



FACULTE DES SCIENCES
DOMAINE: SCIENCES ET TECHNOLOGIE
MENTION: BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE
MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER II

Parcours : BIOTECHNOLOGIES

**EFFETS ALLELOPATHIQUES D'UNE PLANTE INVASIVE (*Grevillea banksii*),
SUR LE DEVELOPPEMENT DES PLANTES CULTIVEES ET SUR
L'ASSOCIATION RHIZOBIENNE Chez les LEGUMINEUSES**



Présenté par:

ANDRY MIHAJAMANANA Nambinina

Maître ès-Sciences

Soutenu publiquement le 02 Février 2018 devant les membres de jury :

Président : Professeur RAHERIMANDIMBY Marson

Encadreurs : Professeur RAMANANKIERANA Heriniaina

Docteur ANDRIANANDRASANA Martial Doret

Examineurs: Docteur RASAMIRAVAKA Tsiry

Docteur RAMAMONJISOA Daniel

**Hanome saina anao sy hampianatra anao
izay làlan-kalehanao Aho ; Hitsinjo anao ny
masoko ka hanolo-tsaina anao Aho.
(SALAMO 32 :8)**

REMERCIEMENTS

Louer soit le Seigneur, qui nous a fourni son aide, sa force et sa bénédiction pour la réalisation de ce travail.

Le présent travail est le fruit d'une collaboration étroite entre le Laboratoire de Biotechnologie-Microbiologie de la Mention Biochimie Fondamentale et Appliquée de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo et le Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement du CNRE (Centre National de Recherche sur l'Environnement).

Ce mémoire est le résultat d'un effort constant. Cet effort n'aurait pu aboutir sans la contribution de plusieurs personnes. Ainsi, se présente l'occasion d'adresser mes plus vifs remerciements à :

- Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo Professeur RAHERIMANDIMBY Marson et Madame le Responsable de la Mention Biochimie Fondamentale et Appliquée de la Faculté des Sciences Docteur RANDRIANIERENANA Ando, de m'avoir permis de soutenir ce mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master.
- Monsieur le Professeur RAMANANKIERANA Heriniaina, Directeur de Recherches associé et Directeur du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) et Monsieur le Professeur RASOLOMAMPIANINA Rado, Chef du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches et de l'Environnement (CNRE).
- Monsieur le Docteur RANDRIAMBANONA Herizo, Chef du Département « Ecosystèmes Terrestres » du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) de m'avoir accueilli chaleureusement au sein de son département.
- Monsieur le Docteur ANDRIANANDRASANA Martial Doret et Monsieur le Professeur RAMANANKIERANA Heriniaina, avec lesquels l'encadrement a été très précieux pour l'élaboration de ce travail. Malgré les obligations et les contraintes propres à leurs fonctions, ils ont su nous consacrer quelques instants de leurs précieux temps pour nous aiguiller.
- Monsieur le Professeur RAHERIMANDIMBY Marson qui a acceptée de présider ce mémoire malgré ses nombreuses responsabilités. Sa présence au sein des membres du jury constitue pour nous à la fois un honneur et une marque de sympathie.

- Monsieur le Docteur RASAMIRAVAKA Tsiry et Monsieur le Docteur RAMAMONJISOA Daniel qui ont aimablement accepté de juger nos travaux et donner leurs aimables conseils et critiques durant les périodes de rédaction de ce mémoire et cela, malgré leurs immenses responsabilités.
- Je n'oublie pas l'équipe de l'unité 2 (Microbiologie en milieu naturel) du LME d'avoir amicalement partagé leur savoir-faire et expériences avec moi. Votre solidarité, vos ambitions et votre efficacité ont permis de donner un grand intérêt à ma recherche. Merci pour tout et que vous réussissiez dans tout ce que vous faites !

Mes vives reconnaissances s'adressent également à :

- Mes parents pour m'avoir toujours soutenu moralement et spirituellement, et aidé en donnant tous les moyens nécessaires pour que je réussisse mes études. Que Dieu tout puissant soit avec vous tout le temps et vous bénisse.
- Toute ma famille, pour leur encouragement et leur soutien. Toutes mes profondes reconnaissances pour votre affection et votre soutien.
- Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Mon amitié sincère et toute ma sympathie.

Veillez accepter toute notre gratitude et nos vifs remerciements.

Sommaire

GLOSSAIRE	i
LISTE DES ABREVIATIONS	iii
LISTE DES TABLEAUX	iv
LISTE DES FIGURES	v
LISTE DES PHOTOS	vi
LISTE DES ANNEXES	vii
INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I- Les plantes invasives	3
I. 1 Généralités	3
I.2 Les espèces exotiques envahissantes à Madagascar	3
II- L'allélopathie	4
II.1 Généralités sur l'allélopathie.....	4
II.2 Les substances allélopathiques et leurs impacts.....	5
III- La symbiose Légumineuse-Rhizobium	6
III.1 Définition de la symbiose rhizobienne	6
III.2 Importance agronomique de la symbiose rhizobienne.....	7
III.3 Les facteurs influençant la symbiose rhizobium-légumineuse	7
III.3.1 Les facteurs abiotiques.....	8
III-2-2-Les stress biotiques.....	8
IV- Généralités sur la technologie de l'inoculation microbienne	9
MATERIELS ET METHODES	10
I. Les matériels végétaux	10
I.1 <i>Grevillea banksii</i>	10
I.2 Le haricot commun (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	10
I.3 Le riz pluvial (<i>Oryza sativa</i>).....	11
I.4 Le maïs (<i>Zea mays</i>)	12
II. Méthodes	13
II.1 Échantillonnage des matériels biologiques	13
II.2 Test des extraits de feuilles de <i>Grevillea banksii</i> sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules.....	13
II.2.1 Effets des extraits aqueux de <i>G. banksii</i>	13
II.2.1.1 Préparation des extraits aqueux de <i>G. banksii</i>	13

II.2.1.2 Test des extraits aqueux de <i>G. banksii</i>	13
II.3 Effets litière de <i>G. banksii</i>	14
II.4 Effets du sol rhizosphérique de <i>G. banksii</i> sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules	14
II.5 Effets des extraits aqueux de <i>G. banksii</i> sur la nodulation de haricot	14
II.5.1 Rajeunissement des souches de rhizobia.....	14
II.5.2 Préparation de l'inoculum	14
II.5.3 Test des extraits sur la nodulation de haricot sur en tube Gibson.....	15
II.6 Impacts de l'inoculation rhizobial sur le développement de haricot en présence de la poudre de feuilles et de sol rhizosphérique de <i>G. banksii</i> sous serre.....	15
II.6.1 Préparation d'inoculum.....	15
II.6.2 Inoculation de haricot en présence de poudre de feuilles de <i>G. banksii</i> ou de sol rhizosphérique de <i>G. banksii</i>	15
II-7- Évaluation des résultats	16
II-7-1-Le poids secs de la biomasse	16
II-7-2-Nombre de nodules par plantule.....	16
II-7-3-Nombre de colonie de rhizobium dans le sol après la culture de haricot.....	16
II.8 Analyse des données	17
RESULTATS ET INTERPRETATIONS	18
I. Effets des extraits de feuilles de <i>Grevillea banksii</i> sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules	18
I.1 Résultats préliminaires	18
I.2 Effets des extraits aqueux de feuilles de <i>G. banksii</i> sur la germination des graines.....	19
I.3 Effets des extraits aqueux de feuilles de <i>G. banksii</i> sur les longueurs de la racine et de la partie aérienne des plantes cultivées.....	20
II. Effets litière de <i>Grevillea banksii</i> sur la germination des graines et sur la longueur des racines et les parties aériennes plantes des cultivées	21
III. Effets du sol rhizosphérique de <i>Grevillea banksii</i> sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules (riz, maïs, haricot).....	23
III.1. Effets du sol rhizosphérique de <i>G. banksii</i> sur la germination des graines de riz, de maïs et de haricot.....	23
III.2. Effets du sol rhizosphérique de <i>G. banksii</i> sur la longueur des racines et des parties aériennes de chaque plantule (riz, maïs, haricot)	24
IV. Effets des extraits de feuilles de <i>G. banksii</i> sur le développement de plants et sur la symbiose rhizobienne de haricots	26
IV.1 Effet des extraits de <i>G. banksii</i> sur le développement de haricot en serre	26
IV.2 Effet des extraits de <i>G. banksii</i> sur la nodulation de haricot in vitro et en serre	27

V. Dénombrement de rhizobium par traitement.....	27
DISCUSSION	29
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	33
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	34

GLOSSAIRE

GLOSSAIRE

Abiotique : ensemble des facteurs physico-chimique et pédoclimatique d'un écosystème influençant sur une biocénose donnée.

Allogame : phénomène de la fécondation d'une plante par le pollen d'une autre plante de la même variété ou espèce.

Autofécondation : fécondation d'un ovule par du pollen issu de la même plante.

Biomasse : ensemble de la matière organique, qu'elle soit d'origine végétale, animale ou microbienne.

Biotique : ensemble des facteurs biologiques liés à l'activité des êtres vivants et agissant sur la distribution des espèces animales et végétales d'un biotope donné.

Espèce exotique (espèce allochtone) : une espèce non indigène se trouvant dans un milieu qui n'est pas son aire de propagation naturelle et qui y a été introduite par suite directe ou indirecte de l'activité humaine.

Fécondation anémophile ou **anémophilie** ou **anémogamie** : est un processus de pollinisation où les gamètes mâles et femelles des végétaux se rencontrent transportés par le vent.

Germination : est le phénomène par lequel l'embryon contenu dans la graine sort de sa période de vie ralentie et se développe grâce aux réserves de la graine.

Inoculation : introduction volontaire ou accidentelle d'un ou de plusieurs microorganismes dans le corps ou dans un milieu de culture.

Inoculum : culture de microorganismes utilisée pour l'inoculation.

Légumineuses : sont des plantes dont les fruits sont contenus dans des gousses et peuvent être considérées comme des féculents grâce à leur richesse en amidon et en glucide des végétaux.

Nodule : structure qui se forme au niveau des racines des légumineuses après l'infection de la plante par des bactéries fixatrices d'azote conférant ainsi à la plante la capacité à utiliser l'azote atmosphérique.

Plante héliophile : est une plante qui apprécie l'exposition au soleil et à ses rayonnements (lumière, ultra-violet, chaleur).

Plante pyrophile : est une plante dont la persistance en un lieu est associée au passage récurant des flammes.

Plantes monoïques : sont des plantes caractérisées par la possession d'organes mâles et femelles sur la même plante mais dans des fleurs séparées (fleurs mâles et fleurs femelles).

Racine pivotante : est une racine de plante relativement droite et fuselée à orthogravitropisme positif.

Racines protéoïdes : sont des racines de plantes qui forment des groupes denses de courtes radicelles latérales très rapprochées.

Rhizobia : sont des bactéries qui fixent l'azote (diazotrophes) après installation dans les nodules des racines des légumineuses (Fabaceae).

Rhizosphère : zone du sol directement soumise à l'influence de la racine et où coexistent diverses espèces de microorganismes bénéfiques ou non pour la plante.

Symbiose : association à bénéfice mutuelle qui s'établit entre deux organismes.

Tourbes : résultats d'une décomposition très lente et incomplète de la matière organique en milieu anaérobie, matériaux bruns, fibreux à 50% de carbone.

Variété : se définit selon les caractères résultant d'un génotype, qui ont une influence sur leurs caractères phénotypiques. C'est donc un caractère de diversification d'individus dans les actions où les éléments constitutifs sont différents.

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA : Analyse of Variance

CNRE : Centre National de Recherche sur l'Environnement

E : Extrait

FOFIFA : FOibem-pirenena Fikarohana ho Fampanandrosoana ny eny Ambanivohitra

G. : *Grevillea*

H : heure

LME : Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement

MAEP : Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche de Madagascar

rh: rhizosphère

UFC: Unité Formant Colonie

YMA: Yeast Mannitol Agar

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Pourcentage de germination des graines de riz, maïs et haricot sous l'effet de l'extrait de feuille de *G. banksii*.

Tableau 2 : Effet des extraits aqueux de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, maïs et haricot.

Tableau 3 : Pourcentage de germination des graines et développement en longueur des racines et des parties aériennes des plantes cultivées en présence de la poudre de feuille de *G. banksii*.

Tableau 4 : Pourcentage de germination des graines de riz, de maïs et de haricot sous l'effet du sol rhizosphérique (rh) de *G. banksii*.

Tableau 5 : Effet du sol et de l'extrait du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, maïs et haricot.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Pourcentage de germination des graines de riz (A), de maïs (B) et de haricot (C) en absence des extraits.

Figure 2 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la germination des graines de plante cultivée (riz, maïs, haricot) sous l'effet des extraits aqueux de feuille de *G. banksii*.

Figure 3 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation du développement des racines et des parties aériennes des plantes testées sous l'effet des extraits aqueux de *G. banksii*.

Figure 4 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation de germination des graines (A) et du développement en longueur des racines et des parties aériennes (B, C) des plantes cultivées en présence de la poudre de feuille de *G. banksii*.

Figure 5 : pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la germination des graines des plantes cultivées (riz, maïs, haricot) sous l'effet du sol rhizosphérique de *G. banksii*.

Figure 6 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation du développement en longueur des racines et des parties aériennes des plantes cultivées en présence du sol rhizosphérique de *G. banksii* et leur extrait.

Figure 7 : Poids sec de la biomasse racinaire et aérienne par plantule de haricot en présence des extraits de feuille de *G. banksii*.

Figure 8 : Nombre de nodules de chaque plantule de haricot cultivé dans le tube Gibson et sous serre en présence d'extrait de *G. banksii* et de R8.

Figure 9 : Nombre d'UFC de rhizobium dans différents traitements.

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Nodules sur la racine de soja.

Photo2 : Arbre de *Grevillea banksii*.

Photo 3 : Haricot avec des gousses et des fleurs.

Photo 4 : Le riz.

Photo 5 : Le maïs.

Photo 6 : Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot sous l'effet des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii*.

Photo 7: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot en présence de la poudre de feuilles de *G. banksii*.

Photo 8: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot en présence du sol rhizosphérique de *G. banksii*.

Photo 9: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot sous l'effet de l'extrait de sol rhizosphérique de *G. banksii*.

LISTE DES ANNEXES

Annexes 1 : Composition du milieu YMA

Annexes 2 : Composition du milieu JENSEN

Annexes 3 : Caractères morphologiques et classification de rhizobium

Annexes 4 : Caractères biochimiques et cultureux de rhizobium

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Grevillea banksii, une espèce de plante originaire de Queensland-Australie, a été introduite et naturalisée dans la région orientale de Madagascar, particulièrement à Maroantsetra, Ivoloïna, Ambila, Ivakoana, Manakara, Taolagnaro (Akon'ny Ala, 1993). La principale utilisation de la plante était l'embroussaillage des « tanety » des basses collines de l'Est de la Grande île (Andrianirina, 1969 ; Rajoelison, 1987 ; Randrianatoandro, 2003). Pourtant, après quelques années de son installation, l'espèce a été identifiée comme étant une espèce dangereuse pour l'écosystème local d'où sa classification parmi les espèces de plantes invasives à Madagascar (Binggeli, 2003). Dans ce sens, Andrianandrasana (2015) a rapporté que l'effet allélopathique de cette plante invasive sur son milieu d'introduction est parmi les facteurs favorisant son installation.

L'allélopathie est un phénomène écologique qui affecte directement ou indirectement les activités normales de plantes voisines ou d'autres organismes y compris les microorganismes du sol, par la libération des substances allélochimiques dans l'environnement et leurs effets qui peuvent être préjudiciables ou bénéfiques (Rice, 1979; Peneva, 2007; Zeng *et al.*, 2008). Plusieurs études ont déjà montré que certaines plantes exotiques ont la capacité de produire ces substances et d'influencer par la suite l'environnement où elles s'installent (Willis, 2004; Bais *et al.*, 2003; Machado, 2007). Ces effets se trouvent généralement au niveau de la capacité de germination des graines, la croissance globale de la plante et surtout sur l'absorption des nutriments pour les espèces sensibles (Rizvi *et al.*, 1999; Marwat et Khan, 2006). A titre d'exemple, Balicevic *et al.*, (2015) ont montré que la plante invasive *Solidago gigantea* a diminué le taux de germination des graines et le développement des plantules des plantes cultivées tels que la Carotte, le Coriandre et le Barley.

A Madagascar, le haricot, le riz et le maïs sont les principales espèces de plantes vivrières cultivées par les paysans et constituent les aliments de base de la population Malagasy. De ce fait, ces plantes occupent une place primordiale grâce à leurs intérêts agro-économiques et environnementaux. L'intérêt des plantes légumineuses provient en premier lieu de leur aptitude à la fixation symbiotique de l'azote (Boudanga, 2011). En effet, ces plantes permettent de contribuer à la fertilisation azotée en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique dans le système grâce à leur utilisation en rotation ou en association dans les systèmes de culture (Babo, 2002). De nombreuses légumineuses constituent une source majeure de protéines et d'huiles végétales (Graham et Vance, 2003) et sont largement

cultivées sur l'ensemble de la planète. Ces plantes telles que le haricot (*Phaseolus vulgaris*) est une plante capable de former des nodules effectifs avec des groupes des bactéries génétiquement hétérogènes d'origines différentes (Pinero *et al.*, 1988; Martinez *et al.*, 1988; Laguerre *et al.*, 1993 ; Eardly *et al.*, 1995). Ces microorganismes sont généralement connus par leur faculté d'augmenter significativement l'efficacité d'acquisition des nutriments par la plante hôte (Strullu, 1991 ; Koide et Mosse, 2004). Pourtant, certains de ces microorganismes sont sensibles aux substances allélopathiques produites par les plantes exotiques (Andrianandrasana, 2015). Ceux qui pourraient influencer négativement le développement des plantes cultivées.

Ces dernières années, les paysans de la région Est de Madagascar défrichent la population de *G. banksii* afin de cultiver des espèces des plantes vivrières sur le sol envahi (obs. pers). Toutefois, les mécanismes régissant l'envahissement de *G. banksii* sur le développement de ces plantes cultivées ne sont pas encore élucidés. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de décrire le potentiel allélopathique de *G. banksii*, une plante exotique à Madagascar, sur la germination des graines de plantes cultivées (riz, haricot et le maïs) et le développement des plantes cultivées et sur l'association symbiotique entre le haricot et le rhizobia. De ce fait, l'hypothèse sur laquelle repose cette étude stipule que « la pré-invasion de *G. banksii* affecterait l'initiation du développement des plantes cultivées. Ceci se traduit particulièrement par l'inhibition de la germination des graines de ces plantes et de l'établissement de l'association symbiotique des légumineuses ».

Afin de vérifier cette hypothèse, les objectifs spécifiques suivants ont été visés :

- ❖ Évaluation des effets allélopathiques de *G. banksii* sur la germination des graines et sur la phase initiale du développement des plantes cultivées in-vitro et sous serre.
- ❖ Description des effets allélopathiques de *G. banksii* sur les microsymbiotes (le rhizobia) associés aux racines des plantes cultivées.

Le présent document rapporte les travaux réalisés en trois parties : la synthèse bibliographique des connaissances actuelles sur les axes de recherche développés, les matériels et les méthodes et enfin les résultats. Ces trois parties sont précédées d'une introduction générale et sont terminées par une partie qui soulignera la discussion suivie de la conclusion et des perspectives.

Le présent travail a bénéficié des apports matériels, techniques et scientifiques du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du CNRE et a été réalisé dans le cadre de son programme de recherches.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Les plantes invasives

I. 1 Généralités

« Invasif » est un terme anglais qui s'est répandu dans le langage courant pour désigner les espèces exotiques envahissantes. En effet, les plantes exotiques envahissantes, couramment appelées plantes invasives, sont des espèces introduites par l'homme volontairement ou accidentellement, dans une région où elles n'existaient pas auparavant, et qui se répandent dans cette nouvelle région de manière incontrôlée. Les plantes invasives sont connues actuellement par sa capacité à menacer la biodiversité et engendrer des problèmes économiques considérables (Inderjit *et al.*, 2008, Rastogi *et al.*, 2015). Selon IUCN, l'invasion biologique constitue la deuxième cause de la perte de la biodiversité à l'échelle mondiale, après la destruction des habitats (Elton, 1958 ; Lodge, 1993 ; Williamson, 1996 ; Parker, 1999 ; Mooney et Hobbs, 2000 ; Sala *et al.*, 2000 ; Cronck *et al.*, 2001).

En outre, le succès des plantes exotiques dans un milieu d'introduction dépend de plusieurs facteurs entre autres la capacité invasive de l'espèce qui est l'aptitude des espèces à l'invasion et la sensibilité du milieu (Vanderhoeven *et al.*, 2006) ou la vulnérabilité d'un écosystème aux invasions. Concernant la capacité envahissante d'une espèce végétale, plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer leur efficacité. L'une d'entre elle, est la théorie des armes nouvelles (ou Novel weapons) décrites par Callaway et Ridenour en 2004. Ces auteurs ont affirmé que les plantes exotiques produisent des substances toxiques qui inhibent le développement des autres espèces de plantes avoisinantes. Ce phénomène est appelé, selon d'autre auteur, l'effet allélopathique (Rice, 1984). La mise en évidence de ce phénomène chez *G. banksii* sur le développement des plantes cultivées de Madagascar sera évaluée au cours de cette étude.

I.2 Les espèces exotiques envahissantes à Madagascar

Des espèces exotiques ont été introduites à Madagascar depuis la première arrivée de l'homme dans la Grande île, il y avait plus de 2000 ans dans lequel il apportait avec lui des plantes cultivées (Rakotoarisoa, 1997). Le reboisement des plantes exotiques a été l'un des objectifs importants de la politique coloniale des colonisateurs français depuis leur arrivée en 1895 (François, 1926). Cette situation renforçait l'introduction des plantes exotiques à Madagascar. En outre, le reboisement des espèces exotiques à croissance rapide a été adopté pour limiter la dégradation du sol, améliorer sa productivité et lutter contre l'exploitation

abusive des essences natives (Tassin, 1995 ; Carrière et Randriambanona, 2007). Par conséquent, on a recensé plus de 900 espèces d'arbres introduites à Madagascar (Chauvet, 1969 ; Sutter et Rakotonoely, 1989). Pourtant, certaines de ces espèces deviennent invasives dont les plus dangereuses arrivent à menacer la conservation de la végétation, particulièrement les végétations natives (Richardson *et al.*, 2004 ; Jager *et al.*, 2007 ; Ens et French, 2008 ; Gerber *et al.*, 2008). Parmi les espèces exotiques envahissantes à Madagascar figure *G. banksii* pour laquelle les cas les plus remarquables se trouvent dans la partie Est de la grande île (Binggeli, 2003). C'est une espèce de plante d'origine Queensland-Australie et introduite à Madagascar vers les années 50.

Actuellement, les paysans habitant dans les régions où il y a propagation de la plante invasive valorisent ces arbres pour leurs besoins quotidiens tels que la fabrication du charbon de bois, menuiserie et surtout dans l'agriculture.

II- L'allélopathie

II.1 Généralités sur l'allélopathie

Ce terme a été présenté pour la première fois par Molish en 1937 regroupant les interactions biochimiques entre tous types de plante et incluant les microorganismes (Rice, 1984).

C'est un terme grec qui signifie « allelo » les uns des autres (Ang. of one another) et de « souffrir (Ang. Suffering) qui indique l'effet préjudiciable de l'une sur l'autre, c'est-à-dire l'inhibition de la croissance d'une plante par une autre grâce à la production et la libération de substances chimiques toxiques dans l'environnement (Heisey, 1997).

En 1996, la société internationale d'allélopathie (The International Allelopathy Society, IAS) définit l'allélopathie comme étant tout processus impliquant des métabolites secondaires produits par les plantes, micro-organismes, virus et champignons qui ont une incidence sur la croissance et le développement de l'agriculture et les systèmes biologiques (à l'exclusion des animaux), y compris les effets positifs et négatifs » (Torres *et al.*, 1996).

Selon Boullard (1997), ce terme correspond au phénomène où certaines plantes supérieures sont capables de réagir biologiquement en présence d'autres espèces, il s'agit donc d'une interaction à distance entre végétaux pluricellulaires ou entre végétaux et champignons, liée à l'influence de métabolites d'une espèce sur une autre espèce. Inderjit *et al.*, (1999) ont utilisé le terme dans un sens plus large, de telle sorte que les substances libérées par les plantes affectent également d'autres composantes de l'environnement. Ils ont utilisé le terme « interaction allélochimique » qui englobe (i) l'allélopathie, (ii) les effets des substances allélopathiques libérées par les plantes sur les facteurs abiotiques (inorganiques et

organiques) et biotiques des sols et (iii) la régulation de la production et la libération des substances allélopathiques par les composantes biotiques et abiotiques de l'écosystème.

De nombreuses études suggèrent que l'allélopathie peut contribuer à la capacité d'une espèce exotique à devenir dominante vis à vis des communautés végétales en général (Ridenour et Callaway 2001 ; Hierro et Callaway 2003).

II.2 Les substances allélopathiques et leurs impacts

Les substances allélopathiques sont des métabolites secondaires appartenant à différentes classes de composés chimiques (Denmendor D. 2010). Ces substances varient qualitativement et quantitativement dans les différentes parties de la plante (fleurs, feuilles, épines, racines, tiges) (Zeng *et al.*, 2008) et selon les saisons. Elles peuvent persister dans le sol et donc affecter plusieurs successions de végétation et les plantes voisines. La majorité de ces composés ont un effet inhibiteur sur la germination des graines et sur la croissance des germes, leurs effets peuvent être synergiques ou additifs. (Ferguson *et al.*, 2003, Tang et Young 1982, Gallet et Lebreton, 1994, Yamane *et al.*, 1998).

A titre d'exemples : Bais *et al.*, (2002) révèlent que la catéchine (polyphénol), un composé d'exsudat de racine, a un large spectre d'activité herbicide. Sasikumar *et al.*, (2001) ont identifié des composés allélochimiques dans les extraits de l'écorce et les feuilles de 4 espèces d'*Eucalyptus* (*E. tereticornis* Sm., *E. camaldulensis* D., *E. polycarpa* F. M. et *E. microtheca* F. M.), il s'agit alors de composés phénoliques (les acides: catéchol, coumarique, ferulique, gallique, gentistique, hydroxybenzoïque, syringique et vanillique). En outre, la catéchine et l'acide hydroxybenzoïque sont des molécules identifiées dans l'hydrolysate des frondes de la fougère femelle (*Athyrium filix-femina* (L.) Roth.), elles sont susceptibles d'être responsables du retardement de la germination *in vitro* de l'épicéa (*Picea abies* (L.) Karst.) (Pellisier, 1993). Macheix *et al.*, (2005) ont donné l'exemple de composés phénoliques pour expliquer l'action des composés allélopathiques dans les relations des plantes avec les facteurs de milieu. Ils ont illustré l'action de ces composés comme suit :

- Les composés phénoliques interviennent dans les symbioses rhizobium-légumineuses par :
 - Activation des gènes de nodulation
 - Inhibition de l'activation des gènes de nodulation.
- Ils interviennent également dans les réactions hôte-parasite par :
 - Activation des gènes de virulence
 - Barrière physique ou chimique, constitutive ou induite
- Ils jouent un rôle dans la protection contre le rayonnement UV

- Ils interviennent dans les relations plantes-animaux en influençant la couleur et la pollinisation.

Dans la plupart des cas, les effets négatifs de l'allélopathie conduisent à la mortalité ou à un blocage de la croissance d'une plante. En outre, l'allélopathie est parfois plus restrictive et ne considère que les propriétés concurrentielles dont la plante dispose et qui réduisent la croissance, la productivité et le rendement d'autres cultures, s'expriment en situation de monoculture ou de succession, causent une maladie du sol, un déséquilibre des nutriments et de la population microbienne, et peuvent être exploitées pour supprimer de façon sélective les adventices à travers différentes manipulations (Batish *et al.*, 2001; Khanh *et al.*, 2005).

III- La symbiose Légumineuse-Rhizobia

III.1 Définition de la symbiose rhizobienne

La symbiose rhizobienne est une association entre les plantes de la famille des légumineuses et des bactéries du type *Rhizobium* permettant de réduire l'azote atmosphérique en des formes assimilables par les plantes. Cette symbiose est un processus indispensable à la plante pour acquérir l'azote sous forme réduite, mais aussi aux rhizobia pour obtenir les nutriments nécessaires à leur développement (Raven *et al.*, 2000).

Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines appelée nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange à bénéfice réciproque (Eric G., 2007).

La formation de la nodosité se déroule en 4 étapes dont la fixation du rhizobia sur le poil absorbant ainsi que la courbure du poil ; les étapes du processus d'infection via un cordon d'infection ; la division cellulaire corticale et le développement de primordium nodulaire en nodosité pendant que les bactéries pénètrent dans les cellules végétales et se différencient en bactéroïdes formant ainsi le symbiosome dans lequel la fixation de l'azote atmosphérique va se réaliser (Djordjevic, 2004).



Photo 1 : Nodules sur la racine de Soja (Source : <http://www.cetiom.fr/soja/cultiver-du-soja/inoculation>)

III.2 Importance agronomique de la symbiose rhizobienne

Les légumineuses présentent d'énorme avantage par rapport aux autres plantes du fait de leur pouvoir à s'associer avec des bactéries du sol communément appelées rhizobia (Noel, 2009). En effet, la symbiose rhizobienne permet aux légumineuses d'avoir une bonne croissance sur des sols carencés en azote. A titre d'exemple, le pois d'Angole (*Cajanus cajan*) qui est cultivé sous les tropiques incluant les régions semi-arides peut satisfaire jusqu'à 96% de ses besoins azotés par le biais de celle-ci (Kumar Rao *et al.*, 1986). Généralement, la fixation biologique de l'azote par le rhizobia atteint jusqu'à 200 tonnes d'azote fixé par an (Ferguson *et al.*, 2010). Elle permet, par suite, d'enrichir le sol en azote et surtout de limiter l'apport en engrais azoté et de satisfaire la nutrition des légumineuses (Berrada et Benbrahim, 2004). Ce qui permet également d'augmenter la population des rhizobia spécifiques à la légumineuse hôte après la culture, autrement dit, la symbiose rhizobienne fournit un cadre de reproduction bénéfique qui favorise l'évolution des espèces bactériennes dans le sol (Noel, 2009). Selon Anthony (2005), une inoculation typique des graines de soja induit une augmentation de 256.10^9 bactéries par are dans le sol. De l'autre côté, les bactéries introduites dans le sol par inoculation peuvent y demeurer actives pendant 10 à 125 ans (Nutman, 1975).

III.3 Les facteurs influençant la symbiose rhizobium-légumineuse

La fixation de l'azote se déroule généralement au niveau de la rhizosphère par les bactéries du sol en formant une symbiose avec les racines des légumineuses. Plusieurs facteurs

environnementaux peuvent limiter la croissance et l'activité des bactéries du sol (Obaton, 1992 ; Fitouri, 2011) inhibant ainsi la formation et/ou le fonctionnement de la symbiose fixatrice d'azote.

III.3.1 Les facteurs abiotiques

Le stress abiotique est défini comme étant l'impact négatif des facteurs non vivants sur des organismes dans un environnement. Ces facteurs, d'origines naturelles ou anthropiques, influencent négativement la performance de la population ou la physiologie des individus (Vinebrooke *et al.*, 2004). En effet, les facteurs suivants sont les plus cités comme limitant la symbiose entre les légumineuses et le rhizobia :

- **La richesse en éléments minéraux nutritifs du sol** : si la concentration de la solution du sol en azote combiné dépasse 1mM, la formation des nodules et l'activité fixatrice de l'azote atmosphérique sont fortement réduites (Munns, 1997).
- **Le potentiel hydrique du sol** : il affecte la symbiose fixatrice d'azote en inhibant la formation et la croissance nodulaire, le métabolisme du carbone et de l'azote, l'activité de la nitrogénase et la perméabilité nodulaire à l'oxygène (Zahran et Sprent, 1986 ; Aguirreolea and Sánchez-Díaz, 1989 ; Sadowsky, 2005).
- **Le pH du sol**: les deux partenaires symbiotiques sont extrêmement sensibles au pH du sol. En effet, la majorité des légumineuses nécessitent des pH neutres ou légèrement acides pour établir une symbiose efficace dans le sol (Bordeleau et Prévost, 1994).
- **La température** : la plus haute température du sol peut inhiber la fixation de l'azote atmosphérique (Gibson *et al.*, 1982). Dans certaines conditions, elle peut devenir un facteur limitant de la fixation de l'azote atmosphérique.
- **La lumière** : c'est le facteur qui influence sans doute le plus la symbiose puisqu'elle commande la photosynthèse de la plante, ainsi que l'approvisionnement en hydrate de carbone pour la croissance et le fonctionnement des nodules (Lie, 1974).

III-2-2-Les stress biotiques

Un stress biotique est un stress résultant de l'action néfaste d'un organisme vivant sur un autre organisme vivant telle qu'une attaque d'un pathogène. Au niveau de la rhizosphère, plusieurs d'autres organismes inhibent la croissance de rhizobia et la symbiose rhizobienne :

- Certains champignons, actinomycètes et bactéries du sol peuvent limiter le développement de rhizobium grâce à la libération des antibiotiques ou des toxines plus spécifiques des bactéries (bactériocines) dans leur environnement immédiat (Chowdhury, 1976).

- Les rhizobia sont également sensibles à des virus bactériophages présents dans le sol (Chowdhury, 1976). Le dépérissement des cultures de luzerne (fatigue des luzernières) suite à l'action lytique des rhizobiophages sur les rhizobia entraîne une diminution de la fixation de l'azote atmosphérique (Demolon et Dunez, 1933).
- Enfin, d'autres microorganismes sont des prédateurs typiques de rhizobia, notamment des bactéries et des protozoaires (Habte et Alexander, 1978).

Vis-à-vis de ces différents stress, la sélection des souches de rhizobia effectives et résistantes (bactéries compétitives) est une étape primordiale pour améliorer le rendement des cultures via le bon développement de la plante hôte. L'efficacité de ces bactéries sélectionnées sur le développement et le rendement de production des légumineuses est largement étudiée actuellement en utilisant la technique de l'inoculation microbienne du sol.

IV- Généralités sur la technologie de l'inoculation microbienne

Les microorganismes symbiotiques sont naturellement présents dans les sols. Pourtant, l'établissement de la symbiose peut être limité par leur nombre ou leur spécificité. Un apport de microorganismes symbiotiques sous forme d'inoculum au niveau de plantes permet d'améliorer la croissance des cultures en les aidant à s'approvisionner en éléments nutritifs et en eau très souvent limités dans les sols des régions arides et semi-arides.

L'inoculation microbienne est la pratique qui consiste à introduire en masse des microorganismes sélectionnés dans un milieu donné et qui permet de pallier leur absence ou leur insuffisance à l'état naturel. Un inoculum étant une formulation des souches microbiennes sous support solide ou liquide (Baraibar, 2000). Dans le cas de la culture de légumineuse, par exemple, l'inoculation avec des souches de rhizobium sélectionnées est nécessaire lorsque les populations naturelles sont absentes ou trop faibles, afin d'assurer une efficacité optimale de la symbiose (Amarger, 1991). L'inoculation s'effectue généralement selon deux techniques soit par l'injection de l'inoculum sous forme liquide (la bactérie en suspension aqueuse) (Schiffers *et al.*, 1982) soit sous forme solide (sur un support de vermiculite) en effectuant la technique d'enrobage des graines (Vitosh, 1997) qui consiste à enrober les graines par l'inoculum sous forme solide quelques heures avant le semis. La densité des bactéries est environ 10^9 bactéries/g de l'inoculum (N'gbesso *et al.*, 2010) avec une proportion de 100g d'inoculum pour 15kg de graines (N'gbesso *et al.*, 2010 ; N'Zi *et al.*, 2015).

**MATERIELS ET
METHODES**

MATERIELS ET METHODES

I. Les matériels végétaux

Grevillea banksii, le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) variété « Ranjonomby », le riz pluvial (*Oryza sativa*) variété « Botra fotsy » et le maïs (*Zea mays*) sont les matériels végétaux utilisés dans cette étude.

I.1 *Grevillea banksii*

Grevillea banksii est une espèce de plante originaire du Queensland (Australie) et se répartit actuellement dans différentes régions, entre autres l'île de Rarotonga de l'archipel des îles de Cook en Pacifique Sud, dans les îles Fidji, en Polynésie française, en Afrique du Sud et à la Réunion ; envahissante à Hawaii et sur la partie Est de Madagascar (Binggeli, 2003 ; Le Bourgeois et Camou, 2006). C'est un petit arbre ou arbuste élancé (mince ou étalé), mesurant quelques mètres de hauteur (jusqu'à 10m), une plante à croissance végétative rapide, à fécondation anémophile, une espèce héliophile et pyrophile. Il appartient à la famille des PROTEACEAE (Engler, 1894 ; Purnell, 1960).

Position systématique

REGNE : PLANTAE

DIVISION : MAGNOLIOPSIDA

CLASSE : LILIOPSIDA

ORDRE : PROTEALES

FAMILLE : PROTEACEAE

GENRE : *Grevillea*

Nom binomial: *Grevillea banksii* (R. Br., 1810)



Photo 2 : Arbre de *Grevillea banksii* (Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Grevillea>)

I.2 Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*)

Le haricot est l'un des légumineuses alimentaires qui a suscité un débat controversé sur son éthologie et son origine dans l'histoire (Chaux et Foury, 1994). Il a été domestiqué en Amérique centrale et en Amérique du Sud il y a plus de 9 700 ans. Des graines sèches furent introduites et semées au XVIe siècle en Europe puis, sa culture s'est rapidement diffusée dans les zones méditerranéennes et subtropicales (Peron, 2006). Actuellement, le haricot se produit dans le monde entier et se trouve dans tous les pays d'Afrique tropicale.

Il est d'avantage apprécié dans les pays francophones qu'anglophones, dans les zones urbaines que rurales, plutôt dans les hautes terres que dans les basses terres et en saison fraîche qu'en saison chaude (Gentry, 1969). C'est une plante constituée par l'assemblage de trois organes fondamentaux : la tige, les feuilles et les racines. Ces trois organes forment l'ensemble de l'appareil végétatif de la plante tandis que les deux organes qui sont le fruit et la fleur forment l'ensemble de l'appareil reproducteur.

La variété « Ranjonomy » ou lingot blanc a été associée avec la culture de riz pluvial. Cette variété a été créée à partir de la sélection massale des populations locales du haricot blanc par le FOFIFA en 1995. Elle constitue une variété commerciale, très prisée au niveau du marché local et extérieur et dont le rendement à l'hectare est de 1000 -1200 kg (MAEP, 2007).

Le haricot, *Phaseolus vulgaris* L., appartient à la tribu de *Phaseolus* dont le nombre chromosomique est de $2n=22$ (Chaux et Foury, 1994). Selon Guignard (1998), la position systématique de haricot est la suivante :

REGNE : VEGETAL

EMBRANCHEMENT : SPERMAPHYTES

SOUS EMBRANCHEMENT : ANGIOSPERMES

CLASSE : DICOTYLEDONES

ORDRE : FABALES

FAMILLE : FABACEES

GENRE : *Phaseolus*

ESPECE : *Phaseolus vulgaris* L



Photo 3 : Haricot avec des gousses et des fleurs (Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Haricot>)

I.3 Le riz pluvial (*Oryza sativa*)

Presque la moitié de l'humanité dépend du riz pour son alimentation. En dehors de l'Asie, Madagascar est l'une des plus anciennes régions de riziculture. Le riz pluvial est le riz qui est cultivé sans être immergé, c'est-à-dire non pas dans une rizière, mais dans un champ. Il peut être utilisé comme culture de couvre-sol (lors des cultures sans-labour) protégeant le sol de l'érosion avant semis d'une autre plante (parfois désherbé avec un pesticide). Ce mode de culture est dit « riziculture pluviale ». Il est aujourd'hui notamment développé en Afrique de l'Ouest, et dans quelques zones tropicales à titre expérimental ou de culture traditionnelle. C'est une plante annuelle à cycles de 90 à 120 jours et possède un système racinaire pivotant, peu tolérant aux inondations prolongées.

Classification systématique (<http://www.tropicos.org/>)

REGNE : PLANTAE

SUBDIVISION : SPERMATOPHYTA

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASSE : EQUISETOPSIDA

SOUS CLASSE : MAGNOLIIDAE

SUPERORDRE : LILIANAE

ORDRE : POALES

FAMILLE : POACEAE

GENRE : *Oryza*

ESPECE : *Oryza sativa* L.



Photo 4 : Le riz (Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Riz>)

I.4 Le maïs (*Zea mays*)

Le maïs (*Zea mays*) est une plante annuelle de la famille des Poaceae (Girardin, 1999), il est originaire de l'Amérique centrale et principalement cultivé pour ses graines riches en amidon, et pour ses longues tiges et feuilles à usage fourragère. Les styles des inflorescences femelles de cette plante sont également utilisés en pharmacopée pour leurs propriétés cholagogues, diurétiques et anti-lithiasiques. Sa grande richesse en vitamines K lui confère par ailleurs des vertus antihémorragiques (Perrot et René, 1974). C'est une plante monoïque et allogame. Son cycle de développement est relativement court grâce à une photosynthèse spécifique qui lui permet de très bien valoriser la lumière et la chaleur. Ce cycle se décompose en trois phases qui sont la phase végétative, la phase de production et la phase de développement de grain et de maturation.

Position systématique (<http://www.tropicos.org/>)

REGNE : PLANTAE

SOUS REGNE : VIRIDAEPLANTAE

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASSE : EQUISETOPSIDA

SOUS-CLASSE : MAGNOLIIDAE

SUPER ORDRE : LILIANAE

ORDRE : POALES

FAMILLE : POACEAE

GENRE : *Zea*

ESPECE : *Zea mays*



Photo 5 : Le maïs
(Source <https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%AFs>)

II. Méthodes

II.1 Échantillonnage des matériels biologiques

La propagation de *G. banksii* à Madagascar se trouve principalement dans la partie orientale de la Grande Île. Cette espèce occupe actuellement un vaste étendu de surface dans la région. Pour cela, les districts de Vatovandry et de Brickaville sont parmi les Districts le plus envahi par *G. banksii*. Ainsi, les échantillons de feuilles de *G. banksii* et du sol sous la population homogène de *G. banksii* utilisés dans le cadre de cette étude ont été collectés dans le district de Brickaville, Commune rurale de Ranomafana-Est, plus précisément autour de la forêt de Vohilahy dans le Fonkotany d'Ankorabe en janvier 2017.

Des grains de Maïs (*Zea mays* L.), de Riz (*Oriza sativa* L.) et de Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) ont été choisis pour déterminer l'effet allélopathique de *G. banksii*. Les graines de Haricot, variété Ranjonomy, ont été fournies par le Laboratoire de FOFIFA (Centre National des recherches appliquées au Développement Rural à Madagascar). Les graines de Riz et de Maïs ont été fournies par les paysans dans le Fonkotany d'Ankorabe (Ranomafana-Est).

II.2 Test des extraits de feuilles de *G. banksii* sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules

II.2.1 Effets des extraits aqueux de *G. banksii*

II.2.1.1 Préparation des extraits aqueux de *G. banksii*

Des feuilles de *G. banksii* mature collectées dans le site d'étude ont été séchées à l'air libre (25-30°C) puis broyées à l'aide d'un mortier pour obtenir de la poudre de la plante. Cinq grammes de la poudre végétale obtenue ont été macérés dans 100ml d'eau distillée. Le macérât obtenu a été homogénéisé pendant 24 et 48 heures sous agitateur magnétique à température de 28°C. L'homogénat a été ensuite filtré sur le papier filtre Wattman n°1 et le filtrat obtenu constitue l'extrait aqueux de la plante.

II.2.1.2 Test des extraits aqueux de *G. banksii*

Les effets des extraits aqueux de *G. banksii* ont été ensuite testés sur la germination des graines de plante cultivée (haricots, riz, maïs). Pour cela, 10 graines de chaque plante ont été trempées dans 5 millilitres d'extrait et déposées dans des boîtes de pétri contenant du papier filtre. L'eau distillée a été utilisée pour le témoin. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Le nombre de graines germées et les longueurs de la partie racinaire et la partie aérienne ont été évaluées après 5-10 jours d'incubation à 25°C.

II.3 Effets de la litière de *G. banksii*

Des feuilles de *G. banksii* ont été coupées en petits morceaux et broyées, 2g de poudre de feuilles de *G. banksii* ont été déposés dans de boîte de Pétri et recouverte par un papier filtre. Puis 10ml d'eau distillée ont été additionnées en dessous du papier filtre. Ensuite, 10 graines de chaque espèce de plante cultivée (haricots, riz, maïs) ont été déposées sur le papier filtre inondé. Le traitement a été répété 4 fois. Le taux de germinations des graines et les longueurs de la partie aérienne et la partie racinaire ont été évaluées après 5-10 jours d'incubations à 25°C.

II.4 Effets du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules

Dix grammes du sol rhizosphérique de *G. banksii* ont été mélangés avec 100ml d'eau distillée stérile et agités pendant 72 heures puis filtrés. L'extrait obtenu a été testé *in vitro* (en boîte de pétri) en suivant la technique décrite auparavant (effets des extraits aqueux de *G. banksii*). Des effets du sol rhizosphérique (poudre) ont été réalisés également. Pour cela, 2g de sol sous *G. banksii* a été déposé dans chaque boîte de Pétri en suivant la technique décrite dans le paragraphe II.3 (Effets de la litière).

II.5 Effets des extraits aqueux de *G. banksii* sur la nodulation de haricot

II.5.1 Rajeunissement des souches de rhizobia

Une souche de rhizobia codé R8, compatible avec le haricot, issue de la collection du LME/CNRE a été utilisée. La souche sélectionnée a été repiquée dans des boîtes de Pétri contenant préalablement de milieu de culture Yeast mannitol agar (YMA) (Vincent, 1970) puis incubée dans une étuve à 30°C pendant 24h dans le but d'obtenir de colonies jeunes et isolées.

II.5.2 Préparation de l'inoculum

Une colonie jeune et isolée obtenue a été repiquée dans des flacons stériles de 20ml contenant préalablement 10ml du milieu YMA liquide. Le flacon a été incubé sous agitation et à l'obscurité à une température de 28°C jusqu'à la phase exponentielle de croissance de la souche. La pré-culture obtenue a étéensemencée dans 200ml du milieu YMA, préparé dans un Erlen Meyer 500ml, à raison de 10% (V/V).

II.5.3 Test des extraits sur la nodulation de haricot en tube Gibson

Un test des extraits aqueux de *G. banksii* sur l'inhibition de la formation des nodules chez le haricot a été testé *in vitro* dans des tubes Gibson. Il s'agit de faire un test de nodulation de haricot avec la souche de rhizobia codé R8 mais en ajoutant d'extrait aqueux de *G. banksii* agité de 24h et 48h à une quantité de 0; 1; 5 et 10ml dans chaque tube. Cinq répétitions pour chaque traitement ont été réalisées. Après 1mois de culture, le nombre de nodules pour chaque plantule et par traitement a été évalué.

II.6 Impacts de l'inoculation rhizobiale sur le développement de haricot en présence de la poudre de feuilles et de sol rhizosphérique de *G. banksii* sous serre

II.6.1 Préparation d'inoculum

Une pré-culture a été préparée à partir d'une colonie pure de la souche de rhizobium codé R8 sur milieu YMA (Vincent, 1970). La souche a été repiquée dans de flacons stériles de 20 ml contenant préalablement 10 ml du milieu YMA. Le flacon a été incubé sous agitation et à l'obscurité à une température de 28°C jusqu'à la phase exponentielle de croissance de la souche. La pré-culture obtenue a étéensemencée dans 200ml du milieu YMA, préparé préalablement dans un Erlen Meyer 500ml, à raison de 10% (V/V). L'inoculum proprement dit a été préparé en mélangeant la culture de rhizobium dans un tourbe préalablement stérilisé à raison de 25%, c'est-à-dire 25ml du pré culture est ajouté dans 75g de tourbe et puis incubée dans l'étuve à 25°C.

II.6.2 Inoculation de haricot en présence de poudre de feuilles de *G. banksii* ou de sol rhizosphérique de *G. banksii*

Le sol de culture a été composé d'un sable stérilisé et de la poudre de feuilles de *G. banksii*. La quantité de la poudre varie de 0, 1, 2 et 3 grammes par pot. La technique d'enrobage des graines a été utilisée. Elle consiste à mélanger des graines de haricot avec du tourbe et de la solution de glucose à 40% qu'on laisse par la suite se reposer pendant 30 minutes. Des graines de haricots enrobées ont été repiquées en raison d'une graine par pot et 10 répétitions par traitement. L'arrosage a été effectué 2 à 3 fois par semaine avec de l'eau de robinet sans le fertiliser.

Dans le cas du sol rhizosphérique, l'inoculation a été effectuée avec du sol rhizosphérique non stérilisé dilué avec du sable stérile en raison de 50% (V/V). Deux témoins ont été utilisés l'un avec du sable stérilisé et inoculé avec de la souche de rhizobium et l'autre avec du sol rhizosphérique non inoculé.

II.7 Evaluation des résultats

L'évaluation des résultats a été effectuée au stade de floraison de haricot en mesurant les paramètres suivants :

II.7.1 Le poids secs de la biomasse

Dix pots par traitement ont été déposés. Les sols et les parties aériennes et racinaires ont été récupérés pour la suite de l'étude. En effet, les parties aériennes et racinaires de chaque plantule ont été séparées les unes des autres et enveloppées dans du papier aluminium. Elles ont été ensuite séchées dans une étuve réglée à 100°C pendant 24h. Le poids sec des biomasses aériennes et racinaires a été mesuré à l'aide d'une balance de précision.

II.7.2 Nombre de nodules par plantule

Avant de faire le séchage des racines, le système racinaire de chaque plantule a été soigneusement lavé à l'eau courante. Les nodules formés sur les racines ont été comptés.

II.7.3 Nombre de colonie de rhizobium dans le sol après la culture de haricot

Pour chaque type de sol issu de différent traitement, les colonies de rhizobium ont été dénombrées en utilisant la technique de dilution en cascade. La solution mère est constituée de 5g du sol, mélangés dans 45ml d'eau distillée stérile. Deux dilutions (10^{-2} et 10^{-3}) pour chaque type de sol ont été étalées dans des boîtes de Pétri contenant préalablement du milieu YMA avec trois répétitions pour chaque dilution. Les colonies ont été observées et dénombrées après 48h d'incubation à 28°C. Le nombre des unités formants colonies (UFC) a été utilisé pour estimer le nombre des colonies de rhizobium dans le sol, en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V \times (n_1 + 0,1 n_2) \times d_1}$$

N : Nombres d'UFC par ml de produit initial par g de sol

\sum colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables (3 boîtes par dilutions)

V : Volume de solution du produit déposé dans les boîtes

n_1 : Nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue (3 boîtes)

n_2 : Nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue (3 boîtes)

d_1 : Facteur de dilution de la première dilution retenue

II.8 Analyse des données

Le pourcentage de germination des graines pour chaque boîte de Pétri est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{PG}\% = \frac{\text{Nombre des graines germées}}{\text{Nt}} \times 100$$

PG%: Pourcentage de germination

Nt: Nombre total de graines à germer dans chaque boîte de Pétri

Pour comparer les effets allélopathiques de chaque traitement sur le haricot, le riz et le maïs, le taux de germination des graines, les longueurs de la partie aérienne et racinaire ont été convertis en pourcentage d'inhibition (-) ou de stimulation (+). Les conversions ont été effectuées selon la formule utilisée par Ladhari *et al.*, (2013):

$$\% \text{ I/S} = [(E - T) / T] \times 100$$

% I/S : pourcentage d'Inhibition ou de Stimulation par rapport au témoin

T : Témoin (valeur en absence des extraits), E : Extrait (valeur en présence des extraits)

Les données obtenues sur un test de nodulation en tube Gibson, la mesure des poids secs de biomasse, le dénombrement des nodules et le dénombrement des rhizobiums ont été traitées par une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs au seuil de probabilité de 5% et le test de Newman-Keuls a été utilisé pour les recherches de différence entre les groupes de moyenne statistiquement homogène. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées par le logiciel XLSTAT version 2008.

**RESULTATS ET
INTERPRETATIONS**

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Effets des extraits de feuilles de *G. banksii* sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules

I.1 Résultats préliminaires

Les résultats de pré-test de germination pour les trois espèces de plantes cultivées en absence des extraits de *G. banksii* ont montré que les graines de riz et de maïs n'atteignent le nombre maximal de graines germées qu'après 7 jours d'incubation respectivement de 67,59 % et 100%. Pour le haricot, le pourcentage maximal de germination est de 91,67 % obtenu après 10 jours d'incubation (Figure1). Ces différents temps d'incubation, spécifique pour chaque espèce de plante- test, sont utilisés pour la suite des travaux.

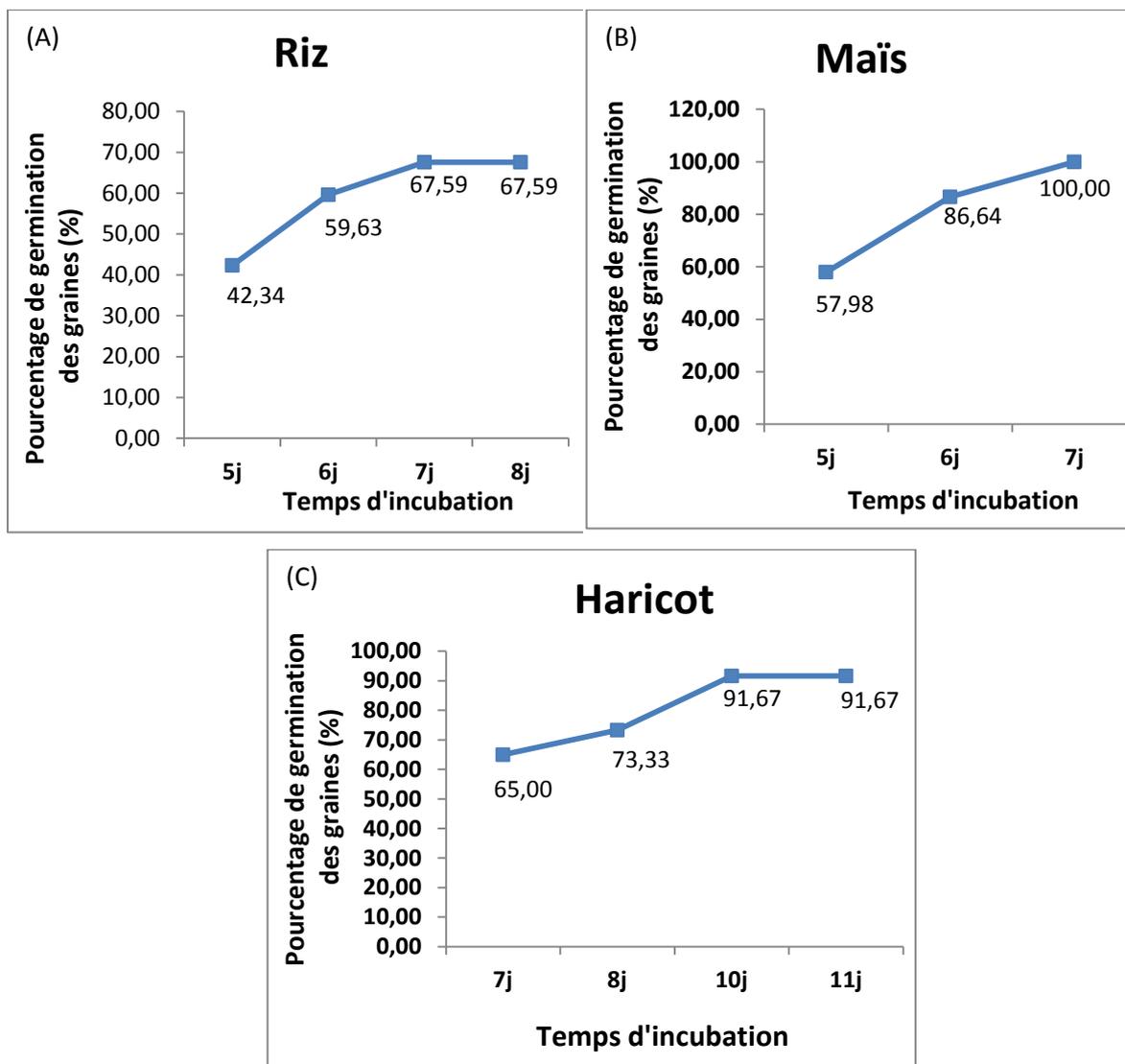


Figure 1 : Pourcentage de germination des graines de riz (A), de maïs (B) et de haricot (C) en absence des extraits.

I.2 Effets des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii* sur la germination des graines

Le pourcentage de germination des graines de la plante cultivée (riz, maïs, haricot) vis-à-vis de l'extrait aqueux de *G. banksii* est présenté dans le tableau 1. Par rapport au témoin, les effets des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii*, (24h et 48h d'agitation) sur le taux de germination des graines, n'ont pas de différence significative entre toutes les plantes cultivées testées. Par contre, l'analyse de pourcentage d'inhibition ou de stimulation de germination des graines (figure 2) a montré que l'extrait aqueux de feuille de *G. banksii* agité pendant 24h stimule la germination des graines de riz (+7,4%). Pourtant, une inhibition de la germination de graines de la même plante a été enregistrée avec l'extrait agité pendant 48h (-25,92%). Une inhibition a été également observée sur la germination des graines de deux autres espèces sous l'action des deux extraits E24h et E48h (figure 2).

Tableau 1 : Pourcentage de germination des graines de riz, maïs et haricot sous l'effet de l'extrait de feuille de *G. banksii*.

Traitements	Pourcentage de germination (%)		
	Riz	Maïs	Haricot
Témoin	67, 5 (a)	97, 5 (a)	91, 66(a)
Extrait 24h	72, 5(a)	72, 5(a)	81, 66(a)
Extrait 48h	50(a)	95(a)	90(a)

Les données sur la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ($p < 5\%$).

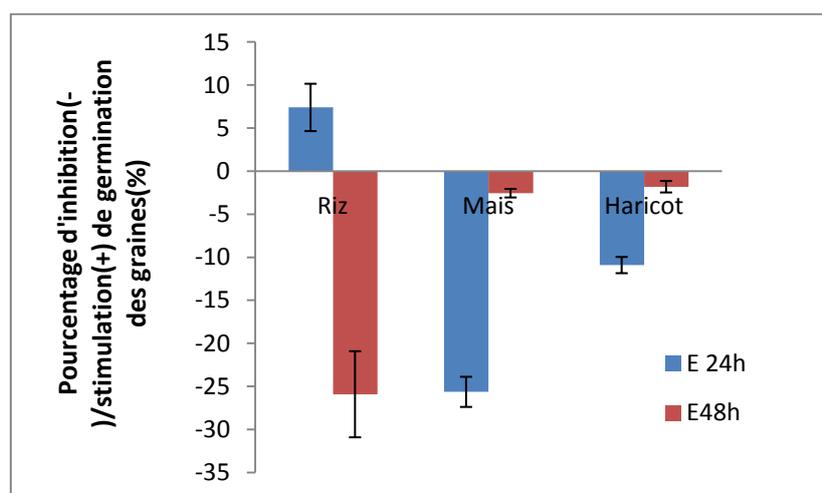


Figure 2 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la germination des graines de plante cultivée (riz, maïs, haricot) sous l'effet des extraits aqueux de feuille de *G. banksii*.

I.3 Effets des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii* sur le développement en longueur de la racine et de la partie aérienne des plantes cultivées

Le tableau 2 montre les effets des extraits aqueux de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes des graines de riz, maïs et haricot. Le développement en longueur de la racine des plantes cultivées, particulièrement celles du maïs et de haricot a été significativement inhibée par les extraits E24h et E48h (tableau 2). Cette inhibition atteint jusqu'à -81,15% sur les racines de maïs et -59,31% pour le haricot (figure 3) avec l'extrait E24h. Par contre, une stimulation a été observée sur le développement en longueur des racines de riz (+56,63%) avec l'extrait E24h (figure 3). Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les effets des extraits sur le développement en longueur de la partie aérienne de riz et de haricot (tableau 2). Pour le cas du maïs, une inhibition significative a été enregistrée sur l'élongation des racines avec les deux extraits. La figure 3 illustre cette inhibition avec un taux d'inhibition de -100% pour les deux extraits.

Tableau 2 : Effets des extraits aqueux de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, maïs et haricot.

Traitements	Longueur des racines (cm)			Longueur des parties aériennes (cm)		
	Riz	Maïs	Haricot	Riz	Maïs	Haricot
Témoin	1,256(b)	5,654(a)	7,154(a)	0,936(a)	0,823(a)	0(a)
Extrait 24h	2,2125(a)	1,063(b)	2,95(b)	0,775(a)	0(b)	0(a)
Extrait 48h	1,6625(ab)	4,788(a)	3,38(b)	0,625(a)	0(b)	0(a)

Les données sur la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ($p < 5\%$).

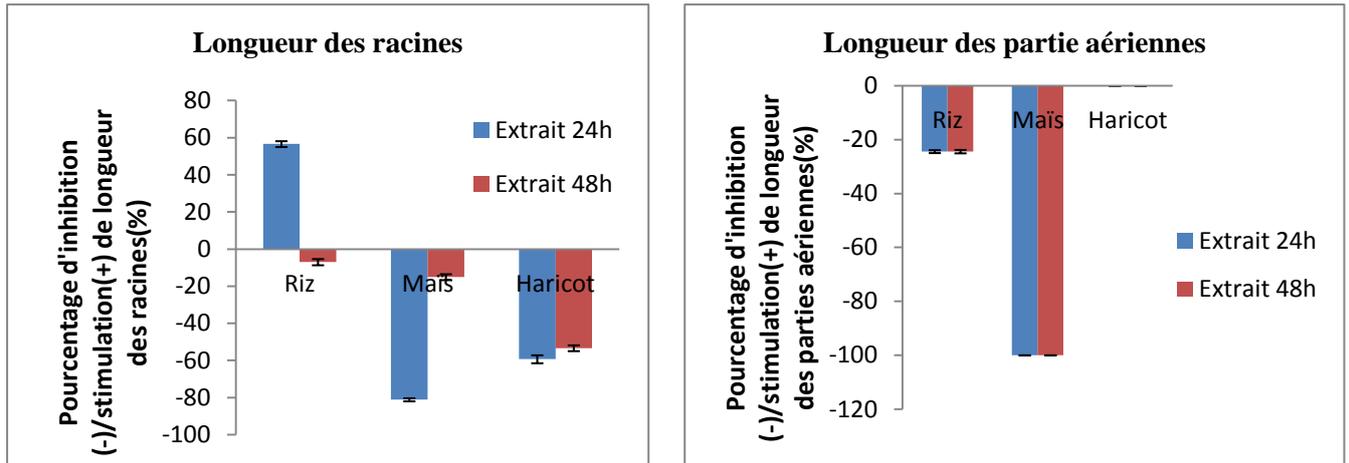


Figure 3 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation du développement des racines et des parties aériennes des plantes testées sous l'effet des extraits aqueux de *G. banksii*



Photo 6 : Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot sous l'effet des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii*.

II. Effets de la litière de *G. banksii* sur la germination des graines et sur la longueur des racines et les parties aériennes des plantes des cultivées

Le tableau 3 montre les résultats sur le taux de germination des graines des plantes cultivées (riz, maïs, haricot) sous l'effet de la poudre de feuille de *G. banksii*. Comparée au témoin, la poudre de feuilles de *G. banksii*, n'affecte pas significativement la germination des graines des plantes testées. Il en est de même pour la longueur des racines et des parties aériennes de maïs et du haricot. Par contre, la poudre de *G. banksii* inhibe significativement le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, respectivement de -50% et -98,3% (tableau 3, figure 4).

Tableau 3 : Pourcentage de germination des graines et du développement en longueur des racines et des parties aériennes des plantes cultivées en présence de la poudre de feuille de *G. banksii*

Traitements	Taux de Germination (%)			Longueur des racines (cm)			Longueur des parties aériennes (cm)		
	Riz	Maïs	Haricot	Riz	Maïs	Haricot	Riz	Maïs	Haricot
Témoin	67,5(a)	50(a)	100(a)	1,795(a)	2,632(a)	4,289(a)	0,705(a)	0(a)	0(a)
Poudre	45(a)	86,66(a)	90(a)	0,925(b)	3,258(a)	4,442(a)	0,013(b)	0,083(a)	0(a)

Les données sur la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls (p<5%)

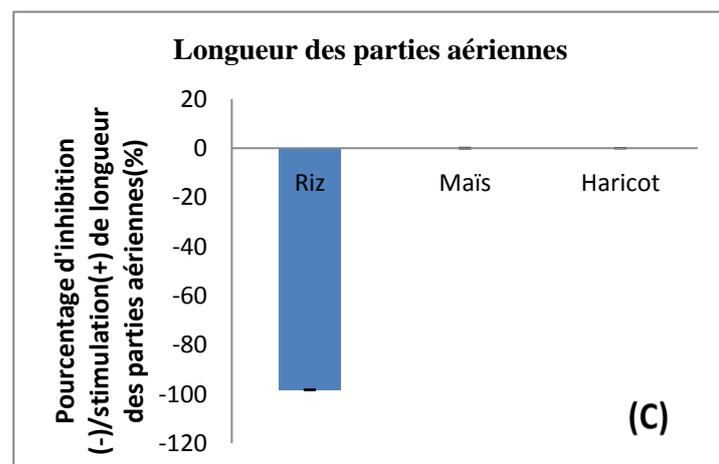
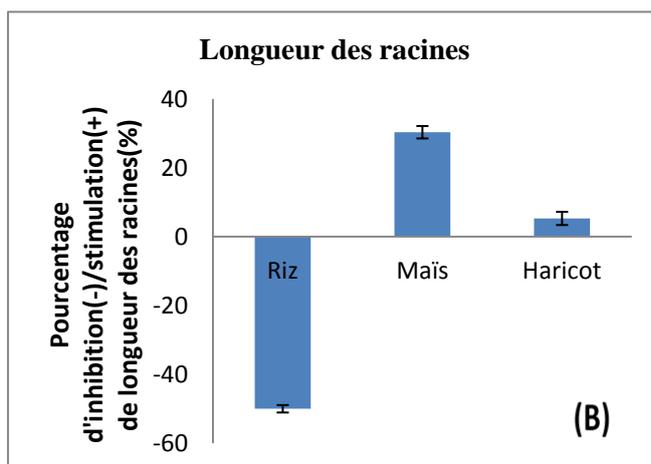
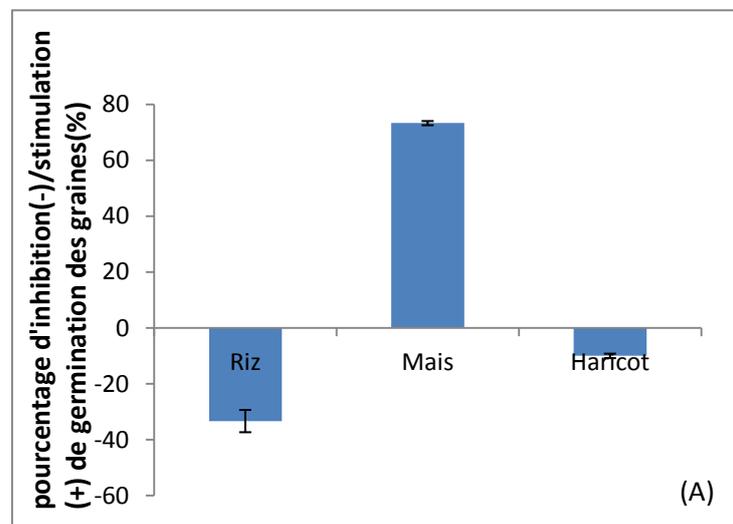


Figure 4 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la germination des graines (A) et du développement en longueur des racines et des parties aériennes (B, C) des plantes cultivées en présence de la poudre de feuille de *G. banksii*.



Photo 7: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot en présence de la poudre de feuilles de *G. banksii*.

III. Effets du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur la germination des graines et sur l'initiation du développement des plantules (riz, maïs, haricot)

III.1. Effets du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur la germination des graines de riz, de maïs et de haricot

L'impact du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur la germination des graines de plantes cultivées est illustré dans le tableau 4. D'une manière générale, l'agitation ou non de la solution de sol rhizosphérique de *G. banksii* ne présente pas d'effet significatif sur la germination de graine des plantes testées. Une petite inhibition seulement est enregistrée sur la germination de riz par le sol rhizosphérique (-12%) et sur les graines de haricot par l'extrait du sol rhizosphérique (-5,80%) (Figure 5).

Tableau 4 : Pourcentage de germination des graines de riz, de maïs et de haricot sous l'effet du sol rhizosphérique (rh) de *G. banksii*.

Traitements	Pourcentage de germination (%)		
	Riz	Maïs	Haricot
Témoin	62,5(b)	93,75 (a)	97,5(a)
Sol rh	55(b)	100 (a)	100(a)
Extrait Sol rh	65(b)	97,50 (a)	92,5(a)

Les données sur la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ($p < 5\%$).

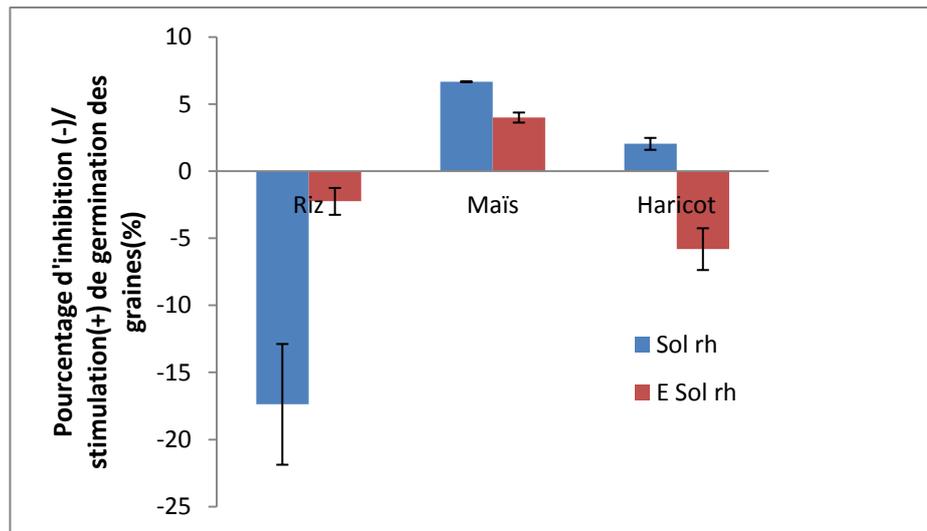


Figure 5 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la germination des graines des plantes cultivées (riz, maïs, haricot) sous l'effet du sol rhizosphérique de *G. banksii*

III.2. Effets du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de chaque plantule (riz, maïs, haricot)

Le tableau 5 montre les effets du sol rhizosphérique de *G. banksii* et l'extrait de ce sol sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, de maïs et de haricot. Au niveau du développement des racines, les résultats ont montré qu'il n'y a pas d'effet significatif sur le riz par rapport aux différents traitements, tandis qu'une différence significative a été enregistrée entre le maïs et le haricot par rapport au témoin. En outre, au niveau de la longueur des parties aériennes, une différence significative a été enregistrée pour le maïs par rapport au témoin. Par ailleurs, l'analyse du taux d'inhibition ou de stimulation des longueurs des racines et des parties aériennes des plantes cultivées en présence du sol rhizosphérique (rh) de *G. banksii* et l'extrait de ce sol (Erh) (figure 6) a montré que le développement en longueur des racines de toutes les plantes testées a été stimulée par le sol rhizosphérique et l'extrait de ce sol, à l'exception des racines de haricot pour l'extrait du sol. De plus, les deux traitements (rh et E rh) ont faiblement inhibé le développement en longueur des parties aériennes de riz, alors qu'ils ont stimulé celui du maïs (figure 6).

Tableau 5 : Effets du sol et de l'extrait du sol rhizosphérique de *G. banksii* sur le développement en longueur des racines et des parties aériennes de riz, maïs et haricot

Traitements	Longueur des racines (cm)			Longueur des parties aériennes (cm)		
	Riz	Maïs	Haricot	Riz	Maïs	Haricot
Témoin	2,128(a)	6,91(b)	6,269(b)	0,588(a)	1,808(b)	0(a)
Sol rh	2,725(a)	10,064(a)	11,788(a)	0,654(a)	3,756(a)	0(a)
Extrait Sol rh	2,375(a)	8,525(a)	6,963(b)	0,725(a)	1,925(a)	0(a)

Les données sur la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ($p < 5\%$).

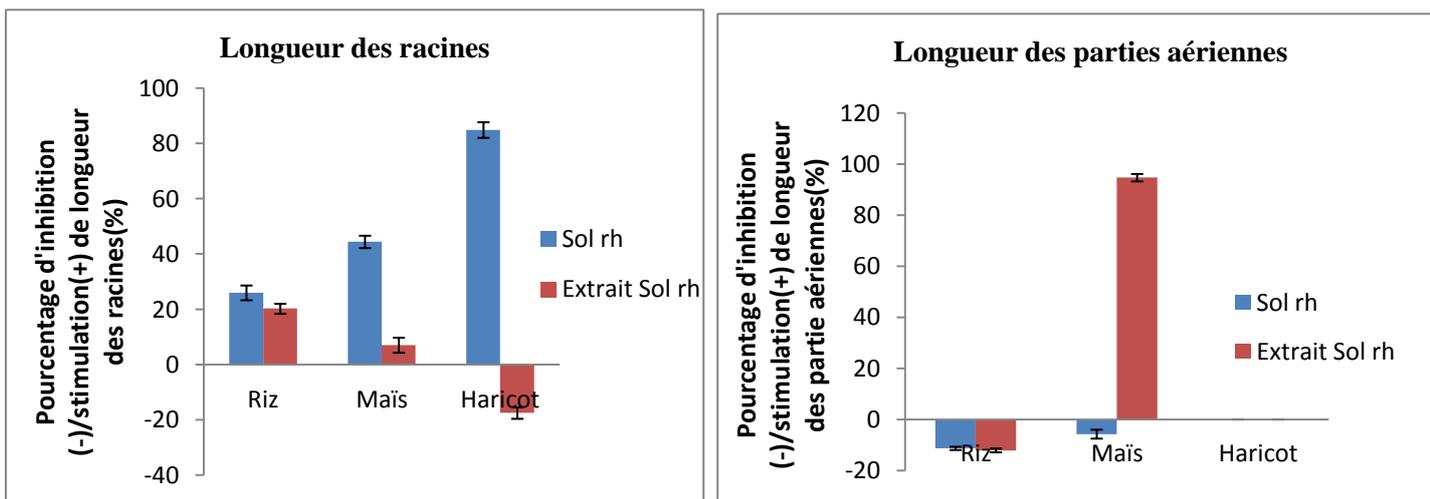


Figure 6 : Pourcentage d'inhibition ou de stimulation du développement en longueur des racines et des parties aériennes des plantes cultivées en présence du sol rhizosphérique de *G. banksii* et leur extrait.



Photo 8: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot en présence du sol rhizosphérique de *G. banksii*.

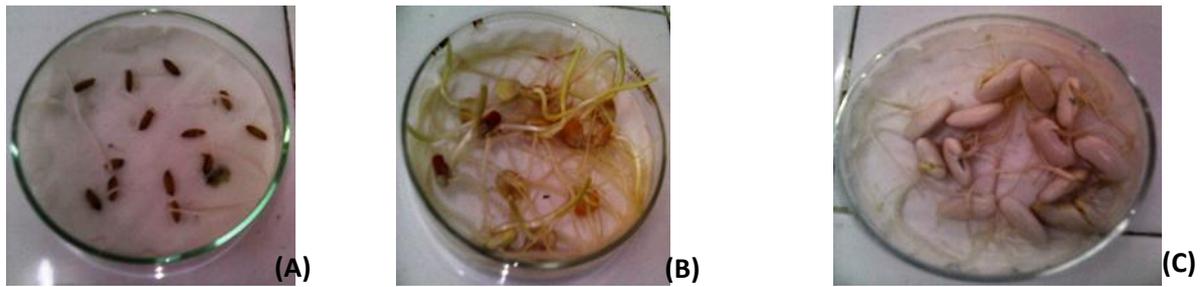


Photo 9: Germination des graines de (A) riz, de (B) maïs et de (C) haricot sous l'effet de l'extrait de sol rhizosphérique de *G. banksii*.

IV. Effets des extraits de feuilles de *G. banksii* sur le développement de plants et sur la symbiose rhizobienne de haricots

IV.1 Effet des extraits de *G. banksii* sur le développement de haricot en serre

La figure 7 montre les effets des extraits de feuille de *G. banksii* sur le développement de haricot en serre. Au niveau de la biomasse racinaire, les résultats ont montré que le poids sec de la biomasse des haricots inoculés est plus élevé par rapport aux haricots non inoculés sauf pour le traitement P0. Par rapport aux différents traitements (P0, P1, P2, P3), P3 a un poids sec de biomasse racinaire le plus élevé et P0 le plus faible. En outre au niveau de la biomasse aérienne, le haricot inoculé a un poids sec de la biomasse le plus élevé par rapport au haricot non inoculé. Les résultats ont montré également que plus la concentration en extrait augmente, le poids sec de la biomasse aérienne augmente aussi. Ce qui montre que le développement de la biomasse aérienne de haricot sous serre est fortement affecté par l'extrait des feuilles de *G. banksii*. Par ailleurs, le poids sec de la biomasse aérienne est le double du poids sec de la biomasse racinaire de haricot sous serre.

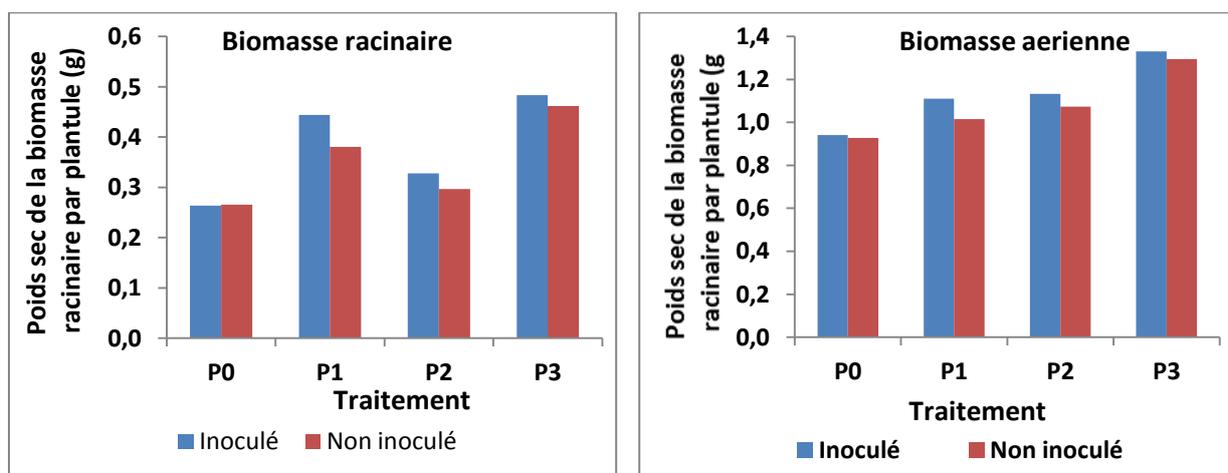


Figure 7 : Poids secs de la biomasse racinaire et aérienne par plantule de haricot en présence des extraits de feuille de *G. banksii*.

Légende : P0 : témoin (poudre 0g), P1 : Poudre 1g, P2 : poudre 2g, P3 : poudre 3g

IV.2 Effet des extraits de *G. banksii* sur la nodulation de haricot *in vitro* et sous serre

Le nombre des nodules a été évalué après 1 mois de culture de haricot dans le tube Gibson en présence ou non des extraits et d'une souche de rhizobium codé R8. La figure 8 ci-après montre les résultats du dénombrement de nodules de chaque plantule par traitement.

Le traitement sans inoculation (T) ne présente aucun nodule dans chaque plantule. Ce qui indique l'absence de contamination de rhizobium dans le témoin. Il a été constaté également qu'il n'y a pas de différence significative entre les nombres de nodules avec le traitement de l'extrait aqueux de *G. banksii* agité pendant 24h et pendant 48h. Par contre, l'ajout des extraits à différentes doses (1, 5 et 10ml) diminue le nombre de nodule par plantule par rapport au témoin. Cette diminution est inversement proportionnelle à la quantité des extraits. Pourtant, l'inoculation avec la souche R8 sous serre a amélioré significativement la nodulation sur le système racinaire de haricot par rapport au traitement témoin (non inoculé) (Figure 8).

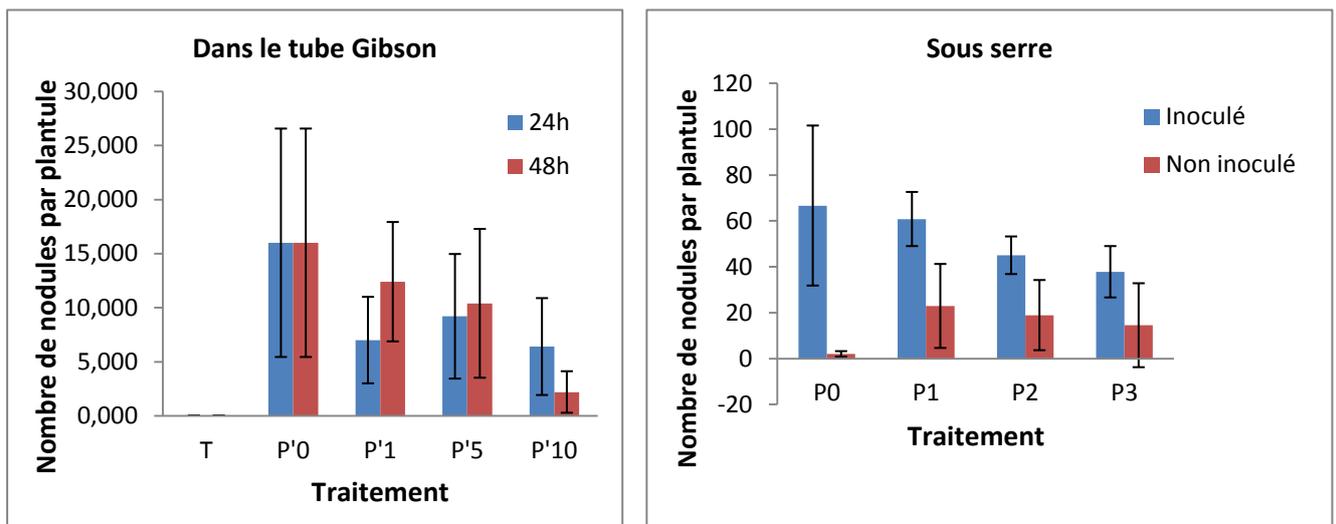


Figure 8 : Nombre de nodules de chaque plantule de haricot cultivé dans le tube Gibson et sous serre en présence d'extrait de *G. banksii* et de R8.

Légende : T : témoin sans inoculation, P'0 : témoin avec inoculation, P'1 : traitement avec inoculation et 1ml d'extrait aqueux de *G. banksii*, P'5 : traitement avec inoculation et 5ml d'extrait aqueux de *G. banksii*, P'10 : traitement avec inoculation et 10ml d'extrait aqueux de *G. banksii*, 24h : extrait agité pendant 24h, 48h : extrait agité pendant 48h.

Pour la manipulation en serre P0 : témoin (poudre 0g), P1 : Poudre 1g, P2 : poudre 2g, P3 : poudre 3g

V. Dénombrement de rhizobium par traitement

La figure 9 ci-dessous montre qu'il n'y a pas de différence significative sur le nombre d'unités formant de colonies (UFC) de rhizobium entre les différents traitements avec inoculation. Pourtant, une différence significative a été observée entre les deux traitements

(P0, Ss G. b) pour les groupes sans inoculation. Par ailleurs, l'ajout de différentes doses d'extrait diminue le nombre d'UFC de rhizobium par rapport au témoin et cette diminution est proportionnelle à la quantité de chaque extrait.

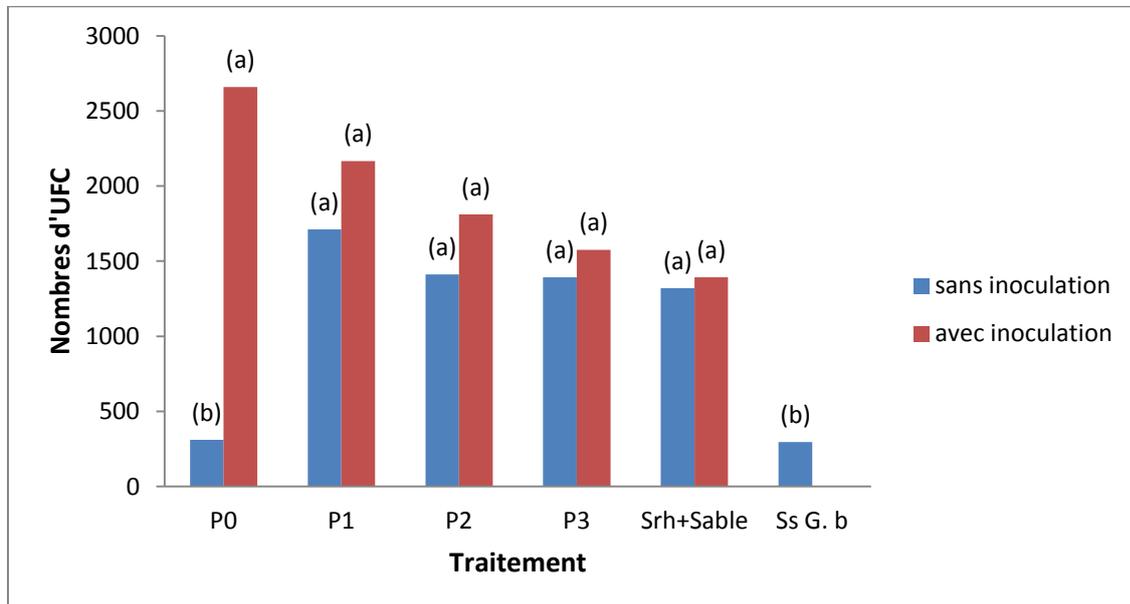


Figure 9 : Nombre d'UFC de rhizobium dans différents traitements

Légende : **P0** : 0g de poudre de feuille de *G. banksii*, **P1** : 1g de poudre de feuille de *G. banksii*, **P2** : 2g de poudre de *G. banksii*, **P3** : 3g de poudre de *G. banksii*, **Srh+Sable** : sol rhizosphérique de *G. banksii* avec sable, **Ss G. b** : sol sous *Grevillea banksii*.

DISCUSSION

DISCUSSION

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les effets allélopathiques de *G. banksii* sur la germination des graines et le développement des plantes cultivées et sur l'association symbiotique entre le haricot et le rhizobium. Trois espèces de plantes cultivées : le riz (*Oriza sativa*), le maïs (*Zea mays*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris*) ont été choisies comme modèle d'étude. La poudre de feuille, l'extrait aqueux de feuille, le sol rhizosphérique et l'extrait de sol de *G. banksii* ont été utilisés pour évaluer l'effet allélopathique de cette espèce exotique sur les différentes espèces des plantes cultivées.

Les résultats ont montré que les extraits aqueux de feuille de *G. banksii* affectent généralement la germination des trois espèces de plantes cultivées testées par rapport au témoin. Pour cela, tous les extraits aqueux agités pendant 24h et 48h inhibent la germination des graines des plantes cultivées à l'exception de la germination des graines de riz. Des études ont déjà expliqué que cette inhibition est due probablement à l'altération des activités enzymatiques par les substances allélochimiques au cours de la germination des graines de la plante cultivée (Lara-Núñez *et al.*, 2006 ; 2009 ; 2015 ; Turk et Tawaha 2003) car plusieurs enzymes comme les protéases, les lipases et les amylases jouent un rôle important durant la germination des graines. Pour le cas de la germination des graines de riz, l'effet des extraits varie selon le temps d'agitation : celui agité 24h a stimulé la germination de graines par contre une forte inhibition a été enregistrée avec l'extrait 48h. Ces résultats ont montré qu'en augmentant la durée d'agitation des extraits, on augmente également l'efficacité inhibitrice de l'extrait. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Barkatullah *et al.*, (2010) ; Hussain *et al.*, (2010) et Ehsan *et al.*, (2012).

En outre, le développement en longueur de la racine et la partie aérienne des plantes cultivées testées a été également inhibé par les extraits aqueux de feuille de *G. banksii*. L'élongation de la racine de maïs et de haricot a été particulièrement affectée par les deux extraits aqueux E24h et E48h pour lesquels on a enregistré jusqu'à une réduction de 81,15% par rapport au témoin. Cette inhibition atteint jusqu'à 100% sur le développement en longueur de la partie aérienne sur le maïs. Ces résultats illustrent les effets négatifs des substances allélochimiques dans les extraits aqueux des feuilles de *G. banksii* sur le développement des plantes cultivées. Il a été déjà rapporté que la présence de ces substances allélochimiques pourrait réduire ou inhiber l'élongation des racines et de la partie aérienne des plantes cultivées en inhibant les activités hormonales comme la Gibbérelline, les cytokinines et les acides indoles acétiques de

ces plantes (Tomaszewski et Thimann, 1966). Rappelons que ces hormones sont impliquées dans le processus de développement des plantes tels que la germination des graines, la croissance de la racine, la floraison, la fructification etc., (Ferguson et Lessenger, 2006; Guo *et al.*, 2011 ; Khan, 2014).

Concernant l'effet de la litière de *G. banksii*, nos résultats ont montré que la poudre de feuille de *G. banksii* inhibe significativement la germination des graines et l'élongation de la partie aérienne et racinaire de riz. Ces résultats concordent avec ceux de Kaul et Bansal (2002), qui ont rapporté que la litière d'*Ageratina adenphora* a réduit la croissance de *Lantana camara*. Des résultats similaires ont été également obtenus par Maciel *et al.*, (2003). Néanmoins, la germination des graines et le développement en longueur de la racine de maïs et de haricot ont été stimulés par la présence de poudre de *G. banksii* alors qu'une inhibition totale du développement de la partie aérienne de ces deux espèces a été enregistrée. Il a été constaté également que les graines ont été pourries à la fin de l'expérimentation. Ainsi, l'effet des substances allélopathiques de *G. banksii* diffère selon l'état de développement de la plante cultivée c'est-à-dire que ces substances présentent une large gamme d'action sur la croissance des plantes (Wu *et al.*, 2003).

Au niveau du sol rhizosphérique, nos résultats ont montré que l'inhibition ou la stimulation de la germination des graines et l'initiation du développement des plantes cultivées varie d'une espèce à l'autre. Rappelons que la rhizosphère est définie comme étant le volume de sol sous l'influence des racines des plantes où il y a une forte activité microbienne résultant de la libération ou l'exsudation de substances organiques par les racines (Hiltner, 1904) et au niveau de cette rhizosphère se déroulent de nombreux processus biogéochimiques. Ainsi, l'effet des substances allélochimiques dans le sol rhizosphérique dépend d'une fonction complexe entre le sol et les plantes qui s'y installent (Samedani *et al.*, 2013). Pour le cas de *G. banksii*, son système racinaire contient une structure appelée «Racines protéoïdes» (Andrianandrasana *et al.*, 2014), une propriété particulière de la Famille de Proteaceae (Purnell, 1960). Ce type racinaire est connu par sa capacité à produire des acides organiques comme les malates et les citrates (Dinkelaker *et al.*, 1995; Shane et Lambers, 2005) et des enzymes telles que les phosphatases (Miller *et al.*, 2001; Gilbert *et al.*, 2000) au niveau de la rhizosphère. Ces propriétés particulières pourraient être intervenues dans la germination et le développement des plantes cultivées. Nos résultats ont montré que le sol rhizosphérique de *G. banksii* inhibe faiblement la germination des graines du riz et de haricot et l'élongation des racines et de la partie aérienne du riz. Pourtant, une stimulation de l'initiation du

développement des 3 espèces de plantes cultivées testées a été enregistrée. Cette stimulation a été enregistrée à la fois au niveau de la germination des graines et de l'élongation des racines et de la partie aérienne chez le Maïs.

Le haricot s'associe généralement avec des microorganismes symbiotiques se trouvant dans le sol notamment les champignons mycorhiziens et les bactéries fixatrices d'azote (Martinez *et al.*, 1988 ; Eardly *et al.*, 1992). Ces microorganismes sont connus par leurs capacités à augmenter significativement l'efficacité d'acquisition des nutriments par la plante hôte (Strullu, 1991 ; Koide et Mosse, 2004). Cependant, plusieurs facteurs environnementaux peuvent limiter la croissance et l'activité des bactéries du sol (Obaton, 1992 ; Fitouri, 2011) inhibant ainsi la formation et/ou le fonctionnement de la symbiose fixatrice d'azote. Dans notre cas, on a évalué l'extrait des feuilles de *G. banksii* sur la symbiose rhizobienne chez le haricot. Les résultats ont montré que l'ajout d'extrait des feuilles de *G. banksii*, sur un test de nodulation de haricot *in vitro*, a diminué le nombre des nodules formés par plantule. Cette diminution est inversement proportionnelle à la concentration des extraits de *G. banksii* introduit. Le même effet a été également enregistré sur l'expérimentation sous serre. En travaillant sur d'autre espèce de plantes invasives, des auteurs ont déjà démontré que la diminution de la nodulation est due à l'inhibition de l'activité de nitrogénase (enzyme responsable de la fixation d'azote atmosphérique chez le rhizobium) par les extraits des plantes exotiques (Thibault, 1982) et qui pourrait être un facteur limitant le développement des légumineuses.

Vis-à-vis de l'inhibition de la nodulation de haricot par l'extrait de *G. banksii*, une inoculation en utilisant des souches de rhizobia performantes a été entreprise. Les résultats ont montré que l'inoculation par la souche R8 a augmenté le nombre de nodules. Cette augmentation de la nodulation a été suivie par une amélioration du développement de la biomasse de la plante. Ces effets de l'inoculation rhizobienne sur le développement de haricot, ont été également rapportés dans d'autres travaux (Ndakidemi *et al.*, 2006 ; Bambara et Ndakidemi, 2010 ; Faghire, 2012). Ainsi, la souche de rhizobia R8, constitue une candidate potentielle pour améliorer le développement de haricot sur le sol envahi par *G. banksii*. Pourtant, une inhibition par l'extrait a été toujours observée au niveau du nombre de nodules chez haricot quand on a ajouté de l'extrait de *G. banksii*. En effet, par rapport au témoin (pas d'extrait), le nombre de nodules diminue parallèlement à l'augmentation de la quantité d'extrait appliqué. D'autres paramètres devraient être à considérer pour atténuer l'effet négatif de *G. banksii* sur le développement du haricot. Citons par exemple l'ajout de souches de champignons

mycorhiziens étant donné que le haricot s'associe à la fois avec les rhizobia et les champignons mycorhiziens (Martinez *et al.*, 1988 ; Eardly *et al.*, 1992). Des interactions positives entre les symbioses fixatrices d'azote et les mycorhizes ont été déjà rapportées (Cornet *et al.*, 1982).

**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En guise de conclusion, l'effet allélopathique de *G. banksii* diffère (inhibition ou stimulation), selon les extraits testés et/ou les espèces de plantes cultivées. En effet, les extraits des feuilles de *G. banksii* présentent des effets d'inhibition sur la germination des graines de toutes les plantes cultivées et ces effets ont été plus élevés par rapport à ceux enregistrés avec le sol rhizosphérique. Au niveau de l'élongation des racines et de la partie aérienne de chaque plante cultivée, les extraits des feuilles ont présenté des effets inhibiteurs alors que le sol rhizosphérique de *G. banksii* stimule le développement de ces organes. C'est le développement en longueur des parties aériennes de riz et de maïs qui a été le plus inhibé par les extraits des feuilles et celui du maïs a été le plus stimulé par le sol rhizosphérique de *G. banksii*. En outre, la nodulation de haricot a été inhibée par l'extrait des feuilles de *G. banksii* mais l'ajout des souches de rhizobium performantes lors d'une expérience sous serre a permis d'atténuer l'effet négatif de *G. banksii* vis-à-vis du développement de haricot.

A l'issue de cette étude, différentes voies de recherches sont ouvertes pour étudier d'une manière plus approfondie les effets allélopathiques des plantes invasives à Madagascar. Ainsi, nous traçons ci-après quelques exemples de ces perspectives :

- ❖ Faire le criblage phytochimique des extraits de différents organes de *G. banksii* permettant de déterminer les structures chimiques et la composition des substances allélochimiques de la plante.
- ❖ Tester des extraits aqueux de feuilles de *G. banksii* sur les mauvaises herbes associées aux plantes cultivées pour évaluer la propriété bioherbicide de la plante.
- ❖ Évaluer les effets de métabolite secondaire de *G. banksii* sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes de l'homme ou des animaux et des souches phytopathogènes.
- ❖ Valoriser les effets allélopathiques positifs de cette plante au niveau de la culture des plantes vivrières.
- ❖ Effectuer des études approfondies de l'effet allélopathique de *G. banksii* sur la gestion de la fertilité du sol et sur les impacts environnementaux.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) **Aguirreolea J. and Sánchez-Díaz M. (1989)**. CO₂ evolution by nodulated roots in *Medicago sativa* L. under water stress. J. Plant Physiol., **134**: pp 598-602.
- (2) **Akon'ala, (1993)**. Choix des essences pour la sylviculture à Madagascar, Revue, ESSA-Forêt, Antananarivo, Madagascar.
- (3) **Amarger N. (1991)**. Fixation de l'azote moléculaire par les associations légumineuses-bactéries en symbiose : aspects génétiques et agronomiques. C.R. Académie d'Agriculture de France, **77** : pp 143-152.
- (4) **Andrianandrasana M.D., Baohanta R.H., Randriambanona H., Raherimandimby M., Damase K., Duponnois R. et Ramanankierana H. (2014)**. Propagation of *Grevillea banksii* affects the dynamic of mycorrhizal fungi communities association with native tree species of Madagascar. J. Life Sci. **8(6)**: pp 511-516.
- (5) **Andrianandrasana Martial D. (2015)**. Structure et fonctionnement des communautés microbiennes du sol dans les zones influencées par une espèce invasive, *Grevillea banksii* R. Br. : Impacts sur la régénération des essences forestières autochtones à Madagascar. Thèse de doctorat de l'Université d'Antananarivo-Madagascar. 158p.
- (6) **Andrianirina G. (1969)**. Note et réflexions sur le *Grevillea* blanc (*Grevillea banksii*). Direction des Eaux et Forêts et de la conservation des sols. Antananarivo. 32p.
- (7) **Anthony B. (2005)**. Soybean Inoculation, Should we do it? South Dakota State University. Plant Sci. Dep. Final report. 15 p.
- (8) **Babo B.V. (2002)**. Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéenne et soudanienne du Burkina Faso. Thèse pour l'obtention du grade de Philosophie Doctorat Université Laval, Québec. 167p.
- (9) **Bais H.P., Walker T.S., Schweizer H.P., Vivanco JM (2002)**. Root-specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. Plant Physiol. Biochem. **40**: pp 983-995.
- (10) **Balicevic R., Ravlic M. and Zivkovic T. (2015)**. Allelopathic effect of invasive species giant Goldenrod (*Solidago gigantea* AIT.) on crops and weeds. Herb. **15, (1)**: pp 19-29p.
- (11) **Bambara S., Ndakidemi P.A. (2010)**. *Phaseolus vulgaris* response to *Rhizobium* inoculation, lime and molybdenum in selected low pH soil in Western Cape, South Africa. Afr. J. Agr. Res. **5(14)**: pp 1804-1811.
- (12) **Baraibar A. (2000)**. *Rhizobium* inoculants formulations, field performance and inoculation procedures. 167p.

- (13) **Barkatullah, Farrukh, H. and Muhammad, I. (2010).** Allelopathic potential of *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. J. Bot., 42 (4): pp 2383-2390.
- (14) **Batish D.R., Singh H.P., Kohli R.K., Shalinder K. (2001).** Crop allelopathy and its role in ecological agriculture. J. of Crop Pro. 4: pp 121-161.
- (15) **Benmeddour T. (2010).** Étude du pouvoir allélopathique de l'Harmel (*Peganum harmala* L.), le laurier rose (*Nerium oleander* L.) et l'ailante (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swing.) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales. Mémoire de magister en Biologie et Physiologie Végétal de l'Université de Setif. 106p.
- (16) **Binggeli P. (2003).** Introduced and invasive plants. In: Goodman SM, Benstead JP (Ed). The natural history of Madagascar. The University of Chicago Press, Chicago: pp 257- 268.
- (17) **Bordeleau L.M., and D. Prévost. (1994).** Nodulation and Nitrogen Fixation in Extreme Environments. In Symb. N. Fix. : pp. 115–125.
- (18) **Boudanga L. (2011).** Étude de la performance de la symbiose fève (*Vicia faba*)-rhizobia cultivée sous différents niveaux du phosphore du sol et sélection des souches locales à haut potentiel de la solubilisation du phosphore. Mémoire de Master Sciences et Technique de l'Université de Marrakech. 52p.
- (19) **Boullard B. (1997).** Plantes et Champignons: dictionnaire. 2ème édition. Stem, Paris. 24p.
- (20) **Callaway R.M. and Ridenour W. M. (2004).** Novel Weapons: Invasive Success and the Evolution of Increased Competitive Ability. Front Ecol Environ ; 2(8): pp 436–443.
- (21) **Carrière S.M. et Randriambanona H. (2007).** Biodiversité introduite et autochtone: antagonisme ou complémentarité? Le cas de l'eucalyptus à Madagascar. BFT N°292 (2).
- (22) **Chauvet M. (1969)** Inventaire des espèces forestières introduites à Madagascar. Tananarive, Madagascar, Ensa, 187 p.
- (23) **C.L. et Foury C.L. (1994).** Production légumière, tome III, légumineuses potagères, légumes et fruits. Edition Lavoisier, Paris. 854p.
- (24) **Chowdhury M. S. (1976).** Effects of soil antagonists on symbiosis. In: Exploiting the Legume-Rhizobium symbiosis in. tropical agriculture. College of tropical agriculture miscellaneous publication 145, Univ. of Haw. : pp 385-411.
- (25) **Cornet F. et Diem H.G. (1982).** Étude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et l'effet de la double symbiose *Rhizobium-Glomus mosseae* sur la croissance de l'*Acacia holosericea* et *Acacia raddiana*. Bois et Forêts des Tropiques, 198: pp 3-15.
- (26) **Cronck Q.C.B. et Fuller J. L. (2001).** Plant invaders: the threat to natural ecosystems. London, UK; Sterling, VA, USA: Earthscan Publications Ltd.

- (27)Demolon A. et Dunez A. (1933). Comptes- rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sci. de Pa. **197** : pp 1344-1346.
- (28)Dinkelaker B, Hengeler C, Marschner H. (1995). Distribution and function of proteoid roots and other root clusters. Bot Acta. **108**: pp 183–200.
- (29)Djordjevic M.A. (2004). *Sinorhizobium meliloti* metabolism in the root nodule: a proteomic perspective. Proteomics. **4**: pp 1859-1872.
- (30)Eardly B. D., Wang F. S., Whittam T. S. and Selander R. K. (1995). Species limits in *Rhizobium* populations that nodulate the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). App! And Environ. Microbiol. **61**: pp 507-512.
- (31)Eardly B.D., Young J.P.W. and Slander R.K. (1992). Phylogenetic position *Rhizobium* sp. Strain or 191, a symbiotic of *Medicago sativa* and *Phaseolus vulgaris*, based on partial sequences of a 16s ARNr and nifH genes. Appl. Environ. Microbiol, **58**: pp 1809-1815.
- (32)Ehsan K., Ehsan O., Rudi H., Armin O., Hawa ZE J. (2012). Phenolic Compounds Characterization and Biological Activities of *Citrus aurantium* Bloom. Mol., **17(2)**: pp 1203-1218.
- (33)Elton C.S. (1958). The Ecology of Invasions. Methuen, London. Environments. Plant and Soil. **161**: pp 115-135.
- (34)Engler A. (1894). Proteaceae. In: Engler A, Prantl K, eds. Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig, Germany: Wilhelm Engelman, Bd. 3, Teil 1. 119p.
- (35)Ens E.J. et French K. (2008). Exotic woody invader limits the recruitment of the indigenous plant species. Biol. Conserv. **141**: pp 590–595.
- (36)Eric Giraud (2007). Symbiose rhizobium-légumineuse: un nouveau sésame. Méd. et Sci., **23**: pp 663-666.
- (37)Faghire M. (2012). Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin. Thèse de doctorat de l'Université Cadi Ayyad. 111p.
- (38)Ferguson B.J., Indrasumunar A., Hayashi S., Lin M.H., Lin Y.H., Reid D.E., Ferguson J.J. and Rathinasabathi (2003). Allelopathy: how plants suppress other plants. Cours d'Université de Floride: 3p.
- (39)Ferguson BJ, Indrasumunar A, Hayashi S, et al. 2010. Molecular analysis of legume nodule development and auto regulation. J. of Inte. Plant Biol. **52**: pp 61–76.
- (40)Ferguson L. and Lessenger J. E. (2006). Plant growth regulators. In: Lessenger JE (Ed) Agr. Medc. Springer, New York: pp 156–166.

- (41)Fitouri-Dhane S. (2011). Diversités Phénotypique et Moléculaire des Microsymbiotes du Sulla du nord (*Hedysarum coronarium* L.) et sélection de souches rhizobiales efficaces. Thèse de doctorat en sciences agronomique. Institut National Agronomique de Tunisie. Université de Carthage. 145 p.
- (42)François E. (1926). Le reboisement à Madagascar. Rev. de Bot. Appl. et Agri. Trop. **6**: pp 737–744.
- (43)Gallet C. and P. Lebreton. (1994). Evolution of phenolics patterns in plants and associated litters and humus of a mountain forest ecosystem. Soil biol. Bioch. **27**: pp 157-165.
- (44)Gentry H.S. (1969). Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. Eco. Bot., **23**: pp 55-69.
- (45)Gerber E., Krebs C., Murrell C., Moretti M., Rocklin R. et Schaffner U. (2008). Exotic invasive knotweeds (*Fallopia spp*) negatively affect native plant and invertebrate assemblages in European riparian habitats. Biol. Conserv. **141**: pp 646-654.
- (46)Gibson A. H., Dreyfus B. L. et Dommergues Y. R. (1982). Nitrogen fixation by legumes in the tropics. In: Microbiology of Tropical Soils, (Y.R. Dommergues et H.G. Diem, eds.), Martinus Nijhoff, the Hague, (sous presse).
- (47)Gilbert G. A., Knight J. D., Vance C. P., Allan D. L. (2000). Proteoid root development of phosphorus deficient lupin is mimicked by auxin and phosphonate. An. Of Bot. **85**: pp 921-928.
- (48)Girardin P. (1999). Écophysiologie du maïs. Edition Association General des producteurs de maïs, Montaron, AGPM, P. Fr. : pp 19-37.
- (49)Graham P. H., Vance C. P. (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use - Update on legume utilization. Pl. Physiol., **131**: pp 872-877.
- (50)Guignard J.L. (1998). Botanique, Edition Masson. 159p.
- (51)Guo L., Mishra G., Taylor K., Wang X. (2011). Phosphatidic acid binds and stimulates Arabidopsis sphingosine kinases. J. Biol. Chem. **286**: 13336-13345.
- (52)Habte M. et Alexander M. (1978). Mechanisms of persistence of low numbers of bacteria preyed upon protozoa. Soil Biol. and Bioch. **10**: pp 1-6.
- (53)Heisey R.M. (1997). Allelopathy and the secret life of Ailanthus altissima. Arnold **57(3)**: pp 28-36.
- (54)Hierro J. L., Callaway R.M. (2003): Allelopathy and exotic plant invasion. Plant and Soil **256**: pp 29-39.

- (55)Hiltner L. 1904. About newer experience and problems on the area of the bodenbacteriologie under special bericksichtigung of the green fertilization and fallow. Work of the Germans, Agri. J. Man. **98**: pp 59-78.
- (56)Hussain F., Ahmad B., Ilahi I. (2010). Allelopathic effects of *Cenchrus ciliaris* L. and *Bothriochloa pertusa* (L.) a. Camus. Pak. J. Bot. **42(5)**: pp 3587-3604.
- (57)Inderjit and Seastedt T. R., Callaway R. M. and Kaur J. (2008). Allelopathy and plant invasions: traditional, congeneric, and biogeographically approaches. Biol. Inv. **10**: pp 875–890.
- (58)Inderjit C.L. Foy and K. M. M. Dakshini. (1999). Principles and Practices in Plant Ecology, Allelochemical Interactions. CRC Pr., Flo: pp 3-14.
- (59)Jager H., Tye A. et Kowarik I. (2007). Tree invasion in naturally treeless environments: impacts of quinine (*Cinchona pubescen*) trees on native vegetation in Galapagos. Biol. Conserv. **140**: pp 297–307.
- (60)Kaul S. and Bansal G.L. (2002). Allelopathic effect of *Ageratina adenophora* on growth and development of *Lantana camara*. Ind. J. Plant Phys., **7(2)**: pp 195-197.
- (61)Khanh T.D., Chung M.I., Xuan T.D., Tawata S. (2005). The exploitation of crop allelopathy in sustainable agricultural production. J. of Agro. and Crop Sci. **191**, 172-184.
- (62)Koide R.T. and Mosses B. (2004). A history of research on arbuscular mycorrhiza. Myc. **14(3)**: pp 145-163.
- (63)Kumar Rao I.V.D.K., Thompson J.A., Sastry P.U.S.S., Giller K.E. and Day J.M. (1986). Measurement of N₂ fixation in field grown pigeon pea using 15N-labelled fertilizer. Plant Soil, **101**: pp 102-113.
- (64)Ladhari A., Omezzine F., Chaieb I., Laarif A., Haouala R. (2013). Antifeedant and insecticidal effects of *Capparis spinosa* L. on *Spodoptera littoralis* (Bois duval) larvae. Afr. J. of Agri. Res. **8(42)**: pp 5232-5238.
- (65)Laguerre G., Fernandez M. P., Edel V., Normand P. and Amarger N. (1993). Genomie heterogeneity among *French Nhizobill II* strains isolated. Bact. **41**: pp 761-767.
- (66)Lara- Nuñez A., Romero-Romero T., Luis Ventura J., Blancas V., Luisa Anaya A., Cruz-Ortega R. (2006). Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. Plant, Cell and Env. **29**: pp 2009-2016.
- (67)Lara-Núñez A., Sanchez-Nieto S., Luisa-Anaya A. and Cruz-Ortega R. (2009). Phototoxic effects of *Sicyos deppei* (Cucurbitaceae) in germinating tomato seeds. Phy. Plant **136**: pp 180-92.

- (68) Lara-Núñez A., Ventura-Gallegos J.L., Luisa-Anaya A. and Cruz-Ortega R. (2015). Phytotoxicity of *Sicyos deppei* during tomato germination and its effects on the role of aba and cell wall enzymes. Bot. Sci. 93 (4): pp 771-781.
- (69) Le Bourgeois T., R. Camou, Mars 2006 (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Programme POSEIDOM 2004). *Grevillea banksii* R. Br., Analyse de Risque Phytosanitaire (Antilles).
- (70) Lie T. A. (1974). Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. In: The Biology of Nitrogen Fixation (A. Quispel, Ed.). North Holland Publishing Com. Am.: pp 555-582.
- (71) Lodge D.M. (1993). Biological invasions: lessons for ecology. Trends Ecol. vol. 8: pp 133-137.
- (72) Machado S. (2007). Allelopathic potential of various plant species on downy brome: Implications for weed control in wheat production. Agro. J. 99 (January-February): pp 127-132.
- (73) Macheix J. J., A. Fleuret et C. Jay-Allemand. (2005). Les composés phénoliques des Végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR, Lau: pp 99-92.
- (74) Maciel C.D.G., Correa M.R., E. Alves, E. Negrisoni E.D. Velini J.D. Rodrigues E.O. Ono and C.S.F. Boaro. (2003). Influencia do manejo de palhada de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o desenvolvimento inicial de soja (*Glycine max*) e amendoim-brav (*Euphorbia heterophylla*). Pl. Da. 213: pp 635-637.
- (75) MAEP (Ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche). (2007). Mise en place de collection généalogique et de collections testées. Rapport final, Catalogue des variétés. Projet d'appui à la diffusion des techniques agro-écologiques à Madagascar. 111 p.
- (76) Martinez E., Flores M., Brom S., Romero D., Davila G. and Palacios R. (1988). *Rhizobium Phaseolus*, a molecular genetics view. Plant and Soil. 108: pp 179-184.
- (77) Marwat K.B. and Muhammad A. Khan. (2006). Allelopathic proclivities of tree leaf extracts on seed germination and growth of wheat and wild oats. Pak. J. Weed Sci. Res., 12(4): pp 265-269.
- (78) Miller S.S., Liu J., Allan D.L., Menzhuber C.J., Fedorova M., Vance C.P. (2001). Molecular control of acid phosphatase secretion into the rhizosphere of proteoid roots from phosphorus-stressed white lupin. Plant Physiol 127: pp 594-606.
- (79) Molisch H. (1937): Der Einfluß einer Pflanze auf die Andere. Allelopathie. Gustav Fischer Verlag, Jena. 106 p.

- (80)Mooney H.A. et Hobbs R.J. (2000). Invasive species in a changing world. Island Press, Washington, DC plant. Ecol. Lett. 7: pp 346-353.
- (81)Munns D. N. (1977). Mineral nutrition and the legume symbiosis. In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Section IV, (R.W.F. Hardy et A.H. Gibson, eds,), John Wiley and sons, New York: pp 354-391.
- (82)N’Gebssso F.DeP.M, N’Guetta A.S.P., N’Guessan C.K., Kouahou F.I. (2010). Évaluation de l’efficience de l’inoculation des semences chez 11 génotypes de soja (*Glycine max* L. Merrill) en zone de savane de Côte d’Ivoire. Sci. et Nat. vol 7, n°1: pp 59-67.
- (83)N’Zi J.C., Koua A.P., Kouassi K.D., Kahia J., Kouassi J.L., N’Guetta A. S.P., Kouamé C. (2015). Effect of inoculating seeds with *Bradyrhizobium japonicum* on the agronomics performance of five varieties of soybean (*Glycine max*) in Côte d’Ivoire. Afr. J. of Agri. R.: pp 3672-3677.
- (84)Ndakidemi P., Dakora F., Nkonya E., Ringo D. and Mansoor H. (2006). Yield and Economic Benefits of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) and Soybean (*Glycine max*) Inoculation in Northern Tanzania. A. Pro. Sci. 46: pp 571-577.
- (85)Noel K.D. (2009). Rhizobia M. Schaechter (Ed), Encyclopedia of microbiology, Academic Press, San Diego, CA: pp 261-277.
- (86)Nutman P. S. (1975). Rhizobium in the soil, In: Soil Microbiology. A Critical Review (N. Walker, Ed.). Butter Worths, London: pp 111-113.
- (87)Obaton M. (1992). Facteurs pédoclimatiques limitant la fixation biologique de l’azote chez les légumineuses. In K. Mulongoy, Gueye M. et D.S.K. Spencer (éd.) “Biological Nitrogen Fixation and Sustainability of Tropical Agriculture”, John Wiley et sons, Chichester, UK: pp 57-66.
- (88)Parker I.M., (1999). Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. Biol. Inv. 1: pp 3-19.
- (89)Pellissier F. (1993). Allelopathic effect of phenolic acids from humic solutions on two spruce mycorrhizal fungi: *Cenococcum graniforme* and *Laccaria laccata*. J. Chem. Ecol., 19, 10: pp 2105-2114.
- (90)Peneva A. (2007). Allelopathic effect of seed extracts and powder of coffee (*Coffea arabica* L.) on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L). Bul. J. Agr. Sci., 13: pp 205-211.
- (91)Peron J.Y. (2006). Productions légumières. 2ième édition. Lavoisier. 389p.

- (92)Perrot E. and René M. (1974). Les plantes médicinales. Edition Presses Universitaires de France, PUF, Paris, France 139 p.
- (93)Pinero D., Martinez E., and Selander R. K. (1988). Genetic diversity and relationships among isolates of *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. Appl. Environ. Microbiol. **54**: pp 2825-2832.
- (94)Purnell H. (1960). Studies of the family Proteaceae. I. Anatomy and morphology of the roots of some *Victorian sp.* Au. J. of Bot., vol8, 1^{er} édition: pp 38-50.
- (95)Rajoelison L.G. (1987). Étude monographique du *Grevillea banksii* et tentative de recherche sur la possibilité de l'utiliser en semis direct par avion. Mémoire de fin d'études. EESSA- Forêts. Université d'Antananarivo. Madagascar. 104 p.
- (96)Rakotoarisoa J.A. (1997) A cultural history of Madagascar. In: Natural change and human impact in Madagascar. (Eds. Goodman S. M. et Patterson B. D.). Washington, Londres, Smithsonian Institution Press: pp 331-341.
- (97)Randrianatoandro M. R. S. (2003). Intégration de *Grevillea banksii* comme espèce de jachère améliorée en fin de rotation dans la pratique du système de cultures sur brulis (tavy). École Supérieure des Sciences Agronomiques, Département Agriculture. Antananarivo, Université d'Antananarivo: 81p.
- (98)Rastogi J., Rawat D. S. and Chandra S. (2015). Diversity of invasive alien species in Pantnagar flora. Trop. Plant Res. 2(3): pp 282–287.
- (99)Raven P. H., Evert R. F., Eichlorn S. E. (2000). Biologie végétale. La 6^{ème} édition de boeck, Paris.
- (100)Rice E.L. (1984). Allelopathy. 2nd édition, Academic Press, New York. 422p.
- (101)Rice F.L. (1979). Allelopathy, New York: Academy Press An Update. Bot. Rev., **45**: pp 15-109.
- (102)Richardson D.M., Binggeli P. et Schroth G. (2004). Invasive agro-forestry trees: problems and solutions. In: Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes (Eds. Schroth G., de Fonseca G.A.B., Harvey C.A., Gascon C., Vasconcelos H. et Izac A.M.N.),. Island Press, Washington DC: pp. 371–396.
- (103)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. Oecolog. **126**: pp 444-450.
- (104)Rizvi S.J.H., M. Tahir, V. Rizvi R.K. Kohli and A. Ansari (1999). Allelopathic interactions in agro-forestry systems. Crit. Rev. in Pl. Sci., **18**: pp 773-779.

- (105) **Sadowsky M.J. (2005)**. Soil stress factors influencing symbiotic nitrogen fixation, In: D. Werner and W.E. Newton (eds.) Nitrogen Fixation Research in Agri., Fore., Ecol., and the Env.: pp 89–102.
- (106) **Sala O.E., Chapin III F.S., Armesto J.J., Berlow E. et Bloomfield J. (2000)**. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Sci.* **287**: pp 1770-1774.
- (107) **Samedani B., Juraimi A. S., Raffi M. Y., Anuar A. R., Sheikh Awadz S. A., Anwar M. P. (2013)**. Allelopathic effects of litter *Axonopus compressus* against two weedy species and its persistence in soil. *The Sci. W. J.* vol **8**: pp 404-695.
- (108) **Sasikumar K.C. Vijayalakshmi and K.T. Parthiban. (2001)**. Allelopathic Effects of Four Eucalyptus Species on Redgram (*Cajanus cajan* L.). *J. of Trop. Agri.* **39**: pp 134-138.
- (109) **Schiffers B., Cornet D., Fraselle J. et Balandi M.U. (1982)**. Étude de l'association du Rhizobium et de l'insecticide carbofuran dans le pralinage des semences de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux, Parasitica.* **38** (2): pp 55-63.
- (110) **Shane M.W. and Lambers H. (2005)**. Cluster roots: a curiosity in context. *Plant, Plant and Soil* **274**: pp 101–125.
- (111) **Strullu D.G. (1991)**. Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris. 242p.
- (112) **Sutter E. et Rakotonoely (1989)**. Synthèse sur le projet inventaire des ressources ligneuses. Cftf-Fofifa. 23 p.
- (113) **Tang C.S. and C.C. Young. (1983)**. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of Bigalta limpogress (*Hemarthria altissima*). *Plant physiol.* **69**: pp 155-160.
- (114) **Tassin J. (1995)**. Bilan de la protection des bassins versants au Lac Alaotra (Madagascar). *BFT* 246: pp 7-22.
- (115) **Thibault J.R. (1982)**. Allelopathic growth inhibition of nodulated and unnodulated *Alnus crispa* seedlings by *Populus balsamifera*. *Am. J. Bot.* pp 1213-1223.
- (116) **Tomaszewski and Thimann KV. (1966)**. Interactions of phenolic, metallic ions and chelating agents on auxin-induced growth. *Plant Physio.* 41(9): pp 1443-1454.
- (117) **Torres R.M., Oliver D., Castellano and P. Cross. (1996)**. Proceedings of First World Congress on Allelopathy. A Science of the Future. SAI, University of Cadiz, Cadiz, Spain. 278p.

- (118) Turk M. A. and Tawaha A. M. (2003). Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.), Crop Protec. **22**: pp 673–677.
- (119) Vanderhoeven S., Branquart E., Grégoire J. C. et Mahy G. (2006). « Les espèces exotiques envahissantes », dossier réalisé dans le cadre du rapport analytique 2006-2007 sur l'état de l'environnement wallon.
- (120) Vincent J.M. (1970). A Manual for the Practical Study of the Root-Nodule Bacteria, International Biological Program, Blackwell Scientific Publ., Oxford.
- (121) Vinebrooke R.D., Cottingham K.L., Norberg J., Scheffer M., Dodson S.I., Maberly S.C. and Sommer U. (2004). Impacts of multiple stressors on biodiversity and ecosystem functioning: the role of species co-tolerance. Oikos, **104**: pp 451–457.
- (122) Vitosh M.L. (1997). Soybean inoculation in Michigan. Soybean Facts Winter, Department of Crop and Soil Sciences, Michigan State University, USA. 4p.
- (123) Williamson M. et Fitter A. (1996). The varying success of invaders. Ecol. **77**: pp 1666–1670.
- (124) Willis R.J. (2004). Justus Ludewig von Uslar and the first book on allelopathy. Springer, 3300 AA Dordrecht, the Netherland, 1p.
- (125) Wu H., J. Pratley, D. Lemerle and T. Haig. (2003). Evaluation of seedling allelopathy in 453 wheat (*Triticum aestivum*) accessions against annual ryegrass (*Lolium rigidum*) by the equal compartment agar method. Australian J. Agri. Res. **51**(7): pp 937-944.
- (126) Yamane Y., Furuichi M., Van Song R.N.T., Mulcahy R.T., Ishikawa T. and Kuo M.T. (1998). Expression of multidrug resistance protein/ GS-X pump and gamma-glutamylcysteine synthetase genes is regulated by oxidative stress. J. Biol. Chem. **273**: pp 31075-31085.
- (127) Zahran H.H., Sprent J.I., (1986). Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*, Planta **167**: pp 303-309.
- (128) Zeng R.S., Mallik, A.V. and Luo, S.M. (2008). Allelopathy in sustainable Agriculture and Forestry, Springer-Verlag, Germany. 412p.

Webographies : 1) http://www.memoireonline.com/07/12/5998/m_Diversite-genetique-des-Rhizobia-associées--un-champ-de-pois-d'Angole-Cajanus-cajan-l--Y28.html.

2) www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC316311/

- 3) <http://www.tropicos.org/>
- 4) www.fao.org/agora/fr/
- 5) www.tela-botanica.org/page:menu_428
- 6) fr.wikipedia.org/wiki/Haricot

ANNEXES

ANNEXES

Annexes 1 : Composition du milieu YMA :

Mannitol	:	10g /l
K ₂ HPO ₄	:	0,5g/l
MgSO ₄ , 7H ₂ O	:	0,1g/l
NaCl	:	0,05g/l
CaCl ₂ , 2H ₂ O:	:	0,04g/l
Extrait de levure :	:	1g/l
Glutamate de Sodium :	:	0,5g/l
Agar	:	10g/l
pH	:	6,8

Annexes 2 : Composition du milieu JENSEN :

Solution P	:	10ml/l
Solution Q	:	10ml/l
Solution R	:	20ml/l
Solution D	:	10ml/l
Oligo-éléments	:	1ml/l
Agar	:	20g/l

Composition de chaque solution :

Solution P :- K ₂ HPO ₄ :	20g/l	Solution Q : NaCl :	20g/l
-MgSO ₄ :	20g/l	Solution R: Ca HPO ₄ :	50g/l
Solution D : FeCl ₃ :	4g/l ou FeCl ₃ en solution :	11,5ml/l	
Oligo-éléments: -H ₃ BO ₄ :	2,86g/l		
-MnSO ₄ :	2,03g/l		
-ZnSO ₄ :	0,22g/l		
-CuSO ₄ :	0,08g/l		
-Na ₂ MoO ₄ :	0,09g/l		
-pH:	6, 7		

Le milieu JENSEN a été utilisé pour faire un test des nodulations de haricot in-vitro en présence des extraits aqueux de *Grevillea banksii*.

Annexes 3 : Caractères morphologiques et classification de rhizobium

Les rhizobiums sont des bactéries du sol, strictement aérobies possédant une forme bâtonnet mobile de 0,6 à 0,9 µm de largeur et de 1,2 à 3 µm de longueur avec un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles péritriches. Elles sont des bacilles à Gram négatif et elles ne font pas d'endospores.

Classification :

REGNE : BACTERIA

EMBRENCHEMENT : PROTEOBACTERIA

CLASSE : ALPHA PROTEOBACTERIA

ORDRE : RHIZOBIALES

FAMILLE : RHIZOBIACEAE

GENRE : *Rhizobium*

Annexes 4 : Caractères biochimiques et culturels de rhizobium

Les espèces de *Rhizobium* peuvent utiliser les nitrates et les nitrites comme accepteurs d'électrons.

Les caractères culturels des souches sont mis en évidence à partir de colonies développées d'une culture de 24h - 48h à 28°C sur le milieu Yeast Mannitol Agar (YMA) solide. Elles sont généralement des colonies gommeuses sur milieu YMA, de 4-6 mm de diamètre après 3 à 7 jours d'incubation.

Name: ANDRY MIHAJAMANANA

First name: Nambinina

E-mail: mihajamanana2@gmail.com

Title: Allelopathic effects of *Grevillea banksii*, an invasive plant on the development of crops plant species and on rhizobial association of legume

ABSTRACT

G. banksii R. Br. is widespread species forming dense populations in Eastern part of Madagascar. The aim of this study was to investigate the allelopathic effects of *G. banksii* on seed germination and initial growth of three agricultural crops such as Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Rice (*Oriza sativa* L.) and Maize (*Zea mays* L.) and on the symbiotic association between legume and rhizobia.

Leaf extract (shoot powder and shoots extracts obtained after shaken during 24 and 48h) and rhizosphere soil (soil powder and soil extract shaken during 72h) of *G. banksii* were applied to determine their effect on seed germination and seedling length of test plant. Leaf extract effect was especially evaluated on nodulation rate of legume (*P. vulgaris*) under laboratory and green house condition.

Results showed that the rhizospheric soil of *G. banksii* activates seeds germination and seedling length of all crop species. However, all shoot extract of *G. banksii* caused inhibitory effects on seeds germination and shoot and root length of three crops species tested, especially for rice and maize roots length. This investigation therefore comparatively reveals that the leaves extract of *G. banksii* has more allelopathic effect than rhizospheric soil in seed germination and initial growth of agricultural crops tested. Moreover, inhibitory/stimulatory effects of *G. banksii* vary from one species to another. In addition, leaf extract of *G. banksii* was affected negatively rhizobial symbiosis on legume (*P. vulgaris*). However, the application of soil microbial inoculation technology, using strain coded R8, mitigates the negative effect of *G. banksii*. The results suggest the need for caution when using the shoots of *G. banksii* on agricultural crop plant species.

Key words: Allelopathic, crop plants, invasive plant, seed germination, rhizobial association.

Advisors: Professor RAMANANKIERANA Heriniaina

Doctor ANDRIANANDRASANA Martial Doret

Nom : ANDRY MIHAHAJAMANANA

Prénom : Nambinina

E-mail : mihajamanana2@gmail.com

Titre : Effets allélopathiques d'une plante invasive, *Grevillea banksii* sur le développement des plantes cultivées et sur l'association rhizobienne chez les légumineuses

RESUME

Grevillea banksii R. Br. est une espèce de plante exotique qui se propage rapidement et forme une dense population dans la partie orientale de Madagascar. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les effets allélopathiques de *G. banksii* sur la germination des graines et le développement des plantes cultivées et sur l'association symbiotique entre la légumineuse et le rhizobia.

Les feuilles (en poudre et en extrait aqueux obtenu après 24 et 48h d'agitation) et le sol rhizosphérique (en poudre et en extrait aqueux obtenu après 72h d'agitation) de *G. banksii* ont été utilisés pour évaluer l'effet allélopathique de cette espèce exotique vis-à-vis des trois espèces des plantes cultivées (le riz, le maïs et le haricot). La germination des graines, l'élongation de la partie aérienne et la symbiose entre légumineuse et les rhizobia ont été évaluées après quelques mois de culture des plantes cultivées en présence des extraits de feuilles, et du sol rhizosphérique de *G. banksii*.

Les résultats ont montré que les feuilles de *G. banksii* présentent plus des effets inhibiteurs sur la germination des graines et l'initiation du développement des parties racinaires et aériennes des plantes cultivées (haricot, riz, maïs) par rapport au sol rhizosphérique de *G. banksii*. De ce fait, le sol rhizosphérique de *G. banksii* a un effet stimulateur sur les parties racinaires des graines des plantes cultivées. L'effet inhibiteur/stimulateur de *G. banksii* varie également d'une espèce à l'autre. De plus, l'extrait de feuille de *G. banksii* affecte négativement la nodulation de légumineuse (haricot) *in-vitro* et sous serre. Pourtant, l'application de la technologie de l'inoculation microbienne du sol, en utilisant la souche de rhizobium codée R8 permet d'atténuer l'effet négatif de l'extrait de *G. banksii*.

Mots clés : Allélopathie, plante cultivée, plante invasive, germination des graines, association rhizobienne.

Encadreurs : Professeur RAMANANKIERANA Heriniaina

Docteur ANDRIANANDRASANA Martial Doret