

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA – Bejaia

Faculté des Science de la Nature et de la vie

Département de Sciences Biologiques de l'Environnement

Spécialité : Toxicologie Industrielle et Environnemental



Réf :

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

LA SYMBIOSE *GENISTEAE-* RHIZOBIA EN ALGERIE

Présenté par :

ZIDANE Linda & BEKOUICHE Tania

Soutenu le : **10 septembre 2023**, Devant le jury composé de :

- Présidente : Mme MANKOU Nadia
- Promotrice : Mme BOULILA Farida
- Examineur : M.HAMLAT Mourad

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail, nous rendons grâces a Dieu qui nos donné la volonté et de courage de mener à bien ce travail.

Nous tenons tous d'abord à remercier notre promotrice, **Madame Farida Boulila** pour tout le temps qu'elle nos consacré tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à madame MANKOU et monsieur HAMLAT qui ont accepté de juger ce modeste travail et d'apporter un plus pour notre travail.

Nos remerciements particulièrement nos parents, pour leur soutien inconditionnel tout au long de ces années d'études.

A nos amis de promotion, nous adressons un grand merci pour leur soutien et leur aide.

Enfin nous finirons par remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin direct ou indirect à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À ma chère mère

Pour son amour ses encouragements et ses sacrifices.

À mon cher père

Pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordée

Aucun mot ne serait suffisant pour le remercier. Qu'Allah les protège et le garde.

À mon frère et mes sœurs

À mon seul et unique frère **Mounir**, et mes sœurs **Sakina** et **Radia** et **Maissa**, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'étude.

A la mémoire de mes deux chères grands-mères qui m'ont tant apportés, que Dieu les accueille dans leur paradis.

À mon grand-père à qui je souhaite une longue vie.

À mon cher neveu **Djaouad**.

À tous mes cousins et cousines tantes et oncles.

À mes très chères copines sans exception.

À ma binôme **Tania** pour sa confiance.

À mes chers enseignants sans exception.

À toute la promotion de toxicologie industrielle et environnementale.



Linda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

Aux prunelles de mes yeux, mes parents, pour leurs sacrifices, leur patience et leurs précieux conseils pour me guider vers la voie de la réussite. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À mes très chers frères : **Lamine, Ramy, Ghilas.**

À tous mes cousins et cousines, tantes et oncles.

À mes très chères copines sans exception.

À ma binôme **Linda** pour sa confiance.

À toute la promotion de toxicologie industrielle et environnementale.



LISTE DES ABREVIATIONS

ADNr : Acide Désoxyribo Nucléique ribosomal.

ADP: Adénosine Diphosphate.

ATP: Adénosine-Triphosphate.

Cd: Cadmium

Cr: Chrome.

Cu: Cuivre.

Fe: Fer.

Fix: Fixation.

Hg : Mercure.

Lmic A 16 : *Lupinus micranthus* prospérant en Algérie.

MLSA: Multilocus Sequence Analysis.

N : Azote.

N : Nickel.

N₂ : Diazote.

NaCl: Chlorure de Sodium.

NADPH : Nicotinamide adénine Dinucléotide Phosphate.

NH₃ : Ammoniac.

Nif : gène infection.

Nod : gène de nodulation.

Pb : Plomb.

PCR/RFLP: Réaction en Chaîne par Polymerase/ Restriction Fragment Length Polymorphism.

PH : Potentiel Hydrogène.

Pi: Phosphate Inorganique.

RecA: protéine d'Escherichia coli.

YMA: Yeast Mannitol Agar.

Zn : Zinc.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Exemples des différents types de microorganismes fixateurs d'Azote -----	05
Tableau II : Classification des légumineuses-----	11
Tableau III: Systématique de <i>Retama</i> -----	17
Tableau IV : Taxonomie de <i>Genista</i> -----	21

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique simplifiée du cycle d'Azote-----	04
Figure 2 : Structure de la nitrogénase-----	08
Figure 3 : <i>Retama sphaerocarpa</i> -----	14
Figure 4 : <i>Retama monosperma</i> -----	14
Figure 5 : <i>Retama raetam</i> -----	15
Figure 6 : répartition géographique des espèces de <i>Retama</i> en Algérie -----	16
Figure 7 : <i>Cytisus Villosus</i> -----	18
Figure 8 : <i>Calicotome Spinosa</i> -----	19
Figure 9 : <i>Genista ferox</i> -----	21
Figure 10 : <i>Spartium junceum</i> -----	22
Figure 11 : Photo indiquant les nodules de <i>Genista</i> sp vue à la loupe -----	24
Figure 12 : rhizobium bactérie à Gram négatif-----	25
Figure 13 : Arbre phylogénétique de l'ADNr 16 d' α , β et Y-Protéobactéries. Les genres indiqués en gras comprennent des rhizobiums -----	27
Figure 14 : Arbre phylogénétique basé sur les séquences d'ADNr 16S montrant la nouvelle espèce <i>Bradyrhizobium algériense</i> -----	29
Figure 15 : Arbre concaténé des gènes <i>atpD</i> , <i>glnII</i> et <i>recA</i> des souches de <i>calicotome spinosa</i> -----	31
Figure 16 : Arbre phylogénétique basé sur les gènes de ménage de <i>Bradyrhizobium</i> sp isolés de <i>Genista</i> -----	33
Figure 17 : Interaction légumineuse-rhizobia-----	38
Figure 18 : facteurs influençant la symbiose rhizobia-légumineuse -----	42

Table des matières

Remerciements.....	I
Dédicaces	II
LISTE DES ABREVIATIONS	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES FIGURES	VI
Table des matières.....	VII
Introduction.....	1
1. Azote.....	3
1.1. Cycle de l'azote.....	3
1.2. Fixateur biologique d'azote	3
1.3. Microorganismes fixateurs d'azote.....	4
1.4. Intérêt de la fixation biologique de l'azote atmosphérique.....	6
2. Nitrogénases	7
1. Légumineuses	9
1.1. Les légumineuses les plus répandus dans le Maghreb.....	9
1.2. Classification des légumineuses :	10
1.3. Intérêt des légumineuses	12
1.4. Importance des légumineuses dans le bassin méditerranéen	12
2. <i>Genisteeae</i>	13
2.1. Genre <i>Retama</i>	13
2.2. Genre <i>Cytisus</i>	18
2.3. Genre <i>Calicotome</i>	19
2.4. Genre <i>Genista</i>	20
2.5. Genre <i>Spartium</i>	22
1. Rhizobia	24
2. Caractérisation des rhizobiums.....	24
2.1. Caractérisation morphologique et cellulaire	25
2.2. Caractérisation biochimique	26
2.3. Caractérisation physiologique.....	26

2.4. Caractérisation génétique.....	26
3. Taxonomie du rhizobium.....	26
4. Caractérisation des rhizobia isolés quelques genres de légumineuses appartenant à la tribu <i>Genisteae</i> d'Algérie.....	28
4.1. Bactéries nodulant le genre <i>Retama</i>	28
5. Bactéries nodulant le genre <i>Cytisus</i>	29
6. Bactéries nodulant le genre <i>Lupinus</i>	30
7. Bactéries nodulant le genre <i>Calicotome spinosa</i>	30
8. Bactéries nodulant le genre <i>Genista</i>	32
9. Bactéries qui nodules le genre <i>Spartium</i>	34
1. Symbiose rhizobia-légumineuses.....	36
1.1. Spécificité de la symbiose.....	36
1.2. Intérêt de la symbiose rhizobia-légumineuses.....	36
2. Interactions symbiotiques rhizobia-légumineuses.....	37
2.1. Processus de nodulation.....	37
1. Facteurs influençant la symbiose rhizobia-légumineuse.....	39
1.1. Stress biotique.....	39
1.2. Stress abiotique.....	39
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	45

Introduction

La croissance des plantes dépend de la disponibilité des éléments minéraux dans le sol et notamment de la qualité d'azote sous forme assimilable. L'azote est l'un des éléments les plus abondants, constituant près de 80 % de l'atmosphère où il est présent sous forme de diazote gazeux (N₂), chimiquement très stable et inutilisable par la plupart des organismes vivants. Les formes utilisables d'azote sont assez rares dans la biosphère, notamment dans les systèmes agricoles (**Maathuis, 2009**).

Prêt de la moitié de la fixation biologique de l'azote moléculaire du globe se fait grâce aux microorganismes fixateurs d'azote. Ils sont très diversifiés, d'autre eux assurent cette fonction à l'état libre, tandis que d'autres doivent entrer dans un état de symbiose avec des plantes. La plus connue et la plus étudiée est celle établie entre des bactéries du sol de type rhizobia et les plantes de la famille des *Fabaceae* (légumineuses) (**De Faria et al, 1989**).

La tribu des *Genisteeae*., famille des *Fabaceae*, est essentiellement méditerranéenne (**Polhill, 1976**). Elle possède une grande importance écologique, non seulement pour la grande diversité des espèces, mais aussi par la colonisation des forêts dégradées et les zones déboisées en dominant de nombreuses communautés végétales (**Lopez Gonzalez, 2001**).

La famille des *Fabaceae* est connue pour son importance considérable dans l'agriculture, l'économie ainsi que les balances alimentaires de nombreuses populations humaines. De très nombreuses espèces sont connues pour leur capacité d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries du sol appelées rhizobia, (<http://www.ildis.org/Leguminosae/>).

En Algérie, des rhizobia nodulant plusieurs légumineuses de la tribu des *Genisteeae* de différentes régions du pays ont fait l'objet de nombreuses études (**Boulila et al .2009 ; Ahnia 2014**).

(**Ahnia et al, 2018, Salmi et al, 2018, Boudehouche et al, 2020, Salmi et Boulila, 2021**). Ce travail est une synthèse de ces travaux effectués sur les rhizobia symbiotiques des *Genisteeae* d'Algérie.

Ce travail est divisé en cinq chapitres : le premier chapitre comprend une présentation des connaissances générales sur l'azote et sa fixation atmosphérique et biologique. Dans le second nous avons porté attention sur les légumineuses de tribu des *Genisteeae*, le troisième chapitre consacré à la présentation de rhizobia et leur caractérisation, le quatrième chapitre

décrit les interactions symbiotiques entre deux partenaires Rhizobia-légumineuses. Finalement le cinquième chapitre concerne les facteurs influençant la symbiose rhizobia-légumineuses.

Chapitre I : Généralités sur L'Azote et sa fixation

1. Azote

L'azote est l'un des éléments les plus abondants, constituant environ de 80 % de l'atmosphère où il est présent sous forme de diazote gazeux (N_2), chimiquement très stable et inutilisable par la plupart des organismes vivants. Les formes utilisables d'azote sont assez rares dans la biosphère, notamment dans les systèmes agricoles (**Maathuis, 2009**). Constituant entre des acides aminés et nucléiques, l'azote (N) est un élément essentiel pour toutes formes de vie. Il constitue, avec le manque d'eau et du phosphate, une des principales limitations à la croissance des plantes (**Cleland et Harpole, 2010**). L'azote favorise chez les végétaux l'utilisation des hydrates de carbone, stimule le développement et l'activité racinaire, favorisant ainsi l'absorption des autres éléments minéraux et la croissance des plantes (**Babo, 2002**).

1.1. Cycle de l'azote

Le cycle d'azote est l'un des cycles biogéochimiques les plus complexes (**Bockman et al, 1990**).

L'azote se transforme sans cesse d'une forme minérale à une forme organique formant un cycle (figure 1). Il passe successivement par les étapes de fixation, de nitrification et de dénitrification, puis il est de nouveau soumis à une nitrification. La matière organique contenant l'azote se décompose dans le sol sous l'action des microorganismes. Cette décomposition produit de l'azote sous forme minérale (**Saoudi, 2008**). Ainsi qu'il est essentiel pour la synthèse des enzymes de la photosynthèse (**Lamaze et al, 1990**).

1.2. Fixateur biologique d'azote

La fixation biologique de l'azote est une partie importante des processus microbiens (**Simon, 2003**) et réunir chaque année environ 200 millions de tonnes d'azote. A titre de comparaison, la moitié de cette quantité est fixée industriellement (**Arp, 2000**).

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est l'une des premières étapes du cycle de l'azote. C'est un processus métabolique, réalisé exclusivement par des organismes procaryotes (*azotobacter* ou *rhizobiums*) possédant les enzymes nécessaires pour fixer l'azote atmosphérique (N_2), notamment une enzyme appelée la Nitrogénase. Cette enzyme permet de convertir le nitrogène (N_2) en azote ammoniacal (NH_3), qui lui est assimilable par la plante.

Cette dernière peut constituer les molécules organiques nécessaires à sa croissance (notamment les protéines) (Hopkin, 2003 ; Schneider *et al*, 2015).

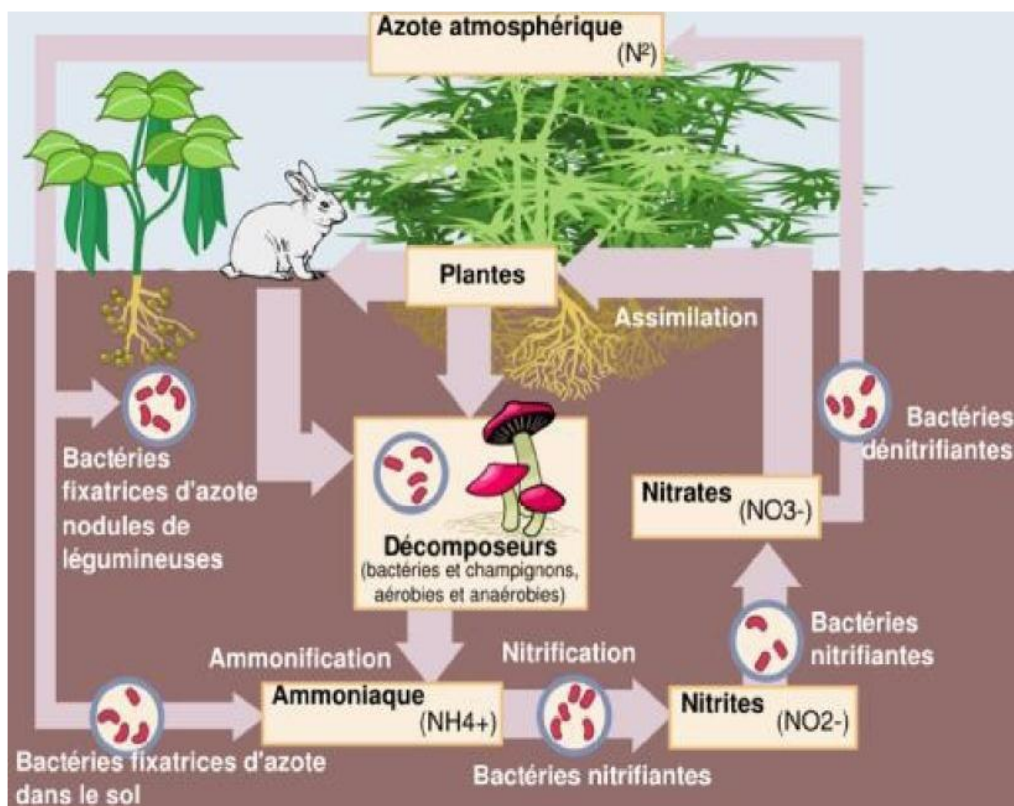


Figure 1 : Représentation schématique simplifiée du cycle d'azote (Pujic et Normand, 2009).

1.3. Microorganismes fixateurs d'azote

Les microorganismes qui fixent le nitrogène (N_2) sont tous des microorganismes diazotrophes. Ils sont classiquement répartis en deux groupes : les fixateurs libres tels qu'*Azotobacter*, *Klebsiella* (Tourte *et al*. 2005) et les fixateurs symbiotiques tels que les Rhizobiums qui eux, ont besoin de la présence d'un végétal en croissance de la famille des légumineuses pour fixer l'azote, et ceci de manière très spécifique, c'est-à-dire que chaque espèce de rhizobium s'associe avec une espèce particulière de légumineuses (Madigan et Martink, 2007). Les microorganismes fixateurs d'azote appartiennent à des groupes taxonomiques très divers regroupant beaucoup d'espèces bactériennes.

On les peut classer en deux groupes :

Tableau I : Exemples des différents types de microorganismes fixateurs de l'azote (**Roger et al, 1996**).

Micro-organismes libres				
Aérobies	Hétérotrophes	<i>Azotobacter spp.</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ;		
		<i>Beijerinckia indica</i> ; <i>Azospirillum lipoferum</i>		
	Phototrophes: Cyanobactéries	Hétérocystées	<i>Nostoc</i> ; <i>Anabaena</i> ; <i>Calothrix</i> ; <i>Tolypothrix</i>	
		Homocystées	<i>Trichodesmium</i> ; <i>Oscillatoria</i>	
Unicellulaires		<i>Gloeotheca</i> ; <i>Gloeocapsa</i>		
Anaérobies	Hétérotrophes	<i>Clostridium pasteurianum</i> ; <i>Desulfovibrio vulgaris</i> ;		
		<i>Desulfotomaculum spp.</i> ; <i>Methanobacterium spp.</i>		
	Phototrophes	<i>Rhodospirillum rubrum</i> ; <i>Rhodobacter capsulata</i> ;		
		<i>Chromatium vinosum</i>		
Microorganismes symbiotiques				
Légumineuses	à nodules racinaires	<i>Rhizobium meliloti</i>		
		<i>Bradyrhizobium japonicum</i>		
	à nodules caulinares	<i>Azorhizobium caulinodans</i>		
Symbioses actinorhiziennes		<i>Frankia</i>		
Symbioses à cyanobactéries	<i>Azolla</i>	<i>Anabaena azollae</i>		
	Cycas	<i>Anabaena cycadeae</i>		
	Lichens	<i>Nostoc</i>		
	Mousses et hépatiques	<i>Nostoc</i>		

a. Fixateurs libres

L'estimation du taux de fixation d'azote par les bactéries du sol est l'ordre à près de 1 kg par hectare (**Elmerich, 1993**). Les bactéries libres fixatrices sont très répandues. Elles habitent les sédiments marins ainsi que ceux d'eau douce, les sols, les surfaces des feuilles et écorces ainsi que le tube digestif de divers animaux (**Hopkins, 2003**). Les fixateurs libres comprennent des genres très divers : bactéries aérobies chimioorganotrophes (*Azobacter vinelandii*, *Azospirillum*), bactéries anaérobies strictes (*Clostridium pasteurianum*)

ou aérobies facultatives (*Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*), des bactéries phototrophes à photosynthèse anoxygénique (*Rhodobacter*, *Rhodospirillum rubrum*) et des cyanobactéries (*Synechococcus*) (Renier, 2008).

b. Fixateurs symbiotiques

Ces symbioses constituent les systèmes fixateurs les plus efficaces réalisant un couplage entre la fixation d'azote et la photosynthèse. Dans ces associations fixatrices d'azote, le microorganisme induit l'apparition de structures différenciées, appelées nodules, chez les partenaires végétaux, et lui fournit une grande partie de l'azote important à sa croissance (Provorov *et al*, 2002 ; Normand *et al*, 2007). En 1995, Ganry et Domergues ont divisé les fixateurs d'azote en deux groupes majeurs de bactéries phylogénétiquement différents. Depuis, la propriété symbiotique de fixation d'azote dans les nodules des plantes vasculaires est rencontrée chez les rhizobia (principalement *Alpha-Proteobacteria*) qui s'associent essentiellement avec des plantes légumineuses appartenant à la sous-famille des angiospermes (*Fabaceae*), et les *Frankia* des (*Actinobacteria*) qui s'associent avec un spectre plus large de plantes (Franche *et al*, 2009).

1.4. Intérêt de la fixation biologique de l'azote atmosphérique

Cet intérêt réside principalement sur le processus de la fixation biologique de l'azote (N) qui est un élément essentiel pour toute forme de vie. Malgré la richesse de l'atmosphère terrestre en azote environ de 80 %. Cette forme gazeuse ou moléculaire (N₂) non assimilable par les plantes, tout en constituant, avec le manque d'eau et phosphate, une des principales limitations à la croissance des plantes (Cleland et Harpole, 2010). Il est admis que suite au lessivage des sols ainsi que le processus constant de nitrification /dénitrification, les formes assimilables de l'azote doivent être constamment renouvelées. Ce renouvellement se fait naturellement (cycle d'azote) à travers la minéralisation de matières organiques ou l'action de microorganismes fixateurs d'azote moléculaire et de manière artificielle par l'épandage de fertilisants azotés (Dixon et Wheeler, 1986). Le cycle d'azote joue un rôle essentiel dans l'agriculture ainsi que dans les différents écosystèmes. L'azote est un facteur dit limitant dans la production agricole. Il est l'un des éléments nutritifs majeurs utilisé par les plantes. C'est le quatrième constituant des plantes qui est utilisé dans l'élaboration de molécules importantes comme les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques et la chlorophylle (Epstein, 1972). Il favorise l'utilisation des hydrates de carbone, stimule le développement et l'activité

racinaire, favorisant ainsi l'absorption des autres éléments minéraux (Stenvenson, 1986). Ainsi qu'il est essentiel pour la synthèse des enzymes de la photosynthèse (Lamaze *et al.*, 1990).

L'intérêt de la fixation biologique de l'azote par la culture des légumineuses a été mis en avant de longue date comme support de la fourniture d'azote aux systèmes cultivés et demeure stratégique dans le contexte actuel de mise au point de modes de production agricoles plus économes énergétiquement et plus respectueux de l'environnement (Thiébeau *et al.*, 2010).

2. Nitrogénases

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est catalysée par un complexe enzymatique appelé nitrogénase qui est présent uniquement chez les *Eubacteria* et *Archaea* (Matthew *et al.*, 2008).

La nitrogénase est très conservée chez les bactéries fixatrices d'azote tant au niveau de sa séquence que de sa structure (Figure 2). Elle est constituée de deux métalloprotéines : l'une contenant du fer et l'autre contenant du fer et du molybdène. L'azote atmosphérique est réduit par la nitrogénase présence de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et de ferrédoxine qui assurent les transferts d'électrons (Yamamoto *et al.*, 2008).

Figure 2 : Structure de la nitrogénase (Yamamoto *et al.*, 2008).

La nitrogénase réduit l'azote moléculaire en ammoniac. Le bilan global de la réaction est le suivant :



Grâce à l'ammoniac, les micro-organismes diazotrophes peuvent après synthétiser des acides aminés et leurs propres protéines.

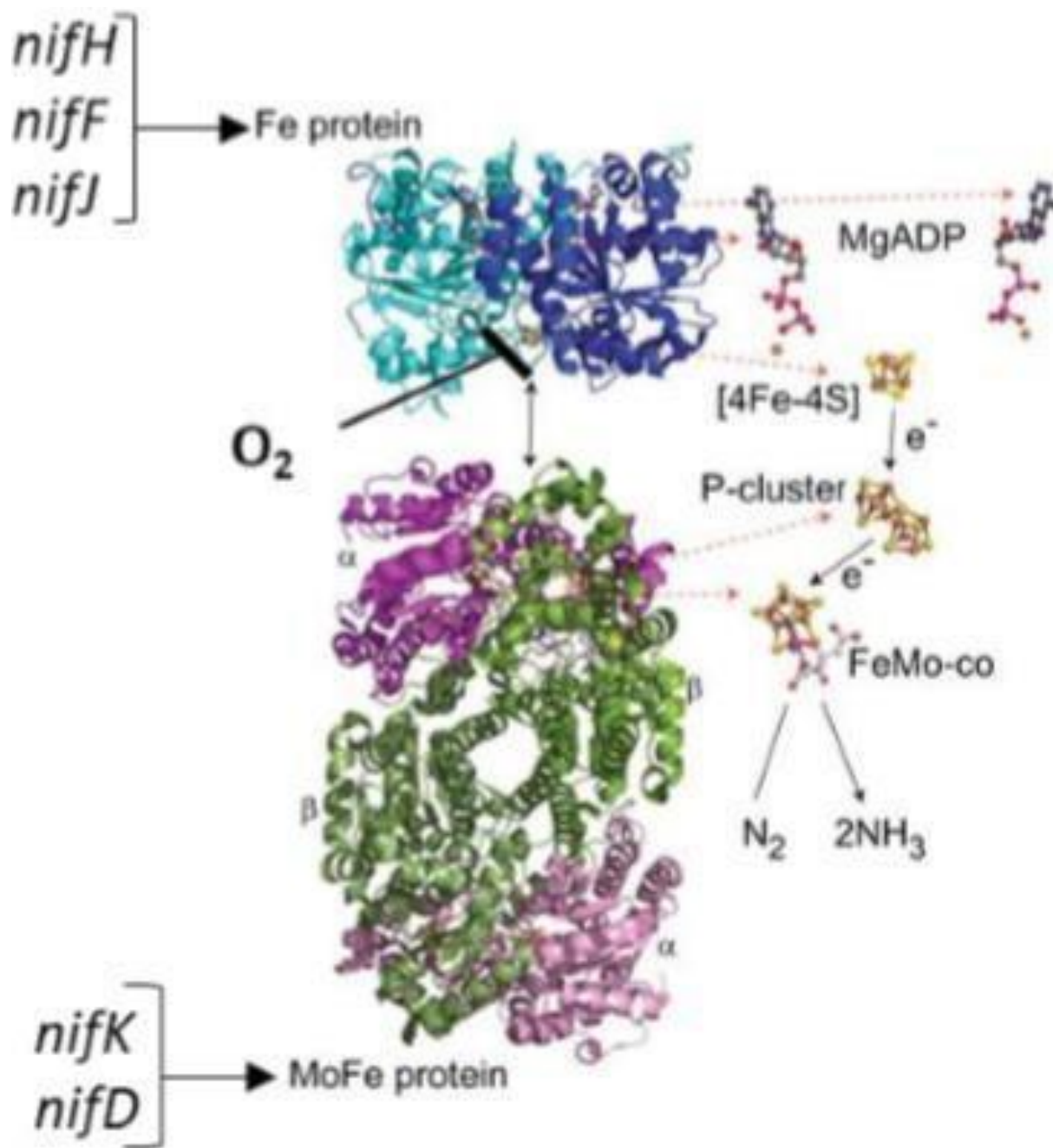


Figure 2 : Structure de la nitrogénase (Yamamoto *et al*, 2008).

Chapitre II : Légumineuses

1. Légumineuses

La super famille de légumineuses est classé parmi les Angiospermes. Elle possède le plus grand nombre d'espèces utiles à l'Homme, de point de vue alimentaire, industrielle ou médicinale (**Tourene, 2018**). Elles sont énormément définies par la structure à fleur peu commune et fruit en gousse, et composent une phytobiomasse très intéressante après celle des graminées (**Räsänen, 2002**). Elles se développent dans des écosystèmes extrêmement variés ; des régions tempérées (plantes et amides) aux régions tropicales (plante à uréides) (**Schubert et Bolland, 1990**).

1.1. Les légumineuses les plus répandus dans le Maghreb

Le bassin méditerranéen est l'arc de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales particulièrement celles d'intérêt fourrager et/ou pastoral. Plus de 500 espèces pastorales en sont originaires (**Talamucci et Chaulet, 1989**) dont les genres *Trifolium*, *Medicago*, *Vicia*, *Astragalus*, *Lathyrus*, *Ononis*, *Avena*, *Eragrostis*, *Hordeum*, *Dactylis*, *Phalaris*, *Lolium*, *Bromas*, *Stipa* sont considérablement représentés. Le degré d'endémisme de la flore du bassin méditerranéen est très haut sur 976 espèces dépendant à 18 genres de Fabacées fourragères et/ou pastorales, 336 espèces sont endémiques à la région méditerranéenne. Au Maroc, sur les 550 espèces endémiques, la famille des Fabacées est selon les plus riches en espèces endémiques (environ 63 espèces) (**M'hirit et Maghnouj, 1997**). En Algérie, l'endémisme est essentiel chez les Fabacées et les Poacées. Plusieurs espèces sont spontanées ou endémiques des régions arides et salées, dont les nombreuses espèces de *Medicago* annuelles, de *Lotus*, de *Retama*, de *Scorpiurus*, d'*Astragalus* et des arbres *Acacia*. En Tunisie, les légumineuses composent la deuxième famille après les composées par ordre d'importance du nombre de taxons. Leur rôle est dans toutes les opérations de développement et encore de restauration et de réhabilitation la plupart des légumineuses sont annuelles, nombreuses dans les zones semi-arides à humide et diminue dans les zones arides avec uniquement 33% sont des taxons pérennes (**Le Floch et Grassmann, 1998**). Les *Medicago* prennent une place importante dans la flore tunisienne avec des cultivars locaux d'une valeur agronomique authentifiée et qui se développent vigoureusement dans les zones arides et semi-arides.

1.2. Classification des légumineuses :

D'après (Quezel et Santa, 1962) la taxonomie des légumineuses est classée comme suit :

- **Domaine** : *Eucaryote*.
- **Phylum** : *Plantae*.
- **Sous règne des végétaux** (phanérogame).
- **Embranchement** : *Spermaphytes* (plantes à graines).
- **Sous embranchement** : *Angiospermes*.
- **Classe** : *Dicotylédones*.
- **Sous classe** : *Rosida*
- **Ordre** : *Fabales*.
- **Super famille** : *leguminosae (Fabaceae)*.

Les légumineuses sont capables de faire des associations symbiotiques avec les rhizobia (Sprent et al, 1987). Les *Fabaceae* sont repartis en trois sous-famille en se basant sur la forme florale de ces dernière, *Papilionoideae*, *Mimosoideae* et *Caesalpinoideae* (Guiranard et Dupont, 2005)

a. *Papilionoideae*

C'est la sous famille des fabacées la plus nombreuse avec environ 500 genres et 12000 espèces. Ce sont particulièrement des plantes herbacées mais comprend aussi des arbres et arbustes. C'est chez les Papilionacées que l'on retrouve la plupart des légumineuses d'intérêt économique de même dans l'alimentation humaine (fèves, haricot, petit pois, etc...) que dans l'alimentation animale (Terefework et al ; 2000), exemple : (trèfle, lupin,...etc.) que l'on rencontre généralement dans les régions tempérées. La sous famille des Papilionacées enferme environ 30 tribus dont la tribu des *Genisteeae* et cette dernière comporte un bon nombre de genre comme *Retama*.

b. Mimosoideae

Elles sont distingués par leurs petites fleurs régulières (actinomorphe) entassées, couramment en épis ou de têtes qui ressemblent à une pom-pom (**White, 2010**), sous forme surtout d'arbres ou arbustes, parfois des herbes, certains ont de la résine. Elles se retrouvent dans les régions tropicales, subtropicales à climat chaud. *Mimosoideae* constitue environ 60 genres et 3200 espèces, d'autres sont cultivées pour la production des tannins (extrait de l'écorce) qui est utilisé dans le traitement des cuirs. Approximativement 10% des espèces ont été auparavant examinées et la majorité ont des nodules (**Benouaret et al ; 2014**).

c. Caesalpinpoideae

Presque 150 genres et 2200 espèces, sont essentiellement des arbres ou arbustes retrouvés en régions tropicales ou subtropicales. 23% purement des espèces en celles examinées, sont connues pour être nodulées par les rhizobia. Ces espèces nodulées se retrouvent majoritairement dans les tribus des Caesalpinieés et *Cassieae* ; les tribus *Cercideae* et *Amherstieae* étant très peu nodulées (**Maxted et Bennett, 2001a**).

Tableau II : classification des légumineuses selon (**Judd et al ; 2002**).

	Mimosacées	Césalpinieacées	Papilionacées
Genres /Espèces	150/2700	40/2500	429/12615
Principaux genres	<i>Acacia, Albizia,</i> <i>Calliondra, Inga,</i> <i>Leucaena,</i> <i>Mimosa,</i> <i>Parkia,</i> <i>Pithocellibium</i>	<i>Bouhinia, Caesalpinia,</i> <i>Cussia, Chamaecrista,</i> <i>Cercis, Delomia,</i> <i>Cledistia,</i> <i>Parkinsomia,</i> <i>Sonna, Tamaraindus</i>	<i>Arachis, Astragalus, Baptisia,</i> <i>Crotalaria, Desmodium,</i> <i>Glycine, Indigofera, Lupinus,</i> <i>Melilotus, Phaseolus, Pisum,</i> <i>Vicia, Robinia, Tephrosia,</i> <i>Trifolium, Wistria</i>

1.3. Intérêt des légumineuses

Les légumineuses sont une source d'engrais vert. Elles participent naturellement à enrichir le sol en azote. En général, le trèfle fixe entre 50 et 100 Kg d'azote par hectare/an. Le soja et le lupin, portent au sol entre 300 et 500 Kg d'azote par hectare/an (**Frontier et al ; 2004**). Certaines légumineuses sont utilisées en phytoremédiation, pour le piégeage et la dégradation de contaminants du sol, comme : les métaux lourds (**Afzal et al, 2014**).

En termes d'importance économique, de nombreuses espèces de légumineuses de la famille *Césalpiniciacées* et de *Mimosacées* sont comptées comme une source de fourrage et de bois à usage domestique (**Zaidi et Kaved, 2017**). Elles sont aussi source d'engrais vert et font un grand nombre de composés comme des médicaments, des teintures, parfums et des substances antimicrobiennes (**Iskounen, 2012**).

Leur intérêt agronomique résulte primitivement de leur capacité à la fixation symbiotique de l'azote (**Journet et al ; 2001**). Elles ne exigent aucune fertilisation azotée et contribuent à enrichir le sol en azote ce qui consent de diminuer les couts de production et de réduire les pertes dues à l'érosion (**Cavallès, 2009**).

L'intérêt alimentaire est apparent : cette famille représente le 2ème rang mondial (derrière les céréales). On peut mentionner le soja, les lentilles, les haricots...ect. Les graines des légumineuses renferment généralement 20 à 30% de protéines et sont essentiellement riche en lysine, un acide aminé essentiel pour la croissance (**Djebali, 2008**).

Les légumineuses fourragères sont importantes pour leur partie aérienne riche en protéines et sont principalement destinées à l'alimentation animale (**Duc et al, 2010**) duquel on trouve certains genres comme: *Medicago* (la luzerne), *Mililotus* (le melilot), *Trifolium* (trèfle) et *Vicia* (vesce).

1.4. Importance des légumineuses dans le bassin méditerranéen

Les plantes de la famille des légumineuses sont un élément majeur de tous les habitats du bassin méditerranéen. Réellement, c'est dans cette région que l'on retrouve l'immense concentration en nombre d'espèces de légumineuses (**Maxted et Bennett, 2001a**). De par le nombre de genres et d'espèces, la région méditerranéenne est apprécié comme le centre de diversité pour les espèces de légumineuses (**Quezel et Santa, 1962 ; Small et Jomphe 1989 ;**

Maxted et Bennett, 2001a), spécialement pour les espèces d'intérêt fourrage et/ou pastorale (**Abdelguerfi et al ; 2000**). En Algérie, les légumineuses alimentaires les plus connues sont le pois chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*), la fève (*Vicia faba*), le haricot sec (*Phaseolus vulgaris*), et la gesse (*Lathyrus sativus*) (**Abdeguerfi et Laouar, 1999**). Selon les fabacées d'intérêt fourrager et/ou pastorale, les genres les plus essentielles sont *Medicago*, *Hydysarum*, *Trifolium*, *Onobrychis*, *Astragalus* et *Lotus* (**Abdeguerfi, 1994**).

2. Genisteeae

La tribu de *Genisteeae* (Adnas) définis par (**Polhill, 1976**) et réorganisés par (**Bisby, 1981**), exprime une tribu diversifiée de 20 genres et environ 450 espèces.

Les *Genisteeae* sont pour la majorité des arbustes qui sont distribués particulièrement en méditerranée. Elles sont écologiquement très importantes, pas uniquement pour la grande diversité des espèces, mais également par la colonisation des forêts dégradés et les zones déboisées qui enjoignent de nombreuses communautés végétales (**Polhill, 1981 ; Ainouche et al, 2003**).

(**Quezel et Santa, 1962**) ont décrit plusieurs genres appartenant à cette tribu comme :

- Genre *Retama*
- Genre *Cytisus*
- Genre *Calicotome*
- Genre *Genista*
- Genre *Spartium*

2.1. Genre *Retama*

a. Descriptions générales de Genre *Retama*

Au Maghreb, *Retama* est appelé Rtèmè (**Quezel et Santa, 1962**). *Retama* est un arbuste ou arbrisseau d'un à quatre mètres, supportant de longs rameaux «joncailles» dépourvus ou avec à peine de feuilles dans le but de s'adapter au milieu désertique où l'eau est rare (**Shalaby, 1972**).

En Algérie, le genre *Retama* existe avec ses trois espèces ce sont : *R.sphaerocarpa* (L) Boiss, *R. reatam* Webb, et *R.monosperma* (L) Boiss (**Quezel et Santa, 1962**).

Retama sphaerocarpa

C'est un arbrisseau de la 2 mètres (figure 3), à rameaux pubescents peu dressés, marquant par de petites fleurs jaunes, des feuilles très petites, et des gousses globuleuses, jaunes bruns (Quezel et Santa, 1962).



Figure 3 : *Retama sphaerocarpa* (Boulila, 2009).

Retama monosperma

C'est un arbuste de 2 à 4 mètres de hauteur poussant sur des dunes littorales (figure 4), à fleurs blanches et fruits de type gousse coltinant une seule graine de couleur vert olive (Quezel et Santa, 1962).



Figure 4 : *Retama monosperma* (Boulila, 2009).

Retama raetam

C'est un arbuste saharien de 1 à 3,5 mètres de hauteur (figure 5), à fleurs blanches et gousses non dilatée sur sa nature ventrale et comportant une petite graine (**Quezel et Santa, 1962**).



Figure 5 : *Retama raetam* (Boulila, 2009).

b. Distribution géographique

Les légumineuses du genre *Retama* sont trouvées dans les régions méditerranéennes du nord de l'Afrique, du sud de l'Espagne et du Portugal.

En Algérie, ces plantes repoussent sur de large étendues allant des dunes de sable du littorale humide à celles des zones sèches et arides (**Boulila et al, .2009**).

(**Benmiloud et al, .2011**) ont formé une carte de la répartition des espèces de *Retama* en Algérie (Figure 6). De fait, d'après ces auteurs :

→ *Retama monosperma* occupe de vastes étendues sur le littorale oranais, algérois, et le long du littorale de la région de Jijel.

→ *Retama raetam* est situé à : Ain-Sefra, Touggourt, Ouargla, sud du Djelfa, l'est de Biskra, le sud oranais, et Bejaia.

→ *Retama sphaerocarpa* se repère à : Bejaia, Bouira, Ain-Sefra, Ghardaïa, Djebel Amour et les plaines de Batna.

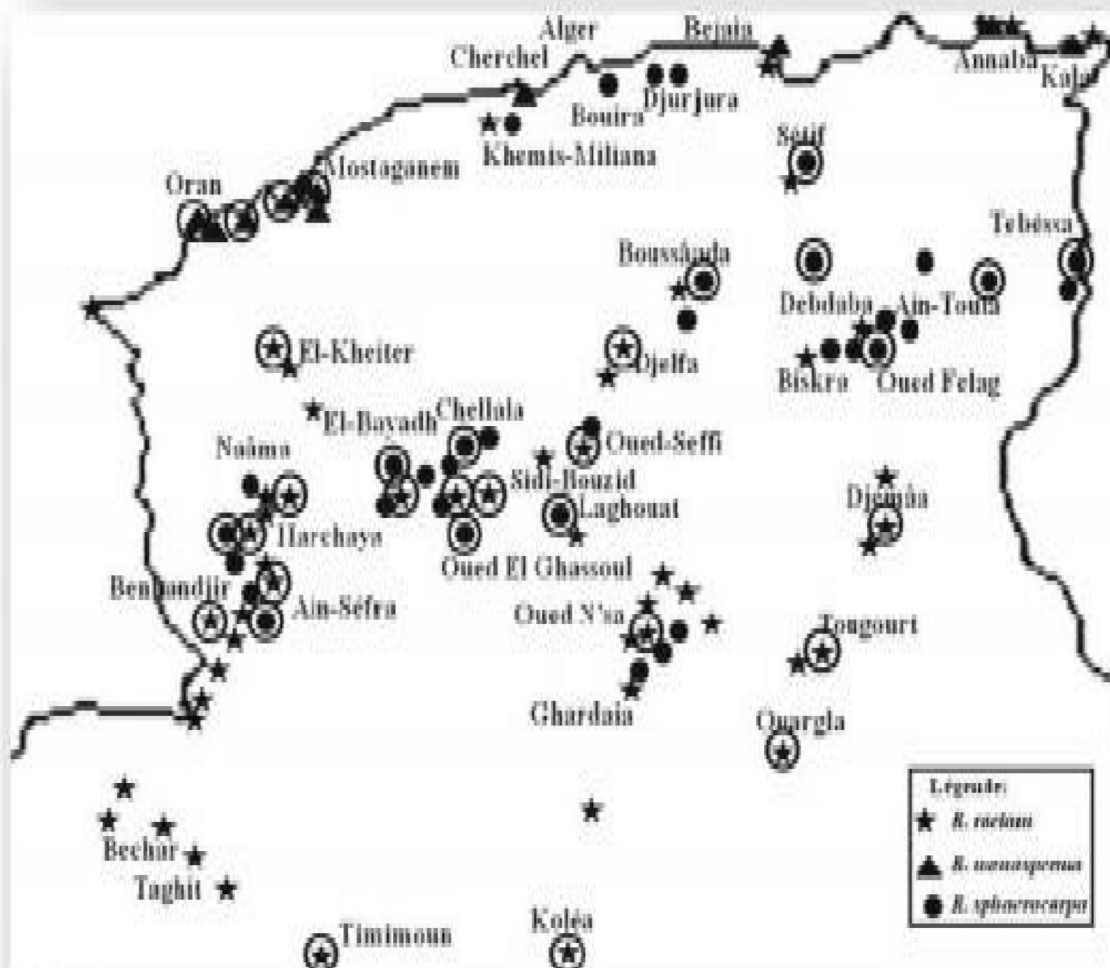


Figure 6 : répartition des espèces de *Retama* en Algérie (Benmiloud et al, 2011).

Tableau III : Systématique de *Retama* (Quezel et Santa, 1962).

Règne	Eucaryote
Sous règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Ordre	Fabales
Famille	<i>Leguminoeseae</i>
Sous famille	<i>Papillonoideae</i>
Genre	<i>Retama</i>
Espèces	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i> <i>R. spherocarpa</i>

c. Intérêt du genre *Retama*

Retama a été inventorié comme étant plante médicinale des régions arides. En médecine traditionnelle, elle est utilisée dans traitement de diverses maladies comme l'eczéma, pour les soins en cas de morsures de serpents. Ce pouvoir pharmacologique des rétames est imputable à la présence de certains Alcaloïdes. (El Hamrouni, 2001).

Les *Retama* sont considérés comme un très bon fourrage, en outre, leur bois est utilisé en chauffage. Ils sont riches en fibre, dont la longueur moyenne atteint 1,93 mm (Bahi, 1991), ils pourraient donc être valorisés dans l'industrie papetière. Ils sont également des plantes ornementales en raison de leurs multiples fleurs odorantes.

Ces plantes s'acclimatent aux conditions environnementales difficiles dans les zones arides et semi-arides. En effet, ces légumineuses spontanées renferment un système racinaire qui leur permet de s'adapter aux conditions les plus extrêmes comme la salinité, la sécheresse sévère et les hautes températures (Caravaca, 2003).

2.2. Genre *Cytisus*

a. Description du genre *Cytisus*

Les légumineuses du genre *Cytisus*, sont des arbustes ou arbrisseaux dressés de 4 à 5 pieds de hauteur, épineux ou non à floraison abondante avec des feuilles alternes. Les stipules sont réduites ou nulles. Les fleurs sont agencés en tête et sont habituellement jaunes ou blanches, D'après (Quezel et Santa, 1962), on reconnaît à ce genre six espèces : *C.purgans*, *C.linofolius*, *C.fontanesii*, *C.monspessulanus*, *C.arboreuset*, *C.villosus*.

Cytisus villosus

C'est un arbrisseau de 1 à 1,5 m dressé, robuste, à rameaux prolongés (figure 7). Les jeunes rameaux sont défendu de poils ; feuilles pétiolées. Les fleurs sont jaunes. Les gousses de 25-30 mm (Quezel et Santa, 1962).



Figure 7 : *cytisis villosus* (Ahnia, 2015).

Cytisus triflorus

C'est un arbrisseau de 1 à 1,5 m dressé, puissant, à rameaux allongés. Les jeunes rameaux sont défendu de poils, feuilles pétiolées, fleurs latérales en grappes feuillées sur les âgés rameaux ; pédicelles égalent à peu près le calice ; calice à poils étalé dressé, allongé, cylindrique, gousse de 25-30 mm, noires très velues-soyeuses (<http://www.tela-botanica.org>).

b. Intérêt du genre *Cytisus*

Certains travaux ont montré que les plantes du genre *Cytisus* sont très intéressantes comme plantes médicinales. En plus de son rôle dans la fertilisation des sols. De fait, elles sont utilisées pour cicatriser et calmer les brûlures, en ne laissant quasiment aucune cicatrice et même celles du troisième degré. En usage externe, le jus extrait de ces feuilles traite les blessures et les plaies, pour cela, il suffisait de mettre ce jus directement sur la zone blessée (Toubal et Belkebir, 2016).

2.3. Genre *Calicotome*

Il est habituellement appelé le genêt épineux, ou Azezzu ou Gendoul. Le genre *Calicotome* (figure 8) appartient aussi à la tribu des *Genisteae*, consistent principalement quatre espèces à savoir : *Calicotome infesta*, *Calicotome intermedia*, *Calicotome spinosa* et *Calicotome villosa* (Quezel et Santa, 1962).



Figure 8 : *Calicotome spinosa* (Salmi, 2019).

a. Description du genre *Calicotome*

Les plantes du genre *Calicotome* sont exposées sous forme d'arbustes, épineux, atteignent de 1 à 2 mètres de hauteur. Certainement, les ruminants évitent ces plantes à cause de leurs épines (Mokhtari, 2012). Ces plantes sont énormément inflammables et contribuent à la diffusion d'incendies. *Calicotome* possède des feuilles trifoliées et les fleurs de couleur jaune (Danerdji et Djedid, 2012).

b. Intérêt du genre *Calicotome*

Les plantes du genre *Calicotome* sont apte, grâce aux nodules racinaires et de la symbiose avec bactéries du sol de fixer l'azote atmosphérique et de doter le sol en produits azotés (Mokhtari, 2012).

2.4. Genre *Genista*

Le genre *Genista* été nommé pour la première fois par LINNE en 1753. Ce genre comporte plus de 120 espèces. Il représente le deuxième grand genre dans de la tribu des *Geniteae*. Ils sont très répons en Algérie où **Quezel et Santa, 1962** ont inventorié 23 espèces dont 11 sont endémiques. Parmi ces espèces : *Genista ferox* (figure 9), *Genista numidica*, *Genista tricuspidata*. (Maire, 1987).

Le genre *Genista* très réponde dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc) en Turquie, Russie et en Caucase. En Algérie, ils poussent dans la région du sud et au grand Sahara (**Quezel et Santa, 1963**). Donc il est circumméditerranéen, il est composé d'arbustes épineux et non épineux, la majorité de ces espèces constituent des maquis sclérophylles (**Martins et al, 2005**).

a. Morphologie du genre *Genista*

Le calice est presque nu, caduc

complet ou en partie sur la gousse, se coupant circulairement à un niveau supérieur de la base ; celle-ci longue de 3-6 cm. Les folioles sont ovales larges de 3-6 mm (**Quezel et Santa, 1962**). L'arbuste mesure entre 1 à 3 m de couleur vert gai (figure 9). Les vieux rameaux sont changés en colossal épines très mortifiantes. Les feuilles sont stipulées, à stipules transformées en petits pistils (**Aloui et Rezki, 2012**).



Figure 9 : *Genisteae ferox* (Quezel et Santa, 1962).

b. Taxonomie du genre *Genista*

Tableau IV : taxonomie de *Genista* (Crété, 1965).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	<i>Végétal</i>
Sous règne	<i>Trachéobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Phylum (Division)	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Dicotyledones (Magnoliopsidia)</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Super famille	<i>leguminusae</i>
Sous famille	<i>papilionadeae</i>
Tribu	<i>Genisteae</i>
Genre	<i>Genista</i>

c. Intérêt du Genre *Genista*

Le genre *Genista* a fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques mettant en évidence des différentes activités. La plupart d'entre elles concernent principalement des effets anti-glycémiant, anti inflammatoire, anti-ulcère, spasmolytique, antioxydant et anti-prolifératifs (anti-tumoral, apoptotique, cytotoxique) (**Rauter et al, 2009**). Certaines espèces du genre *Genista* sont appliquées en médecine traditionnelle sous forme d'infusion des parties aériennes (**Rauter et al, 2009**). De plus, *Genista anglica* et *Genista germanica* sont recommandées en tant que diurétiques pour le traitement en néphrolithiase ou également contre la goutte et pour traiter le diabète (**Adams, 2009 ; Guarrera et Leporatti, 2007**).

2.5. Genre *Spartium*

Le genre *Spartium* (figure 10) est parmi des arbustes perpétuels originaires de la région méditerranéenne, du sud de l'Europe, l'Afrique du nord-ouest. *Spartium junceum* est la seule espèce du genre *Spartium* de 1 à 3 mètres. Cet arbuste est non épineux, dressé à rameaux effilés cylindriques. Il forme de grandes fleurs odorantes de couleur jaune entre mai et juillet (**Covacevie et al, 2010**). Les gousses sont de taille entre 6 à 8 cm sur 7 mm linéaire approximativement glabre, noir à la maturité accueillant 12 à 18 graines (**Quezel et Santa, 1962**).



Figure 10 : *Spartium junceum* (**Boulila, 2009**).

a. Intérêt du Genre *Spartium*

Spartium junceum est considéré selon les plantes pionniers les plus prospères à cause de leur aptitude à coloniser rapidement les zones sèches dégradées, cette légumineuse est communément utilisée pour réparer les écosystèmes perturbés (**Valladare et al, 2002**). Ceci en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique via des bactéries symbiotiques appelées rhizobia. Ce processus biologique autorise un apport essentiel en azote atmosphérique dans les écosystèmes. Il a été démontré par (**Prete et Griadrossich, 2009**) que *Spartium junceum* possède des caractéristiques xérophytes qui fournissent une adaptation et une endurance à la sécheresse et aux environnements défavorables. Il est également utilisé pour le conflit contre l'érosion et la déshydratation (**Castro et al, 2004 ; Bautista et al, 2007**). *Spartium junceum* a été utilisé dans la production des parfums et des colorants à partir des fleurs, des bourriches et des produits tissages à partir des tiges (**Kovacevic et al, 2012**).

Chapitre III : Rhizobia

1. Rhizobia

Selon **Damergue (2006)**, **Woronin (1866)** était le premier qui avait observé des microorganismes semblables à des bactéries dans les nodules de légumineuses. En 1879 Franck un microbiologiste allemand indiqua que ces microorganismes étaient des champignons en leurs affectant le nom de *Schinzia leguminosarum*. En 1889, il renomma la bactérie identifiée *Rhizobium leguminosarum*, ainsi toutes les bactéries qui seront ultérieurement isolées des nodules des légumineuses porteront le nom de *Rhizobium* (Noel, 2009).

D'après **O'Hara et al, 2003**, les rhizobiums sont généralement défini comme des bactéries du sol ayant le potentiel d'induire la formation de nodules chez les légumineuses (figure 11). Ces bactéries symbiotiques échangent des signaux moléculaires avec la plante hôte qui lui confère les sucres et son partenaire bactérien aboutissant à la formation de nodosités dont lesquelles il fixe l'azote atmosphérique (**Yaw Boakey et al, 2016**).



Figure 11 : photo indiquant les nodules de *Genista* sp vue à la loupe
(**Boudehouche, 2021**)

2. Caractérisation des rhizobiums

La caractérisation des rhizobium a fait l'objet de nombreuses études (**Jordan, 1984 ; Zahran, 1999, Tighe et al. 2000, Ahnia et al, 2018**). Les premières recherches étaient focalisées sur la caractérisation phénotypique à savoir la caractérisation morphologique, biochimique, physiologique...etc.). Par la suite, la modernisation et l'avancée de la technologie en biologie

moléculaire et la bio-informatique a permis de la caractérisation génotypique et phylogénétique des rhizobia (**Boulila, 2009**).

2.1. Caractérisation morphologique et cellulaire

En 1984 Jordan, avait indiqué que les rhizobiums possèdent une forme de bâtonnets de 0,6 à 0,9 μm de largeur et 1,2 à 3 μm de longueur. Ils sont à Gram négatif (figure 12) strictement aérobies et non sporulant (**Laranjo et al. 2002**). Selon Werner (1992), ces bactéries sont mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou parfois 2 à 6 flagelles péritriches.

Somasegaran et Hoben (1994) ont rapporté que les rhizobiums se trouvent sous deux formes :

- une forme végétative : ce sont des bactéries régulières que l'on trouve dans la rhizosphère.
- une forme bactéroïde : ce sont des individus irréguliers et ont une taille 10 fois plus grande que ceux de la forme végétative.

De point de vue cultural, les souches de rhizobia à croissance rapide (48h) cultivées dans des boîtes Pétri contenant le mannitol et l'agar (YMA) produisent des colonies rondes, blanches et de taille 1 à 5 mm à une température de 28°C. Alors que les colonies des rhizobia à croissance lente ne sont détectables qu'après 5 jours d'incubation et leur taille n'excédant pas 1 mm de diamètre (**Benhmed, 2010**).



Figure 12 : rhizobium bactérie à Gram négatif
(**Boudehouche 2021**)

2.2. Caractérisation biochimique

Les caractères biochimiques des rhizobia sont étudiés à travers la recherche de différents enzymes tel que l'uréase, la nitrate réductase et l'indole-phénol oxydase et d'autres enzymes impliqués dans les voies métaboliques d'assimilation des substances carbonées (**El-Hilali, 2006**).

Les rhizobia à croissance rapide présentent un spectre d'assimilation très large vis-à-vis des substrats carbonés par rapport aux rhizobia à croissance lente (**Graham, 1963**). Cependant la majorité des souches à croissance lente préfèrent le pentose. Les rhizobia n'assimilent pas l'azote en dehors de la plante hôte et ont besoin d'une source d'azote ammoniacal ou aminé, Pour leurs développements à l'état libre (**Pelmonte, 1995**).

2.3. Caractérisation physiologique

Les caractères physiologiques des rhizobia ont été évalués par le taux de croissance sous l'effet des différents paramètres tels que : la variation de température, du pH et variation en sels notamment le NaCl. Mais aussi, sous l'effet des métaux lourds et aux antibiotiques (**Burton, 1985**). Selon ce même auteur, la croissance des rhizobia est optimale à une température égale à 28 C° et à un pH entre 6 et 7. Cependant, certaines souches comme *Bradyrhizobium japonicum* peuvent tolérer des milieux acides (pH=4).

2.4. Caractérisation génétique

La génétique du rhizobium est présentée par un grand nombre de gènes impliqués dans la symbiose à savoir les gènes de nodulation *nod*, les gènes d'infection *nif* et les gènes de fixation *fix* (**Gharzouli, 2006**). La taille des génomes rhizobiens connus varie de 5,4 à 9,2 Mb et nombre de plasmides varie entre 0 et 7 (**Laranjo et al, 2014**).

3. Taxonomie du rhizobium

D'après **Somasegaran et Hoben (1994)**, on distingue trois groupes de rhizobia en fonction de temps de croissance :

- Rhizobia à croissance rapide qui produit une turbidité dans le milieu de culture liquide en 2 à 3 jours.

- Rhizobia à croissance moyenne (*Mesorhizobium*) produisant une turbidité dans le milieu de culture liquide dans 3-4 jours.
- Rhizobia à croissance lente (*Bradyrhizobium*) qui produit un trouble dans le milieu de culture liquide dans 4-5 jours voire plus.

Les rhizobia appartiennent tous au sous classe *alpha et bêta Proteobacteria*. Ils comportent 13 genres et environ 300 espèces (<https://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia>). La plupart des espèces se trouvent dans la sous classe α protéobactéries dans le genre de *Rhizobium*, *Mesorhizobium* et *Bradyrhizobium* (Zakhia et al, 2001). La sous classe β *Proteobacteria* comportent certains genres comme *Shigella*, *cupriavidus*, *herbaspirillum*. Cette classification est loin d'être définitive d'après (Weir, 2016), elle est changeante, en évolution et chaque jour de nouvelles espèces sont identifiées.

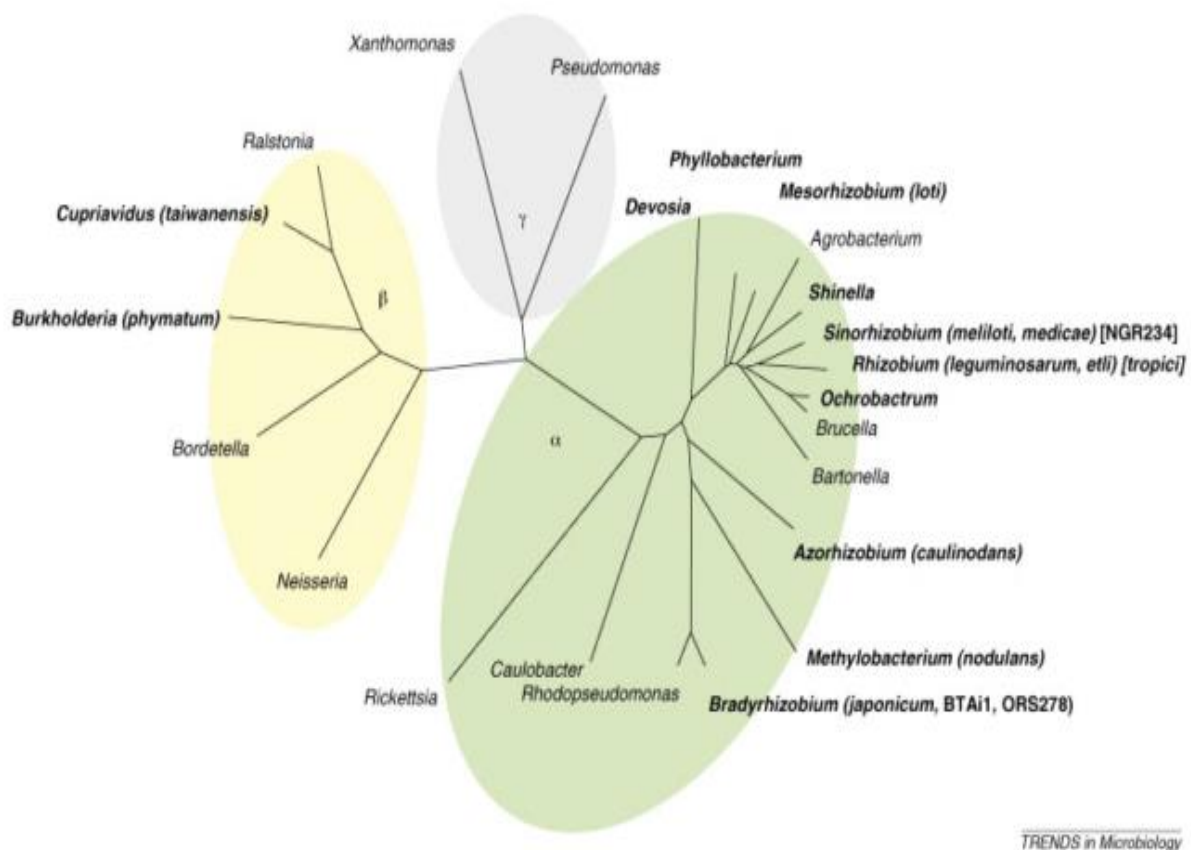


Figure 13 : Arbre phylogénétique de l'ADNr 16S d' α , β et γ -protéobactéries. Les genres indiqués en gras comprennent des rhizobiums (Masson-Boivin et al, 2009).

4. Caractérisation des rhizobia isolés quelques genres de légumineuses appartenant à la tribu *Genisteeae* d'Algérie

Dans cette partie, nous nous intéressons aux les travaux de recherche effectués sur la caractérisation des rhizobia nodulant plusieurs genres de légumineuses d'Algérie appartenant à la tribu de *Genisteeae* à savoir *Retama*, *Cytisus*, *Lupinus*, *Calicotome spinosa*, *Genista* et *Spartium*.

4.1. Bactéries nodulant le genre *Retama*

L'étude réalisée par **Boulila et al, (2009)** a indiqué que les légumineuses arbustes spontanés en occurrence *Retama raetam* et *Retama sphaerocarpa* du Nord-Est d'Algérie sont nodulés par des rhizobiums à croissance lente. Ces mêmes auteurs ont montré que l'analyse phénotypique a suggéré l'appartenance de ces souches au genre *Bradyrhizobium*. Par la suite le séquençage et l'analyse génotypique et phylogénétique de l'ADNr 16S, des gènes de ménages, du *nodC*, du *nifH* ont confirmé leur appartenance au genre *Bradyrhizobium* en précisant que ces souches forment un groupe monophylétique différents de toutes les espèces décrites dans ce genre. Ce groupe est divisé en sous sous-groupe qui pourraient être décrit comme 3 nouvelles espèces.

Plusieurs années après, les recherches de cette équipe ont pu aboutir à la description d'une nouvelle espèce parmi les 3 éventualités citées plus haut. Cette nouvelle espèce (Figure 14) a été nommée *Bradyrhizobium algeriense* (**Ahnia et al, 2018**). Cette description s'est basée sur la caractérisation polyphasique (phénotypique, génotypique et phylogénétique), génomique et consensuelle. Cette nouvelle espèce a été acceptée et validé en 2019.

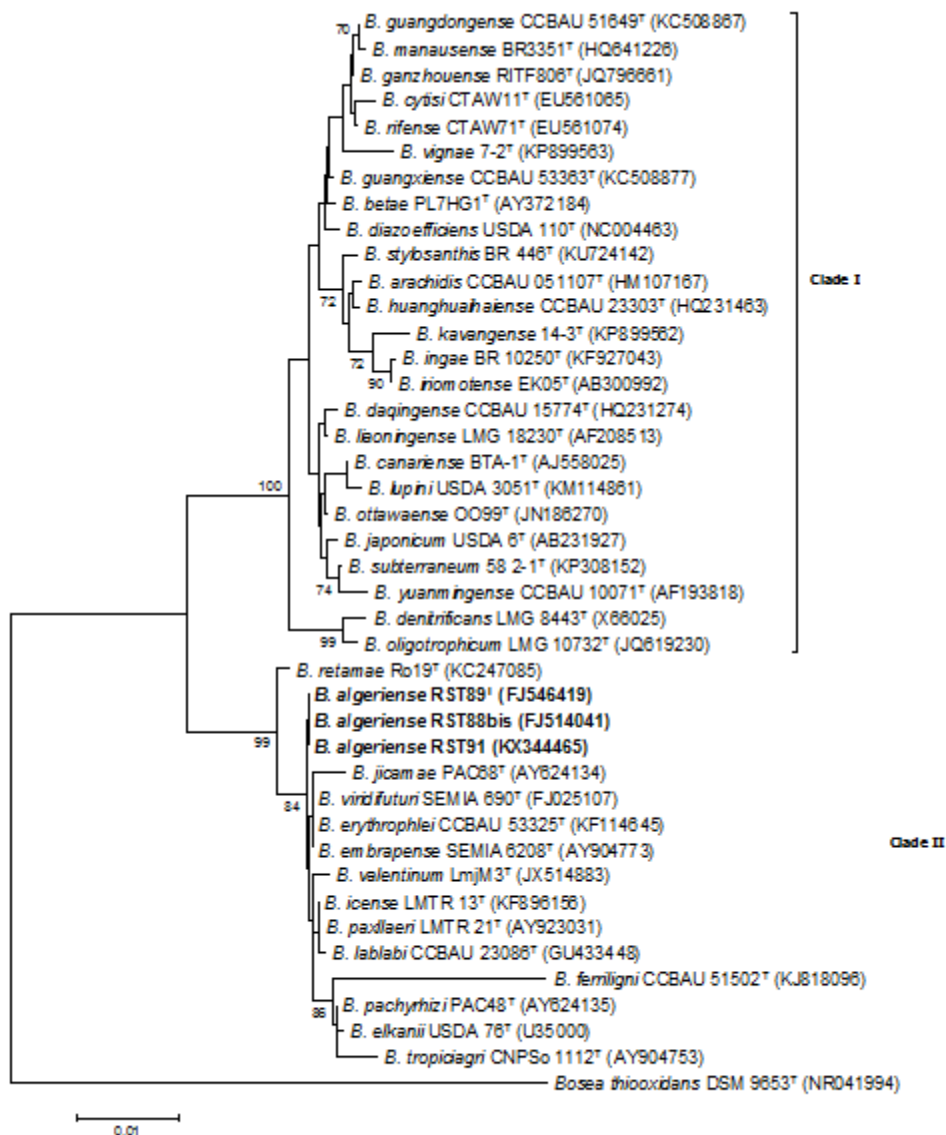


Figure 14 : Arbre phylogénétique basé sur les séquences d'ADNr 16S montrant la nouvelle espèce *Bradyrhizobium algeriense* (Ahnia, 2019).

5. Bactéries nodulant le genre *Cytisus*

D'importantes recherches ont été menées dans le labo d'écologie microbienne de l'université de Bejaia sur une collection de rhizobia isolés à partir des nodules racinaires de *Cytisus villosus*, collectés à Oued Dass et à Saket dans la région de Béjaia (Ahnia et al, 2014).

L'analyse des séquences d'ADNr 16S des isolats de *Cytisus villosus* montre leur appartenance au genre *Bradyrhizobium* (Ahnia et al, 2014).

Pour une taxonomie plus robuste, une analyse phylogénique basée sur les gènes de ménage (*glnII*, *recA*, *atpD*), des bradyrhizobiums étudiés, a été utilisée. Cette étude a montré qu'une diversité caractérise cette collection de souches *Bradyrhizobium* sp nodulant *Cytisus villosus*. En effet, 3 groupes différents de *Bradyrhizobium* sp caractérisent cette collection. Le premier groupe assigné à *Bradyrhizobium japonicum*. Le deuxième groupe appartient au *Bradyrhizobium canariense* tandis que le troisième groupe, représenté par les souches CTS8 and CTS5, est différent de toutes les espèces de *Bradyrhizobiums* connues. Ce groupe pourrait présenter probablement une nouvelle espèce dans le genre *Bradyrhizobium* (Ahnia et al, 2014).

6. Bactéries nodulant le genre *Lupinus*

Plusieurs recherches ont été réalisées par dans le labo d'écologie Microbienne de l'université de Bejaia, sur les rhizobia nodulant *Lupinus micranthus* d'Algérie. Les recherches ont montré que la population bactérienne endosymbiotique de *Lupinus micranthus* prospérant en Algérie était très diversifiée. En outre, le groupe représenté par la souche LmicA16 était très divergent de toutes les espèces décrites dans le genre *Bradyrhizobium*. En outre, l'étude moléculaire de la souche LmicA16 montre que son système de sécrétion de type VI est très intéressant pour la relation symbiotique avec la plante (Tighilt et al, 2021).

7. Bactéries nodulant le genre *Calicotome spinosa*

D'après les recherches réalisées par Salmi et al, (2018) du laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaia, 52 souches rhizobiennes ont été isolées à partir des nodules racinaires d'une légumineuse spontanée *Calicotome spinosa* du nord-est d'Algérie.

Le séquençage et l'analyse phylogénétique de l'ADN r 16S des isolats de *Calicotome spinosa* indique leur appartenance au genre *Bradyrhizobium*.

L'analyse des séquences des gènes *atpD*, *glnII* et *recA* indique que ces souches forment quatre groupes divergents (figure 15), un groupe proche des *Bradyrhizobium canariense* et *Bradyrhizobium lupini* et trois autres se distinguent de toutes les espèces décrites et qui pourrait présenter d'après Salmi et al, (2018) trois nouvelles espèces dans le genre *Bradyrhizobium*.

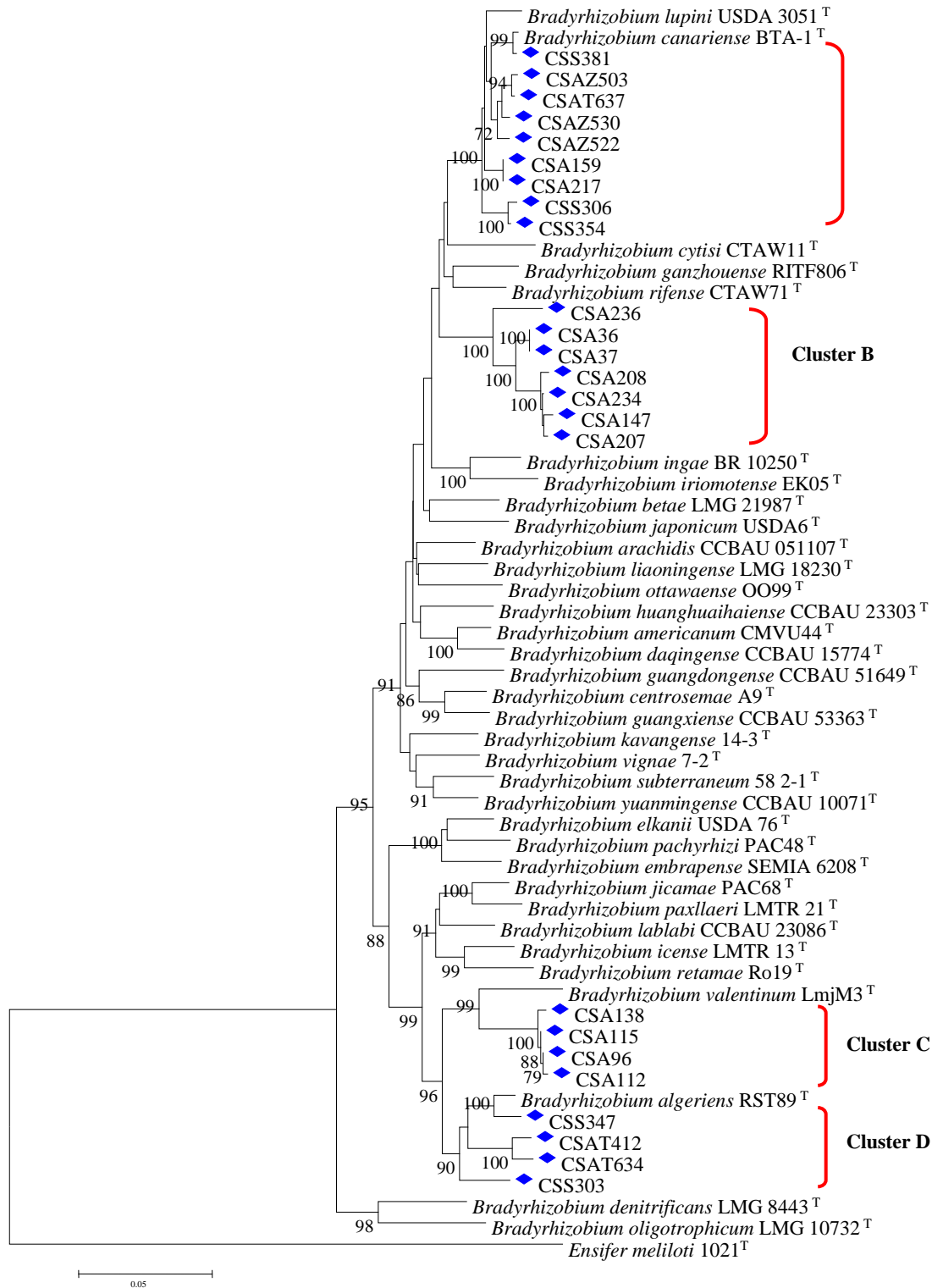


Figure 15 : Arbre Concaténé des gènes *atpD*, *glnII* et *recA* des souches de *Calicotome spinosa* (Salmi, 2018)

(Les isolats issus de *Calicotome spinosa* sont indiqués par le symbole diamant bleu).

8. Bactéries nodulant le genre *Genista*

Des recherches ont été menées par **Boudehouche et al, (2020)** dans le labo d'écologie microbienne de l'université de Bejaia, sur les rhizobia nodulant quelques espèces du genre *Genista* à savoir *Genista ferox*, *Genista numidica* et *Genista tricuspidata*.

Des séquences de l'ADNr 23S provenant des isolats de *Genista* étudiés ont indiqué une diversité très importante au niveau des trois populations. Ces auteurs ont montré que 96% des souches appartiennent au genre *Bradyrhizobium*. Tandis que le reste des souches sont très proche des genres : *Rhizobium* *Mesorhizobium*.

L'analyse de séquences des gènes de ménage ont indiqué que les symbiotes algériens *Bradyrhizobium* associés à *Genista* étaient très diversifiés. Ces souches ont été affinées avec les espèces suivantes : *B.canariense*, *B. japonicum*, *B. ottawaense*, *B. cytisi*, *B. rifense*, *B. valentinum*, *B. algeriense*.

Les résultats de **Boudehouche et al, (2020)** montrent également que les isolats de *Genista tricuspidata* été proche à *Bradyrhizobium canariense*, alors que la plupart des isolats de *Genista ferox* avaient des affinités avec *Bradyrhizobium algeriense*, ou *Badyrhizobium valentinum* et la majorité des isolats de *Genista numidica* étaient liés à *Bradyrhizobium diazoefficients* (figure 16).

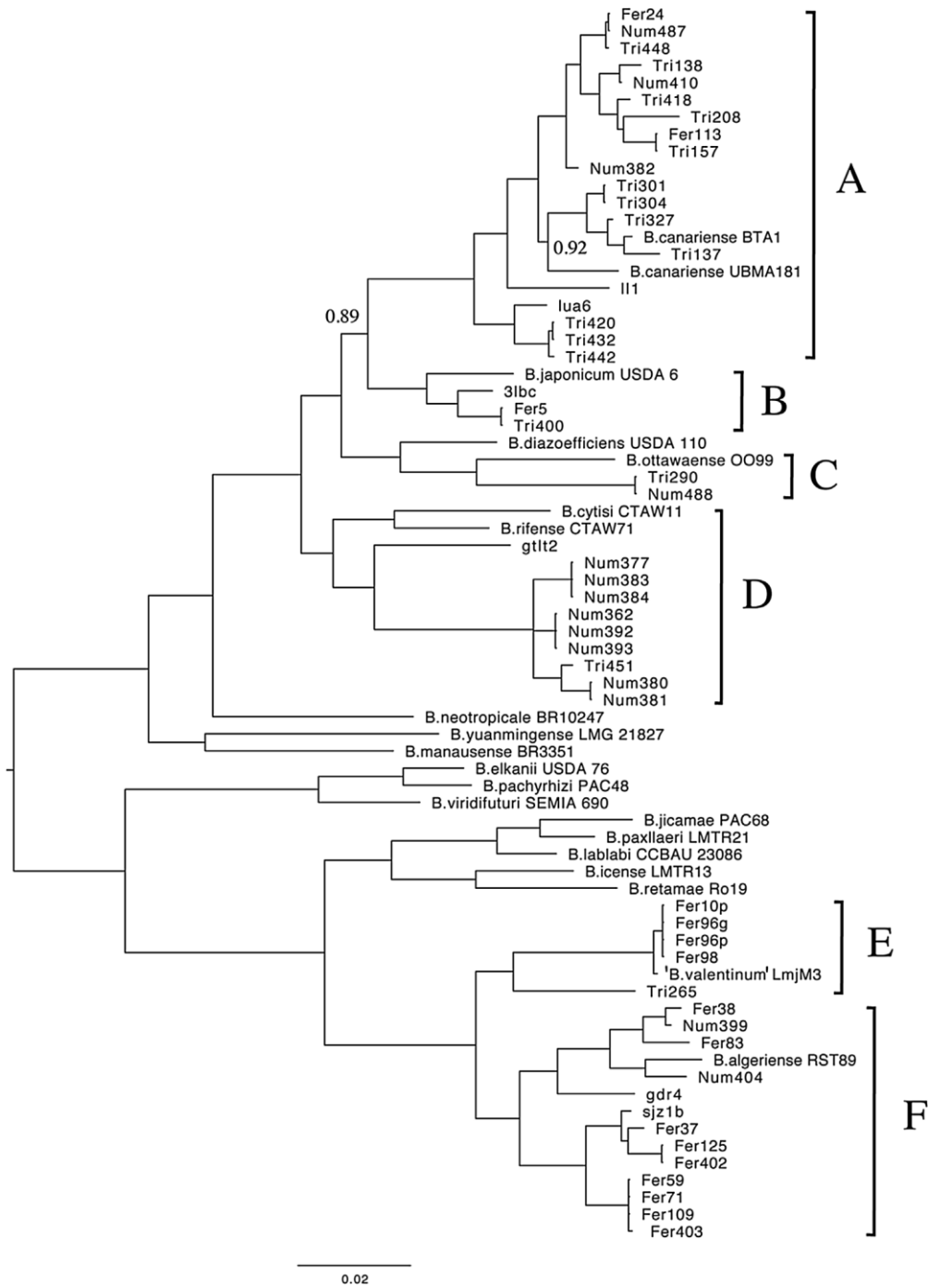


Figure 16 : Arbre phylogénétique base sur les gènes de ménage de *Bradyrhizobium* sp isolés de *Genista* (Boudehouche et al, 2020).

9. Bactéries qui nodules le genre *Spartium*

D'autres recherches ont été réalisées dans le labo d'écologie microbienne de l'université de Bejaia, par **(Ramdani et al, 2020)** sur une collection de 23 souches nodulant *Spartium junceum*. Ils ont été analysés en fonction de leurs efficacités symbiotique, de leurs propriétés phénotypique et du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction du gène ribosomique, des gènes ménagers codant pour la protéine *glnII* et *recA* du gène symbiotique *nodC*.

L'analyse MLSA des 12 génotypes représentatifs de PCR-RFLP de l'ADNr 16S a montré une affiliation avec des souches affiliées à *Bradyrhizobium retamae* et à *Bradyrhizobium japonicum*. Ces résultats indiquent que les souches de *Bradyrhizobium* nodulant *Spartium junceum*, provenant de la région de Bejaia sont génétiquement différents et très éloignées les unes des autres **(Ramdani et al, 2020)**.

Chapitre IV : Symbiose
Genisteeae-rhizobia

1. Symbiose rhizobia-légumineuses

La symbiose, du grec ancien symbiosis (sym : ensemble ; biosis : vivre) désigne l'ensemble des associations, plus ou moins fortes, s'établissant entre deux organismes différents vivant ensemble grâce à leur échanges. En biologie le terme «symbiose» signifie «vivre ensemble» et traduit une association entre deux ou plusieurs organismes appelés «symbiotes» (**Lefèvre et al, .2010**).

D'un point de vue étymologique le mot symbiose provient du grec sym (avec) et biose (vie) d'où sa définition : vie avec ou vie en commun (**Leffevre, 2004**).

La symbiose s'agit d'un véritable dialogue moléculaire permettant la reconnaissance entre deux partenaires (**Parniske et Downie, 2003**).

1.1. Spécificité de la symbiose

L'une des priorités majeures de la symbiose légumineuse-rhizobium est sa spécificité : un rhizobium donné n'est capable d'établir une symbiose fixatrice d'azote qu'avec un nombre limité d'espèces végétales, composant son spectre d'hôte. La symbiose rhisobia-légumineuse est le résultat d'une interaction hautement spécifique entre la plante et la bactérie. Ce dernier engendre la formation d'un organe spécialisé sur les racines qualifié de «nodule», à l'intérieur duquel la bactérie se différencie en bactéroïdes, résident en tant que symbiotes intracellulaire qui transforme l'azote atmosphérique en ammoniac, ce dernier peut être facilement assimilé par les plantes hôtes. En retour la plante fournis à la bactérie l'énergie et les nutriments nécessaires à son métabolisme et son développement (**Day et al. 2001**).

1.2. Intérêt de la symbiose rhizobia-légumineuses

La fixation de l'azote par association symbiotique entre les rhizobia et la grande famille des légumineuses apparait d'un intérêt stratégique renforcé tant pour sa capacité à fournir de l'azote à faible coût aux systèmes de culture que pour ses répercussion environnementales (**Germon, 2013**). La symbiose permet le maintien de la fertilisation du sol et la réduction d'incidences sur l'environnement dérivé par l'utilisation étendue des engrais industriels (**Hussain et al, .2010 ; Dwivedi et al, 2015**).

La symbiose rhizobia-légumineuses peut contribuer considérablement à l'accroissement de la productivité agricole, à l'économie d'engrais coûteux en devise et en énergie (**Neyra, 1997**).

Ainsi, qu'à la dépollution des sites contaminés par des déchets toxiques organiques et non organiques (métaux lourds) (Cindy *et al*, 2006).

2. Interactions symbiotiques rhizobia-légumineuses

L'interaction entre les légumineuses et les rhizobia induit la formation d'un organe spécialisé sur les racines qualifié de « nodule », au sein duquel les bactéries symbiotiques différenciées en bactéroïdes fixent l'azote atmosphérique.

2.1. Processus de nodulation

La nodulation est considérée en tant que la première caractéristique de l'association symbiotique. La formation des nodosités se fait en plusieurs étapes (figure 17) : le dialogue entre les deux partenaires symbiotiques basé sur un échange de molécules chimiques, l'infection, correspondant à l'entrée des bactéries libres dans la légumineuse, et le développement du nodule (Perry *et al*, 2004 ; Shimoda *et al*, 2012).

a. Pré échange du signal d'infection

Initialement, un échange de signaux moléculaires spécifiques se produit entre la plante et la bactérie. Les rhizobia sont attirés vers les poils racinaires par un ample de substances, principalement par les phénylpropanoïdes exsudés par la racine (Kape *et al* ; 1991).

b. Infection

L'infection comporte en la pénétration des rhizobiums en différents points du système racinaires (Hopkins, 2003). De la sorte, la pénétration est facilitée par les enzymes qui fragilisent la paroi, secrétées par le poil absorbant (Dupuy et Nougier, 2005 ; Estrada, 2016).

c. Développement du nodule

Le dernier stade du processus infectieux est atteint lorsque les bactéries sont déversées dans la cellule hôte (Hopkins *et al*, 2003). En conséquence, une série de divisions cellulaires se réalisent suivi d'une différenciation en cellules fixatrices d'azote reconnu sous le nom de « bactéroïdes ». Finalement, la croissance des nodosités se perpétue dans les régions infectées (Perry *et al*, 2004 ; Babararbi, 2016 ; Affati et Kerdouci, 2020).

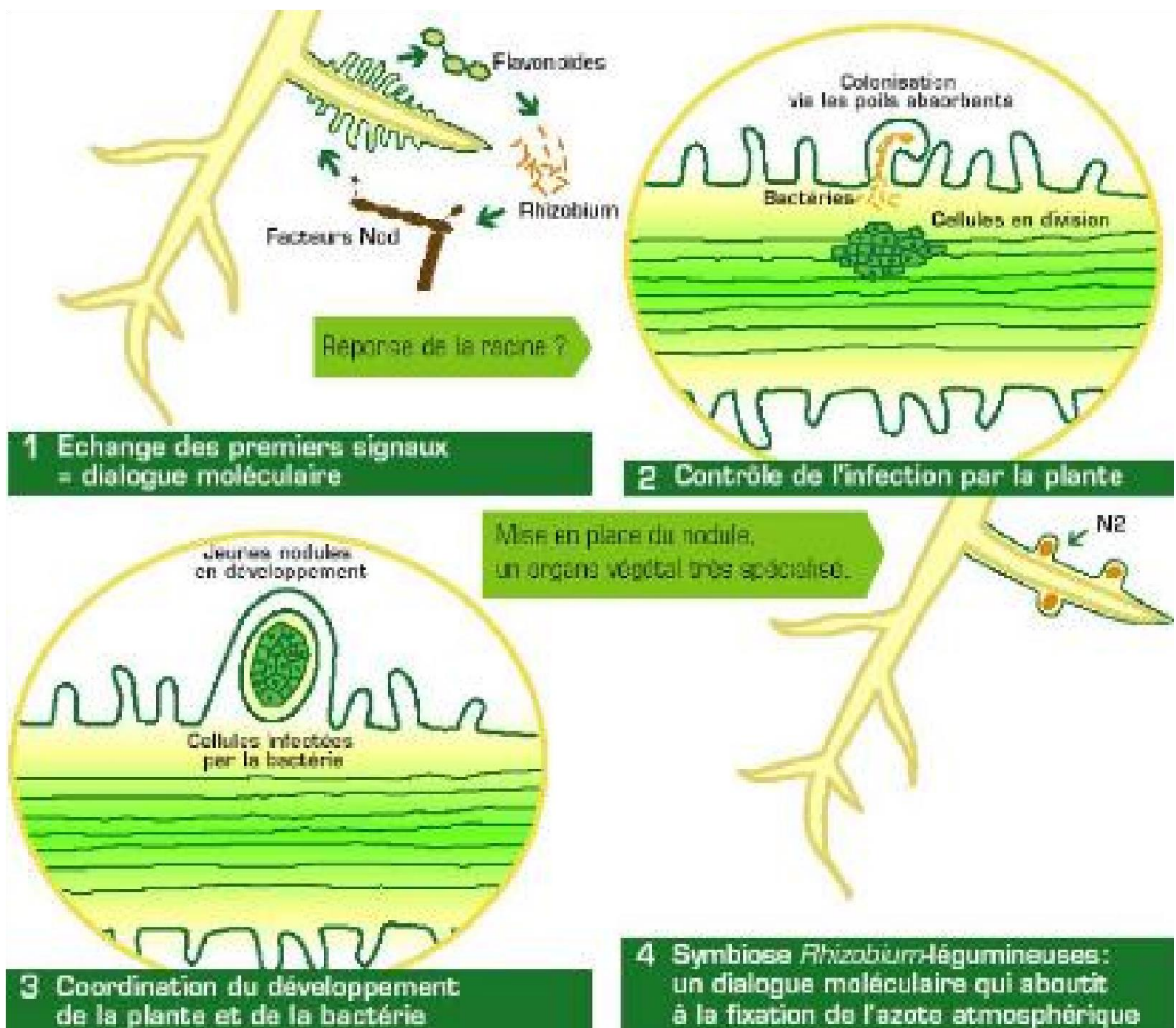


Figure17 : interaction légumineuse-rhizobia (Journet, 2004).

*Chapitre V : Facteurs influençant la
symbiose rhizobia-légumineuse*

1. Facteurs influençant la symbiose rhizobia-légumineuse

La survie des rhizobiums dans le sol, la formation des nodosités et la fixation de l'azote atmosphérique sont des processus très sensibles à l'action d'un certain nombre de facteurs écologiques, dits pédologiques ou limitants lorsqu'ils nuisent au fonctionnement habituel de la plante fixatrice d'azote. Ces restrictions se divisent en deux catégories, stress biotique et abiotique (salinité, température, acidité et alcalinité, métaux) (**Kinkema et al, 2006 ; Abolhasaniet al, 2010 ; Concha et Doerner, 2020**).

1.1. Stress biotique

Exprimer les paramètres physico-chimiques ou biologiques qui découlent de l'existence de l'action des êtres vivants comme les champignons, les insectes, les bactéries et les virus. La symbiose fixatrice d'azote peut être limitée par ces germes qui s'attaquent aux nodosités ou provoquent une pourriture racinaire. (**Odile, 2017**).

Cette fixation symbiotique peut être inefficaces et ceci due à :

La faible charge des rhizobia dans le sol, la présence de rhizobia indigènes qui forme des nodules non fixateurs d'azote et à l'infection par d'autres espèces telle *qu'Agrobacterium sp.* Chez *l'Acacia* (**Räsäne, 2002**).

1.2. Stress abiotique

Les principaux facteurs environnementaux liés aux caractéristiques physiques et chimiques du sol, sont la sécheresse, les températures extrêmes, les pH extrêmes, présence de polluants, excès d'eau, l'acidité du sol et la salinité. Ces facteurs influencent sur les deux partenaires (*rhizobium* et légumineuse). (**Iskounen, 2012 ; Abd-allah, 2014**). La température et le stress hydrique affectent la fixation symbiotique de l'azote à différents niveaux, tels que la formation et la croissance nodulaire, la différenciation des bactéroïdes, le métabolisme du carbone et de l'azote, l'activité de la nitrogénase ainsi que la perméabilité nodulaire à l'oxygène (**Zahran et Sprent 1986 ; Zahran, 1999; Sadowsky, 2005**). Le manque d'eau affecte la diversité des rhizobiums et cause une diminution significative dans le nombre et le rendement des nodules (**Mnasri et al, 2007 ; BenRomdhane et al, 2009**).

a. Salinité

La salinité considéré un obstacle élevé limitant dans un grand mesure la productivité végétale. Sur une superficie près de 40% de la surface terrestre, notamment en régions méditerranéennes. La tolérance au sel des rhizobia est très variable et dépend, probablement dans une grande mesure, de l'efficacité mécanismes d'osmorégulation (**Brhada et Le Rudulier, 1995**). La salinité affecte la multiplication et la survie du rhizobia dans le sol et la rhizosphère, inhibe le processus d'établissement de l'infection rhizobienne entraînant une diminution du nombre des nodules, réduit leur contenu en légghémoglobine, diminue l'activité de la nitrogénase, altère la diffusion intra nodulaire de l'oxygène et modifie le statut ionique (**Ben Khaled et al., 1999**).

b. Température

Dans l'écosystème sol- végétale, la température est un facteur écologique très essentiel, qui influe sur la croissance et la survie des rhizobia dans le sol, son interaction avec les légumineuses et sa concurrence pour la nodosité.

La température a un effet sur la symbiose et intervient dans le processus d'infection des poils racinaires, la différenciation de la bactérie à l'intérieur du nodule, la structure et le fonctionnement nodulaire. Aussi la température peut-être avoir un impact sur la persistance des rhizobia dans l'inoculum pendant son stockage, leur survie dans le sol ainsi que sur la nodulation et la fixation d'azote (**Graham, 1992**).

La température optimale de croissance pour la majorité des rhizobiums est située entre 25 et 30°C, alors que 35°C est préférée par les souches *Sinorhizobium meliloti*. Cependant, des souches de rhizobium du trèfle se développent bien à 10°C, (**Margesi et Schinner, 1999**). La nodulation du soja est considérablement réduit quand la température au niveau de la racine est de l'ordre de 15°C.

L'effet des basses températures sur les rhizobiums est moins rapporté par rapport aux températures élevées. En général, ces bactéries sont tolérantes aux basses températures de l'ordre de 4°C. Toutefois, il arrive qu'elles entraînent la gélification de l'eau cellulaire et l'inactivation, parfois irréversible des enzymes (**Cloutier et al, 1992**).

c. Acidité et alcalinité

L'une des règles déterminantes au processus de fixation symbiotique de l'azote est l'acidité du sol. Dans le monde environ un quart des terres agricoles est acide. Les effets du PH acide sur la croissance et la survie des bactéries nodulantes des racines sont essentiels pour déterminer le succès de l'inoculation des légumineuses dans l'agriculture pratique (**Angelini et al, 2003**).

Pour les effets du PH sur des nodosités et les légumineuses, les PH réduisent de survie et la croissance des rhizobiums dans le sol ou sur les semences, également la réduction de l'attachement et de l'infection des poils racinaires, et la croissance des plantes (**Spaink et al, 1998, Liu, 2008**).

d. Métaux lourds

De point de vue biologique, on distingue deux types de métaux lourds : les métaux essentiels et les métaux toxiques.

Les métaux lourds influencent négativement sur les microorganismes en affectant leurs croissances, leurs morphologies et leurs activités ainsi que la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (**Gusmao-Lima et al, 2005**). Ainsi, ils réduisent la taille des populations des rhizobiums et affecte irréversiblement leurs croissances et leurs performance symbiotiques (**Koomen et al, 1990**).

Certains métaux comme le Zinc (Zn), le Nickel (Ni), Cuivre (Cu), Chrome (Cr) et le fer (Fe), sont essentiels pour les plantes, les animaux et les microorganismes, d'autre comme le cadmium (Cd), le Mercure (Hg), et le plomb (Pb) n'ont aucun fonction biologique ou physiologique et sont considérés toxiques même à très faible concentration (**Kurlaze, 2007 ; Saikia et Liu, 2008**).

e. Déficit Hydrique

La sécheresse ou la déshydratation est un facteur abiotique principal qui conduit à la réduction de la production agricole, due au déficit de l'eau. Il se résume généralement par une réduction de la croissance, mais aussi des échanges gazeux et du métabolisme général de la plante (**Tiliouine, 2008**). La fixation symbiotique de l'azote atmosphérique par les

légumineuses est très sensible au manque d'eau (Zahran, 1999). Il exerce un effet très marqué sur la quantité de l'azote fixée car le fonctionnement des nodules est plus sensible à cette contrainte que celui du métabolisme général de la racine et de la tige.

Le principal résultat de la sécheresse est le déséquilibre métabolique et osmotique de la plante suivit de l'expression de la croissance cellulaire et d'une photosynthèse inadéquat à cause de dioxyde du carbone limité rapidement grâce à la fermeture du stroma (Zhang *et al*, 1996).

f. PH

Le pH du sol est un facteur environnemental essentiel car il limite la réponse de la plupart des légumineuses à l'inoculation chaque bactérie à son optimum de croissance dans lequel elle se développe mieux. Bien que les conditions neutres avec des pH qui se situent entre 6 et 7 et seraient de 5,6 à 6,8 soient généralement les plus favorables pour une symbiose efficient (Somasegaran et Hoben, 1994).

La solubilité des éléments minéraux et les troubles dans la nutrition minérale sont causés par l'acidité élevée du sol qui influence d'une part sur les développements de la plante hôte et d'autre part l'efficacité des rhizobiums qui provoque une diminution de la nodulation (Munne, 1977).

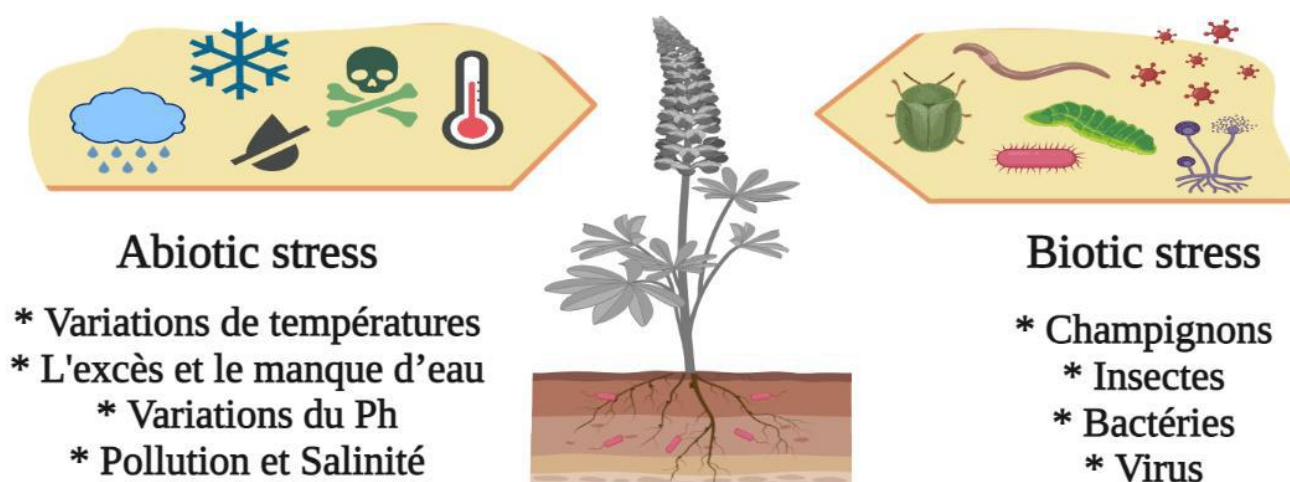


Figure 18 : facteurs influençant la symbiose rhizobia-légumineuse.

Conclusion

Conclusion

Ce travail a pour but de synthétiser les travaux de l'association symbiotique entre les *Genisteeae* et les rhizobia en Algérie. En effet, les légumineuses de tribu de *Genisteeae*, telles que *Retama*, *Cytisus*, *Lupinus*, *Genista*., ont une relation symbiotique avec les rhizobia hébergés dans des nodules racinaires de ces plantes.

Nous nous intéressons à cette symbiose *Genisteeae*-rhizobia pour le rôle qu'elle peut jouer dans la fertilité des sols notamment ceux dégradés et pauvres et aussi dans l'amélioration de la production végétale. En outre, ces légumineuses peuvent pousser dans des régions arides en contribuant à la fixation de l'azote et à l'amélioration de la qualité du sol. Ces légumineuses favorisent aussi la biodiversité en Algérie en offrant un habitat et une source de nourriture pour divers organismes.

Les travaux que nous avons consulté indiquent que les légumineuses d'Algérie en occurrence *Retama sphaerocarpa*, *Retama reatam*, *Cytisus villosus*, *Calicotome spinosa*, *Genista munidica*, *Genista ferox*, *G. tricuspidata* et *Lupinus micranthus* sont nodulés par des rhizobia du genre *Bradyrhizobium* sp. Une diversité importante parmi ces *Bradyrhizobium* sp. Ces travaux sont couronnés par la description d'une nouvelle espèce *Bradyrhizobium algeriense* qui a été isolés de *R.sphaerocarpa* mais capable de noduler toutes les légumineuses de *Genisteeae*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abd.Alla MH., ISaa A.A & Ohyama T. (2014).** Impact of Harsh Environmental conditions nodule formation and dinitrogen fixation of legumes. In Ohyama T (eds). Advances in Biology and Ecolog of Nitrogen, Fixation, pp. 131-193.
- **Abdelguerfi, A., 1994.** Autoécologie de quelques légumineuses spontanées d'intérêt fourrager et pastoral en Algérie. In : Facteurs Limitant la Fixation Symbiotique dans le Bassin Méditerranéen, Monrpelier (France). Les Colloques de l'INRA. 77, 229-238.
- **Abdelguerfi, A., et Louar M. 1999.** Les espèces fourragères et pastorales. Leur utilisation au Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). FAO, Regional Office NEAR EAST, Le Caire, Egypte. Pp. 110.
- **Abdelguerfi, A., Laouar M., Tazi, M., Bounejmate, M., et Gaddes, N.E., 2000.** Present et futur des pâturages et des légumineuses fourragères rn region méditerranéenne. Cas du Nord de l'Afrique et de l'Ouest de l'Asie. Option Méditerranéennes. 45, 15-27.
- **Adouda Salmi *, Farida Boulila.** Heavy metals multi-tolerant *Bradyrhizobium* isolated from mercury mining region in Algeria. Journal of Environmental Management. Volume 289 (2021)112547.
- **Afzal M., Khan Q.M & Sessitisch A. (2014).** Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. Chemosphere, 117. 232-242.
- **Ahnia H. (2015).** Caractérisation phénotypique des endosymbiontes de *Cytisus* p. Thèse de Magister. Filière Science de la nature. Université A. MIRA de Bejaia. **81p.**
- **Ahnia, Boulila F, Boulila A, Boucheffa K, Duran D, Bourebaba Y, Salmi A, Imperial J, huiz. Argueso T, Rey L, (2014)** *cytissus villosus* from Northeas tern Algeria is nodulated by genetically diverse *Bradyrhizobium* Strains Anatomie van Lecuwenhoek 105:1121-1129.
- **Aloui, N et Rezki, K. (2012).** Caractérisation morphologique et cytogénétique de deux endémiques Nord Africaines, *Genista ferox* Poir. et *Ebenus pinnata* Ait. (Fabaceae) du Golfe de Bejaia. Mémoire fin de cycle. pp : 6-9. Bejaia.

- **Angelini, J, Castro, S. et Fabro, A. (2003).** Alternation in root colonization and nod C gene induction in the peanut-rhizobia. Interaction under acidic conditions-plant physiology and biochemistry.41.289-294.
- **Anp D. J., (2000).** The nitrogen cycle. In. Prokaryotic Nitrogen Fixation: A-Model System for the Analysis of a Biological Process. Chapter 1, Triplett E.W. (Ed) Norfolk, Horizon Scientific Press. England, 1-14.
- **Babo B. V. (2002).** Role des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéenne et soudanienne du Burkinafaso. Thèse pour l'obtention du grade de Philosophie Doctorat. Université Laval, Québec. P167.
- **Bahi k. (1991).** Contribution à l'étude de *Retama monosperma* étude du système racinaire et recherche des associations de type *Rhizobium*.in In Boureje.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Retama monosperma* (boiss) : mémoire de magistère. UNIV des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (U.S.T.O) Oran.
- **Benmiloud-Mahieddine R. Abirached-Darmency M. Spencer C. Brown SC. Kaid-Harche M et Siljak-Yakovlev S. (2011).** Genome size and cytogenetic characterization of three Algerian *Retama* species. Tree Genetics & Genomes In press.
- **Benouaret, S., Kheloufi, F., Ramdani, N.E. (2014)** Caractérisation phénotypique des bactéries isolées des nodules racinaires de la légumineuse *Spartium junceum* L.
- **Bockman O.C., Kaarstad O., Lie O.H., Rhichard I., (1990).** Agriculture et fertilization les engrais. Leur avenir. Ed. Norsk Hydroa, Oslo, Norvège. 258 p.
- **Boulila F. (2009).** Caractérisation phénotypique et génotypique des rhizobia isolés de *Retama*. Thèse de doctorat. Université Abderrahmane Mira. Bejaia. 85p.
- **Boulila Farida, Depret Geraldine, Boulila Abdelghani, Belhadi Djellali, Benallaoua Said, Laguerre Gisele. (2009)** *Retama* species growing in different ecological-climatic areas of north eastern Algeria have a narrow range of rhizobia that form a novel phylogenetic clade with in the *Bradyrhizobium* genus. Systematic and Applied Microbiology. 32, 245–255.

- **Boulila,F., Depret.G., Boulila,A., Belhadi,D., Benallaoua,S., Laguerre,G.(2009).** *Retama* species growing in different ecological-climatic areas of northeastern Algeria. *Systematic and Applied Microbiology*, 32:245-255.
- **Brahada F., Poggi M. C. et Le Rudulier D. (1997).** Choline and Glycine betaine uptake in Various Strains of Rhizobia isolated from nodules of *Vicia faba* var. major and *cicer arietinum* L: Modulation by Salt, Choline and glycine betaine. *Current Microbiol.* 34,167-172.
- **Brhada F & Le Rudulier MP. (1995).** Osmorégulation des bactéries en général et spécialement chez *Rhizobium*: effet glycine bétaine chez *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* osmoregulation, Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 77 :125-137.
- **Caravaca F, Figueroa D, Alguacil MM et Roldan A. (2003).** Application of composted urban residue enhanced the performance of afforested shrub species in a degraded semiarid land. *Bioresource Technology*. 90, 65-70.
- **Cavallès E., 2009.** La relance des légumineuses dans le cadre protéique: quels bénéfices environnementaux? *éd Etudes et document*. (15), **44pp**.
- **Cleland E.E. and Harpole W. S (2010).** Nitrogen enrichment and Plant communities.
- **Cleland E.E., Harpole W. S. (2010).** Nitrogen enrichment and Plant communities. *Academy of Sciences*. New York. 1195. pp 46-61.
- **Clontier, J., D. Prévost, P. Nadeau, et H. Antoun. (1999).** Heat and Cold Shock protein synthesis in arctic and temperate Strains of rhizobia. *App. Environ. Microbiol.* 58, 2846-2853.
- **Concha C. & Doerner P. (2002).** The impact of the rhizobia-legume Symbiose on host root System architecture. *Journal of Experimental Botany*, 71 (13):3902-3921.
- **Crété P. 1965.** Précis de botanique. Systématique des angiospermes. Tome, 243.

- **Day D.A, Poole P.S, Tyerman S.D. & Rosendahl L. (2001).** Ammonia and amino acid transport across symbiotic membranes in nitrogen-fixing legume nodules. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(1): 61-71.
- **De Faria SM. Lewis Gp. Sprent JI Sutherland 1989.** Occurrence of nodulation in the leguminosae. *Noev Phytol* 121:607-619.
- **Djebali, N. (2008).** Etude des mécanismes de résistance de la plante modèle *Medicago trunculata* vis-à-vis de deux agents pathogènes majeurs des légumineuses cultivées : *Phoma medicago* et *Aphanomyces euteiches*. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse-Paul ; Sabatier. France **184p**.
- **Djellali Belhadi, Philippe de Lajudie, Nacer Ramdani, Christine Le Roux, Farida Boulila, Pierre Tisseyre, Abdelghani Boulila, Amar Benguedouard, Yahia Kaci, Gisèle Laguerre.** *Vicia faba* L. in the Bejaia region of Algeria is nodulated by *Rhizobium*
- **Duc G., Mignolet C., Carrouée B., Huyghe C., 2010.** Importance économique passé présent des légumineuses : rôle historique dans les assolements et facteurs d'évolution. *Innovation Agronomique*. (11): 2-24.
- **Dupuy Y. & Nougier P. (2005).** Les microorganismes. Du gène à la biosphère. Edition Ellipses.Paris. **p 256**.
- **El Hamrouni A. (2001).** Conservation des zones humides littorales et des écosystèmes côtiers du Cap-bon. Rapport de diagnostic des sites. Partie relative à la flore et la végétation. République Tunisienne. Ministère de l'environnement et de l'aménagement du territoire. Agence de protection et d'aménagement du littoral.**p6**.
- **Elmerich C, (1993).** Fixation de l'azote et interactions bacteries-plantes.www.pasteur.fr.
- **Elmerich C. (1999).** Fixation biologique de l'azote. *Ann. Inst. Pasteur/Actualités* (4) :133-153.
- **Epstein E. (1992).** Mineral nutrition of plants: principals and perspectives. John Wiley. New York.

- **F. Valladres, P. Villar-Salvador, S.Dominguez, M.Fernandez-Passcual, J.L.Penuelas, F. I. Pugnaire.** Enhancing the early performance of the leguminous shrub *Retamasphaerocarpa* (L) Boiss. ; Fertilization versus Rhizobium inoculation. *Plant and Soil*. 24(2002) 253-262.
- **Franche C. Lindstrom K. Elmerich C.** “Nitrogen. Fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants” *Plant and Soil*.2009; 321:35:59.
- **Frontier S., Piched-Vial D., Lepretre A., Davoult D., Luczak C. (2004).** Ecosystème: structure, fonctionnement, evolution. 3ème Edition Dunod, Paris.p.549.
- **Gany F., Dommerges Y. R.1999.** Anbres fixateurs d’azote champ ouvert pour la recherché. *Agriculture et développement* edt. 7 :38-55.
- **Germon, J.C. (2013).** Quelques apports de la microbiologie des sols à l’agronomie et au développement des plantes cultivées. France **15p.**
- **Guignard J.L., Dupont F., 2005.** Botanique. 13^{ème} Edition Masson.
- **Gusmao-Lima, A. I., Figueira, E., De Almeida, M. P. et Pereina, S. I. A. (2005).** Cadmium tolerance plasticity in *Rhizobium leguminosarum*, bv. *Viciae*. Glutathione as a detoxifying agent. *Can. J. Microbiol* 51:701-715.
- **Hadjira Ahnia, Farida Boulila, Abdelghani Boulila, Karima Boucheffa, David Duran, Yasmina Bourebaba, Adouda Salmi, Juan Imperial, Tomas Ruiz-Argüeso, Luis Rey. (2014)** *Cytisus villosus* from Northeastern Algeria is nodulated by genetically diverse *Bradyrhizobium* strains. *Antonie van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology*. ISSN 0003-6072, Volume 105 [6] 1121–1129.
- **Hadjira Ahnia, Yasmina Bourebaba, David Durán, Farida Boulila, José M Palacios, Luis Rey, Tomás Ruiz-Argüeso, Abdelghani Boulila, Juan Imperial.** *Bradyrhizobium algeriense* sp. nov., a novel species isolated from effective nodules of *Retama sphaerocarpa* from Northeastern Algeria. *Systematic and Applied Microbiology* 41 (2018) 333–339.

- **Hopkins W.G., (2003)** Physiologie végétale. Université des Sciences et Technologie de Lille (Ed) de boeck.99-120.
- **Hopkins W.G., 2003.** Physiologie vegetale. Université ses sciences et Technologie de Lille. Edition de Boeck.
- **Hopkins, W.G. (2003).** Physiologie végétale 1er edition. Edition de Boeck. Paris. **514p.**
- **Iskounen T. (2012)** Isolement et caractérisation de bactéries nodulant les légumineuses *Calycotome spinosa*. Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. **P 69.**
- **J Theor Biol 214 (2): 215-32.**
- **Journet E.P., van Tuinen D., Gouzy J., Crespeau H., Carreau V., Farmer M.J., Niebel A., Schiex T., Jaillon O., Chatagnier O., Godiard L., Micheli F., Kahn D., Gianinazzi-Pearson V. et Gamas, P. (2002).** Exploring root symbiotic programs in the model legume *Medicago truncatula* using EST analysis. *Nucleic.Acids Res* 30, 5579-5592.
- **Journet, E.P., El-Gachtouli, N., Vernoud, V., de Billy, F., Pichon, M., Dedieu, A., Arnould, C., Morandi, D.,Barker, D.G., and Gianinazzi-Pearson, V . (2001).** *Medicago truncatula* ENOD11: a novel RPRP-encoding early nodulin gene expressed during mycorrhization in arbuscule-containing cells. *Mol Plant Microbe Interact* 14:737-748.
- **Kape R., Parniske M., Werner D. (1991).** Chemotaxis and nod Gene Activity of Bradyrhizobium japonicum in Response to Hydroxycinnamic Acids and Isoflavonoids, *Appl Environ Microbiol.* 57 pp 316-319.
- **Konmen, I. MC grath, S. P., Giller, K.E. (1990).** My coo-rhizol infection of Clover id delayed in Soils contaminated with heavy metals form past Sewage Sludye, application. *Soil. Biolo. & Biochim-22,871-873.*
- **Kurlaze, G. V. (2007).** Environnemental Microbiology Research Trends. Nova Science publishers. Inc.pp:239-245.

- **Lamaze I., S Khamis., C Foyer., J Farineau., M H., valadier et JF., Morot. Gaudty. (1990).** Effet d'une limitation en N sur la photosynthèse chez le maïs. In : Physiologie et production du maïs. INRA, Paris, 113-121.
- **Lamaze T., Skhamis., C Foyer., J Farineau., MH., Valadier et JF., Morot.Gaudty. (1990).** Effet d'une limitation en N sur la photosynthèse chez le maïs. In : Physiologie et production du maïs. INRA, Paris, 113-121.
- **Le Floch, E., Grossmann, A. (1998)** Les légumineuses spontanées de la flore tunisienne répartition, intérêts et rôle. Revue de L'INAT. Actes du 1^{er} séminaire international sur les ressources naturelles de la rive sud de la Méditerranée, 359-385.
- **Lefèvre T., Renaud F., Selosse M-A., Thomas F., Bernstein C., Broennimann O., Charlat S., De Mazancourt C., De Meeus T. & Fleury F. (2010).** Evolution des interactions entre espèces. In: F. Thomas TL& MR, ed. Biologie évolutive. De Boeck, 533-616.
- ***leguminosarum sv. viciae, Rhizobium laguerreae* and two new genospecies. Systematic and Applied Microbiology 41 (2018) 122–130.**
- **Liu T.X. (2008).** Soil ecology research developpement Nova science publishers, Inc. p 134-145.
- **Lopez Gonzalez G., 2001.** Los arboles arbustos de la Penissula Ibérica Islas Baleres. Ed. Mundi Prensa, Madrid, Spain.
- **M'hirit, O., et Maghnouj, M. (1997)** Stratégie de conservation des ressources génétiques forestières au Maroc. In : Ressources phytogénétiques et développement durable (eds, Birouk, A., et Rejdali, M.). Actes Editions, Rabat, Maroc, 123-138.
- **Maathius F.J.** Physiological function of macronutvients. Cuvv. Opin.Plant Biol.2009; 12:250-258.
- **Madigan M., Martink J., 2007.** Brock Biologie des microorganismes 11 edition. Edition Preson Education France pp 599-601, 676-681.

- **Maire R., 1987.** La flore de l'Afrique du Nord. Les légumineuses, Lechevalier Ed., Paris, XVI : 123-193.
- **Maire. R., (1987)** ENCYCLOPEDIE BIOLOGIQUE, flore de l'Afrique du nord, edition chevaliers paris. Vol XVI, **301p.**
- **Matthew C. J. M. K., David M.K, Saito A.M. & Zehr P.J., (2008).** Regional distribution of nitrogen. Fixing bacteria in the Pacific Ocean. *Limnol. Limnology and Oceanography.* 53, 63-77.
- **Maxted et Bennett, S.J. (2001a).** Conservation, diversity and use of Mediterranean Legumes. *Plant Genetic Ressources of Legumes in the Mediterranean.* Maxted N, and Bennett S. J. PO Box 17, 3300 A A Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publ. 39:1-32.
- **Maxted, N. et Bennett, S.J. (2001b).** Legume diversity in the Mediterranean region. *Plant Genetic Ressources of Legumes in the Mediterranean.* Maxted N and Bennett S. J. PO Box 17, 3300 AA Dorecht, Netherlands, Kluwer Academic Publ. 39:51-75.
- **Mnasri B. Mrabet M. Laguerre G. Aouani ME, Mhmadi R. (2007).** Salt tolerant rhizobia isolated from a Tunisian ouaris that are highly effective for symbiotic N₂-fixation with *Phaseolus Vulgaris* constitue a novel biovar (bv.mediterranense) of *Sinorhizobium meliloti*. *Arch Microbiol.* (187) 79-85.
- **Munns D. N., 1997. Madigan M.,Martink J. (2007).** B rock *Biologie des microorganismes.* Edition: Pron Education France.pp.599-602. Cidity and related factor6. Bose(ed). Pp, 271.236.
- **Neyra M. (1997).** Des microbes aux services des écosystemes. *Microbiologie. Cahier ORSTOM.Dakar.*11.pp.201-205.
- **Normand P., Fernandez M. P. (2007).** Evolution and diversity of Frankia. In: Pawloviski K., editor. *Actinorhizal Symbiose.* Springer Verlog. London.
- **Paraniske M, Downie JA.** Locks, Keys and symbioses. *Nature* 2003; 245:569-70.
- **Perry J.J., Staley J.T & Lory S. (2004).** *Microbiologie.* Edition Dunod, Paris.

- **Polhill R.M., 1976** *Genisteae* (Adnas) Ben tham and related tribes (leguminosa). Bot. Syst. .1:143-368.
- **Polhill, R. M. (1981)** Dalbergieae Bronn ex DC. (1825). Advances in legume systematics.
- **Polhill, R. M.** « *Genisteae* (Adnas) Bentham and related tribes (Leguminosae). » (Bot.Syst.), n° 1: 143-368. (1976).
- **Provorov, N. A., A. Y. Borisov, et al, (2008).** “Development algenetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen. Fixing nodules and arbus Cular mycorrhiza.”
- **Pujic P. Normand P., (2009).** La symbiose racinaire entre la bactéria Frankia et les plantes actinorhizobiennes, 26-29.
- **Quezel, P., et S. Santa.** « Nouvelle Flore d’Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales.» (2 Tomes, Editions CNRS.) (1962-1963).
- **Remier A.2008.** Approche pluridisciplinaire de la symbiose Methy lobacterium nodulant cratalaia prodocarpa. Thèse de Doctorat de l’Université Montpellier II-France.
- **Roger P, 1996.** La fixation biologique de l’azote : quelles potentialités pour le developpement Conférence débat de l’ORSTOM. Paris & France.
- **Salmi, A. (2019)** Caractérisation phénotypique, génotypique et phylogénétique des rhizobia nodulant *Calycotomespinosa*. Thèse de Doctorat en Sciences. Université A. MIRA de Bejaia, **105p.**
- **Saoudi M., (2008).** Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N. LP) : Caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuses Astragalusarmatus. Mémoire de Magister. Université Mentouré de Constantine- Algérie. p99.
- **Schneider A., Hryghe C., coordinaireurs. 2015:** Les Fabaceae pour des systemes agricoles et alimentaires durables, Ed Quae, 462p.

- **Selkani, H., Zoghalmi, A., Mezni, M., Hassen, H. (1996)** Synthèse des travaux de recherche réalisés sur les *Medicago* à l'institut nationale de la recherche agronomique de Tunisie. CEHEAM. 31-37.
- **Shalaby, A. F., Monayeri, M. O., Etman, M. N., El Habibi, A. M., Youcef, N. M., (1972).** Germination of some desert medicinal plant under different condition. Desert. Inst. Bull., A.R. E., 22(2):433-444.
- **Simon, T (2003)** utilization of biological nitrogen fixation for soil evolution Plant Soil Environ. 49 (8), 359-363.
- **Somasegaran P. et Hoben H.J. (1994).** Handbook for rhizobia. Springer verlage New York. Inc. P.450.
- **Spainv. HP., Kondarosi A., et hovy Kaas Paul JJ. (1998).** The rhizobicea : molecular.
- **Stevenson JF. (1956).** Cycle of soil: Carbonitrogen, Phosphorus, Sulfur, micronitrient. John Wilay & Sons, New York.
- **Stevenson JF. (1986).** Cycles of Soil: carbon nitrogen, phosphorus, Sulfur, micronutrients. John Wiley & Sons, New York.
- **Talammucci, P., et Chaulet, C, (1989)** Contraintes et évolution des ressources fourragères dans le Bassin Méditerranéen, In Proc, Of 17th Intern. Rang. Congr., Nice, France, 1 :1731-1740.
- **Terefework Z. (2002).** Diversity and phylogeny of rhizobium galagae and reflection on molecular evolution of rhizobium-legume symbiosis. Thèse de doctorat University of Helenski, Finland. 58p.
- **TIGHILT Lilia, BOULILA Farida et al,** The *Bradyrhizobium* sp. LmicA16 type VI secretion system is required for efficient nodulation of *Lupinus* spp. Microbial Ecology 2021.
- **Tourte Y., Bordonneau M., et Tourte C., 2005.** Le monde des végétaux. Edition Dunod, Paris.

- **Wafa Boudehouche, Matthew A. Parker, Farida Boulila.** Relationships of Bradyrhizobium strains nodulating three Algerian Genista species. Systematic and Applied Microbiology 43 (2020) 126074.
- **White, R. (2010).** International LegumeDatabase & Information Service.
- **Yamamoto H. Nomata J. Fuita Y.** Functional expression of nitrogenase. Like Protochlorophyllide reductase from Rhodobacter capsulatus in Escherichia Coli. Photochem. Photobiol. Sci. 2008. 7:1238-1242.
- **Zahram HH. (1999).** Rhizobium-legume Symbiosis and nitrogen fixation under Sever conditions and in an arid climate. Microbiol. Mol. Biol. Rev. (63) 968.89.
- **Zahran HH. (1999).** Rhizobium legume Symbiosis and Nitrogen fixation under severe condition and in an Arid climate. Microbiology and Molecular Review Vop 63. N°4. Pp.968-989.
- **Zaidi F. & Kared Y. (2017).** Isolement et caractérisation des endosymbiotes de *Medicago polymorpha*. Mémoire fin de cycle Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. P 40.
- **Zhang, F., Charles, T. C., Pan, B. ET Smith, D.L. (1999).** Inhibition of the expression of Bradyrhizobium japonicum nod genes at low temperatures. Soil boil. Biochem. 28:1579-1583.

Références électrotoniques :

<http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/21080>.

<http://www.ildis.org/Leguminosae/>

Résumé

Ce travail est une compilation des travaux de recherches relatifs aux rhizobia nodulants *Genisteeae* d'Algérie, qui ont été effectuées au sein de laboratoire d'écologie microbienne. La comparaison, l'explication et l'analyse de tous ces documents scientifiques, nous ont indiqués que les *Genisteeae* en Algérie sont nodulés par *Bradyrhizobium algeriense*.

Mots clés : *Genisteeae*, analyse, *Bradyrhizobium*.

Abstract

This work is a comparison of research work relating to nodulating rhizobia *Genisteeae* from Algeria, which was carried out in the microbial ecology laboratory. The comparison, explanation and analysis of all these scientific documents indicated to us that *Genisteeae* in Algeria are nodulated by *Bradyrhizobium algeriense*.

Keywords: *Genisteeae*, analysis, *Bradyrhizobium*.

ملخص

هذا العمل عبارة عن مجموعة من الأعمال البحثية المتعلقة بالريزوبيا الجينيسية العقيدية من الجزائر، والتي تم إجراؤها في مختبر البيئة الميكروبية. إن المقارنة والشرح والتحليل لجميع هذه الوثائق العلمية دلت لنا على أن الجينات في الجزائر عقيدية بواسطة البراديريزوبيوم

الكلمات المفتاحية: الجينات، التحليل، البراديريزوبيوم