



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

## Intitulé :

L'effet PGPR chez les *Rhizobium* nodulant les  
légumineuses :

Synthèse bibliographique

## Présenté par:

NEZZARI Ahlem & SLIMANI Marwa

Soutenu le 24/06/ 2023, Devant le Jury:

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Présidente :	Mme. IRATNI Nadjat	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mme. ABED Hanane	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	Mme. CHENOUF Nadia Safia	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023

## *Remerciement*

*Nos remerciements sont d'abord à l'ALLAH, qui nous a donnés la bonne santé, la volonté et la patience tout le long de la période de nos études.*

*Un grand merci au membre de jury **Mme IratniNadjet** et **Mme Chenouf Nadia Safiapour** nous avoir fait honneur d'examiner et d'évaluer notre travail.*

*Nous tenons à adresser expression de nos profonds remerciements à notre encadreur **Mme ABED Hanane** qui nous a fait l'honneur de bien vouloir assurer la direction de ce mémoire. Nous vous remercions pour votre soutien, la pertinence de vos conseils, votre disponibilité votre patience et votre aide précieuse pour l'élaboration de ce travail.*

*Nous sommes redevables à l'ensemble des enseignant qui contribué à notre formation durant ces 5 ans.*

*On réserve enfin nos derniers remerciements aux gens qui nous aidées le près ou de loin pour réaliser ce travail.*

*Merci*

## *Dédicace*

*En signe de respect et d'appréciation, je tiens à dédier ce travail :*

*A ma chère maman Karima, celle qui a été toujours là pour moi dans les moments les plus difficiles de ma vie. Qu'ALLAH la garde pour moi.*

*A mon cher papa Hakim, l'homme qui a illuminé mon chemin avec ces conseils, celui qui été un bouclier de sécurité contre les vices de temps. Qu'ALLAH te donne santé et longue vie.*

*A mes chers frères Islam et Ibrahim, à mes chères sœurs Assala et Malak merci de m'avoir encouragé, et ils me procurent une joie qui transperce le cœur et dessinent un doux sourire sur mes lèvres.*

*A ma chère binôme Ahlem pour le soutien moral et sa patience et sa compréhension.*

*Marwa*

## *Dédicace*

*En signe de respect et d'appréciation, je tiens à dédier ce travail :*

*A ma chère maman Thoria, celle qui a été toujours là pour moi dans les moments les plus difficiles de ma vie. Qu'ALLAH la garde pour moi.*

*A mon cher papa Mouloud, celui qui été un bouclier de sécurité contre les vices de temps. Qu'ALLAH te donne santé et longue vie.*

*A mon cher frère Yousef que dieu le guérisse, à mes chères sœurs Ibtissem, Fairouz et Aya mercide m'avoir encouragé, et ils me procurent une joie qui transperce le cœur et dessinent un doux sourire sur mes lèvres.*

*A ma chère binôme Marwa pour le soutien moral et sa patience et sa compréhension.*

*Ahlem*

## الملخص

تعتبر البقوليات مصدرًا ممتازًا للبروتين الذي يحتوي على مجموعة متنوعة من العناصر الغذائية مثل الحديد والكالسيوم والمغنيسيوم الضرورية للحفاظ على صحة جيدة. شهدت الغلة المحققة سنويًا من البقوليات تغييرًا كبيرًا في الجزائر ، إلا أن هذه المستويات من الإنتاجية تتقلب كثيرًا ولا تزال غير كافية لتغطية الاحتياجات الاستهلاكية للسكان الجزائريين. الريزوبيا هي بكتيريا هوائية اختيارية سالبة الغرام. كما أنها قادرة على إنتاج الهرمونات النباتية ، مثل الأوكسين ، السيبتوكينين ، التي تحفز نمو وعقد جذور النبات المضيف. عندما تتلامس جذور البقوليات مع الجذور ، يحدث تفاعل تكافلي. توفر النباتات العناصر الغذائية والطاقة للبكتيريا ، بينما توفر البكتيريا النيتروجين للنبات ، وتذيب الفوسفات ، وتعمل كسماد حيوي وعامل بيولوجي من خلال إنتاج حامض الحديد والمضادات الحيوية. لذلك من المهم تعزيز ودعم التعايش بين الريزوبيا والبقوليات في النظم الزراعية .

**الكلمات الأساسية:** ريزوبيوم، البقوليات، عقدة، تعايش.

## Résumé

Les légumineuses sont une excellente source de protéines qui contient une variété de nutriments tels que le fer, le calcium, le magnésium qui sont nécessaires pour le maintien d'une bonne santé. Les rendements atteints annuellement pour les légumineuses ont connu une évolution notable en Algérie. Cependant, ces niveaux de productivité fluctuent beaucoup et restent très insuffisants pour couvrir les besoins de consommation de la population Algérienne. Les *Rhizobiums* sont des bactéries à Gram négatives, aérobies facultatifs. Ils sont également capables de produire des phytohormones, tels que l'auxine, la cytokinine, ce qui stimule la croissance et la nodulation des racines de la plante hôte. Lorsque les racines des légumineuses entrent en contact avec les *Rhizobiums*, une interaction symbiotique se produit. Les plantes fournissent des nutriments et de l'énergie aux bactéries, tandis que les bactéries fournissent de l'azote à la plante, solubilisent le phosphate, agissent comme un biofertilisant et un agent de lutte biologique par la production de sidérophore et d'antibiotiques. Il est donc important de promouvoir et de soutenir la symbiose entre les *Rhizobiums* et les légumineuses dans les systèmes agricoles durables.

**Mot clé :** *Rhizobiums*, légumineuses, nodulation, symbiose.

## Abstract

Legumes are an excellent source of protein which contains a variety of nutrients such as iron, calcium, magnesium which are necessary for the maintenance of good health. Yields achieved annually for legumes have experienced a significant change in Algeria. However, these levels of productivity fluctuate a lot and remain very insufficient to cover the consumption needs of the Algerian population. *Rhizobia* are Gram-negative, facultative aerobic bacteria. They are also capable of producing phytohormones, such as auxin, cytokinin, which stimulate the growth and nodulation of the roots of the plant host. When the roots of legumes come into contact with rhizobia, a symbiotic interaction occurs. Plants provide nutrients and energy to bacteria, while bacteria provide nitrogen to the plant, solubilize phosphate, act as a biofertilizer and biological control agent through the production of siderophore and antibiotics. Therefore, it is important to promote and support the symbiosis between *Rhizobia* and legumes in sustainable agricultural systems.

**Key words:** *Rhizobium*, legumes, nodulation, symbiosis.

## Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d'abréviations	
Introduction .....	1
<b>Chapitre 1 : les légumineuses alimentaires en Algérie</b>	
1.Taxonomie et origine des légumineuses alimentaire.....	3
2. Morphologie des légumineuses .....	3
2.1 Système racinaire.....	3
2.2 Système aérien.....	3
3.Importance des légumineuses .....	4
3.1 Consommation humaine .....	4
3.1.1 légumes secs .....	5
3.1.2 Légumineuse consommée en vert.....	5
3.2 Alimentation de bétail .....	6
4.Exigences culturelles des légumineuses .....	6
4.1Exigence édaphique.....	6
4.2 Exigence thermique .....	7
4.3 Exigence hydrique .....	7
5.Repartions des légumineuses dans le monde.....	8
6.Evolution des légumineuses alimentaires en Algérie.....	9
6.1 Evolution des consommations des légumineuses alimentaires .....	10
6.2 Evolution des importations des légumineuses alimentaires .....	11
6.3 Evolution de la production et de la superficie des légumineuses alimentaires .....	11
6.4 Evolution des rendements des légumineuses alimentaires .....	13
<b>Chapitre 2 : <i>Rhizobia</i></b>	
1.Définition.....	15
2. Caractères généraux de <i>Rhizobium</i> .....	15
2.1 Caractères morphologique.....	15
2.2 Caractères biochimique .....	16

2.3 Caractères physiologique.....	16
2.4 Caractères cultureux .....	17
3. Taxonomie des <i>Rhizobiums</i> .....	17
3.1 Principaux <i>Rhizobia</i> et leur hôte.....	19
4. Techniques moléculaires pour caractériser les <i>Rhizobia</i> .....	20
4.1 Méthodes génétique .....	20
4.2 Spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage et l'identification des <i>Rhizobia</i> ...	21
5. Diversité des <i>Rhizobia</i> en Algérie .....	21
6. Mise en place et fonctionnement de la nodosité.....	22
6.1 Reconnaissance et dialogue moléculaire .....	22
6.2 Infection et formation du primordium nodositaire .....	23
6.2.1 L'infection bactérienne.....	23
6.2.2 Formation du primordium nodositaire.....	23
6.3 Organogénèse de la nodosité indéterminée .....	25

### **Chapitre 3 : Effet PGPR des *Rhizobia***

1. fixation d'azote .....	28
2. Solubilisation de phosphate .....	29
3. Biofertilisation .....	30
4. Agent de lutte biologique .....	31
5. Production de sidérophore .....	31
6. Antibiose.....	33
Conclusion .....	35

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Valeur nutritionnelle de quelque légumineuse en g pour 100g de MS.	5
<b>Tableau II</b>	Classification des <i>Rhizobiums</i> et leur plante-hôte.	19

## Liste des figures

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Images représentatives des appareils végétatifs ainsi que les fruits de quelques légumineuses.	4
<b>Figure 2</b>	Proportion de la production mondiale de légumineuses à graines 2016.	9
<b>Figure 3</b>	Évolution de la consommation des légumes secs en Algérie de 1965 à 1998.	10
<b>Figure 4</b>	Évolution des importations des légumineuses alimentaires en Algérie, de 1967 à 1998.	11
<b>Figure 5</b>	Évolution de la superficie des légumineuses alimentaires.	11
<b>Figure 6</b>	Évolution de la production des légumineuses alimentaires.	12
<b>Figure 7</b>	Évolution des rendements des légumineuses alimentaires.	13
<b>Figure 8</b>	Représentation microscopique du <i>Rhizobium trifolii</i> .	16
<b>Figure 9</b>	<i>Rhizobium</i> sp sur milieu Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA).	17
<b>Figure 10</b>	Arbre phylogénétique basé sur les séquences d'ARNr 16S des <i>Protéobactéries</i> .	18
<b>Figure 11</b>	Infection bactérienne et formation du primordium nodulaire.	24
<b>Figure 12</b>	Organogénèse de la nodosité de <i>Medicago</i> .	25
<b>Figure 13</b>	Promotion de la croissance des plantes par les Rhizobactéries.	27
<b>Figure 14</b>	Assimilation de l'azote de l'air par les légumineuses.	28
<b>Figure 15</b>	Structure chimique de sidérophore.	33

## Liste d'abréviations

<b>ACC :</b>	1-AminoCyclopropane-1-Carboxylate.
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>ANI :</b>	AverageNucleotideIdentity.
<b>AP-PCR :</b>	ArbitrarilyPrimed PCR.
<b>ARNr:</b>	Acide ribonucléique ribosomique.
<b>atm :</b>	Atmosphère.
<b>BNL :</b>	Bactéries Nodulant les Légumineuses.
<b>C :</b>	Cytosine.
<b>C° :</b>	Degré Celsius.
<b>DAF :</b>	DNAAmplifiedFingerprinting.
<b>EPS :</b>	Exopolysaccharide.
<b>FAO :</b>	Organisation des Nation unies pour l'alimentation et l'agriculture.
<b>FF :</b>	Fève fèverole.
<b>FN :</b>	Facteur Nod.
<b>g :</b>	gramme.
<b>G :</b>	Guanine.
<b>h :</b>	Heure.
<b>HCN :</b>	cyanure d'hydrogène.
<b>HS :</b>	Haricot sec.
<b>ISR :</b>	résistance systémique induit.
<b>L :</b>	Lentille.
<b>LCO :</b>	Lipochoooligosaccharide.
<b>MALDITF</b>	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight.
<b>MAT :</b>	Matière Azote Total.
<b>mm :</b>	Millimètre.
<b>MS :</b>	matière sèche
<b>Mt :</b>	millions de tonnes.

<b>N :</b>	Azote.
<b>NGS :</b>	New Generation Sequencing.
<b>Nod :</b>	Gène de nodulation.
<b>PC :</b>	Pois chiche.
<b>PCR :</b>	Polymerase Chain Reaction.
<b>PGPR :</b>	Plant-Growth-Promoting-Rhizobacteria.
<b>pH :</b>	potentiel hydrogène.
<b>PHBA :</b>	Acide polymère bêta-hydroxybutyrique.
<b>PS :</b>	Pois sec.
<b>PSM :</b>	microorganismes solubilisant les phosphates.
<b>RAPD :</b>	Random Amplified Polymorphism DNA analysis.
<b>RAS :</b>	résistance systémique acquise.
<b>RMS :</b>	de De Man, Rogosa et Sharpe.
<b>TCP :</b>	phosphate tricalcique.
<b>TFX :</b>	Trifolitoxine.
<b>YEMA :</b>	Yeast Extract Mannitol Agar.
<b>µg/ml :</b>	micro gramme par millilitre.
<b>% :</b>	Pourcentage.

# *Introduction*

## Introduction

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones appartenant à la famille botanique des Fabacées, qui représente la troisième famille de plantes par le nombre d'espèces, après les Astéracées et les Orchidées. Les plus importantes espèces de légumineuses alimentaires rencontrées le plus fréquemment dans les plats algériens sont le pois chiche, le haricot sec, la lentille et la fève. Les légumineuses ont été utilisées dans les rotations des cultures pour intégrer l'azote dans les systèmes agricoles, évitant ainsi le besoin de la fertilisation azoté (Geddes et *al.*, 2015).

Plusieurs chercheurs ont identifié des bactéries du sol possédant des propriétés bénéfiques pour les plantes soit pour leur croissance et pour leur santé. Ils ont regroupé ces bactéries sous le nom de PGPR (Plante Growth Promoting Rhizobacteria).

Les *Rhizobia* sont des microorganismes qui ont la capacité à coloniser les surfaces des racines et à former des associations symbiotiques avec les plantes légumineuses (Ndoye, 1990). L'association symbiotique des légumineuses avec les *Rhizobiums* mène à la formation des nodosités sur les racines et les tiges des légumineuses, une structure organisée dans laquelle le microsymbiote est capable de fixer l'azote atmosphérique. En effet, cette symbiose a un intérêt agronomique, économique et écologique important car assurer une nutrition azotée adéquate aux plantes et garantir une production convenable permettant ainsi aux agriculteurs d'épargner le coût des fertilisants chimiques et soulager l'environnement de leur pollution (Benhalima, 2006). L'activité antagoniste des *Rhizobia* est principalement attribuée à la production d'antibiotiques, d'enzymes mycolytiques et de sidérophore dans des conditions limitantes en fer. En plus de la compétition et l'induction de résistances systémiques liées à la défense des plantes (El badry et *al.*, 2006).

Notre travail consiste à faire une recherche bibliographique sur l'effet PGPR chez les *Rhizobium* nodulant les légumineuses pour but de connaître comment se fait la relation entre les *Rhizobium* et les racines des légumineuses et quelles sont les conditions pour que ces bactérie agissent.

Dans notre mémoire, réparti en trois chapitres, nous avons commencé par un aperçu général sur légumineuses alimentaires en Algérie. Le deuxième chapitre est conçu pour d'écrire les principaux caractéristiques *Rhizobia*. Tandis que le dernier chapitre est conçu pour évaluer des activités bénéfiques et les métabolites produits par les *Rhizobiums*.

*Chapitre 1 :*

*Les légumineuses alimentaires en Algérie*

## Chapitre 1 : les légumineuses alimentaires en Algérie

### 1. Taxonomie et origine des légumineuses alimentaires

Les légumineuses sont originaires de la méditerranée. La famille des légumineuses comprend 18 000 espèces, répartie en trois sous familles : les Mimosoideae (50 à 60 genres et plus de 3000 espèces), les Caesalpinioideae (150 à 180 genres et de 2000 à 3000 espèces) et les Faboideae (476 genres et 13860 espèces) (Spichiger et *al.*, 2004). Les Papilionoideae (Faboideae) sont en majorité des espèces de climat méditerranéen et tempéré. C'est dans cette famille que la majorité des espèces nodulées se rencontrent. Les deux premières familles sont presque exclusivement localisées dans les régions tropicales (Dommergues et Manggno, 1970). Le pois sec (*Pisum sativum*), la féverole (*Vicia faba*), les vesces (*Vicia sativa* et *Vicia ervilia*), la lentille (*Lens culinaris*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*) sont les principales espèces cultivées dans la région de la méditerranée (Duc et *al.*, 2010).

### 2. Morphologie des légumineuses

Toutes les espèces végétales qui ont les mêmes compartiments aériens, sont exploitées pour l'alimentation des ruminants : les feuilles, les tiges et les inflorescences. La plante comporte aussi un compartiment racinaire qui va jouer un rôle essentiel pour l'alimentation hydrique et minérale au long d'un cycle (Borget, 1989).

#### 2.1. Système racinaire

Il est le plus souvent de type pivotant. Ce mode d'enracinement, assure une bonne colonisation des couches profondes des sols. Un titre d'exemple les racines des luzernes peuvent exploiter une profondeur du sol allant jusqu'à un mètre. Une des caractéristiques les plus marquantes des légumineuses est la présence sur les racines de nodosités qui contiennent le *Rhizobium*, bactérie vivante en symbiose avec le végétal (Huyghe, 2005).

#### 2.2. Système aérien

Les feuilles des légumineuses sont composées de plusieurs folioles, et portent des stipules à la base des pétioles. La plupart des genres qui intéressent la production fourragère sont trifoliés (luzerne, trèfle...), à l'exception de la première feuille, souvent plus simple (unifoliée). Chaque pied de légumineuse peut développer plusieurs ramifications à partir de bourgeons situés au niveau du collet. Les inflorescences sont en grappes ou en capitules,

comportant de nombreuses fleurs, les fruits sont en gousses et contiennent plusieurs graines (figure 1), (Doree, 2000).



**Figure 1 :** Images représentatives des appareils végétatifs ainsi que les fruits de la Fève (A), Lentilles (B), Pois-chiche (C) et Haricot (D) (Site web 1).

### 3. Importance des légumineuses

#### 3.1. Consommation humaine

Les légumineuses comportent les espèces alimentaires fondamentales pour la nutrition humaine que sont les haricots, les lentilles, les pois chiches et pois cassés, et les fèves, mais aussi le lupin et le soja jaune. Chacune de ces espèces comprend une variété qui confère à ces aliments une grande diversité. Ce sont aussi les propriétés agronomiques des légumineuses qui

ont permis le développement de leur culture grâce à la conversion de l'azote atmosphérique en azote, nécessaire à la croissance de la plante en échange de carbone pour les bactéries du sol (Med et Nut,1982).

### 3.1.1. Les légumes secs

Les graines de légumineuses sont caractérisées à la fois par une forte densité énergétique et une forte densité nutritionnelle (Tableau 1). Ces aliments apportent des fibres, des protéines, des hydrates de carbone, des vitamines du groupe B, du fer, du cuivre, du magnésium, du manganèse, du zinc et du phosphore. Au-delà de la stricte couverture des besoins nutritionnels, les graines de légumineuses, notamment les légumes secs, présentent des atouts indéniables pour la santé. En fonction de leur faible index glycémique, les légumes secs sont ainsi conseillés dans la prise en charge du diabète de type 2. De nombreuses études montrent en effet que l'ingestion de légumineuses atténue la réponse glycémique postprandiale, et que leur consommation régulière permet d'améliorer le control glycémique chez les patients diabétiques (Rémond et Walrand, 2017).

**Tableau 1 :** Valeur nutritionnelle de quelques légumineuses en g pour 100g de MS (Ait Saadaet *al.*, 2016) .

Légumineuses	Nutriments				
	Protéines	Lipides	Glucides	Fibres	Minéraux
Haricot	26,2-43,6	1-1,9	60-65	4 -5	3,0-4,9
Niébé	25,0-26,3	1,62-1,7	68-69	4-7,4	3,9-4,2
Soja	37,6	18,3	6,3	22,0	4,69
Pois chiche	19,4-20	5-5,6	54,9-58	-	4

### 3.1.2. Légumineuse consommée en vert

Il existe un groupe de légumineuses dites potagères qui se sont développées plus récemment dans l'histoire de l'agriculture, et ils sont destinées pour l'alimentation humaine. Il s'agit de plusieurs légumes qui appartiennent exactement aux mêmes espèces que le pois sec, le haricot sec ou la féverole, telle que les « pois potagers » « haricots verts » et « fèves fraîches » mais sont consommés en frais (graines ou gousses immatures) et issus de cultivars de plus en plus différenciés de leurs homologues secs. Leur culture est souvent jardinée, mais il existe

de grands marchés (conservation, surgélation) qui ont induit des grandes structures de production souvent sous contrat avec un utilisateur industriel (Duc et *al.*, 2010).

### **3.2. Alimentation de bétail**

Les légumineuses fourragères sont exploitées pour leur partie aérienne riche en protéines et sont essentiellement destinées à l'alimentation animale (Duc et *al.*, 2010). De nombreuses légumineuses spontanées (*Medicago*, *Hedysarum*, *Trifolium*, *Onobrychis*, *Scorpiurus...*), très appréciées par le bétail et bien adaptées aux irrégularités des facteurs du milieu aride, voient la gamme de leurs diversités génétiques se réduire continuellement. Des mesures de sauvegarde s'imposent donc, pour mieux exploiter ces taxons locaux et repeupler les parcours dégradés (Ben Fadhel et *al.*, 2000). Les foin de légumineuses sont de bons fourrages complémentaires de l'ensilage de maïs car ils permettent de rééquilibrer la ration en Matière Azotée Totale (MAT) dégradables et ainsi de limiter l'apport de concentré azoté (Baumont et *al.*, 2016).

Le grand intérêt du Sulla (*Hedysarum coronarium L.*), réside dans sa bonne qualité fourragère, caractérisée par une teneur élevée en protéines (23%). Il est également réputé pour sa qualité de plante protectrice du sol contre l'érosion grâce à son couvert végétal bien développé, sa forme étalée (populations spontanées de l'Afrique du Nord) et son système racinaire abondant et profond (Noutfia, 2008).

D'une manière générale, les cultures fourragères classiques ont augmenté en même temps que l'accroissement du cheptel, constituant ainsi une ressource alimentaire assez importante. En hiver et au printemps, le bersim constitue souvent la seule ressource fourragère verte pour le cheptel bovin laitier, mais il est relayé en été par la luzerne pérenne et le sorgho dans certaines régions (Abdelguerfi et *al.*, 2008).

## **4. Exigences culturales des légumineuses**

### **4.1. Exigence édaphique**

La fève ne présente pas d'exigence spécifique au regard de la nature des sols. Cependant, la préférence est donnée au sol sablo-argileux humifié, et un pH neutre à légèrement alcalin (7-8,3). D'après, la fève croit mieux sur des sols à texture plus lourde, mais craint les sols légers (Marcel, 2002).

Le pois chiche n'est pas bien adapté aux zones de grande humidité, aux sols salins lents à se réchauffer au printemps ainsi qu'aux sols engorgés d'eau. Le semis du pois chiche n'est pas

préférable en terres basses, à proximité de marécages ou dans des sols à forte teneur en matières organiques, afin de prévenir une maturation inégale ou tardive (Skrypetz, 2006).

La lentille est une culture de saison fraîche avec une résistance modérée à la sécheresse et haute température, et généralement elle a besoin de jours longs pour fleurir. Elle peut se cultiver sur de nombreux types de sols, depuis les sols sableux à argileux assez lourds, la plante ne supporte pas les sols gorgés d'eau, et elle ne tolère ni l'inondation, ni la salinité. Un pH avoisinant 7 convient le mieux à la lentille (Brink et Belay, 2006).

L'effet de la salinité sur le haricot, la salinité du sol peut inhiber la croissance et le rendement du haricot à cause des équilibres ioniques, et de la réduction du potentiel hydrique de la plante. Le haricot commun est extrêmement sensible à la salinité et on estime qu'environ 5 à 30% des zones de production du haricot sont affectées par la salinité du sol (Ciat, 1992).

#### **4.2.Exigence thermique**

D'après, la fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas  $-3^{\circ}\text{C}$ . Les températures supérieures à  $23^{\circ}\text{C}$  sont néfastes pour la fève, elles provoquent la chute prématurée des fleurs, stimulent le développement de maladies virale et fongique et rend la plante susceptible à l'attaque des insectes ravageurs, une température moyenne aux alentours de  $13^{\circ}\text{C}$  est optimale pour la croissance de la fève (Zerihun, 2006).

Chez le pois-chiche la température exerce une forte influence sur les phases végétatives et reproductrices de pois chiche. La température optimale exigée par le pois chiche d'hiver varié entre  $18^{\circ}\text{C}$  et  $29^{\circ}\text{C}$  le jour et  $20^{\circ}\text{C}$  la nuit (Girard, 1985). La lentille pousse à des températures moyennes de  $12-27^{\circ}\text{C}$ , mais elle ne convient pas aux régions tropicales chaudes et humides.

Chez le haricot le cycle de végétation se déroule pendant les périodes les plus chaudes de l'année. La durée des stades de développement varie considérablement selon les variétés. En climat méditerranéen le semis s'effectue à partir de la fin avril allant jusqu'à fin mai. Le haricot est une plante très sensible au froid. Les fortes chaleurs de plus de  $32^{\circ}\text{C}$  sont préjudiciables, faisant avorter les fleurs (Diouf, 1997).

#### **4.3.Exigence hydrique**

La fève est très exigeante en humidité du sol surtout pendant les périodes initiales de son développement. Les phases de floraison et de développement des gousses présentent une

sensibilité élevée vis-à-vis d'un stress hydrique, raison pour laquelle il faut intervenir par arrosage ou irrigation en cas de faibles précipitations (Chaux et Foury, 1994).

Il a été établi que le pois chiche consomme la majeure partie de son eau dans les soixante premiers centimètres. Sa grande capacité d'absorption de l'eau dans le sol s'effectue grâce à son système racinaire très développé à cette profondeur (Duke, 1981). Le pois chiche résiste relativement bien à la sécheresse en raison de ses longues racines pivotantes.

Les lentilles nécessitent une pluviométrie annuelle d'environ 750 mm et un temps sec au moment de la récolte. Le cycle de croissance est 110 à 130 jours. La couleur des graines varie selon les variétés des plus pâles (vert pâle, blond, rose) au plus foncé (vert foncé, brun, violacé...) (Brink et Belay, 2006).

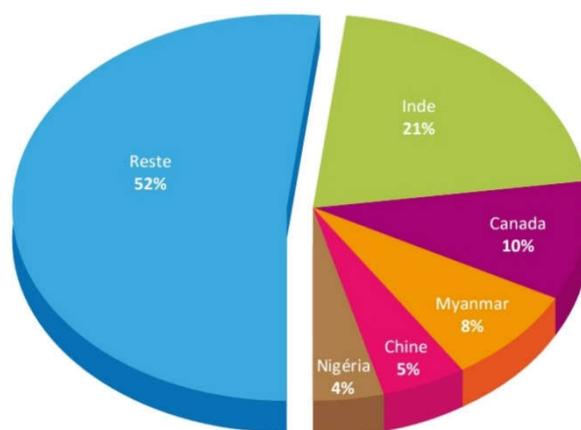
## **5. Répartitions des légumineuses dans le monde**

Les légumineuses font partie intégrante de l'alimentation humaine depuis des siècles. La production agricole de légumineuses remonte à 10 000 ans avant Jésus-Christ. Les légumes secs étaient un aliment noble ayant un énorme potentiel du point de vue du renforcement de la sécurité alimentaire dans le monde. Il s'agit d'aliments simples et nutritifs qui ne connaissent ni barrières géographiques, ni appartenances sociales ni culture. 1,300 millions de tonnes de légumineuses sont produites dans le monde, dont les deux-tiers pour le soja. L'Inde est le premier producteur mondial (FAO, 2016).

Les légumineuses sont une source de protéines végétales, elles sont utilisées notamment pour l'alimentation animale. Elles sont aussi la base alimentaire de certaines populations. Leur importance économique de plus en plus importante à déplacer des populations pour pouvoir en produire plus. Le soja, l'arachide, les haricots, les fèves et les lentilles sont les légumineuses les plus cultivées dans le monde (FAO, 2016). En 2016, de par son importance alimentaire dans le monde, la FAO a désigné l'année 2016 comme étant l'année internationale des légumineuses (FAO, 2016).

Si dans le passé, la consommation mondiale de légumineuses connaissait une tendance lente à la baisse aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés face à une consommation de blé, de soja ou de riz ainsi que de produits laitiers et de viande en progression, ce n'est plus le cas aujourd'hui la tendance s'est inversée (FAO, 2016).

Le déséquilibre entre la demande et la production de légumineuses, poussée par la demande croissante de produits protéiques d'origine végétale booste ce marché. Différentes études le montrent. Dans les pays développés, la consommation de légumineuses pour l'alimentation humaine serait en hausse : 40 % contre 20 % il y a trente ans. Une des raisons qui expliquerait cette hausse est la plus forte demande en produits à base de sources protéiques d'origine non animale, indiquent des études sur cette filière. En attendant de voir l'évolution de ce marché, notons que la production est en hausse. En 2018, elle était de 80 millions de tonnes portée par une forte demande en Inde qui fait partie des principaux producteurs (22 millions de tonnes) suivi du Canada (8 Mt) et de la Birmanie (6 Mt) selon FAO (Figure 2).



**Figure 2 :** Proportion de la production mondiale de légumineuses à graines (FAO,2018).

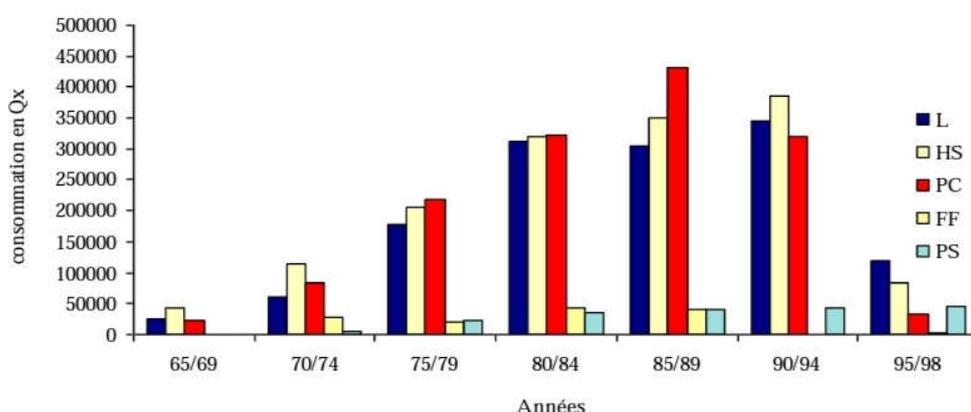
## 6. Evolution des légumineuses alimentaires en Algérie

En Algérie, la culture des légumineuses alimentaires a un intérêt national car leurs grains constituent une source protéique de qualité et à bas prix pour une large couche de la population. L'état souhaite développer la production afin de mieux satisfaire les besoins, de réduire les importations et de limiter la dépendance économique vis-à-vis de l'étranger. La libéralisation de l'agriculture a probablement des effets importants, dans la mesure où elle laisse la décision de l'assolement aux agriculteurs (Boudjenouia, 2003). Les principales légumineuses cultivées en Algérie sont la fève/féverole ainsi que le pois chiche, ces deux

cultures couvrent à elles seules l'équivalent de 79 % de la superficie totale allouée aux cultures de légumineuses secs. (Ministère de l'Agriculture du Développement Rural et de la Pêche 2016).

### 6.1. Evolution des consommations des légumineuses alimentaires

Évolution de la consommation des légumineuses alimentaires en Algérie de 1965 à 1994, la consommation du pois chiche, du haricot sec et de la lentille était très importante par rapport aux autres légumineuses alimentaires ; par contre, depuis 1995 jusqu'à 1998 leur consommation a diminué d'une manière brusque (figure 3).

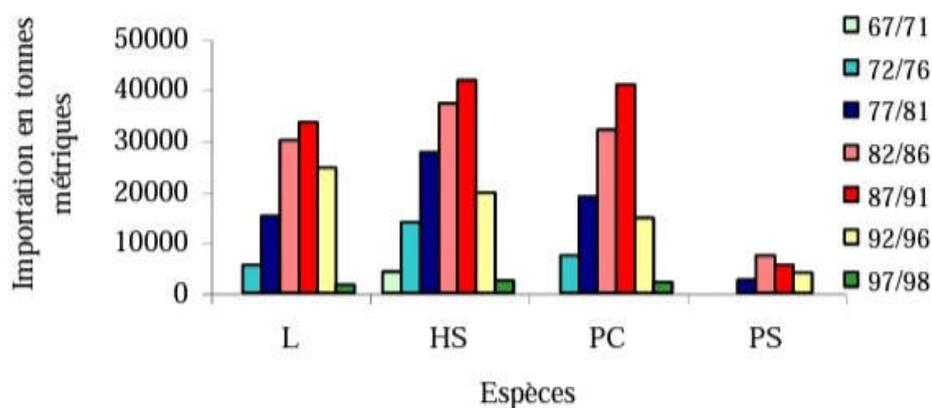


**Figure 3:** Évolution de la consommation des légumes secs en Algérie de 1965 à 1998 (L : Lentille ; HS : Haricot sec ; PC : Pois chiche ; FF : Fève féverole ; PS : Pois sec) (Laouer, 2001).

Par ailleurs, il est important de signaler que la consommation ne peut refléter les besoins réels. Ce dernier caractère est très corrélé positivement à la démographie, de ce fait, et compte tenu que le nombre d'habitants est en augmentation continue, nous estimons que les besoins sont aussi en croissance. Par déduction, nous pouvons dire que la régression en consommation de pois chiche, lentille et haricot sec est due particulièrement à la suppression des subventions qui ont engendré l'augmentation des prix. Ces aliments qui étaient destinés particulièrement aux citoyens à bas revenu, «aliment des pauvres », compte tenu de leur faible prix, ne le deviennent plus à partir de l'année 1995 (Laouer, 2001).

## 6.2. Evolution des importations des légumineuses alimentaires

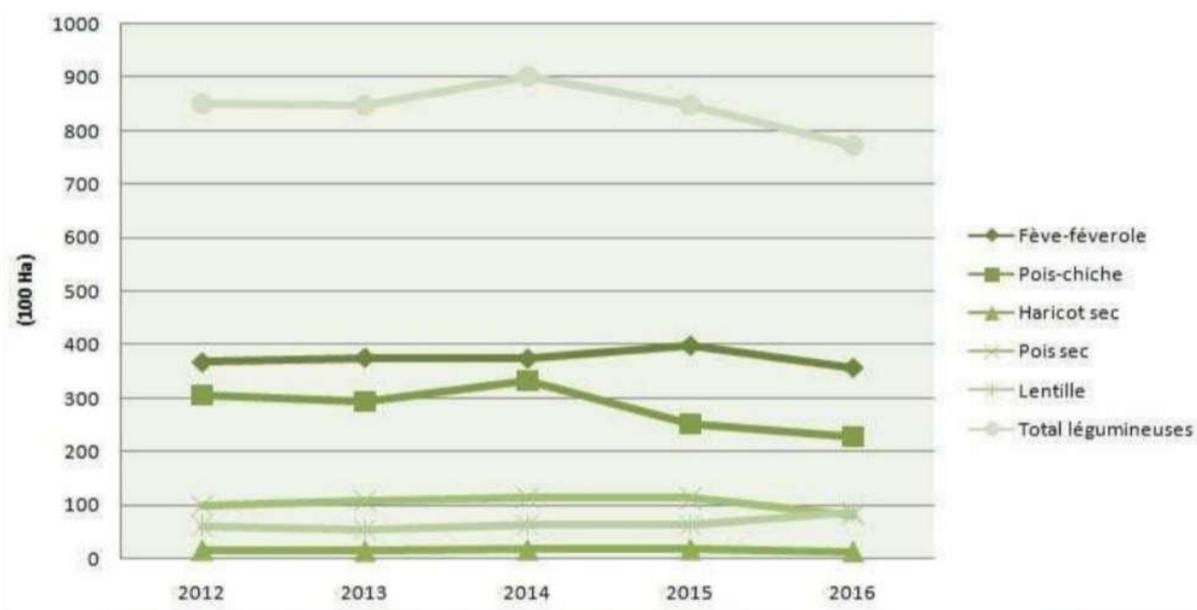
De 1972 à 1991 les importations (figure 4) pour la lentille (L), le haricot sec (HS) et le pois chiche (PC) étaient en accroissement. A partir de l'année 1992 les importations ont diminué brusquement pour atteindre moins de 5000 tonnes métriques pour l'ensemble des espèces. Rappelons qu'entre 1987 et 1991 les importations ont dépassé 30000 tonnes métriques. Pour le pois sec les importations sont de faible quantité, par contre pour la fève il n'y a pas d'importation (laouer, 2001).



**Figure 4 :** Évolution des importations des légumineuses alimentaires en Algérie, de 1967 à 1998 (Laouer, 2001).

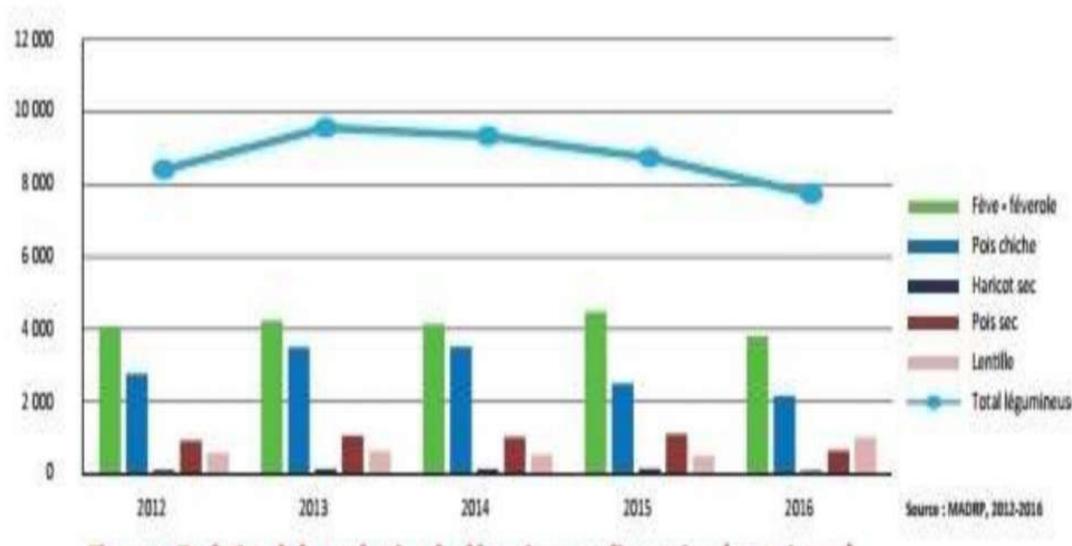
## 6.3. Evolution de la production et de la superficie des légumineuses alimentaires

Les superficies des légumineuses alimentaires sont chutées entre 2014 et 2016 à cause des conditions climatiques défavorables, elles sont passées de 90 507 en 2014 à 77 408 hectares en 2016, soit une réduction de 14% (figure 5) (Ghelem et al., 2017).



**Figure 5 :** Évolution de la superficie des légumineuses alimentaires (MADRP 2012-2016).

La production moyenne des légumineuses alimentaires, toutes espèces confondues, a régressé durant les campagnes agricoles 2013 à 2016, passant de 958 330 à 773 105 quintaux, soit une baisse de 19% (figure 6). Il faut souligner que ces cultures sont conduites en pluvial, mis à part la fève, qui est conduite en irriguée pour la consommation en vert (gousses) (Ghelem *et al.*, 2017).



**Figure 6:** Evolution de la production des légumineuses alimentaires (MADRP 2012-2016)

#### 6.4. Evolution des rendements des légumineuses alimentaires

Les rendements atteints annuellement pour chaque espèce ont connu une évolution notable au cours de la même période (2012/2016). Cependant, ces niveaux de productivité fluctuent beaucoup et restent très insuffisants pour couvrir les besoins de consommation de la population Algérienne (figure 7) (Ghelem et al., 2017).



Figure 7 : Évolution des rendements des légumineuses alimentaires (MADRP 2012-2016).

## *Chapitre 2 : Rhizobia*

## Chapitre 2 : *Rhizobia*

### 1. Définition

Le terme «*Rhizobia* » est dérivé du nom du genre *Rhizobium*, qui signifie « ce qui vit dans les racines ». À l'origine, le terme «*Rhizobia*» a été utilisé pour désigner les bactéries appartenant au genre *Rhizobium*. De nos jours, le terme général de *Rhizobium* recouvre une grande diversité bactérienne. *Rhizobia* est le nom communément attribué aux bactéries capables de former des nodules et de fixer l'azote en symbiose avec les légumineuses, alors que "*Rhizobium* " est un genre bactérien. Seule une partie de ces *Rhizobia* appartient à ce genre et de nouveaux genres ont été identifiés, tels que *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* (Zakhia et al., 2004 ).

### 2. Les caractères généraux de *Rhizobium*

#### 2.1 Caractères morphologique

Les *Rhizobiums* ou bactéries des nodosités racinaires sont des cellules de taille moyenne, en forme de bâtonnet, de 0,5 à 0,9 µm de largeur et de 1,2-3,0 µm de longueur. Ils ne forment pas d'endospores, sont à Gram négatifs et sont mobiles par un seul flagelle polaire ou par deux à six flagelles péritriches. Une coloration de Gram inégale est fréquemment rencontrée avec les *Rhizobiums*, selon l'âge de la culture. Les cellules d'une culture jeune et les bactéroïdes nodulaires présentent généralement une coloration de Gram uniforme, tandis que les cellules plus anciennes et plus longues donnent un aspect en bandes avec des zones non colorées. Ces zones non colorées ont été identifiées comme étant de gros granules d'acide polymère bêta-hydroxybutyrique (PHBA). Le PHBA est réfringent au microscope à contraste de phase (Hoben, 2012). (Figure 8).



**Figure 8 :** Représentation microscopique du *Rhizobium trifolii*(Vincent,1982).

## 2.2 Caractères biochimique

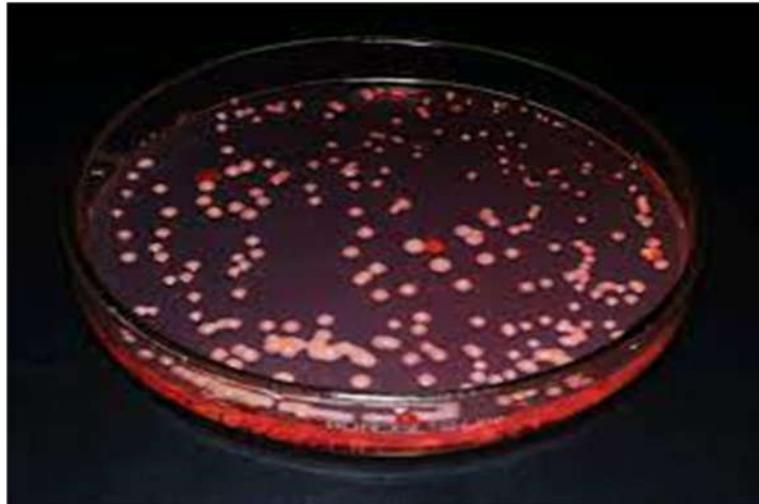
Les *Rhizobiums* sont principalement des chimioorganotrophes aérobies et sont relativement faciles à cultiver. Ils poussent bien en présence d'oxygène et utilisent des glucides et des composés aminés relativement simples. A l'exception de quelques souches, il n'a pas été constaté qu'elles fixaient azote (N) sous forme libre, sauf dans des conditions particulières. Certaines souches de *Rhizobium* ont besoin de vitamines pour leur croissance (Somosegran et Hoben, 2012).

## 2.3 Caractères physiologique

*Rhizobium* spp sont susceptibles de perdre rapidement leur viabilité dans l'eau. La croissance optimale de la plupart des souches se produit à une température comprise entre 25 et 30 °C et un pH de 6,0 à 7,0. Malgré leur métabolisme aérobic habituel, de nombreuses souches sont capables de bien se développer dans des conditions microaérophiles à des tensions d'oxygène inférieures à 0,01 atm (Somasegaran et Hoben, 2012).

## 2.4 Caractères cultureux

Caractères cultureux sur le milieu (YeastExtract Mannitol Agar) YEMA (figure 9), les *Rhizobia* forment des colonies circulaires bombées, aqueuses, translucides, laiteuses ou blanches opaques, productrices d'exopolysaccharide(EPS) (Somasegaran et Hoben, 1985).



**Figure 9:** *Rhizobium* sp sur milieu (YEMA)(Saranya,2016).

En fonction du temps de génération, les *Rhizobia* sont classées en deux grands groupes :

**a. Les *Rhizobia* à croissance rapide** avec un temps de génération de 2 à 4 heures, elles développent une turbidité remarquable dans un milieu de culture liquide après 2 à 3 jours. Elles sont capables d'utiliser une grande gamme d'hydrates de carbone (mais habituellement croissent mieux sur glucose, mannitol et saccharose). Les *Rhizobia* de ce groupe infectent généralement les légumineuses des régions modérées et chaudes (Bala et *al.*, 2004).

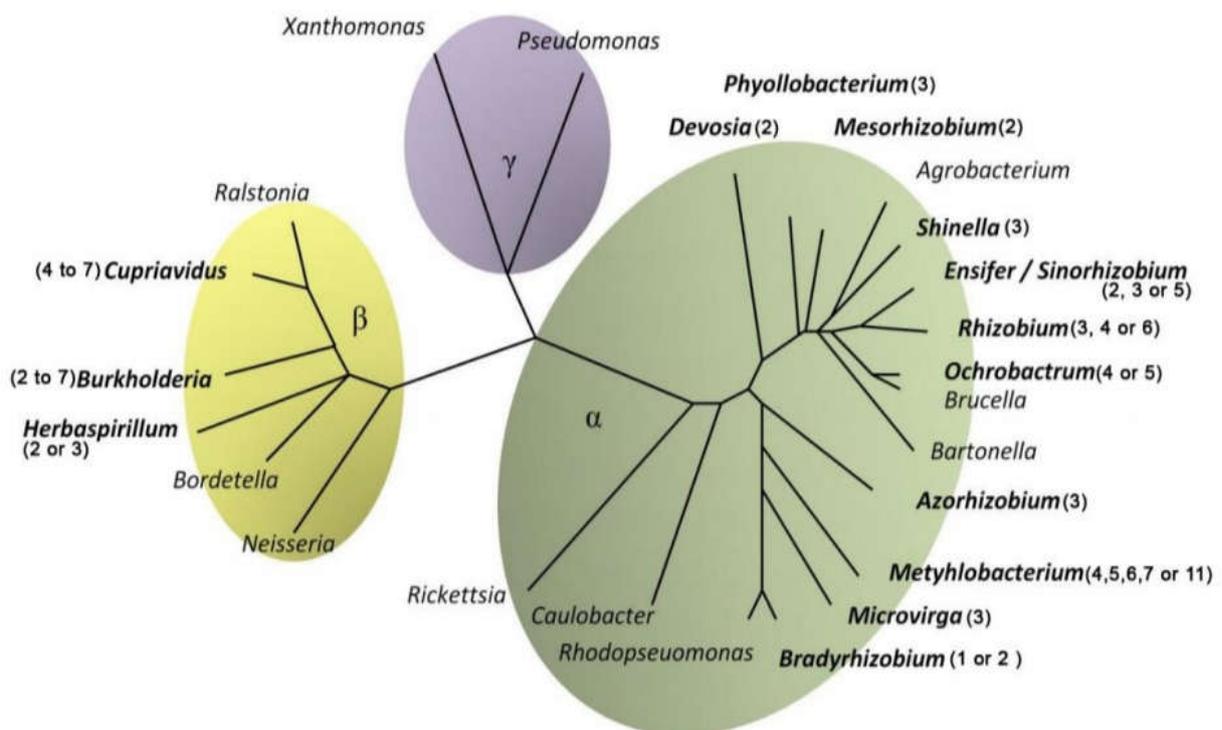
**b. Les *Rhizobia* à croissance lente** avec un temps de génération de 6 à 7 heures, elles exigent 3 à 5 jours pour la production d'une turbidité modérée dans un milieu liquide. Ce groupe de *Rhizobia* se développe sur une gamme moins large de sources de carbones et entraîne une production d'alcalis. La plupart des *Rhizobia* n'absorbe pas ou très peu le colorant de rouge congo sur le milieu YEMA (Somasegaran et Hoben, 1985).

## 3. Taxonomie des *Rhizobiums*

Des recherches approfondies ont été menées sur la diversité des *Rhizobia* au cours des 25 dernières années, de sorte que de nombreuses nouvelles espèces et genres ont été officiellement décrites (de Lajudie et *al.*, 2019). Au début des années 80 du siècle passé, toutes les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote étaient classées dans le genre *Rhizobium*,

avec six espèces nommées : *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. lupin* et *R. japonicum*. Actuellement, on compte environ 238 espèces réparties dans 18 genres (Shamseldin et al., 2016).

La plupart des *Rhizobia* connus appartiennent à la classe des  $\alpha$ -*Proteobacteria* et aux familles suivantes : *Rhizobiaceae* (*Rhizobium*, *Ensifer* (syn. *Sinorhizobium*), *Allorhizobium*, *Pararhizobium*, *Neorhizobium*, *Shinella*), *Phyllobacteriaceae* (*Mesorhizobium*, *Aminobacter*, *Phyllobacterium*), *Brucellaceae* (*Ochrobactrum*), *Methylobacteriaceae* (*Methylobacterium*, *Microvirga*), *Bradyrhizobiaceae* (*Bradyrhizobium*), *Xanthobacteraceae* (*Azorhizobium*) et *Hyphomicrobiaceae* (*Devosia*), et certains appartiennent aux genres des  $\beta$ -*Proteobacteria* de la famille des *Burkholderiaceae* (*Paraburkholderia*, *Cupriavidus*, *Trinickia*) (Figure 10), (Estrada-de los Santos et al., 2018).



**Figure 10 :** Arbre phylogénétique basé sur les séquences d'ARNr 16S des *Protéobactéries* (Masson-Boivin et al., 2009).

Cet arbre phylogénique montre la distribution des genres bactériens nodulants (en caractère gras) dans les classes  $\alpha$ -*Proteobacteria* et  $\beta$ -*Proteobacteria*.

### 3.1 Principaux *Rhizobia* et leur hôte

Les *Rhizobiums* appartiennent à la sous-division *AlphaProteobacteria*. Lorsqu'il a été reconnu que le spectre d'hôtes (Tableau 2) n'était pas le seul critère à prendre en compte pour la classification des *Rhizobiums*, les espèces de *Rhizobium* ont d'abord été reclassées en deux genres, le genre *Rhizobium* révisé comprenant les souches à croissance rapide, et le nouveau genre *Bradyrhizobium*, créé pour la celles à croissance lente (Jordan, 1982).

**Tableau 2:** Classification des *Rhizobiums* et leur plante-hôte (Zakhia et de Lajudie, 2001).

Espèces	Plante –hôte
<b><i>Rhizobium</i></b>	
<i>R. leguminosarum</i>	
Biovar viclae	<i>Pisumsativum, Vicia, Lathyrus, Lens</i>
Biovar trifolii	<i>Trifolium pratense</i>
Biovar phaseoli	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>R. tropici</i>	
TypeII A	<i>Phaseolus vulgaris, Leucaenaleucocephala</i>
TypeII B	<i>Phaseolus vulgaris, Leucaenaleucocephala</i>
<i>R. etli</i>	
Biovar phaseoli	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Biovar mimosae	<i>Mimosa affinis, Leucaenaleucocephala, Phaseolus vulgaris L.</i>
<i>R. hainanense</i>	<i>Desmodium sinuatum &amp; otherplants of aridregions</i>
<i>R. gallicum</i>	
Biovar gallicum	<i>Phaseolusvulgaris</i>
Biovar phaseoli	<i>Phaseolusvulgaris</i>
<i>R. mongolense</i>	<i>Medicagoruthenica</i>
<i>R. galegae</i>	
Biovar orientalis	<i>Galega orientalis</i>
Biovar officinalis	<i>Galegaofficinalis</i>
<i>R. giardinii</i>	
Biovar orientalis	<i>Phaseolusvulgaris</i>
Biovar officinalis	<i>Phaseolusvulgaris</i> <i>Sesbania herbacea</i>
<i>R. huautlense</i>	
<b><i>Mesorhizobium</i></b>	
<i>M. loti</i>	<i>Lotus corniculatus</i>
<i>M. huakui</i>	<i>Astragalus sinicus, Acacia</i>
<i>M. ciceri</i>	<i>Cicer arietinum.</i> <i>TianshanenseGlycyrrhizapallidiflor&amp;tropical plants</i>
<i>M. mediterraneum</i>	<i>Cicer arietinum</i>
<i>M. plurifarium</i>	<i>Acacia, Prosopis</i>
<i>M. amorphae</i>	<i>Amorpha fruticosa</i>

**Sinorhizobium**

*S. meliloti* *Medicago, Melilotus, Trigonella*

*S. fredii*

Chemovarfredii *Glycine max*

Chemovarsiensis *Glycine max*

*S. Sahelense* *Sesbania spp*

biovaracalae *Acacia spp.*

biovarsesbaniae *Sesbania spp.*

*S. teranga*

biovaracalae *Acacia spp.*

biovarsesbaniae *Sesbania spp.*

*S. medicae* *Medicago*

*S. kostiense* *Acacia, Prosopis*

*S. arboris* *Acacia, prosopis*

**Azorhizobium**

*A. Caulinodans* *Sesbania rostrata*

*Azorhizobiumsp.* *Sesbania rostrata*

**Bradyrhizobium**

*B. japonicum* *Glycine max, Glycine soja*

*B. elkanii* *Glycine max*

*B. liaoningense* *Glycine max, Glycine soja*

*Bradyrhizobiumsp.* *Vigna, Lupinus, Mimosa*

*Acacia*

*Aeschynomene*

**Allorhizobium**

*A.undicola* *Neptunianatans*

---

**4 Techniques moléculaires pour caractériser les Rhizobia**

**4.1 Méthodes génétiques**

Les techniques de génotypage font pratiquement toujours appel à la réaction de polymérase en chaîne (en anglais polymerase chain Reaction; PCR) qui permet d'amplifier in vitro et de manière exponentielle des séquences d'ADN cibles délimitées par de courtes amorces, et ainsi générer des empreintes plus ou moins spécifique à chaque souches (Versalovic *et al.*, 1991). Cependant, des études ont montré l'existence de séquences chimériques d'ARNr 16S parmi les BNL (Eardly *et al.*, 1996) ainsi que des transferts latéraux de gène d'ARNr 16S entiers chez les souches de *Mesorhizobium* (Sullivan *et al.*, 1996).

Des méthodes d'analyse et de comparaison de l'ensemble de génome, comme hybridation ADN-ADN ( Klappenbach *et al.*, 2007). Le pourcentage de C+G ou la cartographie chromosomique contribuent également à mieux définir le signaleur génétique d'une souche d'une manière générale, le pourcentage observé ne dépasse pas 3% pour une espèce bien

définie et pas plus de 10% pour un genre. Ce taux varie entre 24% et 76% dans le monde bactérien. Pour les BNL, ce taux varie de 95% (*Rhizobiums*) à 72,4% (*Methylobactérium*) (Stackebrandt et Liesack, 1993).

Plus récemment, plusieurs techniques de typage direct de l'ADN ont été développées et sont appliquées pour la description de nouveaux taxons de BNL. Cestestechniques sont AP-PCR (Arbitrarily Primed PCR), RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA analysis), DAF (DNA Amplified Fingerprinting). Dans l'étude de BNL, cestestechniques ont été appliquées sur les genres *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* et *Agrobactérium*(de Bruinj, 1992).

#### **4.2 Spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage et l'identification des *Rhizobia***

La spectrométrie de masse par MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight) est une technique analytique utilisée pour identifier des organismes sur la base de leurs profils protéiques. Généralement, avec cette méthode il suffit d'une fraction d'une colonie bactérienne prélevée d'une gélose pour obtenir un profil de masses qui est spécifique à la souche analysée (Seng et *al.*, 2009). Il a été démontré que le MALDI-TOF était un outil fiable et rapide pour identifier des souches de *Rhizobia*, non seulement lorsque les bactéries sont à l'état libre, mais aussi lorsque les *Rhizobias* sont à l'intérieur des nodosités sous forme de bactéroïdes y compris pour des souches génétiquement proches telles *S. fredii* NGR234 et USDA 257. Par la suite, la spectrométrie de masse a été validée comme un outil rapide et fiable pour identifier un large éventail de *Rhizobia* isolés à partir de nodosités de différentes légumineuses collectées en Australie, Côte d'Ivoire et au Kenya (Ndungu et *al.*, 2018).

#### **5. Diversité des *Rhizobia* en Algérie**

Les études sur les légumineuses et leurs microsymbiotes se sont multipliées ces dernières années au Maghreb (Tunisie, Maroc, Algérie) en raison de l'endémisme de certaines espèces et leur présence spontanée dans différents milieux (Merabet, 2007). En Algérie, beaucoup d'études ont été réalisées sur les légumineuses spontanées et endémiques (Quezel et Santa, 1962), notamment celles sur les *Medicago* annuelles et cultivées et sur le trèfle (Issolah et Abdelguerfi, 1995). Sebbane et *al.* (2006) ont réalisé une étude de caractérisation des bactéries isolées des espèces annuelles de *Medicago* dans la vallée du Soummam et découvrent que

l'espèce *Medicago orbicularis* est associée à une souche STM 966 proche de *R. galegae* (Zakhia et al., 2004).

Certains auteurs se sont plus intéressés aux légumineuses spontanées de quelques zones salées de l'Algérie et ont étudié la diversité des bactéries associées (Bekki et al., 1999), ces chercheurs ont essayé de comprendre les mécanismes qui ont permis l'établissement et le maintien de l'association *Rhizobia/ Medicago* présentes dans les Sebkhass. Dans les zones arides du sud de l'Algérie ont identifié des nouvelles molécules d'exopolysaccharides (EPS) produites par la souche KYGT207 identifiée comme *R. sullae* et qui semble favoriser l'acquisition de l'eau et des nutriments dans la rhizosphère de *Triticum durum* L. (Kaci et al., 2005).

Parallèlement, moins d'études ont été réalisées sur leurs partenaires symbiotiques. Les travaux les plus importants sont ceux de Benhizia et al., (2004) qui ont démontré pour la première fois que des bactéries nodulant les légumineuses (BNL) de la classe des *Gammaproteobacteria* étaient isolées de nodules de *Hedysarum* (*H. carnosum*, *H. spinosissimum* et *H. pollidum*). Dans la littérature, les BNL spécifiques à *Hedysarum coronarium* ont été identifiées comme *Rhizobium sullae* (Benhizia et al., (2004).

## **6. Mise en place et fonctionnement de la nodosité**

La mise en place de l'interaction symbiotique *Rhizobia*-Légumineuses peut être divisée en 3 étapes fondamentales qui sont (1) la reconnaissance et le dialogue moléculaire entre les deux partenaires, (2) l'infection bactérienne et (3) l'organogénèse de la nodosité (Lindström et Mousavi, 2020).

### **6.1 Reconnaissance et dialogue moléculaire**

L'établissement de la symbiose *Rhizobium*-Légumineuse débute par la reconnaissance entre les deux partenaires, initiée par un dialogue moléculaire complexe. En condition de carence azotée, la plante sécrète, par ses exsudats racinaires, une panoplie de molécules comprenant notamment des flavonoïdes qui pourront être reconnus par des *Rhizobia*. La reconnaissance est spécifique, la composition de l'exsudat définissant un spectre d'hôte pour chaque *Rhizobium*. Les flavonoïdes excrétés par la plante vont être liés à un récepteur de la bactérie, NodD, et permettre tout d'abord l'attraction par chimiotactisme des bactéries vers la racine.

D'autre part, l'activation du récepteur NodD va induire l'expression des opérons de nodulation *nod*, *noletnoe*. L'expression de ces gènes va alors permettre la synthèse et la sécrétion de lipochitooligosaccharides (LCO) communément appelés facteurs Nod ou FN. Les FNs sont constitués d'un squelette d'oligosaccharide formé d'une chaîne de 3 à 5 molécules de N-acetyl-D-glucosamine et de groupements d'acides gras ajoutés aux différents sucres non-réducteurs du squelette (Perret et *al.*, 2000). La reconnaissance des FNs par la plante sera ensuite essentielle pour induire les modifications cellulaires indispensables aux étapes d'infection et d'organogenèse de la nodosité (Suzaki et *al.*, 2015).

## **6.2 Infection et formation du primordium nodulaire**

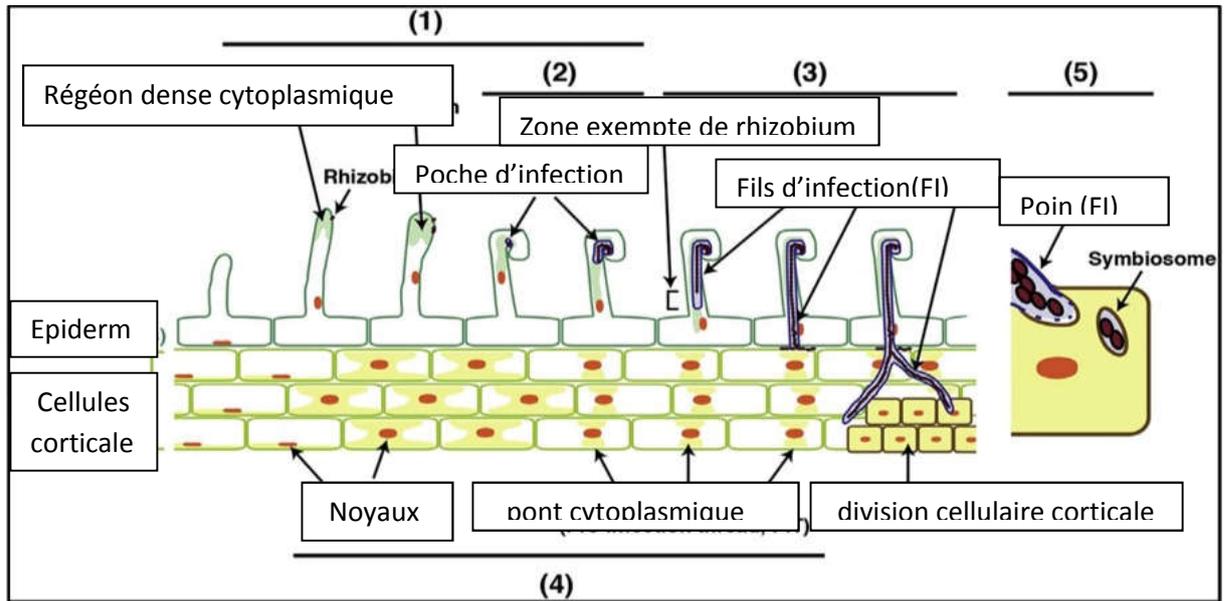
### **6.2.1 L'infection bactérienne**

Suite à la perception des FNs, l'infection bactérienne débute par une déformation du poil absorbant en une structure courbée dite de « crosse de berger » (Figure 11A) (Suzaki et *al.*, 2015). Cette courbure, liée à une réorientation isotopique de la croissance du poil absorbant, emprisonne dans une poche les bactéries qui se multiplient et dégradent localement la paroi végétale. Les bactéries progressent ensuite dans le poil absorbant, en se divisant, via un cordon d'infection formé par invagination de la membrane plasmique (Figure 11B). La progression des bactéries au sein des cordons est assurée par la synthèse bactérienne d'exopolysaccharides (EPS) et le remodelage de la paroi végétale (Jones et *al.*, 2007). Au stade final de l'infection, les bactéries sont délivrées dans les cellules du cortex par endocytose. Les bactéries sont ainsi séparées du cytoplasme de la cellule végétale par une membrane dite peribactéroïdienne, d'origine végétale. La structure ainsi formée est appelée le symbiosome au sein duquel la bactérie se différencie en bactéroïde.

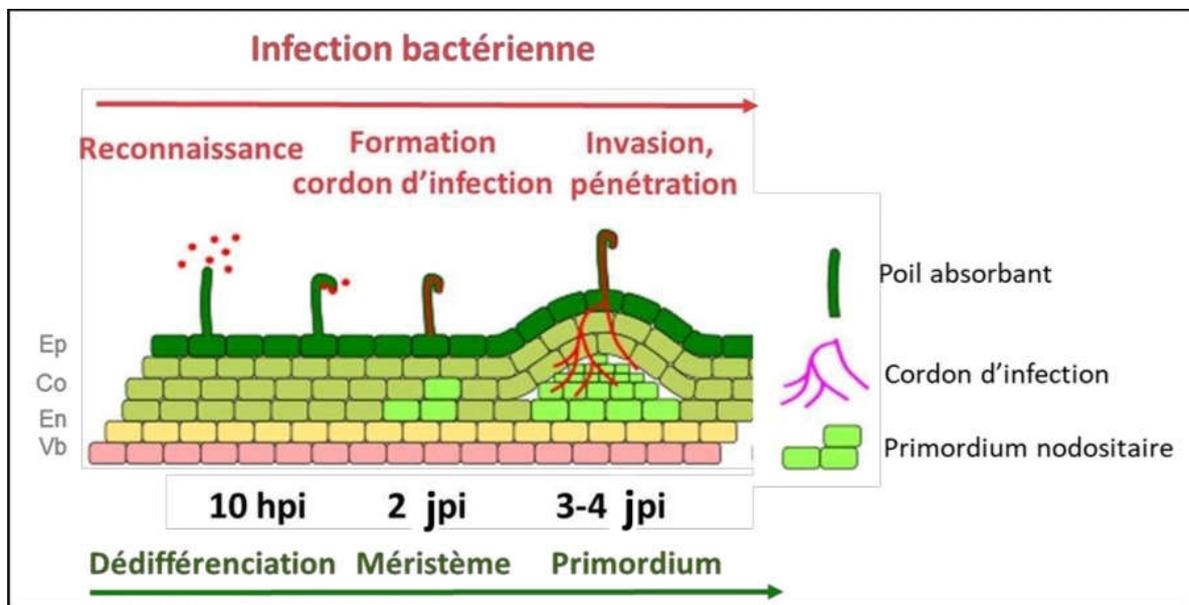
### **6.2.2 Formation du primordium nodositaire**

Simultanément à l'infection bactérienne, en réponse aux FNs, les cellules du péricycle et corticales situées sous le cordon d'infection vont se différencier puis se multiplier pour former un primordium nodositaire. Les premières divisions actives débutent environ 24h après l'infection. Le primordium nodositaire est formé 18 à 24h après infection. Les bactéries seront libérées, depuis le cordon d'infection, dans les cellules du primordium nodositaire environ 3 jours après infection. Enfin, 80h après infection, le méristème nodositaire est formé à partir des cellules primordiales des cortex médian et externe non infectées par les cordons d'infection (Xiao et *al.*, 2014).

A



B



**Figure 11** : Infection bactérienne et formation du primordium nodosaire (Suzaki et al., 2015).

### 6.3 Organogénèse de la nodosité indéterminée

La nodosité formée est de type indéterminé, caractérisée par la présence d'un méristème persistant. Il s'agit donc d'un organe à croissance continue. Les cellules à l'extrémité distale de la nodosité se divisent en continu conférant à la nodosité une forme allongée caractéristique. De plus, les cellules végétales ne seront par conséquent pas au même stade de développement au même instant. De ce fait, la nodosité mature peut être divisée en 4 zones correspondant chacune à un stade de développement différents: zone I : zone méristématique, zone II : zone d'infection, zone III : zone de fixation et zone IV : zone de sénescence (Figure 12) (Jones et al., 2007).

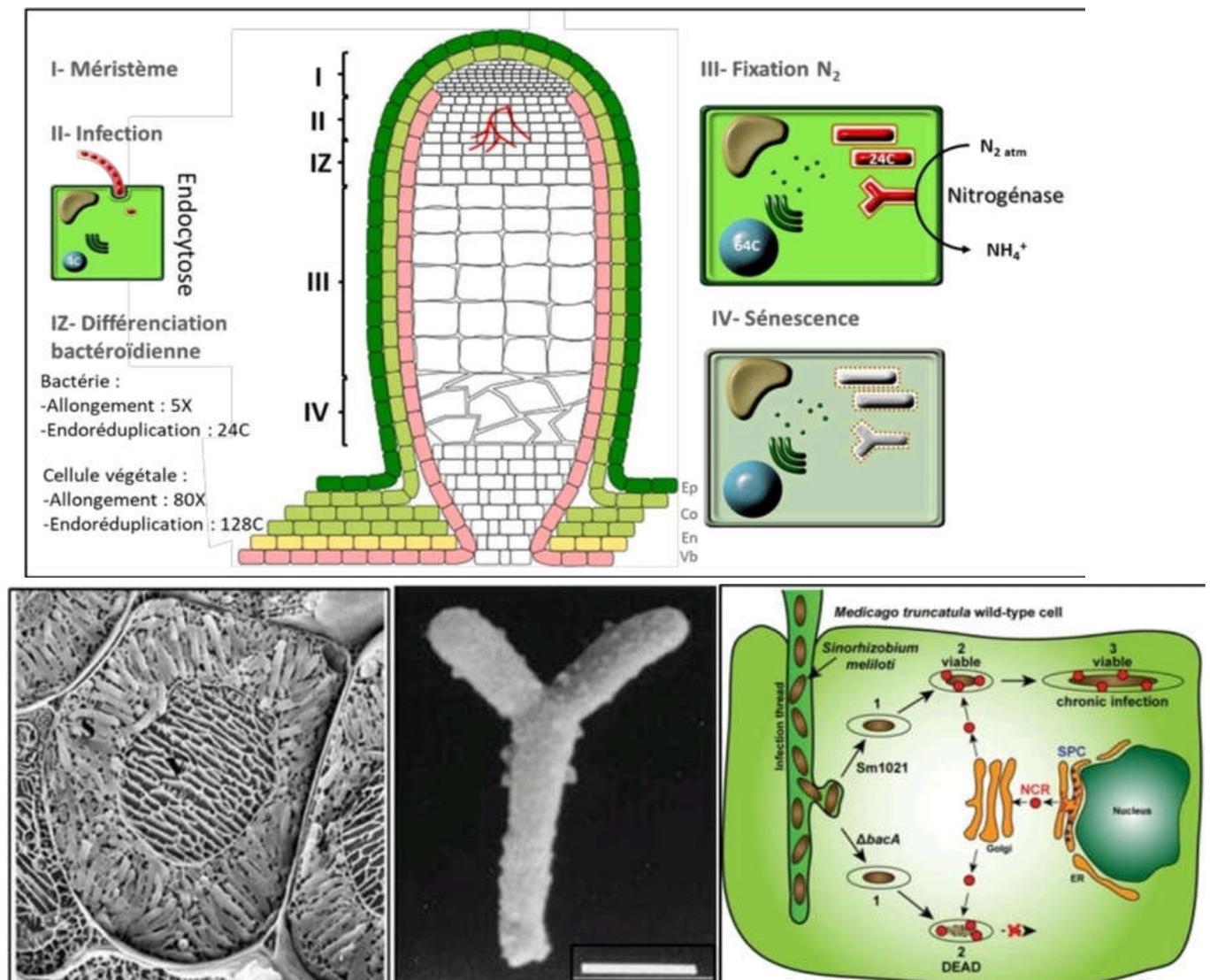
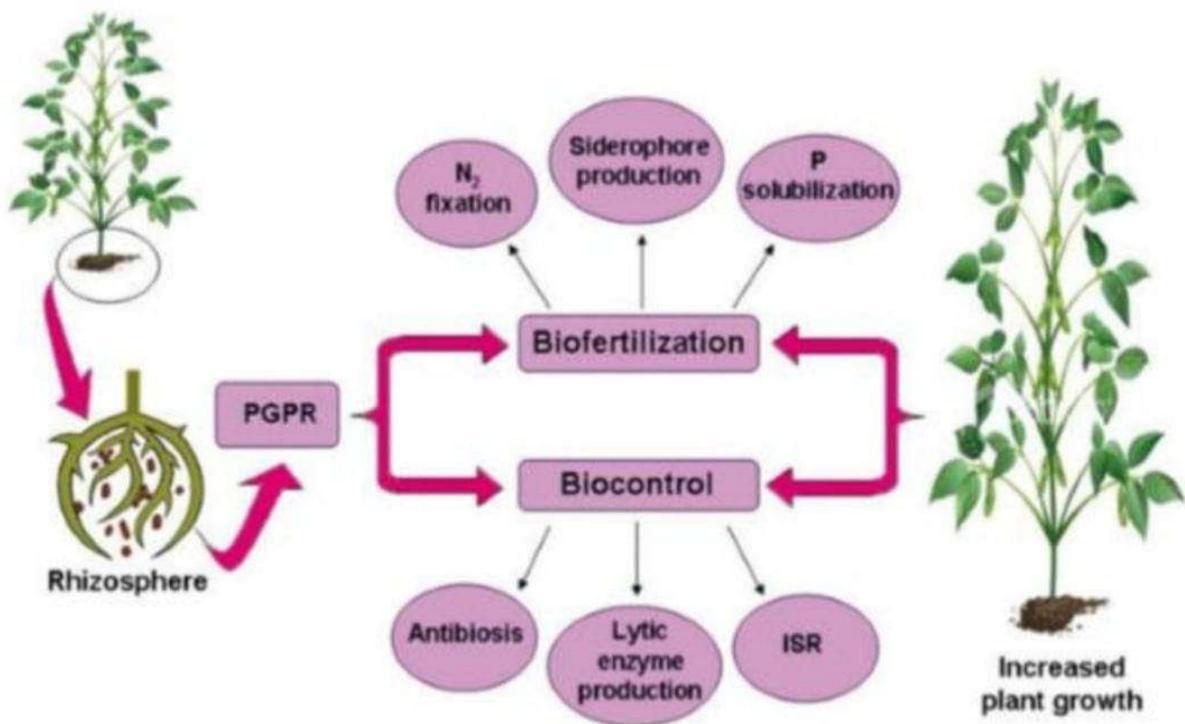


Figure 12 : Organogénèse de la nodosité de *Medicago* (Suzaki et al., 2015).

### *Chapitre 3 : Effet PGPR des Rhizobiums*

### Chapitre 3 : Effet PGPR des *Rhizobiums*

Les PGPR jouent un rôle important dans l'amélioration de la croissance des plantes à travers une grande variété de mécanismes. Le mode d'action du PGPR qui favorise la croissance des plantes comprend (i) la tolérance au stress abiotique chez les plantes ; (ii) la fixation des éléments nutritifs pour une absorption facile par la plante ; (iii) régulateurs de croissance des plantes ; (iv) la production de sidérophores ; (v) la production de composés organiques volatils ; et (vi) la production d'enzymes de protection telles que la chitinase, la glucanase et l'ACC-désaminase pour la prévention des maladies des plantes (figure 13). Cependant, le mode d'action des différents PGPR varie selon le type de plantes hôtes (García-Fraile, 2015).



**Figure 13 :** Promotion de la croissance des plantes par les Rhizobactéries (Appanna et al., 1987).

## 1. Fixation d'azote

L'azote est le principal nutriment des plantes. En plus d'être le plus important, c'est aussi un facteur limitant de l'écosystème agricole en raison de sa perte par les précipitations et le lessivage des minéraux. Plusieurs espèces de bactérie vivent à la surface des racines des plantes ou dans les tissus de certains végétaux sont capables de transformer l'azote en ammoniacque utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase qui est rapidement transformé en nitrite (Figure 14) (Burris et Roberts, 1993).

Les organismes fixateurs d'azote sont généralement classés comme (a) Bactéries symbiotiques fixatrices de  $N_2$  dont les membres de la famille des *Rhizobiaceae* qui forment une symbiose avec les plantes légumineuses (par exemple *Rhizobium*) et des arbres non légumineux (par exemple *Frankia*) et (b) non symbiotiques (vie libre, Associatives endophytes) les formes fixatrices d'azote comme les cyanobactéries (*Anabaena*, *Nostoc*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter Diazotrophicus* et *Azocarus* etc). Donc, *Azospirillum* a été initialement sélectionné pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique ( $N_2$ ), et depuis le milieu d'années 1970, il a toujours été très prometteur PGRP (Dobbela et al., 2003).

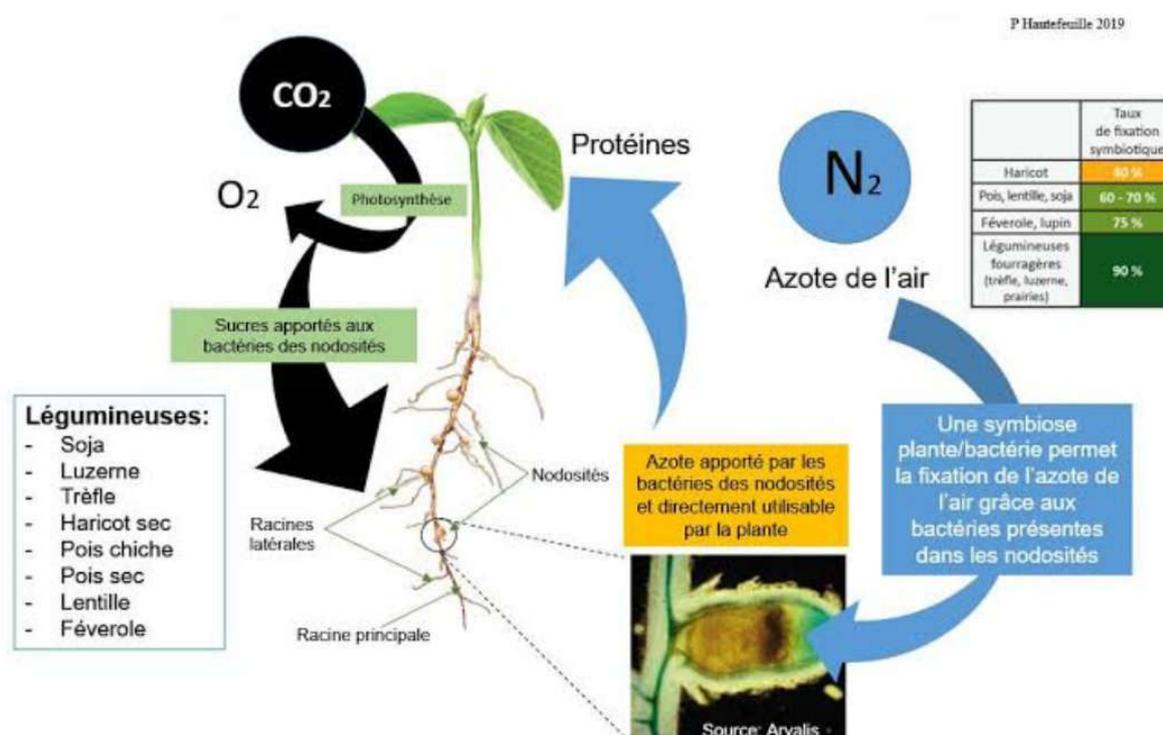


Figure 14 : Assimilation de l'azote de l'air par les légumineuses.

*Phaseolus vulgaris L*, est une légumineuse capable de noduler par au moins 27 espèces de *Rhizobiums* par le biais de quatre genres de bactéries, isolées de nodules de *P. vulgaris L* et d'autres légumineuses d'où l'origine de symbiovars. Il est donc considéré comme un hôte à haute promiscuité (Shamseldin et Velázquez, 2020). Ces espèces de *Rhizobiums* et symbiovars sont génétiquement hétérogènes d'origines différentes appartenant aux phylum *Alpha-Protéobactéries* et *Bêta-Protéobactéries* (Peix et al., 2015). Cette promiscuité du haricot est considérée comme négatif car ces espèces ne sont pas toutes infectives et efficaces à la fois. C'est-à-dire qu'il existe des espèces qui sont capables d'induire la nodulation mais ne fixent que des quantités d'azote médiocres voire nulles (Pastor-Bueis et al., 2019).

Les chercheurs ont étudié les facteurs affectant l'efficacité de la sélection pour une augmentation de la fixation de  $N_2(C_2H_2)$  chez *Pisum sativum L*. Dix génotypes, antérieurement sélectionnés pour la variabilité du taux de fixation lorsqu'on leur inocule un mélange commercial de souches de *Rhizobium leguminosarum*, ont été examinés à l'aide d'inoculum de souche pure (128C52 et 10004) (Hobbs et Mahon, 2011).

## **2. Solubilisation de phosphate**

Le phosphore est considéré comme un nutriment essentiel pour la plante. Une grande quantité de phosphore est présent dans le sol sauf que les plantes ne peuvent pas l'utiliser sous forme insoluble. Elles peuvent l'absorber que sous deux formes solubles, les ions monobasiques ( $H_2PO_4$ ) et dibasique ( $2HPO_4$ ). Il existe plusieurs microorganismes solubilisant les phosphates (PSM) qui peuvent convertir la forme insoluble du phosphore en forme soluble par acidification, sécrétion d'acides organiques ou de protonset réactions de chélation et d'échange pour être absorber par la plante (Zaidi et al., 2009).

Plusieurs genres bactériens comme *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Serratia* sont signalé comme les plus importante bactéries solubilisant le phosphate (Paharietal.,2020).Les rhizobactéries peuvent solubiliser les sources inorganiques de phosphore et améliorent la croissance et le rendement des plantes cultivées. La capacité des PGPR à solubiliser le phosphate minéral a donc été d'un immense intérêt pour les microbiologistes agricoles car il peut améliorer la disponibilité de phosphore pour une croissance efficace des plantes.Les PGPR ont été enregistrés pour solubiliser les phosphates précipités en plantes, représentant un mécanisme possible de promotion de la croissance des

plantes dans des conditions de terrain. En outre les PGPR solubilisant les phosphates en tant qu'inoculats du sol accélérant la résistance naturelle de la plante hôte contre les phytopathogènes car ils peuvent libérer plusieurs composés qui supprime la croissance des pathogènes fongique et bactériens et par conséquent améliorant la croissance des plantes et développement (Pahari et al.,2020).

Dans une étude sur quarante-six isolats de *Rhizobium* provenant de nodules de racines et de tiges de légumineuses ont été examinés pour leur capacité à solubiliser les phosphates sur le milieu gélosé de Pikovskaya. Des isolats de *Rhizobium* provenant de nodules racinaires de *Cassiaabsus*, de *Vignatrilobata* et de trois souches de *Sesbania sesban* ont montré une zone de solubilisation du phosphate tricalcique (TCP). L'isolat de *C.absus* a montré une solubilisation maximale (620 µg/ml) après 12 jours d'incubation, tandis que le *Rhizobium sp.* La souche 26 (de *S. sesban*) a montré la moindre quantité (150 µg/ml) de solubilisation du phosphate (Sridevi et Mallaiah, 2009).

### 3. Biofertilisation

Les *Rhizobiums* utilisés comme biofertilisants sont une alternative prometteuse à l'application d'engrais chimiques, respectueuse de l'environnement et moins coûteuse (Benaissa, 2019). En zone sahélienne d'Afrique de l'Ouest, l'utilisation de légumineuses herbacées et arborescentes apparaît comme une pratique prometteuse dans la lutte contre l'appauvrissement des sols et la restauration de la fertilité, leur importance du point de vue agronomique et écologique est largement liée à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique en association avec des *Rhizobiums*. L'inoculation avec des souches de *Rhizobium* sélectionnées pour leur fort potentiel fixateur d'azote permet souvent une nette amélioration des rendements des cultures de ces légumineuses.

Au Mali, des plantations de *Dolichoslablab* (*Lablabo purpureus*) inoculées avec des *Rhizobiums* ont été mises en place dans des jachères, soit en culture pure, soit en association avec du maïs. L'effet des inoculations a été en général négligeable. Cela pourrait s'expliquer par le faible pouvoir de compétition des souches inoculées vis-à-vis des souches indigènes, ou par leur inadaptation aux conditions environnementales. Il est donc nécessaire d'approfondir les connaissances sur l'écologie de ces bactéries dans les sols sahéliens, afin de sélectionner les souches les plus performantes (Yattara, 1997).

#### 4. Agent de lutte biologique

Il a été démontré que les rhizobactéries non pathogènes suppriment la maladie en induisant un mécanisme de résistance dans la plante appelée « résistance systémique induite » (ISR). La résistance induite est l'état d'une capacité défensive améliorée développée par les plantes lorsqu'elles sont stimulées de manière appropriée (Van Loon et *al.*, 1998). L'ISR était anciennement décrit par (Van Peer et *al.*, 1991). Dans l'œillet Plantes qui étaient systématiquement protégées par le *P. fluorescent* Souche WCS417r contre *F. oxysporum* sp. *dianthi* (Wei et *al.*, 1991). Dans des plantes de concombre, où les rhizobactéries protégeaient les feuilles contre l'antracnose causée par *Colletotrichum Orbiculare*.

La (ISR) médiée par les rhizobactéries ressemble à la résistance systémique acquise (RAS) induite par les agents pathogènes en ce que les deux types de résistance induite rendent les parties de plantes non infectées plus résistantes aux pathogènes des plantes y compris fongique, bactérienne et virale pathogènes, ainsi que des nématodes et des insectes. La même souche induit une résistance contre plusieurs agents pathogènes dans une même plante (Somers et *al.*, 2004).

Les cellules vivantes de *Rhizobium leguminosarum* et les cellules tuées par la chaleur protègent totalement les plantes de lentille contre l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* MR 84. Le filtrat de culture de *Rhizobium* protège également les plantes à un niveau élevé. Cependant, quand elles sont inoculées séparément de l'agent pathogène, les cellules vivantes de *Rhizobium* ne protègent plus les plantes, tandis que le filtrat de culture et les cellules tuées de *Rhizobium* les protègent encore. Ces résultats suggèrent que *Rhizobium* ne peut protéger les plantes que s'il est en interaction directe avec le pathogène, alors que le filtrat de culture et les cellules tuées de *Rhizobium* peuvent les protéger, même en absence de cette interaction. Le filtrat de culture et les cellules tuées de *Rhizobium* renfermeraient des signaux capables d'induire la résistance des plantes au pathogène. Ces signaux seraient réprimés dès que *Rhizobium* entre en contact avec les plantes (Haiat, 2003).

#### 5. Production des sidérophores

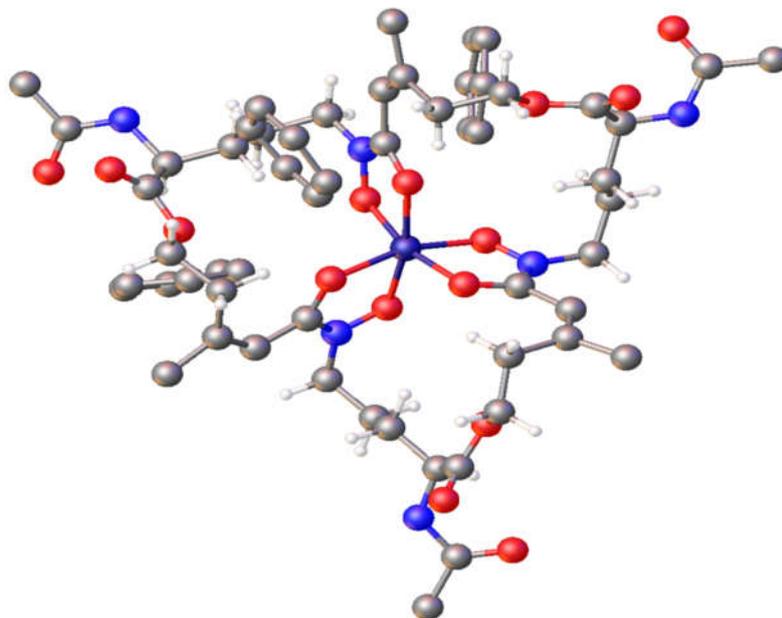
Le fer est un nutriment essentiel pour les plantes et les microorganismes qui participent à divers processus biosynthétiques de la chlorophylle, la chaîne de transport électronique, le transport d'oxygène, la respiration, la biogénèse thylakoïde et de nombreux autres processus.

Plusieurs enzymes, essentielles pour les processus cellulaires, contiennent des résidus ferriques comme cofacteurs (Kobayashi et Nishizawa, 2012).

Dans le sol, rhizobacteria libère une grande variété de composés organiques de faible poids moléculaire à faible teneur en fer à fortes affinités, qui ont une affinité distincte version. Les sidérophores sont des métabolites secondaires qui récupèrent le fer des stocks environnementaux et l'approvisionnement aux cellules via des récepteurs spécifiques. Ces sidéropathes comme métabolites secondaires, sécrétés de la PGPR, peuvent affecter d'autres membres de la communauté par le biais d'interactions coopératives et concurrentielles (Kramer et *al.*, 2020). Les sidéropathes forment des complexes ferriques solubles et aident à augmenter la disponibilité du fer aux plantes et à des micro-organismes grâce à des canaux de transporteur spécifiques sous la famine de fer (Rajkumar et *al.*, 2010). Les complexes sidérophores sont absorbés par la cellule (Figure 15). Il a été rapporté que les *Rhizobiums* produisent un certain nombre de sidérophores. Ceux-ci comprennent la rhizobactine ( *S. meliloti* ), le citrate ( *B. japonicum* ), l'anthranilate *leguminosarum biovar viciae viciae*, le catéchol ( *R. leguminosarum* , *Bradyrhizobium*( niébé ) , *Bradyrhizobium*( cacahuète ) , *R. « leguminosarumbiovartrifo lit, rhizobactine 1021 (S.meliloti) , vicibactin*. La production de sidérophores dans des conditions de stress dû au fer confère aux *Rhizobiums* un avantage supplémentaire, entraînant l'exclusion des agents pathogènes en raison de la privation de fer (Deshwal et *al.*, 2003).

Sidérophores peuvent jouer un rôle important médiateurs des interactions entre les membres des microbes assemblages et les hôtes eucaryotes qu'ils habitent (Kramer et *al.*, 2020). Outre sa mobilisation du fer et d'autres éléments, les sidérophores sont impliqués dans les processus de virulence et dans la tolérance au stress oxydatif (Albelda-Berenguer et *al.*,2019).

Les chercheurs ont étudié la capacité du *Rhizobium*sp. Un producteur de sidérophores et la compétence de ces composés dans la lutte biologique. Une des souches isolées, *Rhizobium leguminosarum biovar viciae* TAL1399, est capable d'inhiber la croissance radiale de *Pythium ultimum*et *Pythium Aphanidermatum* sur milieu de De Man, Rogosa et Sharpe (RMS) sans fer. Aucune inhibition n'est observée en présence de fer. TAL 1399 possède un système d'assimilation de fer à haute affinité, composé d'un sidérophore de type catéchol. Le stress ferrique induit la synthèse de 4 protéines, correspondant à 90, 87, 81 et 75 Kilodaltons. Ces protéines jouaient le rôle de récepteur de sidérophores (Izallalen, 1998).



**Figure 15:** Structure chimique de sidérophore.

## 6. Antibiose

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de lutte biologique les plus puissants et les plus étudiés pour la croissance des plantes. Cette production est favorisée par l'action des rhizobactéries contre les phytopathogènes devenu de mieux en mieux compris au cours des deux dernières décennies (Shilev, 2013). Outre la production d'antibiotiques, certaines rhizobactéries sont également capables de produire un composé volatil connu sous le nom de cyanure d'hydrogène (HCN) pour la lutte biologique contre la pourriture noire des racines du tabac, causée par *Thielaviopsis Basicola* (Sacherer et al., 1994).

Les antibiotiques produits par les *Rhizobiums* jouent un rôle important dans le contrôle des maladies. La sécrétion de l'antibiotique peptidique trifolitoxine (TFX) par *R. leguminosarumbvtrifolii* T24 a été signalée. *B.japonicum* s'est avéré protéger les cultures de soja contre l'infection par *M. phaseolina* par l'action directe de l'antibiotique rhizobitoxine. L'effet inhibiteur de *Bradyrhizobium* (Arachis) sur *M. phaseolina* était dû à la production de rhizobitoxine (Deshwal et al., 2003).

## *Conclusion*

## Conclusion

Notre travail consiste à faire une recherche bibliographique sur l'effet PGPR chez les *Rhizobium* nodulant les légumineuses pour but de connaître comment ces bactérie agissent sur les plantes.

On conclut que les *Rhizobiums* sont des bactéries du sol qui ont une relation symbiotique avec les légumineuses, une famille de plantes à fleurs comprenant des cultures importantes comme les pois, les haricots, les lentilles, les pois chiches et les trèfles.

L'effet des *Rhizobiums* sur les légumineuses est principalement bénéfique et se manifeste de plusieurs manières, il intervient dans la stimulation du développement des plantes, l'amélioration de la nutrition et aussi la régulation. Cela nous mène à penser que ces différents modes d'action peuvent conduire à un meilleur développement des plantes et des meilleurs rendements.

Il est donc important de promouvoir et de soutenir la symbiose entre les *Rhizobiums* et les légumineuses dans les systèmes agricoles durables, notamment en utilisant des pratiques de gestion du sol qui entravent la croissance des populations de *Rhizobiums*, comme la rotation des cultures, la couverture végétale et la réduction de l'utilisation d'engrais azotés synthétiques.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

**Abdelguerfi A., Laouar M. M'Hammed Bouzina M., (2008).** Les productions fourragères et pastorales en Algérie: Situation et Possibilités d'Amélioration.

**Ait Aada D., Ait Chabane O., Boudroua K., Selselet-Attou G, (2016).** Place des légumes secs dans l'alimentation humaine – atouts nutritionnels et impacts sur la santé. Forum Régional pour le Développement des Légumineuses Alimentaires, Université de Mostaganem, Algérie, p5.

**Albelda-Berenguer Magdalena, Mathilde Monachon, Edith Joseph, (2019).** Chapter Five – Siderophores : From natural roles to potential applications, Editor(s) : Geoffrey Michael Gadd, Sima Sariaslani, Advances in Applied Microbiology, Academic Press, Volume 106, Pages 193-225,

**Appanna, V.D.; Preston, C. M.(1987).** Manganese elicits the synthesis of a novel exopolysaccharide in an arctic *Rhizobium*. FEBS letters 215 (1) 79-82.

**Bala A, Murphy P J, Giller K. E.(2004)** Classification of Tropical Tree *Rhizobia* Based on phenotypic characters forms Nested Clusters of phylogenetic Groups. West African J Appl Ecol, 6 :9-19.

**Baumont, R., Bastien, D., Férard, A., Maxin, G., & Niderkorn, V. (2016).** Les intérêts multiples des légumineuses fourragères pour l'alimentation des ruminants. Fourrages, 227, 171-180.

**Bekki, A., Baba Ahmed, b., H., & Gaouar, A. (1999).** Effect of soil salinity on survival and symbiotic performance between *Rhizobium meliloti* and *Medicago* in North West of Algeria. Accepted for publication in: The third symposium on biological nitrogen fixation in Mediterranean basin (FABAHEDE): Toward biofertiliser application for a sustainable agriculture, EL Arich, Egypte.

**Benaissa., (2019)** Plant Growth Promoting *Rhizobacteria* A review. Algerian Journal of Environmental Science and Technology. Vol.5.N°1. ISSN/2437-1114.

**Benhizia, Y., Benhiziya, H., Benguedouar, A., Muresu, R., Giacomini, A., & Squartini, A. (2004)** Gamma *proteobacteria* can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*., 27 (4): 462-468.

**Ben Fadhel N., Zaouali Y., Boussaid M., (2000).** Aptitude de deux légumineuses pastorales *H. carnosum* et *A. uniflorum* jaub et spach à la réhabilitation des parcours en milieu aride de la Tunisie. Cahiers Options Méditerranéennes, vol.45 : pp 95-98.

**Benhalima-Chenini, Mounira., (2006).** Essai de caractérisation de quelques isolats de *Rhizobium* nodulant le pois chichi (*Cicer arietinum* L.). Mémoire de Magister en Science Agronomiques. Institut National Agronomique. El Harrach. 111p.

**Borget M., (1989).** Les légumineuses vivrières. Ed. Maison Neuve et Laros, Paris, 161 p.

**Boudjenouia Abdelmalek, Andre Fleury, Abdelmalek Tacherifte. (2003).** Les légumineuses alimentaires dans les zones périurbaines de Setif (Algérie) : analyse d'une marginalisation, et classification : R120, Q180.

**Brink M, Belay G. (2006).** Céréales et légumes secs, ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P : 102.

**Burris, R.H., & Roberts, G.P (1993).** Biological nitrogen fixation. Annu. Rev. Nutr. 13 : 317-335.

**Chaux C & Foury C, (1994).** Productions légumières, tome 3 : légumineuses potagères et légumes fruits, Lavoisier Tec&Doc, (ISBN 2-85206-975-X).

**CIAT (1992).** Constraints to and opportunities for improving bean production. A planning document 1993–98. An achievement document 1987–92, CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), Cali, Colombia.

**De Bruin, F.J. (1992).** Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 58 (7) 2180-2187.

**De Lajudie, P. M., Andrews, M., Ardley, J., Eardly, B., Jumas-Bilak, E., Kuzmanović, N.,...Young, P. (2019).** Minimal standards for the description of new genera and species of *rhizobia* and agrobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(7), 1852-1863.

**Diouf A (1997)** Caractérisation et utilisation des souches *rhizobium* isolées du haricot vert (*Phaseolus vulgaris* L.) dans la zone des Niayes au Sénégal. Thèse doctorat, UCAD. Dakar, 96p.

**Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y (2003)** Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci* 22 :107–149.

**Dommergues Y. & Mangano T., (1970).** •cologie microbienne du sol. Ed. Masson, Paris, 796 p.

**Doree A., (2000).** Flore pastorale de montagne ; les graminées et d'autres plantes fourragères : clé de détermination au stade végétative ; description et qualités fourragères. Ed. Quae, Paris. 227p.

**Duc, G., Mignolet, C., Carrouée, B., & Huyghe, C. (2010).** Importance économique passée et présente des légumineuses : Rôle historique dans les assolements et facteurs d'évolution. *Innovations agronomiques*, 11, 1-24.

**Duke J.A., (1981)**-Handbook legumes of world economic importance Ed. Plenum press, New-York and London, 25p.

**Estrada-de los Santos, P., Palmer, M., Chávez-Ramírez, B., Beukes, C., Steenkamp, E., Briscoe, L., ... James, E. (2018).** Whole Genome Analyses Suggests that Burkholderia sensu lato Contains Two Additional Novel Genera (Mycetohabitans gen. Nov., and Trinickia gen. Nov.): Implications for the Evolution of Diazotrophy and Nodulation in the Burkholderiaceae. *Genes*, 9(8), 389.

**Eardly, B.D., Wang, F.S. & van Berkum, P. (1996).** Corresponding 16S rRNA gene segments on Rhizobiaceae and Aerotnouasyie1d discordant phylogénies. *Plant. Soil.*, 186' 69-74

**Elbadry M, Taha RM, Eldougdoug KA, Gamal-Eldin H.(2006).** Induction of systemic resistance in faba bean (*Vicia faba* L.) to bean yellow mosaic potyvirus (BYMV) via seed bacterization with plant growth promoting rhizobacteria. *J Plant Dis Protect.* 113(6):247-251.

**García-Fraile, P.; Menéndez, E.; Rivas, R. (2015).** Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *Aims bioeng.* 2, 183–205.

**Geddes, B. A., Ryu, M., Mus, F., Garcia Costas, A., Peters, J.W., Voigt, C. A., & Poole, P. (2015).** Use of plant colonizing bacteria as chassis for transfer of N<sub>2</sub>-fixation to cereals. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 216-222.

**Girard C., (1985)** – L'installation du pois chiche de printemps. In – Bulletin FNAMS semences : 25-27.

**Ghelem Djender, Z., Kasad, K., Bouziri, S., Boukhobza, N., Oumedjekane, K., Mahibedine, D., Ait Ghezali, D., Taibi, R. (2017)** les grandes cultures en chiffres. Institut technique des grandes cultures.

**Haiat Essalmani a, Houria Lahlou b, (2003).** Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* F. Sp. lentis.

**Hobbs and J. D. Mahon, (2011).** Effects of pea (*Pisum sativum*) genotypes and *Rhizobium leguminosarum* strains on N<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) fixation and growth. *Canadian Journal of Botany*. 60(12) : 2594-2600.

**Huyghe C., (2005).** Un point sur la flore des prairies et culture fourragères en France entre logique de production et enjeux territoriaux. Ed. Quae, Paris. 202p.

**Issolah, R., & Abdelguerfi, A. (1995).** Etude comparative des graines, gousses et (infructescences de populations de différentes espèces de trèfles spontanés en Algérie. Cahiers Options méditerranéennes. ISSN : 1022-1379, 12 : 13-16.

**Izallalen Mounir, (1998).** Production des siderophores chez le Rhizobium et leur role dans l'inhibition de certains champignons phytopathogenes. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences (MSc) Université Laval à Canada.

**Jones, K.M., Kobayashi, H., Davies, B.W., Taga, M.E., & Walker, G.C.(2007).** How *rhizobial* symbionts invade plants: the Sinorhizobium–Medicago model. Nat. Rev. Microbiol. 5, 619–633.

**Jordan D.C., 1982.** Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to Bradyrhizobiumgen. Nov., a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants, Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 136–139.

**Kaci, Y., Heyraud, A., Barakat, M., & Heulin, T. (2005).** Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterisation of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. Res. Microbiol., 156 (4): 522-31.

**Kobayashi Takanori & Naoko K Nishizawa, (2012).** Absorption, translocation et régulation du fer dans les plantes supérieures. Revue annuelle de biologie végétale 63, 131-152.

**Kramer, J; Ozkaya, O. & Kummerli, R. (2020).** Bacterial siderophores in community and host interaction. Nat. Rev. Microbiol., 18: 152-163.

**Laouar M.1, Hamdi N.2, Bouzid H.2, Zidouni F.2 Laib M.1, Bouzid L1 & Zine F.(2001).** Les légumineuses alimentaires en Algérie: situation, état des ressources phylogénétiques et cas du pois chiche à Bejaia.

**Lindström, K., & Mousavi, S.A. (2020).** Effectiveness of nitrogen fixation in *rhizobia*. Microb. Biotechnol. 13, 1314–1335.

**Marcel, 2002:** Larousse agricole. Ed Larousse. Canada. 768 pp.

**Masson-Boivin C, Giraud E, Perret X, Batut J.(2009).** Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many *Rhizobium* recipes? Trends Microbiol. 17: 458–466.

**Med & Nut. (1982).** Staron T. Les légumes secs dans l'alimentation. :21-43.

**Mrabet, M., Mnasri, B., Ben Romdhane, S., Laguerre, G., Elarbi Aouani, M., & Mbamdi, R. (2006).** Agrobacterium strains isolated from root nodules of common bean specifically reduce nodulation by *Rhizobium gallicum*. FEMS Microbiol. Ecol., 56(2): 304-309.

**Ndungu SM, Messmer MM, Ziegler D, Gamper HA, Mészáros É, Thuita M, Vanlauwe B, Frossard E, Thonar C. (2018).** Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) hosts several widespread bradyrhizobial root nodule symbionts across contrasting agro-ecological production areas in Kenya. Agric Ecosyst Environ 261:161–171.

**Noutfia A., (2008).** Sulla. Tawassol : Bulletin trimestriel d'information du centre régionale de la recherche agronomique de Tanger. Ed. INRAM, 18 p.

**Ndoye I(1990).** Contribution à l'étude de la symbiose entre Azorhizobium, Rhizobium et Sesbania rostrata. Thèse de doctorat. Université des sciences et techniques de Lille. 170p.

**Pahari, A. ; Pradhan, A. ; Nayak, S. & Mishra, B.B. (2020).** Plant Growth Promoting *Rhizobacteria* (Pgpr) : prospects and application. In Nayak, S. and B.B. Mishra (eds.) *Frontiers in Soil and Environmental Microbiology*. Boca Raton: CRC Press.

**Pastor-Bueis, R., Sánchez-Cañizares, C., James, E. K., & González-Andrés, F.(2019).** Formulation of a Highly Effective Inoculant for Common Bean based on an Autochthonous Elite Strain of *Rhizobium leguminosarum* bv. Phaseoli, and Genomic-based Insights into its Agronomic Performance. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2724.

**Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., Velázquez, E., & Bedmar, E. J. (2015).** Bacterial associations with legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 17-42.

**Perret, X., Staehelin, C., & Broughton, W.J. (2000).** Molecular Basis of Symbiotic Promiscuity.

**Pozo MJ, Azcón-Aguilar C. (2007).** Démêler la résistance induite par le mycorhize. *Curr Opin Plant Biol.* 2007; 10: 393–398.

**Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie. TI. ED. CNRS, Paris vn.

**Rajkumar Mani, Noriharu Ae, Majeti Narasimha Vara Prasad, Helena Freitas (2010),** Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology*, volume 28, Issue 3, pages 142-149,

**Sacherer P., Défago G. & Haas D. (1994).** Extracellular protease and phospholipase C are controlled by the global regulatory gene *gacA* in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *FEMS Microbiology Letters*, 116: 155-160.

**Shamseldin, A., Abdelkhalek, A., & Sadowsky, M. J.(2016).** Recent changes to the classification of symbiotic, nitrogen-fixing, legume-associating bacteria: a review. *Symbiosis*, 71(2), 91-109.

**Shamseldin, A., & Velázquez, E.(2020).** The promiscuity of *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) for nodulation with *rhizobia* : a review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(63).

**Shilev S. (2013).** Soil *Rhizobacteria* Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. In : Arora NK (ed.) *Plant Microbe Symbiosis : Fundamentals and Advances*, Springer, India, 147-50.

**Skrypetz, S. (2006).** Pois chiches : Situation et perspectives. *Bulletin Bimensuel*. Ed. DAM & DPS & DPC & AAC. Canada. 4p.

**Somasegaran P, Hoben H G (1985)** *Methods in Legume Rhizobium Technology*. United States Agency for International Development (USAID).

**Somasegaran P, Hoben H G. (2012)** *Handbook for rhizobiamethods in legume-Rhizobium technology*.

**Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M.(2004)** Signalisation bactérienne de la rhizosphère, une parade amoureuse sous nos pieds. *CritRevMicrobiol.* 30 : 205–235.

**Spichiger R.E., Figeat M., Savolaine W., (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérée et tropicale. Ed. Presse polytechnique et universitaire normandes. 3<sup>ème</sup> édition. 245p.

**Sridevi, M., Mallaiah, KV,(2009).** Solubilisation du phosphate par les souches de *Rhizobium* . *Indian J Microbiol* 49, 98–102.

**Staeckebandt, E. & Liesack, W.(1993).** Nucleic acids and classification. In *Handbook of bacterial systematics*. M. Goodfellow and O'Donnell, A.G., Editors. Academic Press Ltd: London. p 151-194.

**Sullivan, J.T. Eardly. BD, Van Berkum, P & Ronson, CW.( 1996).** Four unnamed species of nonsymbiotic *rhizobia* isolated from the rhizosphere of *Lotus comiculatns*. Appt. Environ.Microbiol.,62 p.2818-2825.

**Suzaki,T., Yoro, E., & Kawaguchi, M. (2015).** Leguminous Plants: Inventors of Root Nodules to Accommodate Symbiotic Bacteria. Int. Rev. Cell Mol. Biol. 316, 111–158.

**Syska Camille, (2020).** Thèse de doctorat Les système Toxine-Antitoxine VapBC : des régulateurs de la symbiose fixatrice d'azote *Rhizobium-Légumineuse*

**Van Loon LC, Bakker PAHM, Pieterse CMJ.(1998 ).** Résistance systémique induite par les bactéries de la rhizosphère. AnnuRevPhytopathol. 36: 453–83.

**Van Peer, R., G.J. Niemann &B. Schippers., (1991).** Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. Phytopathology 81 : 728-734.

**Versalovic James, Thearith Koeuth & R Lupski ,(1991).** Distribution de séquences d'ADN répétitives dans les eubactéries et application à l'analyse fine des énomes bactériens, *Nucleic Acids Research* , Volume 19, Numéro 24, 25, Pages 6823–6831.

**Deshwal VK, Pandey P, Kang SC, Maheshwari DK. (2003).** Rhizobia as a biological control agent against soil borne plant pathogenic fungi. Indian J Exp Biol. Oct;41(10):1160-4. PMID: 15242282.

**Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. (1991).** Induction de la résistance systémique du concombre à *Colletotrichum orbiculare* par certaines souches de *rhizobactéries* favorisant la croissance des plantes. Phytopathologie. 81 :1508–1512.

**Xiao, T.T., Schilderink, S., Moling, S., Deinum, E.E., Kondorosi, E., Franssen, H., Kulikova, O., Niebel, A., & Bisseling, T. (2014).** Fate map of *Medicago truncatula* root nodules. Dev. 141, 3517–3528.

**Yattara LI. (1997).** Les *rhizobiades* jachères : étude écologique et valorisation pour l'amélioration de la fertilité des sols au Mali. Rapport Scientifique 1997, Projet FED 7 ACP.RPR 269, Bamako, IER-Orstom, 33.

**Zaidi, A; Khan, M.S.; Ahemad, M. & Oves, M. (2009).** Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. Acta Microbiol. Immunol. Hung., 56: 263284.

**Zakhia F., Jeder H., Domergue O., Willems A., Cleyet-Marel J.C, Gillis M., Dreyfus B. & de Lajudie P. (2004).** Characterisation of Wild Legume Nodulating Bacteria (LNB) in the Infra-arid Zone of Tunisia. Systematic and Applied Microbiology, 27: 380–395. DOI:10.1078/0723-2020-00273.

**Zakhia, Philippe de Lajudie (2001).** Taxonomy of *rhizobia*, *agronomie* 21:596-576.

**Zerihun.,(2006).** Symbiotic and phenotypic diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* isolates (*Vicia faba*) from Northern Gondar, Ethiopia. An MSc Thesis, School of Graduate Studies, Addis Ababa University, Addis Ababa, 73pp.

Net 1 : **Otto Wilhelm Thomé (1885).** Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz  
[https://fr.wikipedia.org/wiki/Fabaceae\\_2016](https://fr.wikipedia.org/wiki/Fabaceae_2016)

Net 2 <https://en.m.wikipedia.org/wiki/Siderophore> (2019).

