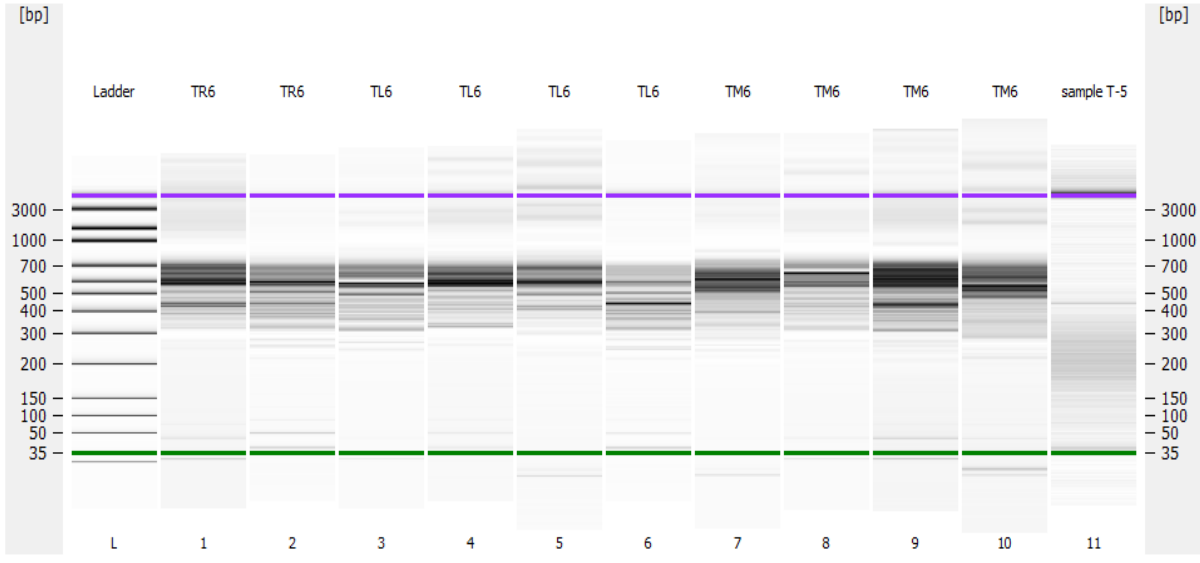
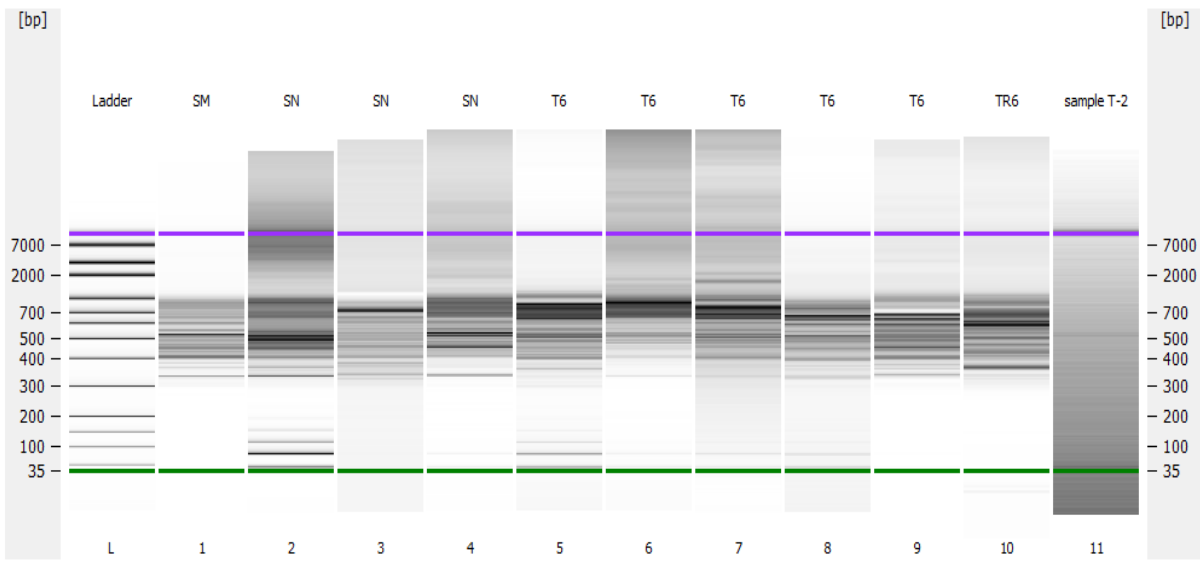
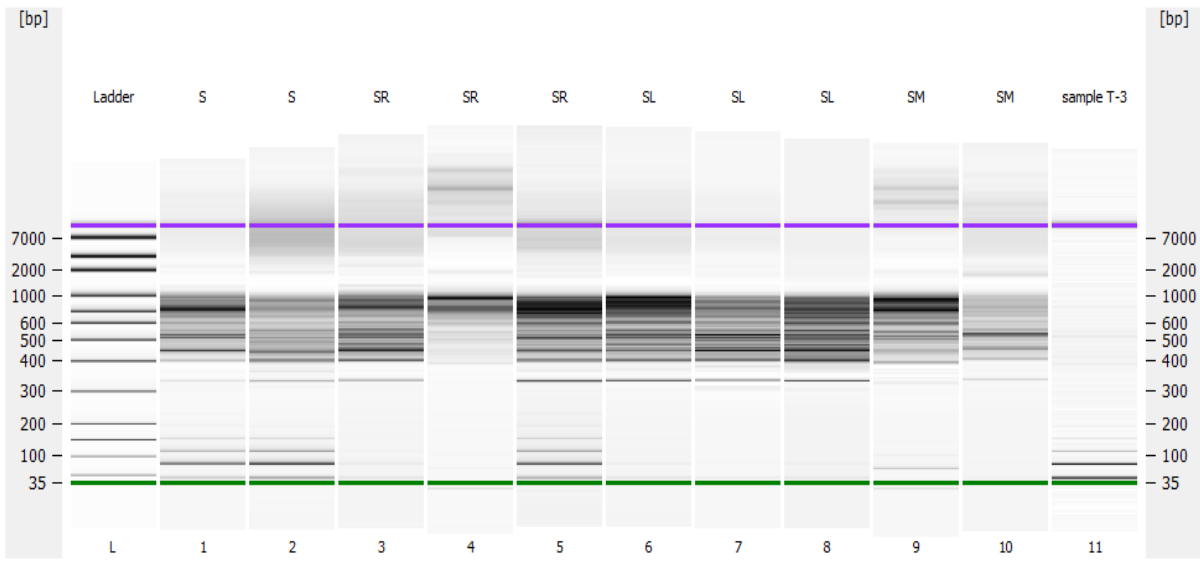


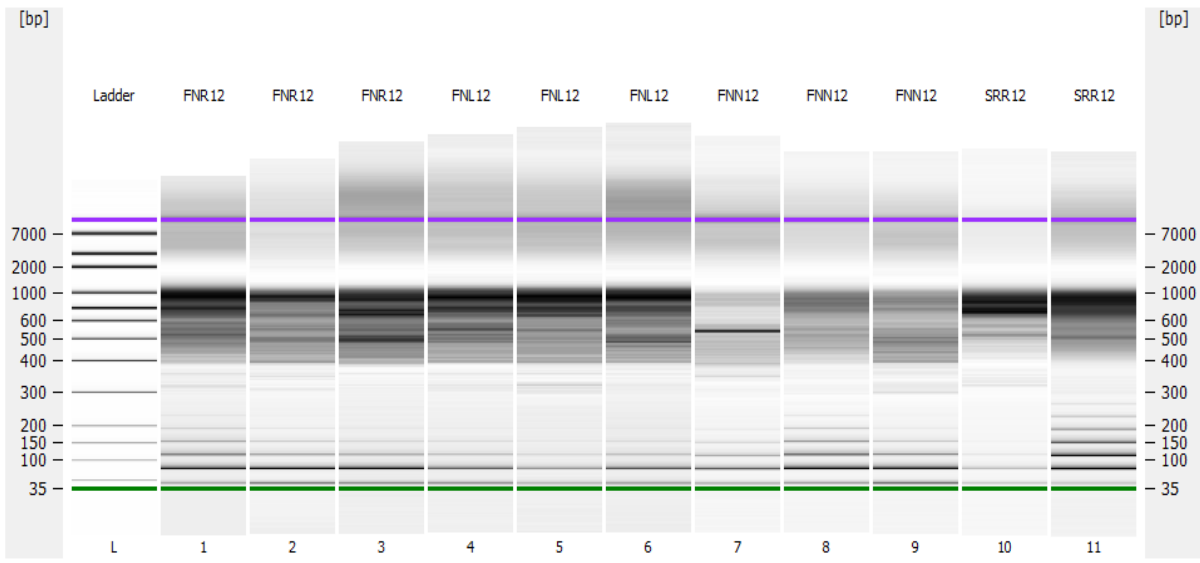
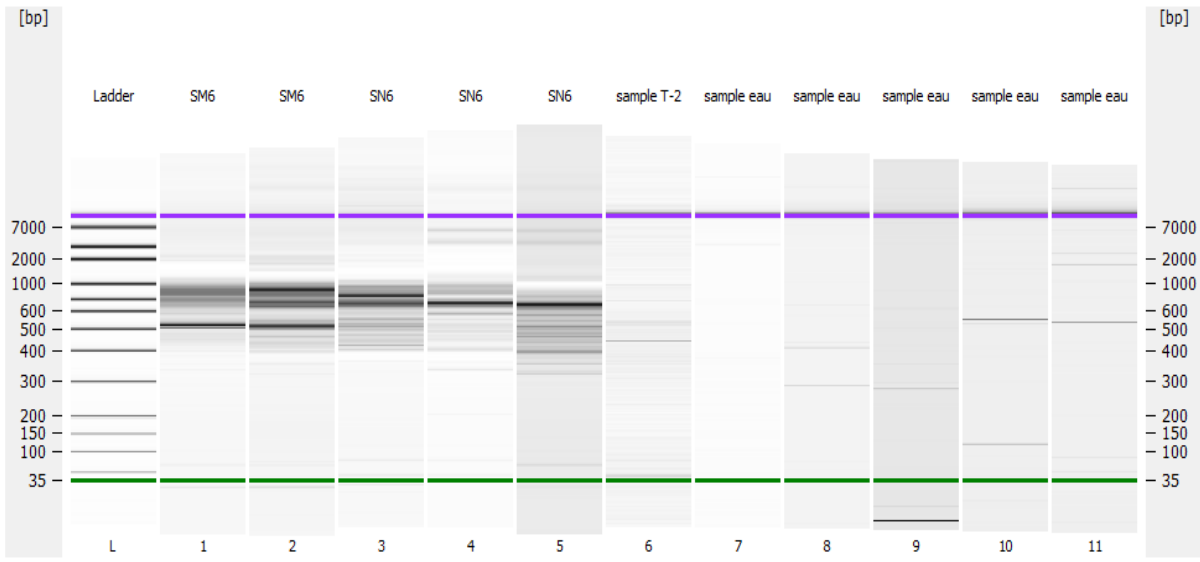
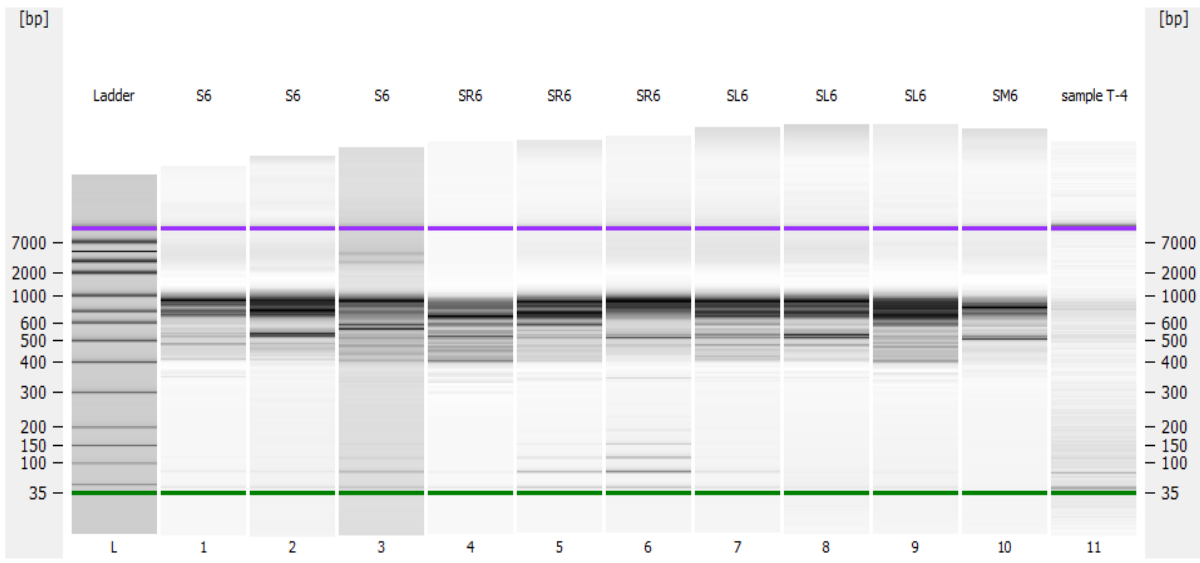
## Annexe 8

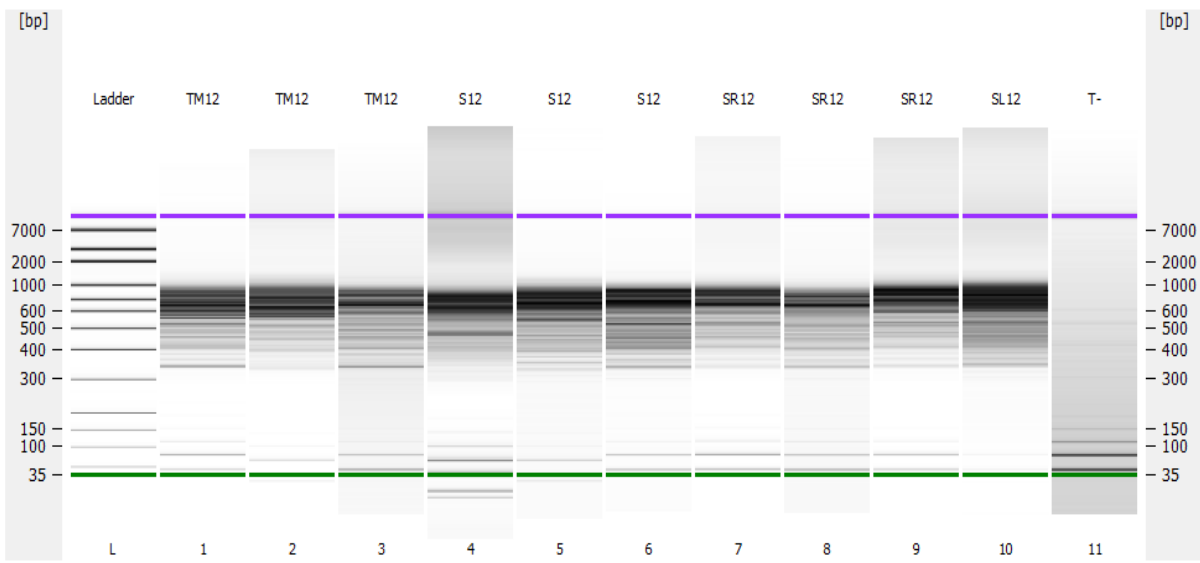
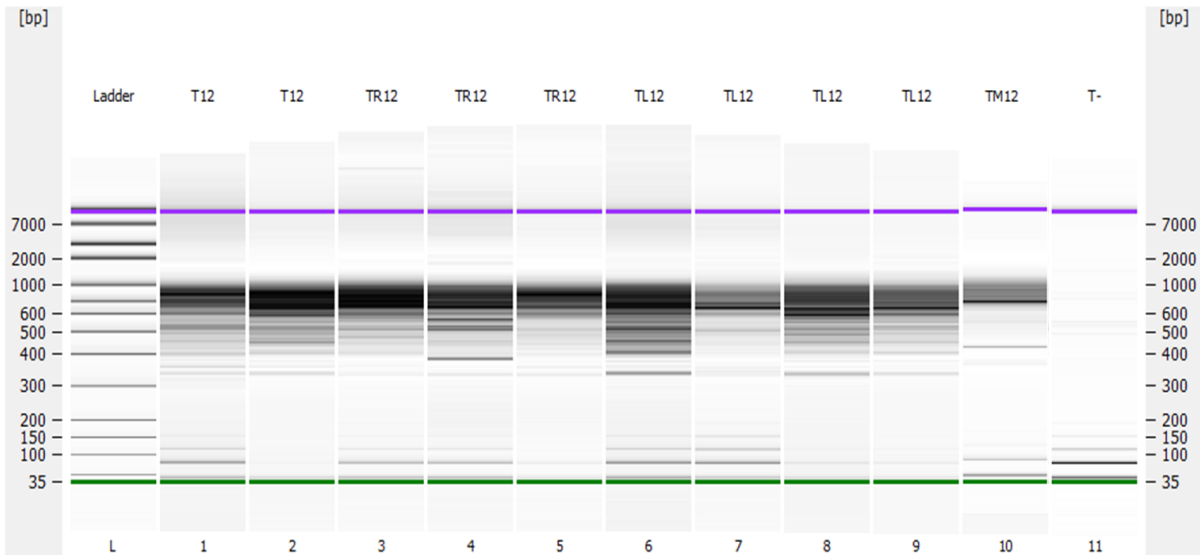
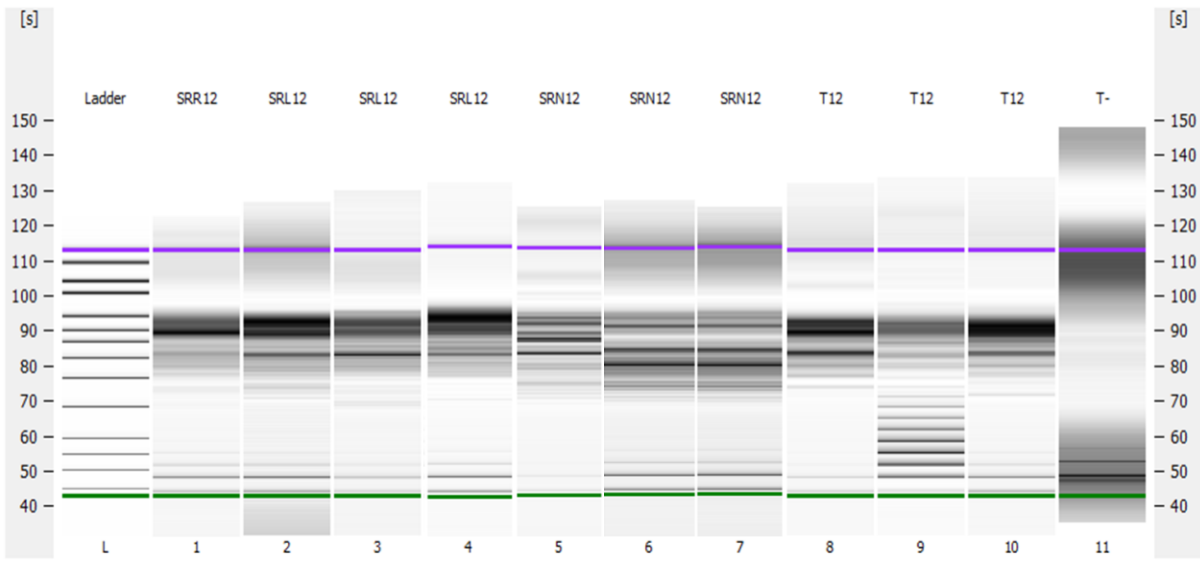
Figures représentant les différents profils RISA obtenus des sols étudiés

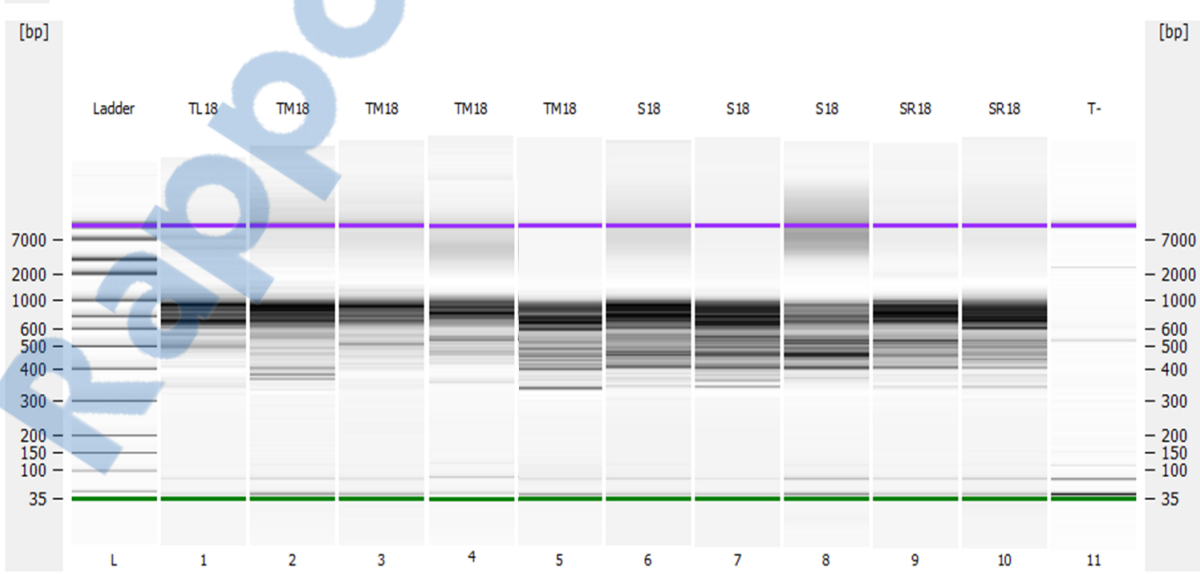
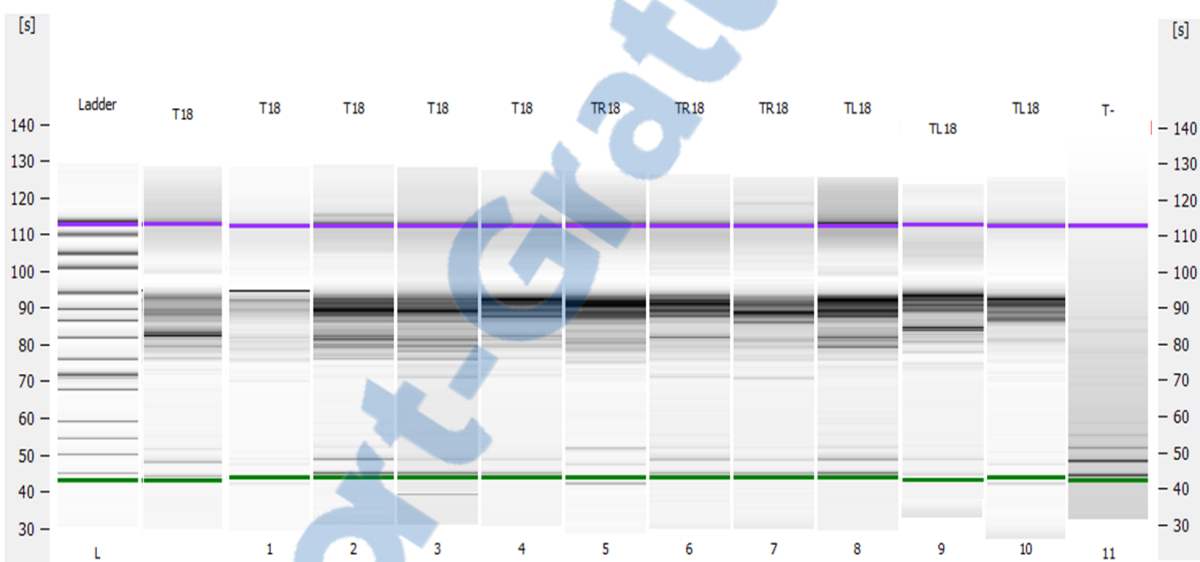
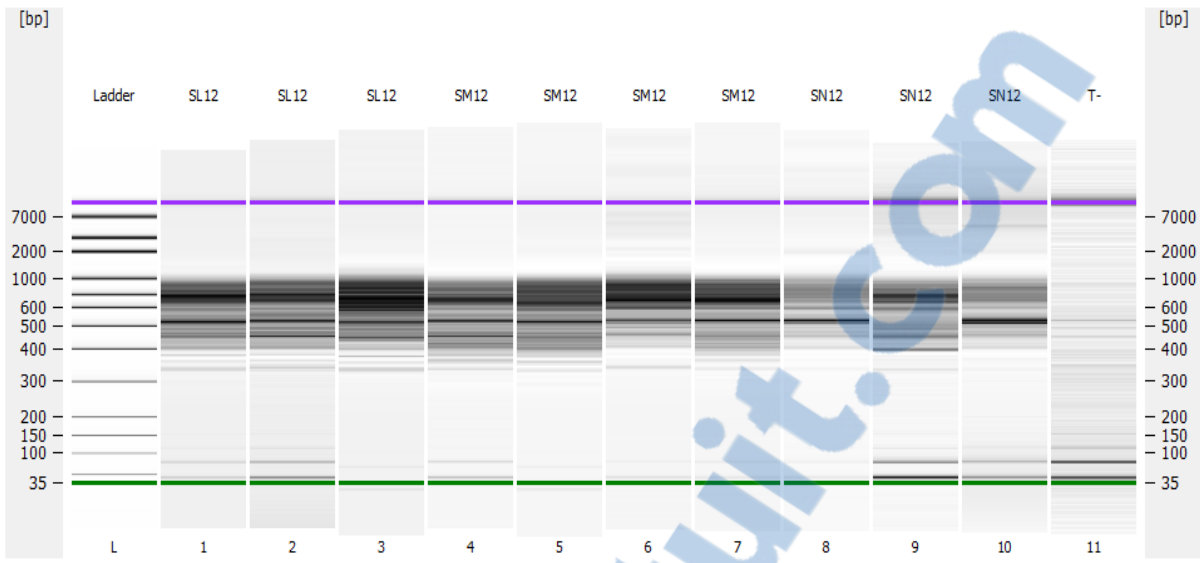


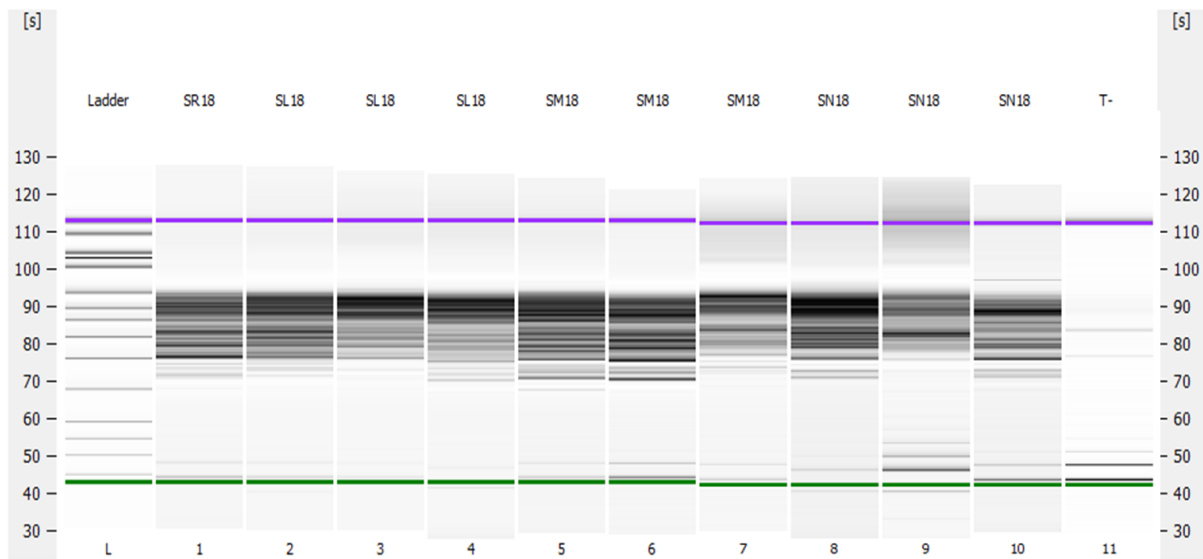














## Effect of anthropisation and revegetation efforts on soil bacterial community structure in Terga sandpit, Algeria

Ighilhariz Samia<sup>1,2</sup>, de Lajudie Philippe<sup>3</sup>, Bekki Abdelkader<sup>1</sup>, Ighilhariz Zohra<sup>1</sup>, Duponnois Robin<sup>3</sup>, Reboulet Jérémy<sup>2</sup>, Navarro Elisabeth<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biotechnologie des Rhizobiums et Amélioration des Plantes, Département de Biotechnologie, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, Algérie

<sup>2</sup>Université de Lyon, Laboratoire Ampère, École Centrale de Lyon, Ecully, France

<sup>3</sup>IRD-UMR LSTM, Campus de Baillarguet, Montpellier, France

Article published on July 29, 2016

**Key words:** Soil bacterial community, Anthropisation, Revegetation, RISA, BCA.

### Abstract

Impact of anthropisation and revegetation on soil microbial diversity was studied by characterizing bacterial community structure in a sandpit located in Terga (Algeria). Soil samples were collected from several sites: an undisturbed forest area with pristine vegetation, a site revegetated by the National Forest Services in 1998, a newly revegetated site by the introduction of two tree species (*Tetraclinis articulata* and *Schinus terebinthifolius*) associated, or not, with two legume species (*Retama monosperma* and *Lotus creticus*). Samples were collected from bulk and rhizospheric soil compartments during an 18 month-period. Soil bacterial community structure was characterized by rRNA Intergenic Spacer Analysis (RISA) and statistical analysis. Concerning revegetated sites, soil physicochemical analysis was performed just after plantation and after 18 months. The plant effects on bacterial community structure differed among sites and plant species. In pristine forest, bacterial community structures of bulk and rhizospheric soils are most similar, both in time and whatever the cover plant species. In the recolonized site, no temporal change was observed, but plant, may impact bacterial community structure in rhizosphere. '*T. articulata*' impacted bacterial community structure all along the temporal scale. Opposite, no significant effect of *S. terebinthifolius* was detected. A correlation between soil parameters and bacterial community structure was observed, suggesting that plant may drive bacterial community structure by providing nutrients and modifying soil physicochemical parameters. These results evidence the dynamics of microbial communities in response to revegetation efforts; registering microbial community evolution in time may help to select plant species with biological soil quality enhancing potential.

\*Corresponding Author: Ighilhariz Samia ✉ [ighilhariz@yahoo.fr](mailto:ighilhariz@yahoo.fr)

## Introduction

Human activities like mining or quarrying generate soil degradation (soil characteristics and functions) that rapidly and drastically affects biogeochemical cycles (Citeau *et al.*, 2008; Lehmann and Stahr, 2007) and causes disturbances and damages to ecosystem processes (Jaffré and Rigault, 1991). Ecological restoration has become an important part of sustainable development (Sheoram *et al.*, 2010). Specifically, revegetation is one of the most widely used practices to restore disturbed ecosystems (De Mei and Di Mauro, 2006; Duponnois *et al.*, 2013). Revegetation programs include pioneer plants adapted to these drastic environments, among which those developing symbioses with microorganisms (Franco *et al.*, 1994; Pelletier and Esterle, 1995; Brennan, 1996; Wilson and Hanlon, 2012). The latter include (i) nitrogen-fixing bacteria, enabling symbiotic plant to grow in nitrogen poor soil and contributing to N input into the ecosystem and (ii) mycorrhizal fungi involved in plant nutrition improvement, especially Phosphorus uptake (Requena *et al.*, 2001). Symbioses were included in revegetation programs in several anthropic ecosystems like nickel mines in New Caledonia (Jaffré *et al.*, 2001, Herrera *et al.*, 2007), sand dune stabilization in Senegal (Diagne *et al.*, 2013) and degraded sites in the Mediterranean (Brunel *et al.*, 2007). *Acacia* species were used for spoiled soil revegetation, and were introduced for soil rehabilitation in many countries, particularly in North Africa since 1870 (Poynton, 2009; Carruthers *et al.*, 2011). Symbioses increase plant survival and facilitate ecological succession (Lugo, 1997). However, despite research efforts, determining optimal strategy for soil revegetation is still hindered by limited knowledge on environmental processes and ecosystem functioning. Soil microorganisms play central roles in environmental processes such as mineral and organic matter recycling (soil fertility) (Swift *et al.*, 1998), nutrient and water availability, carbon and nitrogen cycles (Hattenschwiler *et al.*, 2005).

The extensive exploitation of Terga dune (NW Algeria) during the last decades induced a continuous and drastic decrease of vegetation cover. In recent years, several revegetation efforts have been performed, attempting to directly introduce pioneer plant candidates, without considering any local parameter, including soil biology (Bouazza Marouf *et al.*, 2015). However, studying bacterial community evolution could provide news insights on sandpit restoration and soil functioning, useful information for revegetation strategy success. Therefore, the aim of the present work was to investigate the impact of anthropisation and revegetation efforts on soil functioning. For this purpose, we followed the evolution of bacterial community, using RISA fingerprinting (Ranjard *et al.*, 2000b; Acinas *et al.*, 1999; Borneman and Triplett, 1997; Felske and Akkermans, 1998) in pristine and disturbed environments of the sandpit of Terga (Algeria): (1) a native forest, (2) a replanted site by National Forests Services in 1998 ("Recolonized Sand spoils"), (3) a new "Revegetated Sand spoils trial" initiated at the beginning of this work.

## Materials and methods

### Sites and sampling

Soil samples were collected from a sandpit of Terga fore dune, which is located on the central part of the Témouchent region, along West Algerian coast. The dune covers an area of about 120 ha (Fig. 1), 45% of which is being exploited for sand production. This sandpit is located along the estuary of Wadi El Maleh (35°26'24.35"N, 1°13'35.20"O) (Fig. 1). Three contrasting study sites were chosen in the sandpit area (Table 1). One corresponded to the revegetated zone set up in April 2012 by planting four plants species: two tree species (*Schinus terebenthifolius* and *Tetraclinis articulata*) associated, or not, with 2 legume plants (*Retama monosperma* and / or *Lotus creticus*). The experimental design is depicted in Fig. 1. The second site was located in the zone revegetated by the forest services in 1998 (Recolonized sand spoils). The third one was chosen inside an undisturbed forest area with pristine vegetation. For the two latter sites, only legume plants were considered in the study.

**Table 1.** Description and name of soil samples in Terga sandpit.

Nomenclature	Soil type	Plant
SB	Revegetated Sand spoils	Bare soil
S1	Revegetated Sand spoils	<i>Tetraclinis articulata</i>
S2	Revegetated Sand spoils	<i>Tetraclinis articulata</i> and <i>Retama monosperma</i>
S3	Revegetated Sand spoils	<i>Tetraclinis articulata</i> and <i>Lotus creticus</i>
S4	Revegetated Sand spoils	<i>Tetraclinis articulata</i> , <i>Lotus creticus</i> and <i>Retama monosperma</i>
S5	Revegetated Sand spoils	<i>Schinus terebinthifolius</i>
S6	Revegetated Sand spoils	<i>Schinus terebinthifolius</i> and <i>Retama monosperma</i>
S7	Revegetated Sand spoils	<i>Schinus terebinthifolius</i> and <i>Lotus creticus</i>
S8	Revegetated Sand spoils	<i>Schinus terebinthifolius</i> , <i>Lotus creticus</i> and <i>Retama monosperma</i>
P1	Pristine vegetation	Bare soil
P2	Pristine vegetation	<i>Retama monosperma</i>
P3	Pristine vegetation	<i>Lotus creticus</i>
R1	Recolonized Sand spoils	Bare soil
R2	Recolonized Sand spoils	<i>Retama monosperma</i>
R3	Recolonized Sand spoils	<i>Lotus creticus</i>



**A2**

S8	S5	S1	S4	S7	S3	S5	S4	S7	S4
S2	S3	S5	S3	<b>S1.1</b>	S1	S4	S7	S5	S7
S1	S7	S4	<b>S6.1</b>	<b>S2.2</b>	<b>S4.3</b>	<b>S8.1</b>	<b>S7.3</b>	S4	S6
S6	S8	S3	<b>S6.3</b>	S2	<b>S6.2</b>	S6	<b>S3.2</b>	S1	S8
S8	S5	S2	<b>S7.1</b>	<b>S1.2</b>	<b>S3.1</b>	S6	<b>S6.3</b>	<b>S3.3</b>	S1
S2	S8	S4	<b>S4.1</b>	<b>S2.1</b>	<b>S7.2</b>	S2	<b>S2.3</b>	<b>S5.1</b>	S7
S8	S5	S3	S6	<b>S4.2</b>	S2	<b>S5.2</b>	<b>S8.2</b>	<b>S1.3</b>	<b>S8.3</b>
S6	S3	S8	S5	S5	S1	S6	S3	S1	S2

**Fig. 1.** The study site.

**A1** Location of sampling sites in the Terga Sandpit. <https://www.google.fr/maps?hl=fr>

**A2** Schematic diagram of the experimental design. Bold characters correspond to rhizospheric samples. The squares correspond to bulk soil samples. See Table 1 for treatment nomenclature.

To follow the differential effect of plants in time: (1) In revegetated site, three temporal samplings were

performed at 15 days, 12 and 18 months after plantation. The rhizospheric soils were sampled around the roots without destroying plants. (2) In the two older sites, two temporal samplings were performed at an initial time (T<sub>0</sub>) and after 12 months. The rhizospheric soils were sampled with roots. In each site, bare soils were sampled at 0-10 cm depth from the surface after eliminating first soil layer. All plant- and bare- soil samples were performed in triplicates. After sampling, the soils were dried for 24 hours at room temperature, and then sieved at 2 mm.

In revegetated site, soil physicochemical analysis (texture, pH, Electrical Conductivity, Total Nitrogen, Total Limestone, Organic Matter and Available Phosphorus) was performed by agronomic laboratory of FERTIAL Company and National Institute of Agronomic Research of Algeria (INRA) using standard procedures. Soil was sampled in triplicates, at the beginning of plantation (Bare soil) and after 18 months. Each set of triplicate samples was pooled to create a single composite sample. In order to evaluate physicochemical changes, principal component analysis (PCA) was performed using R software (R Development Core Team, 2011) and the package ADE4TkGUI (Thioulouse and Dray, 2007).



#### *DNA extraction*

DNA was extracted from 10g of each soil sample using an Ultra Clean Mega Soil DNA kit (Mobio, CA) according to the manufacturer instructions. Soil DNA was then further purified with Nucleo Trap® nucleic acid and protein purification Kit (Macherey-Nagel) or the Power Clean® DNA Clean-Up Kit (Mobio), depending on the DNA purity. DNA concentrations were determined on 1 µl DNA preparation with the Qubit BR kit or the high sensitivity kit (Invitrogen, Fisher scientific, Illkirch, France) on Qubit Fluorometer (Invitrogen), depending on DNA concentrations.

#### *Inter-Genic Spacer (IGS) Amplification*

The intergenic spacer region (IGS) between the small and large subunit rDNA gene was amplified, using 1 ng DNA template and the universal primers: SD-Bact-1522-bS-20 and LD-Bact-132-aA-18 (Ranjard *et al.*, 2000a). Amplification reaction was performed in a final volume of 25 µl containing 0.2 µM of each primer, 1.3 M betaine and 1X Cesium polymerase Klentaq AC LA PCR Kit reagent (DNA Polymerase Technology, St. Louis, Missouri). Amplification was performed as follows: preheating at 95°C for 2min, followed by 30 cycles: denaturation at 94°C for 50 s, annealing at 55°C for 50 s and extension at 68°C for 2min. After a final extension step at 68°C for 5 min the reaction is cooled and kept at 10°C. In order to eliminate inhibitors, PCR products were purified with the Nucleo Spin Gel and PCR Clean-up kit (Macherey-nagel). Amplification profiles were checked on 1% agarose gel.

#### *Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (RISA) and Statistical analysis*

RISA was performed in a 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, USA), using High Sensitivity DNA chips according to the manufacturer's recommendations. The 2100 expert Agilent software determines peak sizes and areas in reference to both internal size standards included in each test sample and an external ladder and then converts fluorescence data into electrophoregrams. The data are exported in a CSV format and then imported into the RISA Aligner program (Navarro *et al.*, 2015) for alignment and normalization.

To compare soil microbial communities, Between Component Analysis (BCA) of their RISA patterns was performed using R software (R Core Team (2015) and the package ADE4TkGUI (Thioulouse and Dray, 2007).

#### *Relationships between bacterial community structure and soil physicochemical features*

In order to analyze the relationships between soil physicochemical characteristics and bacterial community structures, we performed a coinertia analysis, a standard multivariate analysis that describes the relationships between two data tables (Doledec and Chessel, 1994; Dray *et al.*, 2003). In order to proceed to coinertia analysis, two principal component analyses (PCA) were performed: the first one to describe the genetic structure of bacterial communities and the second to describe the soil physicochemical characteristics. PCA, co-inertia analysis and Monte Carlo test, used to check the significance of the analysis, were performed using the Ade4TkGUI software (Thioulouse and Dray, 2007).

## **Results**

#### *Soil characteristics*

Bare and rhizospheric soils were sampled at different times during a 18 month period in order to evaluate plant species and temporal scale effects on bacterial community structure. Soil analysis (Table 2) indicates that all soils exhibit a sandy texture with about 94% sand, with good internal drainage and low water- and fertilizer- retention capacity. Principal component analysis (PCA) showed differences in soil physicochemical characteristics at the beginning of plantation and after 18 months (Fig. S1). The first axis, explaining 61.9% of the variance, separated bulk soils and rhizospheric soils under *T. articulate* or *S. terebinthifolius* from the others plant combinations. This separation was correlated to high nitrogen and phosphorus contents and low pH (Table 2). Organic matter and electric conductivity remain stable in all soils, averaging 0.1 and 0.19 respectively. Opposite, limestone rate increases when plants are present (Table 2).

**Table 2.** Soil characteristics at the initial stage and after 18 months of plantation.

Soils	Texture (%)			Conductivity 1:5(ms.cm <sup>-1</sup> )	pH	Total CaCO <sub>3</sub> (%)	Organicmatter (%)	Available phosphorus (ppm)	Total nitrogen (%)
	Sand	Limon	Clay						
SB-0	94	4	2	0.12	8.80	28.60	0.007	6.30	0.02
SB-18	95	3	2	0.19	7.87	29.33	0.005	6.20	0.02
S1-18	95	3	2	0.20	7.90	33.80	0.005	6.60	0.02
S2-18	94	4	2	0.20	7.30	41.00	0.010	9.00	0.03
S3-18	93	4	3	0.20	7.20	39.30	0.001	9.80	0.04
S4-18	94	4	2	0.19	7.30	40.20	0.006	9.20	0.03
S5-18	94	4	2	0.17	7.50	40.00	0.008	7.00	0.02
S6-18	95	2	5	0.25	6.00	37.00	0.010	9.80	0.04
S7-18	94	3	3	0.21	6.80	37.40	0.010	11.00	0.05
S8-18	94	3	3	0.22	7.20	34.00	0.009	10.80	0.03

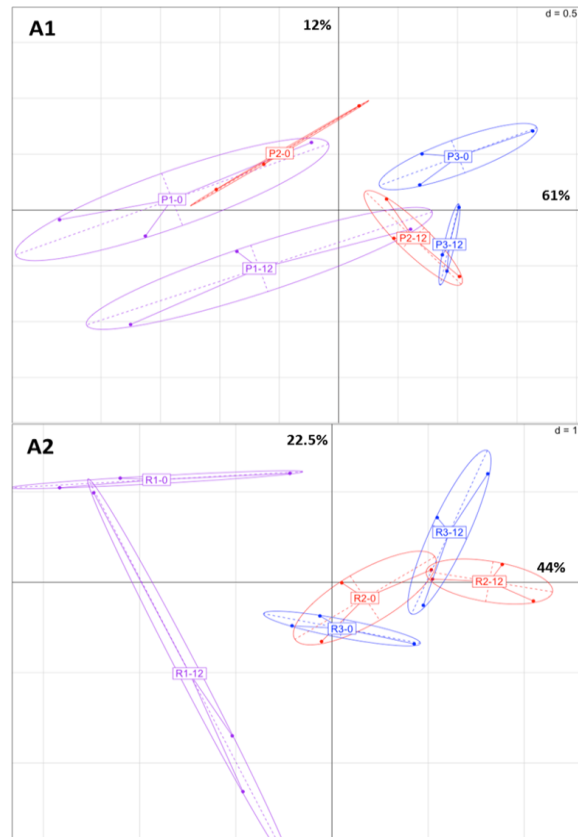
Note: 0 and 18 after sample name/code correspond to time sampling.

*Spatio-temporal evolution of soil bacterial community structure*

The impact of plant cover restoration on soil bacterial community structure was performed by RISA fingerprinting method followed by BCA pattern analysis.

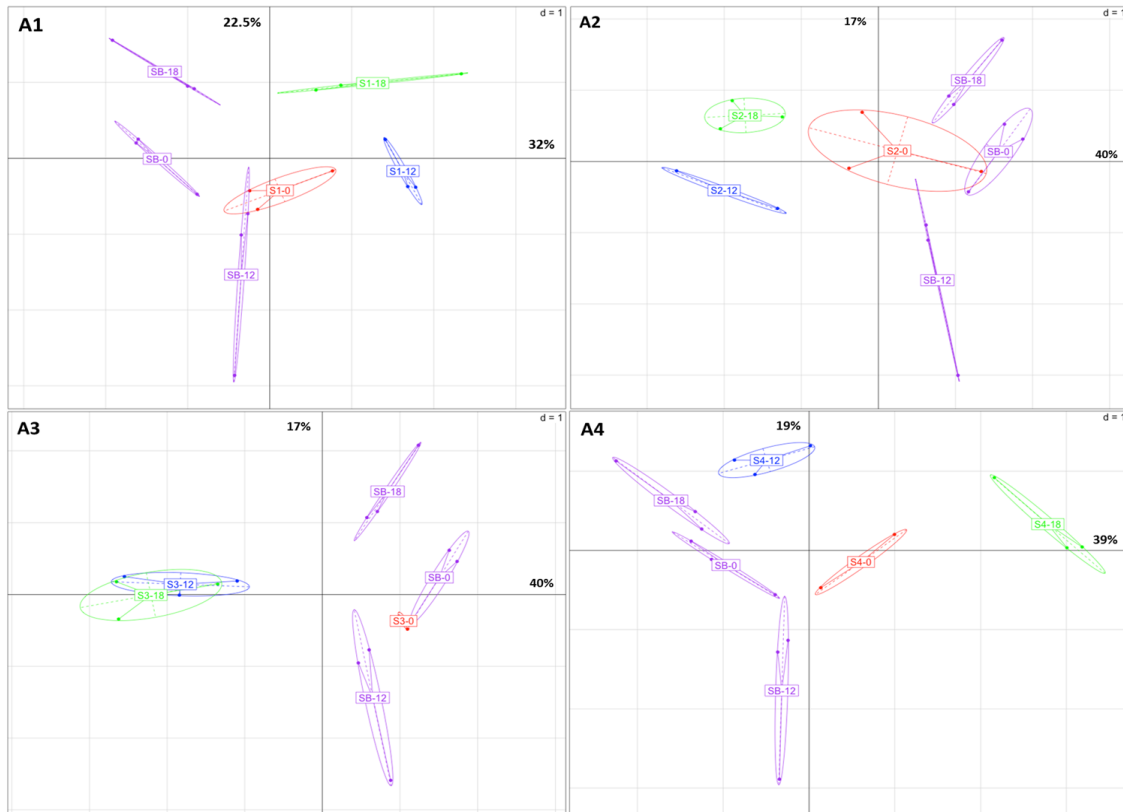
In a first step, the soil bacterial community structures were compared in the two oldest sites: pristine and recolonized. Bacterial structures differed in the two sites. In pristine soils, bacterial community structures were rather similar whatever the soil type (rhizospheric or bare) and the sampling time as shown by BC Aanalysis (Fig. 2A1). Opposite, in the recolonized site, a major impact of plant on soil bacterial diversity was observed (Fig. 2A2). The first axis of the BCA explains 44.2 % of the variance and shows a strong separation between bare and rhizospheric soils. However, the plant type has less impact. In both sites, no obvious temporal effect on the bacterial community structure could be established.

Opposite, a temporal effect on bacterial community structure was observed in soil under *T. articulate* whatever alone or with any additional associated plant. This is also the case for bare soils (Fig. 3).



**Fig.2.** BCA analysis of soil bacterial community structure in the pristine forestland.

(A1) and recolonized Sand site (A2) including samples from bulk soils (purple ellipses), *R. monosperma* rhizospheric soils (red ellipses) and *L. creticus* rhizospheric soils (Blue ellipses). Note: 0 and 12 after sample name correspond to time sampling.



**Fig. 3.** BC Analysis of soil bacterial community structure of sand spoiltrial with *T. articulata*.

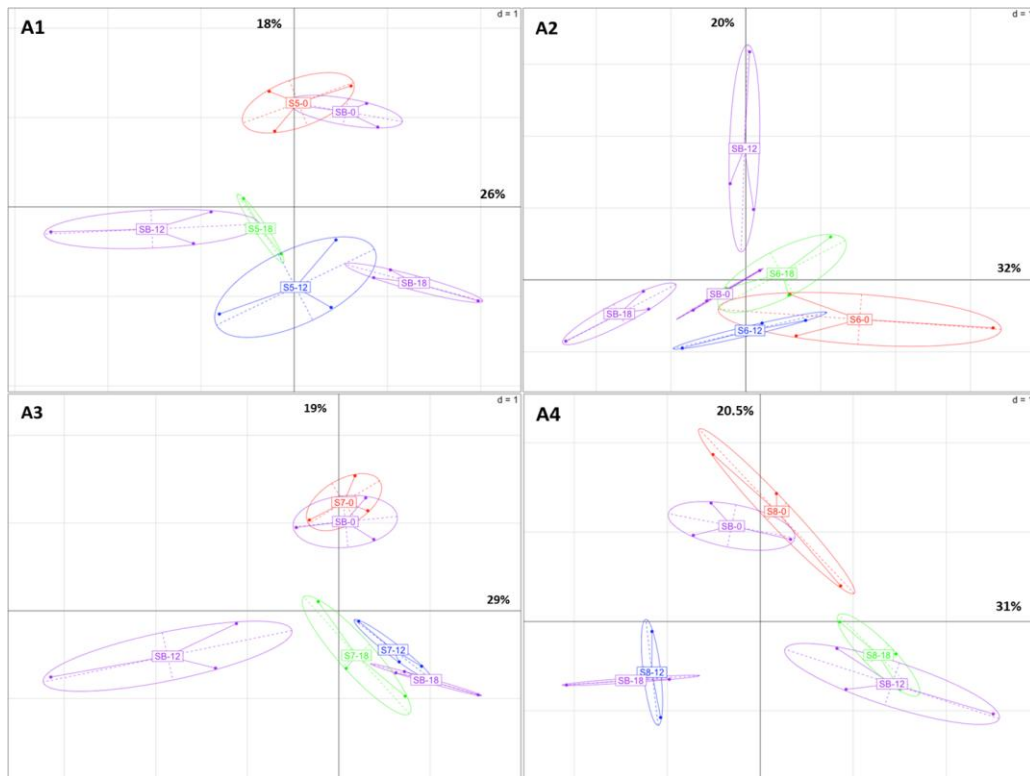
A1: Monospecific *T. articulata* rhizospheric soil samples; A2: Association of *T. articulata* and *R. monosperma* rhizospheric soils; A3: Association of *T. articulata* and *L. creticus* rhizospheric soils; A4: Association of *T. articulata*, *L. creticus* and *R. monosperma* rhizospheric soils. Samplings were performed at initial stage (red ellipses), 12 months (blue ellipses) and 18 months (green ellipses). Purple ellipses represent bulk soils whatever the sampling time.

At To the rhizospheric bacterial community structure is close to bare soil bacterial community structure. Considering *T. articulata* (S1) and its associations with *R. monosperma* (S2) or *L. creticus* (S3), BCA analyses support a temporal evolution as bacterial community structures of soil samples at To, T12 and T18 (Fig. 3A1, 3A2, 3A3). The first axis explains 32.4; 37.2 and 39.8 % of the variance for S1, S2 and S3 respectively, demonstrating an evolution of bacterial community structure between bare soils and T12 soil samplings. Considering the last pattern (S4) representing the association of the three plants, the rhizospheric effect on bacterial community structure clearly occurred only at T18. The RISA profiles of bacterial communities of T18 soil samples are separated by the second axis, except for S3 patterns for which no evolution was observed between T12 and T18. Considering *S. terebinthifolius*, the rhizospheric bacterial community structures were stable and very

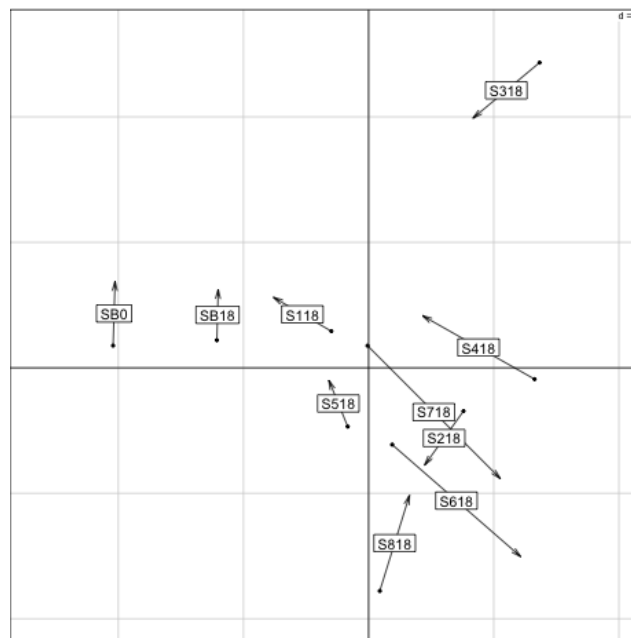
similar to those in bare soils (Fig. 4), whatever its associated plant(s) or time.

*Relationships between bacterial community structure and physicochemical characteristics of soils*

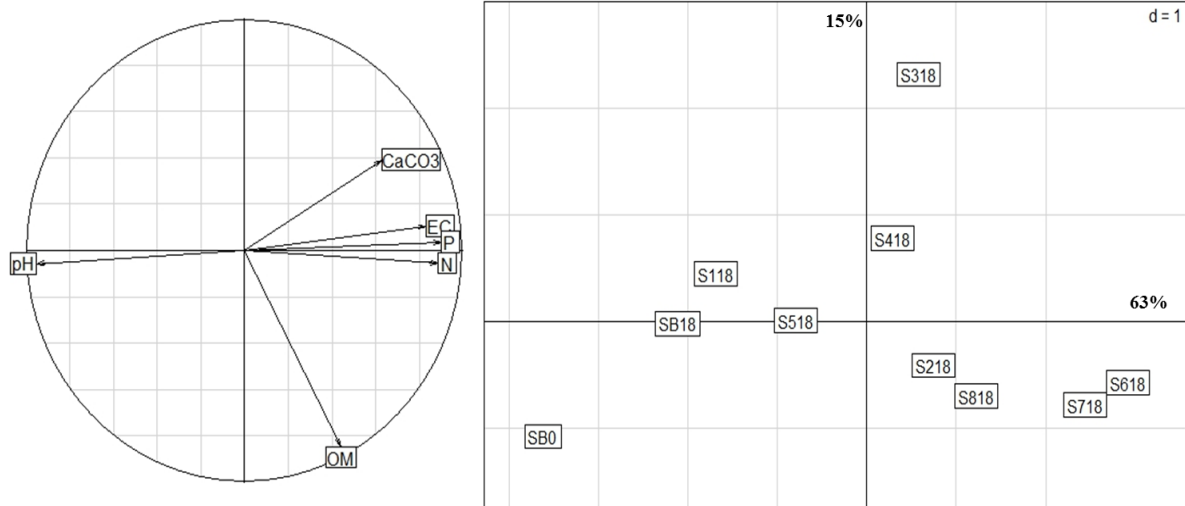
The results of a coinertia analysis (Fig. 5) indicate that the bacterial community structure and the physicochemical characteristics of soils are correlated ( $P=0.036$ ; RV-coefficient=0.55). The first axis accounted for 84% of the explained inertia while the second axis accounted for 6 % of the explained inertia (Fig. 5). The first axis separated bulk soils and rhizospheric soils under *T. articulata* or *S. terebinthifolius* from the other plant combinations. For these soils, bacterial community structure and physicochemical characteristics are clearly correlated. In the other rhizospheric soil samples combining two or three plants, the correlation is less obvious.



**Fig. 4.** BCA analysis of soil bacterial community structure of sand spoil revegetation trial with *S. terebinthifolius*. A1: Monospecific *S. terebinthifolius* rhizospheric soils; A2: Association of *S. terebinthifolius* and *R. monosperma* rhizospheric soils; A3: Association of *S. terebinthifolius* and *L. creticus* rhizospheric soils; A4: Association of *S. terebinthifolius*, *L. creticus* and *R. monosperma* rhizospheric soils. Samplings were performed at initial stage (red ellipses), 12 months (blue ellipses) and 18 months (green ellipses). Purple ellipses represent bulk soils whatever the sampling time.



**Fig. 5.** Correlation between bacterial community structure and physicochemical characteristics by co-inertia analysis. Each site is represented by two points: one corresponds to the soil bacterial community structure and the other corresponds to the soil physicochemical characteristics. Note: 0, 12 and 18 after sample name correspond to time sampling.



**Fig. 6. S1.** PCA analysis of soil physicochemical characteristics.

SB: Bulk soil; S1: Monospecific *T. articulata* rhizospheric soil samples; S2: Association of *T. articulata* and *R. monosperma* rhizospheric soil; S3: Association of *T. articulata* and *L. creticus* rhizospheric soils; S4: Association of *T. articulata*, *L. creticus* and *R. monosperma* rhizospheric soils; S5: Monospecific *S. terebinthifolius* rhizospheric soils; S6: Association of *S. terebinthifolius* and *R. monosperma* rhizospheric soils; S7: Association of *S. terebinthifolius* and *L. creticus* rhizospheric soils; S8: Association of *S. terebinthifolius*, *L. creticus* and *R. monosperma* rhizospheric soils.

Note: 0 and 18 after nomenclature represent time sampling.

### Discussion

The extensive exploitation of Terga sandpit since 1941 (Ghodbani, 2008) induced a continuous and drastic decrease of vegetation cover. For tentative environmental balance of this site, several revegetation programs were achieved. In 1998, the Algerian Forest Service settled a recolonization trial plot by introducing two legume plant species, *Retamamonosperma* and *Acacia saligna*, unsuccessful for these species but with relative success of colonization by others plant species. Our research group settled additional trials in 2008, including legume plant-microorganisms symbioses. A successful sustainable restoration strategy requires many attempts during several years. Ecological restoration is the process of assisting the recovery of an ecosystem that has been degraded, damaged, or destroyed (Harris, 2003). Indicators are necessary to evaluate the success or failure of revegetation attempts. Soil microbial community structure and evolution could be one of them to follow up soil quality and progress of revegetation (Sparling, 1992; Harris, 2003; Gomez *et al.*, 2006).

In the present study, the evolution of the bacterial community structure was registered, at spatial and temporal scales, in three cases: a recent revegetation trial (0-18 months after plantation), the 14 year-old recolonization trial site of the National Forest Service and the native undisturbed forest. In this purpose, we performed RISA, a molecular fingerprinting method widely reported in literature for successful monitoring of microbial communities in complex environments (Borneman and Triplett, 1997; Ranjard *et al.*, 2000a,b; Yu and Mohn, 2001; Eriksson *et al.*, 2003; Ikeda *et al.*, 2008).

Plant impacts on soil bacterial community structure and temporal evolution are not similar in the two older sites. Considering the native forest, bacterial community structures of both bulk and rhizospheric soils are close, whatever the plant species. This might be explained by the difficulty to find bare soil free of roots in this ecosystem at sampling. This suggests that natural processes may drive a dense vegetation cover in this dune environment. Opposite, in soils of the 14 year-old recolonized site, the bacterial communities are impacted by the plant rhizosphere. Soils of this site appear in a transitory state fourteen years after plantation.

This could be explained by the fact that plants introduced by national forest service did not persist but allowed colonization by other species. It is difficult to predict the period of time necessary for this ecosystem to come up to resilience because there are several processes and factors that influence ability and rate of recovery (Lal, 1997).

The soil bacterial community structure in these two sites is rather similar during temporal scale. This suggests stability over time, probably due to the lack of human disturbance. In fact, diversity of soil bacterial communities is impacted by natural (Paine and Levin, 1981; Sousa, 1984) or anthropogenic disturbances (Buckling *et al.*, 2000; Hery *et al.*, 2003; Kang and Mills, 2004; Herrera *et al.*, 2007). In order to understand impact of anthropic disturbance in Terga sandpit, the structure of bacterial communities has been followed in bulk and rhizospheric soils of the newly revegetated sandspoil. Major changes in soil bacterial community structure were observed in this recently revegetated sandpit, at the beginning of the planting and in some cases.

The introduction of *T. articulata* (Barbary Thuja) was unsuccessful as plants died after one month. Nevertheless, although *T. articulate* was planted alone, a plant rhizospheric effect on bacterial communities was observed after 12 months. To explain this, we may hypothesize that the soil and its associated bacterial community introduced with the plant may have had an impact on bacterial diversity. This suggests that, in case of future revegetation attempts on Terga sandpit, topsoil could be used to boost soil biology and plant growth. Topsoils have been used with success in others environments Warren *et al.*, 1980; Rokich *et al.*, 2001; Wong, 2003; Rate *et al.*, 2004; Mola *et al.*, 2009). Association of *T. articulata* with *R. monosperma* or *L. creticus* had an effect on soil bacterial community structure, especially with *L. creticus*. Nevertheless, association of the three plants together mitigates this impact. Plant diversity is a driver of bacterial community structure and may decrease or cancel impacts of individual plants by mediating microbial interactions like competition, antagonism (Schlatter *et al.*, 2015).

*S. terebinthifolius* (Brazilian pepper tree) characterized by a high growth rate and a wide environmental tolerance was introduced in more than 20 countries (Ewel *et al.*, 1982) to invade a variety of ecosystems (Woodall, 1982; Laroche and Baker, 1994; Langeland and Burks, 1998). The introduction of this plant in Terga site was a success as the plant grew well during the 18 month-period of this study. Nevertheless, a weak effect on bacterial community structure was observed, whatever *S. terebinthifolius* was alone or associated with legumes. This could be explained by allelopathic properties of this exotic invasive plant (Mahendra *et al.*, 1995; Nickerson and Flory, 2015), which may prevent the development of others plants and may influence the bacterial community structure.

Plants also impact concentration of soil nutriment (OM, C, N, P and K) that are drivers of competition and interactions between soil bacteria (Schlatter *et al.*, 2015). Moreover, soil edaphic parameters drive bacterial community structure. Many authors reported relationships between edaphic parameters and microbial community structures in soils (Bardgett *et al.*, 1997; Fierer and Jackson, 2006; Lejon *et al.*, 2007; Lauber *et al.*, 2008; Lauber *et al.*, 2009; Nacke *et al.*, 2011). In the Terga trial, plantation of legumes results in pH variations from alkaline to acidic, and induces increase of nitrogen and phosphorus contents. A correlation between soil parameters and bacterial community structure was evidenced by coinertia analysis. These findings suggest that plants drive bacterial community structure by producing root exudates and by modifying soil physicochemical parameters. Literature reports that root exudates create favorable environment for soil microorganisms, by secreting 10 to 20% of carbon assimilated during photosynthesis (Dakora and Phillips, 2002; Walker *et al.*, 2003; Hartmann *et al.*, 2009; Dennis *et al.*, 2010; Dazy *et al.*, 2008; Siciliano *et al.*, 2003).

In conclusion, although all plant introduction assays were not successful, we evidenced changes in soil edaphic and biotic characteristics. Moreover, bacterial community structure analyses suggest that the recolonized site may be in an intermediate state between the native forest and the revegetated site.



This raises the question of the time necessary to reach the ecological resilience in this ecosystem. This work provides new data that could be used for the restoration of Terga sandpit. Specifically, in future more care should be provided on plant selection and association and characterized topsoil may be spread on the trial before planting.

#### Acknowledgments

This work was financially supported by the bilateral Algeria-France Hubert Curien Program (PHC) Tassili 10MDU791 for consumables and scientific exchanges. Samia Ighilhariz was funded by a PhD grant from Ahmed Benbella Oran University and scholarship grants from PHC Tassili 10MDU791 for two long scientific stays in France.

We are grateful to EPCT Terga Company for fruitful collaboration, technical and financial assistance, and all people who contributed to carry this work out.

#### References

- Acinas SG, Anton J, Rodriguez-Valera F.** 1999. Diversity of free-living and attached bacteria in offshore western Mediterranean waters as depicted by analysis of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 514- 522.
- Bardgett RD, Leemans DK, Cook R, Hobbs PJ.** 1997. Seasonality of the soil biota of grazed and ungrazed hill grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* **29**, 1285- 1294.
- Borneman J, Triplett EW.** 1997. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology* **63**, 2647- 2653.
- Bouazza Marouf K, Ighilhariz Z, de Lajudie P, Duponnois R, Bekki A.** 2015. Assessing the native arbuscular mycorrhizal symbioses to rehabilitate a degraded coastal sand dune in Algeria. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* **8(2)**, 194- 202.
- Brennan K.** 1996. Flowering and fruiting phenology of native plants in the Alligator Rivers Region with particular reference to the Ranger uranium mine lease area. Supervising Scientist, 45.
- Brunel B, Domergue O, Maure I, Brahic P, Galiana A, Josa R, de Lajudie P, Atallah T, Risk H, El-Hajj S, Cleyet-marel JC.** 2007. Potentialités des associations symbiotiques plantes-micro-organismes pour réhabiliter des sites fortement dégradés en milieu méditerranéen. *Cahiers Agriculture* **16(4)**, 324-329.
- Buckling A, Kassen R, Bell G, Rainey PB.** 2000. Disturbance and diversity in experimental microcosms. *Nature* **408**, 961- 964.
- Carruthers J, Robin L, Hattingh J, Kull C, Rangan H, Van Wilgen BW.** 2011. A native at home and abroad: the history, politics, ethics and aesthetics of *Acacia*. *Diversity and Distributions* **17**, 810-821.
- Chaintreuil C, Rigault F, Moulin L, Jaffré T, Fardoux J, Giraud E, Dreyfus B, Bailly X.** 2007. Nickel resistance determinants in *Brady rhizobium* strains from nodules of the endemic New Caledonia legume *Serianthes calycina*. *Applied and Environmental Microbiology* **73(24)**, 8018- 8022.
- Citeau L, Bispo A, Bardy M, King D.** 2008. Gestion durable des sols. In : Quae (Ed.), Référentiel pédologique. Versailles, France p. 320.
- Dakora FD, Phillips DA.** 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low nutrient environments. *Plant and Soil* **245**, 35-47.
- Dazy M, Jung V, Féraud JF, Masfarau JF.** 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere* **74**, 57- 63.

- De Mei M, Di Mauro M.** 2006. Study of some characteristic Mediterranean vegetation species best suited for renaturalization of terminal-phase municipal solid waste (MSW) landfills in Puglia (Southern Italy). *Acta Oecologica* **30**, 78- 87.
- Diagne N, Svistoonoff S, Bogusz D, Duponnois R.** 2013. Casuarina in Africa : Distribution, role and importance of arbuscular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and Frankia on plant development. *Journal of Environmental Management*, 204- 209. doi:10.1016/j.jenvman.2013.05.009
- Doledec S, Chessel D.** 1994. Co-inertia analysis - an alternative method for studying species environment relationships. *Freshwater Biology* **31(3)**, 277- 294.
- Dray S, Chessel D, Thioulouse J.** 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology* **84(11)**, 3078- 3089.
- Duponnois R, Baudoin E, Thioulouse J, Le Roux C, Tournier E, Galiana A, Prin Y, Dreyfus B.** 2013. L'introduction d'acacias australiens pour réhabiliter des écosystèmes dégradés est-elle dépourvue de risques environnementaux ? *Forum : Bois et Forêt des Tropiques* **318**, 59- 65.
- Engelen B, Meinken K, Witzingerode F, Heuer H, Malkomes PH, Backhaus H.** 1998. Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprint in addition to conventional testing procedures. *Applied and Environmental Microbiology* **64**, 2814- 2821.
- Eriksson M, Sodersten E, Yu Z, Dalhammar G, Mohn WW.** 2003. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing conditions in enrichment cultures from northern soils. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 275- 284.
- Ewel J, Ojima D, Karl D, et al.** 1982. *Schinus* in successional ecosystems of Everglades National Park. National Park Service, South Florida Research Center, Everglades National Park, Homestead 676- 141.
- Felske A, Akkermans ADL.** 1998. Spatial homogeneity of abundant bacterial 16SrRNA molecules in grassland soils. *Microbial Ecology* **36**, 31- 36.
- Fierer N, Jackson RB.** 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **103**, 626- 631.
- Franco AA, Campello EF, Dias LE, De Faria SM.** 1994. Revegetation of acidic residues from Bauxite mining in Porto Trombetas-PA using nodulated and mycorrhizal legume trees. To be presented at Ist Latin American symposium on soil reclamation, Foz de Iguaçu, Brasil, 8.
- Ghodbani T.** 2008. Extractions du sable dunaire à Terga plage, Algérie ouest, impacts sur l'environnement, conflits d'usagers et outils de gestion. In *Proceedings of the international pluridisciplinary conference "Le littoral : subir, dire, agir"*. Lille, France, 11.
- Gomez E, Ferreras L, Toresani S.** 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technology* **97**, 1484- 1489.
- Harris J.** 2003. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science*, 801- 808.
- Hartmann A, Schmid M, Van Tuinen D, Berg G.** 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil* **321(1-2)**, 235- 257.
- Hattenschwiler S, Tiunov AV, Scheu S.** 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**, 191- 218.
- Herrera A, Hery M, Stach JEM, Jaffre T, Normand P, Navarro E.** 2007. Species richness and phylogenetic diversity comparisons of soil microbial communities affected by nickel-mining and revegetation efforts in New Caledonia. *European Journal of Soil Biology* **43**, 130-139.



- Héry M, Nazaret S, Jaffré T, Normand P, Navarro E, Caledonia N.** 2003. Adaptation to nickel spiking of bacterial communities in neocaledonian soils. *Environmental Microbiology* **5**, 3- 12.
- Ikeda S, Rallos LEE, Okubo T, Eda S, Inaba S, Mitsui H, Minamisawa K.** 2008. Microbial community analysis of field-grown soybeans with different nodulation phenotypes. *Applied and Environmental Microbiology* **74(18)**, 5704- 5709. doi:10.1128/AEM.00833-08
- Jaffré T, McCoy S, Rigault F, Navarro E.** 2001. A comparative study of flora and symbiotic microflora diversity in two *Gymnostoma* formations on ultramafic rocks in New Caledonia. *South African Journal of Science* **97**, 599-603.
- Jaffré T, Rigault F.** 1991. Recherches sur les possibilités d'implantation végétales sur sites miniers. In: rapport n°4. Convention ORSTOM/SLN, Nouméa.
- Kang SH, Mills AL.** 2004. Soil bacterial community structure changes following disturbance of the overlying plant community. *Soil Science* **169**, 55- 65.
- Lal R.** 1997. Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **352**, 997- 1010.
- Langeland KA, Burks KC.** 1998. Identification and biology of non-native plants in Florida's natural areas. Gainesville, FL: University of Florida, 165.
- Laroche FB, Baker GE.** 1994. Evaluation of several herbicides and application techniques for the control of Brazilian pepper. *Aquatics* **16**, 18- 20.
- Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N.** 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* **75**, 5111- 5120.
- Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N.** 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* **40**, 2407- 2415.
- Lehmann A, Stahr K.** 2007. Nature and significance of anthropogenic urban soils. *J Soils Sediments* **7**, 247-260.
- Lejon DPH, Nowak V, Bouko S, Pascualt N, Mougel C, Martins JMF, Ranjard L.** 2007. Fingerprinting and diversity of bacterial cop A genes in response to soil types, soil organic status and copper contamination. *FEMS Microbiology Ecology* **61**, 424- 437.
- Lugo AE.** 1997. The apparent paradox of reestablishing species richness on degraded lands with tree monocultures. *Forestry Ecology and Management* **99**, 9-19.
- Mahendra JK, Yu BZ, Rogers JM, Smith AE, Boger ET, Ostrander RL, Rheingold AL.** 1995. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus molle*. *Phytochemistry* **39(3)**, 537- 547.
- Mola I, Jiménez MD, López-Jiménez N, Casado MA, Balaguer L.** 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: Management options under schedule pressure. *Restoration Ecology* **19**, 83- 92.
- Nacke H, Thurmer A, Wollherr A, Will C, Hodac L, et al.** 2011. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLOS ONE*, doi:10.1371/journal.pone.0017000.
- Navarro E, Fabrègue O, Scorretti R, Reboulet J, Simonet P. et al.** 2015. Risa Aligner software for aligning fluorescence data between Agilent 2100 Bioanalyzer chips: Application to soil microbial community analysis. *Biotechniques*, Eaton Publishing **59(6)**, 347-358.

- Nickerson K, Flory SL.** 2015. Competitive and allelopathic effects of the invasive shrub *Schinustere binthifolius* (Brazilian pepper tree). *Biological Invasions*, 555- 564. doi:10.1007/s10530-014-0748-4.
- Ovreas L, Torsvik V.** 1999. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microbial Ecology* **36**, 303- 315.
- Paine RT, Levin SA.** 1981. Intertidal landscapes disturbance and the dynamics of pattern. *Ecological Monographs* **51**, 145- 178.
- Pelletier B, Esterle M.** 1995. Revegetation of nickel mines in New Caledonia. Colloquium : Quelle recherche française en environnement dans le Pacifique Sud?. Bilan et Perspectives. Paris, France, 9.
- Poynton RJ.** 2009. Tree planting in Southern Africa. Other genera. Pretoria, Afrique du Sud, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries. Vol. 3.
- Ranjard L, Brothier E, Nazaret S.** 2000a. Sequencing bands of ribosomal intergenic spacer analysis fingerprints for characterization and microscale distribution of soil bacterium populations responding to mercury spiking. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 5334- 5339.
- Ranjard L, Poly F, Combrisson J, Richaume A, Gourbiere F, Thioulouse J, Nazaret S.** 2000b. Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (RISA). *Microbial Ecology* **39**, 263- 272.
- Rate W, Lee KM, French PA.** 2004. Application of biosolids in mineral sands mine rehabilitation : use of stockpiled topsoil decreases trace element uptake by plants. *Bioresour Technol Application of biosolids in mineral sands mine rehabilitation : use of stockpiled topsoil decreases trac.* *Bioresource Tech-nology*, 223-231. doi:10.1016/S0960-8524(03) 00206-2.
- Requena N, Perez-solis E, Azcon-Aguilar C, Jeffries P, Barea J.** 2001. Management of indigenous Plant-Microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology* **67(2)**, 495- 498. doi:10.1128/AEM.67.2.495
- Rokich DP, Dixon KW, Sivasithamparam K, Meney KA.** 2001. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in Western Australia. *Restoration Ecology* **8**, 196- 208.
- Schlatter DC, Bakker MG, Bradeen JM, Kinkel LL.** 2015. Plant community richness and microbial interactions structure bacterial communities in soil. *Ecology* **96(1)**, 134- 142.
- Sheoran V, Sheoran AS, Poonia P.** 2010. Soil reclamation of abandoned mine land by revegetation: a review. *International Journal of Soil, Sediment and Water* **3(2)**, 31.
- Siciliano SD, Germida JJ, Banks K, Greer CW.** 2003. Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 483- 489.
- Smit E, Leeftang P, Wernars K.** 1997. Detection of shifts in microbial community structure and diversity in soil caused by copper contamination using amplified ribosomal DNA restriction analysis. *FEMS Microbiology Ecology* **23**, 249- 261.
- Sousa WP.** 1984. The role of disturbance in natural communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**, 353- 391.
- Sparling G.** 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research* **30**, 195.
- Swift MJ, Andren O, Brussard L, Briones M, Couteaux MM, Ekschmitt K, Kjoller A, Loiseau P, Smith P.** 1998. Global change, soil biodiversity, and nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: three case studies. *Global Change Biology* **4**, 729- 743.

- Thioulouse J, Dray S.** 2007. Interactive multivariate data analysis in R with the ade4 and ade4TkGUI packages. *Journal of Statistical Software* **22**, 1-14.
- Walker TS, Bais HP, Grotewold E, Vivanco JM.** 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology* **132**, 144- 151.
- Warren HT, Glossop BL.** 1980. Assessment of topsoil handling techniques for rehabilitation of sites mined for Bauxite within the Jarrah Forest of Western Australia. *Journal of Applied Ecology* **17(1)**, 195-201.
- Wilson M, Hanlon EA.** 2012. Florida reclaimed phosphate mine soils : Characteristics, potential uses, and management landforms in phosphate mine areas. Gainesville, FL: University of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences, 1- 11.
- Wong MH.** 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* **50**, 775- 780.doi:10.1016/S0045-6535(02)00232-1.
- Woodall SL.** 1982. Herbicide tests for control of Brazilian Pepper and Melaleuca in Florida. Southeastern Forest Experiment Station, Asheville, N. C. USDA Forest Service Research, 10.
- Yu Z, Mohn WW.** 2001. Bioaugmentation with resin acid degrading bacteria enhances resin acid removal in sequencing batch reactors treating pulp mill effluents. *Water Research* **35**, 883- 890.

## Résumé

L'impact de l'anthropisation et de la revégétalisation sur la diversité microbienne du sol est étudié en caractérisant la structure des communautés bactériennes dans un site de la sablière de Terga de la Wilaya de Ain Temouchent située dans l'Ouest algérien. Ce site dégradé suite à une exploitation massive du sable, est nouvellement revégétalisé (site revégétalisé), par l'introduction de deux espèces forestières (*Schinus terebinthifolius* et *Tetraclinis articulata*) associées ou non à deux légumineuses (*Retama monosperma* et/ou *Lotus creticus*). Le sol rhizosphérique de chaque essai et le sol nu sont prélevés durant une période de 18 mois (début de la plantation, après 6, 12 et 18 mois). Parallèlement, un prélèvement du sol rhizosphérique des deux légumineuses (*Retama monosperma* et *Lotus creticus*) est réalisé, à T=0 et après 12 mois, dans une forêt native non exploitée, et dans un site revégétalisé par les services de la conservation des forêts de la Wilaya de Ain Témouchent en 1998 (Site recolonisé) de la même région. La structure des populations bactériennes est caractérisée par une méthode d'empreinte moléculaire la RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis). Les résultats mettent en évidence la contribution de la revégétalisation dans la dynamique spatiotemporelle des communautés microbiennes, suggérant ainsi qu'un suivi dans le temps des communautés microbiennes peut orienter les décideurs dans la sélection des espèces végétales les plus performantes pour la remise en état des sablières (ou carrières).

### Mots clés:

ACP; Anthropisation; Caractéristiques physicochimiques du sol; Carrières; Communautés bactériennes du sol; Revégétalisation, RISA; Sablière de Terga; *Schinus terebenthifolius*; *Tetraclinis articulata*.