



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Microbiologie**

قسم : الميكروبيولوجيا

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Ecologie microbienne***

**Intitulé :**

---

***Symbiose *Rhizobium*-légumineuse et diversité des rhizobia  
nodulant les légumineuses de la tribu des *Viciae****

---

**Préparé par :** *KRIMI Sabrina.*  
*FELOUAT Rayene.*  
*BOUHLAIES Amani.*

**Le : 23/09/2021**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme. M. Benkahoul (MCA- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. N. Riah (MCB - UFM Constantine).

**Examineurs :** Mme. Z. Hachemi (MAA- U S. Boubnider Constantine 3).

***Année universitaire  
2021- 2022***

# Remerciements

*De prime abord, louange à Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.*

*Notre profonde gratitude et nos remerciements les plus chaleureux vont particulièrement à notre encadreur Mme. RAK Massira, de nous avoir suivi et dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Aussi, nous la remercions pour sa disponibilité permanente, pour son orientation efficace et pour ses idées originales qui ont servi à enrichir ce mémoire.*

*Nous remercions vivement Mme. Z. Kachemi, Maître assistante à l'Université Salah Boubnider Constantine 3, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée d'examiner notre travail et de présider le jury.*

*On tient aussi à remercier Madame Benkahoul Malika, Maître de Conférences A à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, pour sa participation à l'évaluation du présent travail.*

*Notre dernière pensée va à nos parents qui ont subi l'envers du décor... Merci pour l'intérêt que vous portez à notre travail, votre patience, soutien et vos encouragements à travers les mots doux et les prières, nous ont permis de ne jamais baisser les bras et d'atteindre notre but.*

*Enfin, nous remercions très sincèrement tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## **DEDICACES**

*C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :*

*A l'être le plus cher de ma vie, à la source d'amour incessible, à ma mère qui ma bénie par ces prières Aïcha Kerimi.*

*A mon support dans ma vie, mon père Ramdane.*

*Ce projet de fin d'étude représente l'aboutissement du soutien et des encouragements de mes parents qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité, et qui sont l'origine de ma réussite que dieu les garde et les protège.*

*A mes frères et sœurs qui m'ont toujours encouragé et bien précisément Mouna.*

*A mes nièces et neveux qui me donnent l'amour et la vivacité.*

*A mon encadreur Mme Nassira Riahi qui m'avoir dirigé tout au long de ce travail et m'avoir fait bénéficier de son expérience et de ce précieux conseils.*

*A tous mes enseignants que je leurs préserve beaucoup de respect et de considération.*

*A toutes mes amies surtout Leïla et Ghoulane.*

*A tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenu.*

**KRIMI S.**

## **DEDICACES**

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :*

*À ma très chère mère Rachida Seghiri  
Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme  
il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta  
présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter  
les différents obstacles.*

*À mon très cher père Saïd  
Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.  
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*À mes grands parents  
Que Dieu les protège et les garde.*

*À mes sœurs et mes frères  
Qui ravivent ma vie par leurs joies et présences.*

*À mon fiancé pour son encouragement et son soutien.*

*À mon encadreur Mme Riahi N pour son soutien et son encouragement  
prodigué.*

*À mes enseignants que je leurs préserve beaucoup de respect et de  
considération.*

*À mes proches et mes amis.*

*Et pour toutes les personnes qui m'ont soutenu jusqu'à la fin.*

*FLOUAT R.*

# **DEDICACES**

*Je dédie ce mémoire en particulier*

*A mes chers parents, Rachid et Habiba, source de vie, d'amour et d'affection, pour leurs encouragements, prière et soutien.*

*A mes chers frères, Malik, Raouf, Lotfi, Nabil, et leurs enfants Anis, Adem, Aïssal, Jiji, Sophie et le petit Youssef, source de joie et de bonheur.*

*A mes chers professeurs qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours.*

*A mes amies, tout particulièrement Razanne.*

*A ma grande mère.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*A vous cher lecteur.*

**BOUHLAÏESA.**

## Résumé :

Cette étude bibliographique a été réalisée à fin d'étudier la symbiose *Rhizobium*-légumineuse chez la tribu des *Viciae* (*Vicia*, *Lens*, *Pisum* et *Lathyrus*). L'association symbiotique s'établit par un dialogue moléculaire entre les deux partenaires. Elle présente une spécificité entre les espèces rhizobiennes et les légumineuses, les flavonoïdes libérés par les racines induisent l'expression des gènes nod chez les rhizobia, conduisant à la synthèse des facteurs Nod pour coopérer avec leur plante hôte et initier la formation de nodules. Dans ces nodosités, les rhizobia transforment l'azote de l'air (N<sub>2</sub>) en ammoniac (NH<sub>3</sub>) sous l'action de la nitrogénase et le fournir comme nutriment azoté à la plante hôte, en échange la plante fournit de l'énergie à son microsymbiote. Cette association symbiotique joue un rôle important dans l'agroécologie, qui peut être affectée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Ces dernières années, de profonds changements ont été apportés dans la taxonomie des rhizobia. Il a été montré que de nouvelles espèces provenant de différentes régions géographiques du monde étaient impliquées dans la nodulation des légumineuses de la tribu des *Viciae*. Actuellement, *Rhizobium leguminosarum* peut être divisé en espèces distinctes et pourrait être considéré comme un "complexe d'espèces (Rlc).

**Mots clés:** Fixation de l'azote, *Rhizobium*, légumineuses de la tribu des *Viciae*, nodules racinaires, taxonomie des rhizobia.

## Summary

This bibliographic study was carried out to study the *Rhizobium*-legume symbiosis in the *Viciae* tribe (*Vicia*, *Lens*, *Pisum* and *Lathyrus*). The symbiotic association is established through a molecular dialogue between the two partners. It has specificity between rhizobial species and legumes, the flavonoids released by the roots induce the expression of nod genes in rhizobia, leading to the synthesis of Nod factors to cooperate with their host plant and initiate the formation of nodules. In these nodules, the rhizobia transform the air nitrogen (N<sub>2</sub>) into ammonia (NH<sub>3</sub>) by the action of nitrogenase and supply it as a nitrogenous nutrient to the host plant; in return the plant provides energy to its symbiote. This symbiotic association plays an important role in agroecology, which can be affected by several biotic and abiotic factors. In recent years, profound changes have been made in the taxonomy of legume symbionts. It has been shown that new species from different geographical regions of the world have been shown to be involved in the nodulation of legumes *Viciae* tribe. Currently, *Rhizobium leguminosarum* can be divided into distinct species and could be considered as a "species complex (Rlc).

**Key words:** Nitrogen fixation, *Rhizobium*, legumes of the *Viciae* tribe, root nodules, rhizobia taxonomy.

## ملخص

أجريت هذه الدراسة البليوغرافية لدراسة تكافل الجذور والبقوليات في قبيلة *Vicia* (Vicia)، *Lens*، *Pisum* و *Lathyrus*). تم تأسيس الرابطة التكافلية من خلال حوار جزئي بين الشريكين. لها خصوصية بين الأنواع الجذرية والبقوليات، وتحفز مركبات الفلافونويد التي تطلقها الجذور التعبير عن جينات الإيماءات في الجذور، مما يؤدي إلى تخليق عوامل Nod للتعاون مع النبات المضيف والبدء في تكوين العقيدات. في هذه العقيدات، تقوم الريزوبيا بتحويل نيتروجين الهواء ( $N_2$ ) إلى أمونيا ( $NH_3$ ) تحت تأثير النيتروجين وتزويده كمغذٍ نيتروجيني للنبات المضيف، في المقابل يوفر النبات الطاقة لميكروسكوبونت. تلعب هذه الرابطة التكافلية دورًا مهمًا في الزراعة الإيكولوجية، والتي يمكن أن تتأثر بالعديد من العوامل الحيوية وغير الحيوية. في السنوات الأخيرة، تم إجراء تغييرات عميقة في تصنيف الريزوبيا. تم إثبات أن الأنواع الجديدة من مناطق جغرافية مختلفة من العالم تشارك في إيماء البقوليات من قبيلة *Vicia*. حاليًا، يمكن تقسيم *Rhizobium leguminosarum* إلى أنواع متميزة ويمكن اعتبارها "مجموعًا للأنواع (R1c).

**الكلمات المفتاحية:** تثبيت النيتروجين، ريزوبيوم، البقوليات من قبيلة *Vicia*، العقيدات الجذرية، تصنيف الريزوبيا.

## Table des figures

|                    |   |           |
|--------------------|---|-----------|
| <b>Figure 1 :</b>  | Schéma des agents participants au cycle de l'azote (Pujic, 2009).....   | <b>5</b>  |
| <b>Figure 2 :</b>  | Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques des légumineuses Papilionoideae .....   | <b>9</b>  |
| <b>Figure 3 :</b>  | <i>Lens culinaris</i> .....   | <b>10</b> |
| <b>Figure 4 :</b>  | <i>Pisum sativum</i> .....  | <b>12</b> |
| <b>Figure 5 :</b>  | <i>Vicia faba</i> .....   | <b>14</b> |
| <b>Figure 6 :</b>  | <i>Vicia sativa</i> .....   | <b>16</b> |
| <b>Figure 7 :</b>  | <i>Lathyrus sativus</i> .....   | <b>18</b> |
| <b>Figure 8 :</b>  | Arbre phylogénétique de l'ADNr 16S d' $\alpha$ , $\beta$ et $\gamma$ -protéobactéries. Les genres indiqués en gras comprennent des rhizobiums (Masson-Boivin et al., 2009) .....  | <b>23</b> |
| <b>Figure 9 :</b>  | Le dialogue moléculaire Rhizobium-Légumineuse. Le zoom montre un cordon d'infection passant le cortex racinaire vers un groupe de cellules en division, qui deviendra le primordium nodulaire (Lindström et al., 2010) .....  | <b>27</b> |
| <b>Figure 10 :</b> | schémas représentatifs des étapes de l'établissement de la nodulation (Perrin, 2019) .....  | <b>29</b> |
| <b>Figure 11 :</b> | A) photo microscopique d'un nodule de légumineuse de 3 semaines, petite flèche pointue, cordon vasculaires du nodule, large flèche, vascularisation, astérisque, cortex nodulaire de la plante (Truchet et Coll, 1989). B) schéma correspondant à la figure A ..... | <b>30</b> |
| <b>Figure 12 :</b> | Symbiosome comportant deux bactéroïdes .....  | <b>31</b> |

## Liste des tableaux

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tableau 1</b> : les espèces de rhizobiums nodulant la tribu des <i>viciae</i> ..... | <b>24</b> |
|--|-----------|

## TABLE DE MATIER

|   |          |
|---|----------|
| <b>Introduction.....</b>                                  | <b>1</b> |
| <b>Chapitre I : La fixation biologique de l'azote</b>     |          |
| 1.1. Généralité .....                                     | 3        |
| 1.2. Le cycle d'azote.....                                | 3        |
| 1.2.1. L'ammonification .....                             | 4        |
| 1.2.2. La nitrification .....                             | 4        |
| 1.2.3. La dénitrification .....                           | 4        |
| 1.3. Les microorganismes fixateurs d'azote .....          | 5        |
| 1.3.1. Les fixateurs libres .....                         | 5        |
| 1.3.2. Les fixateurs symbiotiques.....                    | 6        |
| <b>Chapitre II : Les légumineuses</b>                     |          |
| 2.1. Généralité.....                                      | 7        |
| 2.2. Classification.....                                  | 7        |
| 2.3. Intérêts agronomiques et écologiques .....           | 8        |
| 2.4. Les légumineuses de la tribu des <i>viciae</i> ..... | 8        |
| 2.4.1. <i>Lens culinaris</i> .....                        | 10       |
| 2.4.1.1.Taxonomie .....                                   | 10       |
| 2.4.1.2.Origine et répartition géographique .....         | 10       |
| 2.4.1.3.Description .....                                 | 11       |
| 2.4.1.4.Ecologie et croissance .....                      | 11       |
| 2.4.1.5.Utilisations.....                                 | 11       |
| 2.4.2. <i>Pisum sativum</i> .....                         | 12       |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.4.2.1.Taxonomie .....                           | <b>12</b> |
| 2.4.2.2.Origine et répartition géographique ..... | <b>13</b> |
| 2.4.2.3.Description .....                         | <b>13</b> |
| 2.4.2.4.Ecologie et croissance .....              | <b>13</b> |
| 2.4.2.5.Utilisations .....                        | <b>13</b> |
| 2.4.3. <i>Vicia faba</i> .....                    | <b>14</b> |
| 2.4.3.1.Taxonomie .....                           | <b>14</b> |
| 2.4.3.2.Origine et répartition géographique ..... | <b>14</b> |
| 2.4.3.3.Description .....                         | <b>15</b> |
| 2.4.3.4.Ecologie et croissance .....              | <b>15</b> |
| 2.4.3.5.Utilisations .....                        | <b>15</b> |
| 2.4.4. <i>Vicia sativa</i> .....                  | <b>16</b> |
| 2.4.4.1.Taxonomie .....                           | <b>16</b> |
| 2.4.4.2.Origine et répartition géographique ..... | <b>16</b> |
| 2.4.4.3.Description .....                         | <b>17</b> |
| 2.4.4.4.Ecologie et croissance.....               | <b>17</b> |
| 2.4.4.5.Utilisations .....                        | <b>17</b> |
| 2.4.5. <i>Lathyrus sativus</i> .....              | <b>18</b> |
| 2.4.5.1.Taxonomie.....                            | <b>18</b> |
| 2.4.5.2.Origine et répartition géographique ..... | <b>18</b> |
| 2.4.5.3.Description .....                         | <b>19</b> |
| 2.4.5.4.Ecologie et croissance .....              | <b>19</b> |
| 2.4.5.5.Utilisations .....                        | <b>19</b> |

### **Chapitre III: Les Rhizobia**

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1. Caractères généraux .....                                   | <b>21</b> |
| 3.1.1. Caractères morphologique .....                            | <b>21</b> |
| 3.1.2. Caractères biochimiques .....                             | <b>21</b> |
| 3.1.3. Caractères physiologiques .....                           | <b>21</b> |
| 3.1.4. Caractères cultureux .....                                | <b>21</b> |
| 3.2. Historique de la taxonomie des rhizobia .....               | <b>22</b> |
| 3.3. Evolution et diversité des rhizobia .....                   | <b>23</b> |
| 3.4. Diversité des rhizobia associés à la tribu des viciae ..... | <b>23</b> |

### **Chapitre IV: La symbiose**

|  |           |
|--|-----------|
| 4.1. Généralité sur le processus de la Symbiose .....                  | <b>25</b> |
| 4.2. Spécificité de la symbiose .....                                  | <b>25</b> |
| 4.3. Effets des facteurs biotiques et abiotiques sur la symbiose ..... | <b>26</b> |
| 4.3.1. Facteurs biotiques .....  | <b>26</b> |
| 4.3.2. Facteurs abiotiques .....                                       | <b>26</b> |

### **Chapitre V: Signaux moléculaires et spécificité de la reconnaissance symbiotique**

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| 5.1. Dialogue moléculaire ..... | <b>27</b> |
| 5.2. Flavonoïdes .....          | <b>28</b> |
| 5.3. Facteurs Nod .....         | <b>28</b> |
| 5.4. Gènes de nodulations ..... | <b>28</b> |

## **Chapitre VI: infection et organogénèse du nodule**

|  |           |
|--|-----------|
| 6.1. Mode d'infection .....              | <b>29</b> |
| 6.2. Développement du nodule .....       | <b>29</b> |
| 6.3. La symbiose fixatrice d'azote ..... | <b>31</b> |
| <b>Conclusion</b> .....                  | <b>32</b> |
| <b>Références bibliographiques</b> ..... | <b>33</b> |

# *Introduction*

## Introduction

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones appartenant à la famille botanique des Fabacées, qui représente la troisième famille de plante par le nombre d'espèces, après les Astéracées et les Orchidées. Elle sont caractérisées par : des fleurs papilionacées, une gousse contenant des graines, et la capacité de fixer l'azote atmosphérique par l'établissement d'une relation symbiotique avec des bactéries fixatrices d'azote (Schneider et *al.*, 2015). Elles représentent une porte d'entrée d'azote symbiotique dans les systèmes de production agricole. Les légumineuses sont regroupées en trois sous familles : les *Caesalpinioideae*, les *Mimosoideae* et les *Papilionoideae*.

La tribu des *Viciae* est l'une des subdivisions de la famille des plantes *Fabaceae*. Elle est cultivée dans le monde entier à des fins alimentaires (humaines et animales), fourragères, médicinales, écologique et agricoles. Quatre genres sont inclus : *Lens*, *Pisum*, *Vicia*, et *Lathyrus*, ce sont des plantes herbacées annuelles qui ont une grande valeur nutritionnelle, un large éventail d'utilisation, et un énorme avantage de pouvoir s'associer à des bactéries du sol, appelées rhizobiums. Cette relation aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et le transfert à la plante sous une forme assimilable. De retour, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange réciproquement bénéfique (Giraud, 2007). Les légumineuses jouent un rôle clé dans le plan agronomique, nutritionnel, économique et agro-écologique en faveur d'un maintien d'une agriculture durable et d'une biodiversité face au changement climatique.

Les spécificités d'interaction entre les rhizobia et les Légumineuses sont variables. Une espèce bactérienne donnée n'est capable d'établir une symbiose fixatrice d'azote qu'avec un nombre limité d'espèces végétales, définies par son spectre d'hôtes. Inversement, une espèce de Légumineuse donnée ne pourra établir une association symbiotique qu'avec une ou plusieurs espèces ou genres de rhizobia. Chez *Rhizobium leguminosarum* sv *viciae* nodulant la tribu des *Viciae*, le spectre d'hôte est déterminé par des gènes de nodulation (*nod*) porté par un plasmide symbiotique (pSym). Actuellement, plusieurs études ont montré une grande diversité génétique dans les populations des rhizobiums nodulant les différents genres de la tribu des *Viciae*. Une étude récente a montré que *Rhizobium leguminosarum* peut être divisé

en espèces distinctes et considéré comme un complexe d'espèces (le Rlc) nodulant ces légumineuses (Young et *al.*, 2021).

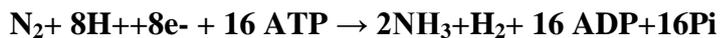
*Chapitre I*  
*La fixation biologique*  
*de l'azote*

## 1- La fixation biologique de l'azote

### 1-1- Généralités

L'azote est l'élément constitutif des végétaux le plus important après le carbone. Ce gaz est le premier en importance dans l'atmosphère terrestre (78%). Il s'y trouve sous sa forme moléculaire diatomique ( $N_2$ ), un gaz relativement inerte, mais il n'est pas directement accessible sous cette forme aux végétaux, ces derniers puisent cet élément dans le sol sous forme minérale ou dans l'air pour le cas des légumineuses.

La fixation biologique de  $N_2$  est un processus microbien très important, seules quelques espèces bactériennes peuvent fixer l'azote de l'air, elles synthétisent un complexe enzymatique, la nitrogénase, qui catalyse la réduction de l'azote moléculaire ( $N_2$ ) en ammoniac ( $NH_3$ ). La réaction globale de fixation d'azote catalysée par la nitrogénase est la suivante :



Cette réaction enzymatique, est un phénomène écologique d'importance qui représente environ 170 millions de tonnes d'azote fixées par an (Roger et *al.*, 1996). Certaines bactéries photosynthétiques utilisent directement l'énergie solaire pour fixer l'azote. D'autres ne peuvent atteindre cet objectif qu'en vivant en symbiose avec les plantes, on parle de la fixation symbiotique : dans ce cas, l'énergie est fournie par la plante hôte. Cette dernière option permet une grande entrée d'énergie, et donc une fixation d'azote très accélérée par rapport à celle des organismes non symbiotiques. L'association symbiotique la mieux connue est la symbiose rhizobienne chez les légumineuses (Roger et *al.*, 1996).

### 1-2- Le cycle d'azote

Le cycle de l'azote est un cycle biogéochimique qui décrit les processus de transformation et la manière dont l'azote circule dans l'environnement (Figure 1). Les processus en jeu, décrits ci-après, produisent de l'azote sous différentes formes et concourent à rendre cet élément mobilisable par la plante ou au contraire à le rendre indisponible.

### 1-2-1 L'ammonification

L'ammonification est la production d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) ou d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) à partir de la matière organique en décomposition d'origine végétale ou animale présente dans le sol, elle est réalisée par divers microorganismes des sols et des eaux (Figure 1) (Machefert et *al.*, 2002).

### 1-2-2 La nitrification

La nitrification est un processus aérobie strict se réalise en deux étapes par deux populations bactériennes différentes, la nitrosation par les bactéries nitrosantes qui transforment l'ammoniac en nitrites, et la nitratisation par les bactéries nitratantes qui transforment les nitrites en nitrates (Figure 1). Les microorganismes responsables de la nitrification sont les Nitrosomonas et Nitrobacter. cette réaction d'oxydation est influencée par plusieurs facteurs environnementaux (température, eau, pH) (Machefert et *al.*, 2002).

Equation simplifiée de la nitrosation:  $\text{NH}_4^+ + \frac{3}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$

Equation de la réaction chimique de la nitratisation :  $2 \text{NO}_2^- + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NO}_3^-$

### 1-2-3 La dénitrification

La dénitrification est un processus anaérobie, il s'agit d'une transformation des nitrates en diazote par les bactéries dénitrifiantes qui emploient les nitrates comme source d'oxygène pour produire l'énergie dont elles ont besoin (Figure 1). Ensuite, l'azote se volatilise et retourne dans l'atmosphère. Cette réaction dégage également des produits secondaires comme du  $\text{CO}_2$  et de l'oxyde d'azote  $\text{N}_2\text{O}$ , un gaz à effet de serre qui contribue à détruire la couche d'ozone dans la stratosphère. L'activité humaine contribue à l'augmentation de la dénitrification, surtout par l'utilisation des engrais azotés sous forme ammoniacale ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$ ) et des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) (Barton et *al.*, 1999).

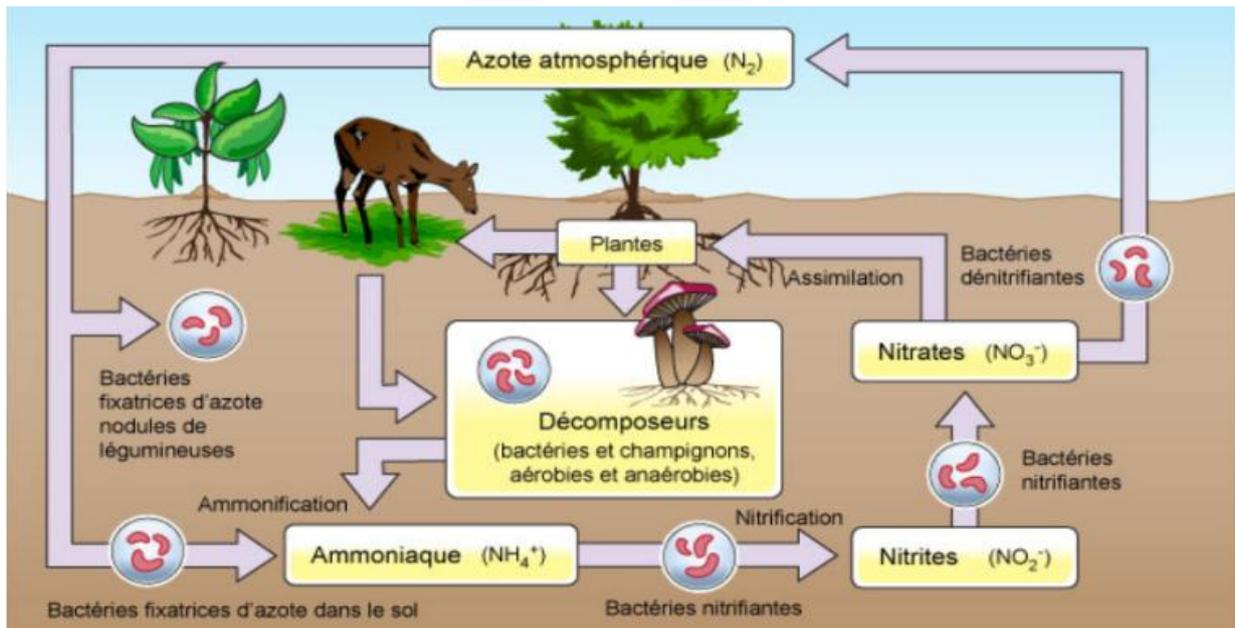


Figure 1 : Schéma des agents participants au cycle de l'azote (Pujic, 2009).

### 1-3 Les microorganismes fixateurs d'azote

Les microorganismes fixateurs d'azote appartiennent à deux des trois règnes primaires, archaebactéries et eubactéries d'après l'arbre phylogénétique basé sur la séquence de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (Young, 1992). La fonction principale de ces bactéries fixatrices d'azote est de capter l'azote de l'atmosphère et du sol et de le restituer de manière naturelle aux plantes sous une forme utilisable et facilement absorbable sous formes de nitrate ( $NO_3^-$ ) et d'ammonium ( $NH_4^+$ ) par leurs racines.

Il existe deux types de bactéries capables de fixer l'azote atmosphérique et de réaliser ces transformations.

#### 1-3-1 Les fixateurs libres

Les fixateurs libres du sol sont des bactéries qui vivent dans la rhizosphère, cette zone constitue l'interface entre le sol et les racines des plantes. Ces bactéries se nourrissent des molécules secrétées par ces racines et en contrepartie, elles fixent l'azote atmosphérique sous forme d'ammonium assimilable par les plantes. On trouve des bactéries anaérobies strictes (*Clostridium*), aérobies (*Acetobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*), aérobies facultatifs

(*Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*), des bactéries phototrophes (*Rhodobacte*, *Rhodospirillum*) (Franche et al., 2009).

### 1-3-2 Les fixateurs symbiotiques

Les fixateurs symbiotiques sont des bactéries qui entrent en symbiose avec les légumineuses. Dans ce cas, la fixation de l'azote atmosphérique se produit dans des organes appelés nodules, ces derniers se situent sur les racines de la plante, dans lesquels se produit un échange symbiotique entre les racines et ces bactéries. Les plantes fournissent aux bactéries une niche écologique et des sources de carbone nécessaires à leur développement. En retour les bactéries fixent l'azote atmosphérique et le transfert à la plante sous une forme assimilable, l'ammoniac. Au sein du nodule, les rhizobia se différencient en bactéroïdes capables de fixer l'azote. Cette réaction est possible grâce à la nitrogénase.

Certaines bactéries diazotrophes forment des symbioses mutualistes avec deux groupes de végétaux :

- Les plantes actinorhiziennes, dont les partenaires symbiotiques sont des bactéries filamenteuses Gram positif du genre *Frankia* (Franche et al., 2009).
- les légumineuses qui s'associent aux rhizobiums (bactéries unicellulaires gram négatif), Dans les deux cas, la symbiose avec les bactéries aboutit à la formation de nodules fixateurs d'azote sur les racines, parfois sur les tiges. La capacité des bactéries du genre *Rhizobium* à fixer l'azote au cours de cette symbiose présente un réel intérêt économique et écologique.

Les cyanobactéries sont d'autres bactéries à Gram négatif, photosynthétiques, aussi appelée algue bleu, responsable de la réduction d'une quantité énorme d'azote atmosphérique. Elles vivent libre ou en symbiose avec des végétaux, comme le cas de la cyanobactérie *Anabaena* associée à *Azolla* (une fougère aquatique) ; ces bactéries sont principalement utilisées comme engrais vert en riziculture (Franche et al., 2009).

*Chapitre II*  
*Les légumineuses*

## 2- Les légumineuses

### 2-1 Généralités

Les légumineuses sont des plantes dont le fruit est une gousse. Elles sont principalement cultivées comme source de protéines (20 à 40% dans les grains secs selon les espèces) pour la consommation humaine ou l'alimentation animale. Elles présentent aussi une source importante d'huiles végétales et de bois de qualité. A l'échelle mondiale, les légumineuses occupent la deuxième place, après les céréales, elles ont la capacité d'établir une symbiose fixatrice d'azote atmosphérique avec des bactéries du sol du genre *Rhizobium*. Par ailleurs, elles sont fréquemment cultivées en rotation avec les céréales afin d'améliorer la fertilité azotée des sols, ainsi les rendements des cultures. Il existe des milliers d'espèces de légumineuses dans le monde, avec un large éventail d'utilisations : gousses fraîches, séchées ou grains d'un côté (pois, fèves, féveroles, haricots-grains, lentilles, chiche pois, lupins, haricots verts, petits pois...) et fourragères (*luzernes*, *vesces*) (Magrini et Bedoussac, 2017).

### 2-2 Classification

Les légumineuses appelés aussi Fabacées, représentent la troisième famille des Angiospermes, derrière les *Orchidaceae* et les *Asteraceae* avec plus de 700 genres et près de 20 000 espèces (Lewis et al., 2005), divisées en trois sous-familles : les *Caesalpinoideae*, les *Mimosoideae* et les *Papilionoideae*, divisées elles-mêmes en groupes de genres communément appelés tribus. Chez les deux sous-familles de *Mimosoideae* et *Papilionaceae* (Doyle et Luckow, 2003).

**Les *Papilionoideae*** : Cette sous famille est très cosmopolite et compte environ 14000 espèces divisées en 476 genres de légumineuses tropicales et tempérées. Les *Papilionoideae* sont réparties en deux grands groupes de plantes cultivées : les légumineuses tempérées (ou Galegoïdes) comme les genres *Pisum* (pois), *Cicer* (pois chiche), *Melilotus* (mélilots), *Lens* (lentilles), *Medicago* (luzerne), *Lotus* (lotier), *Trifolium* (trèfle) et *Vicia* (vesce). Les légumineuses tropicales (ou Phaseoloïdes) comme notamment les genres *Cajanus*, *Phaseolus* (haricot) et *Glycine* (soja) (Doyle et Luckow, 2003).

**Les *Caesalpinoideae*** : des arbres ou des arbustes tropicaux ou subtropicaux, comptent 162 genres et près de 3000 espèces.

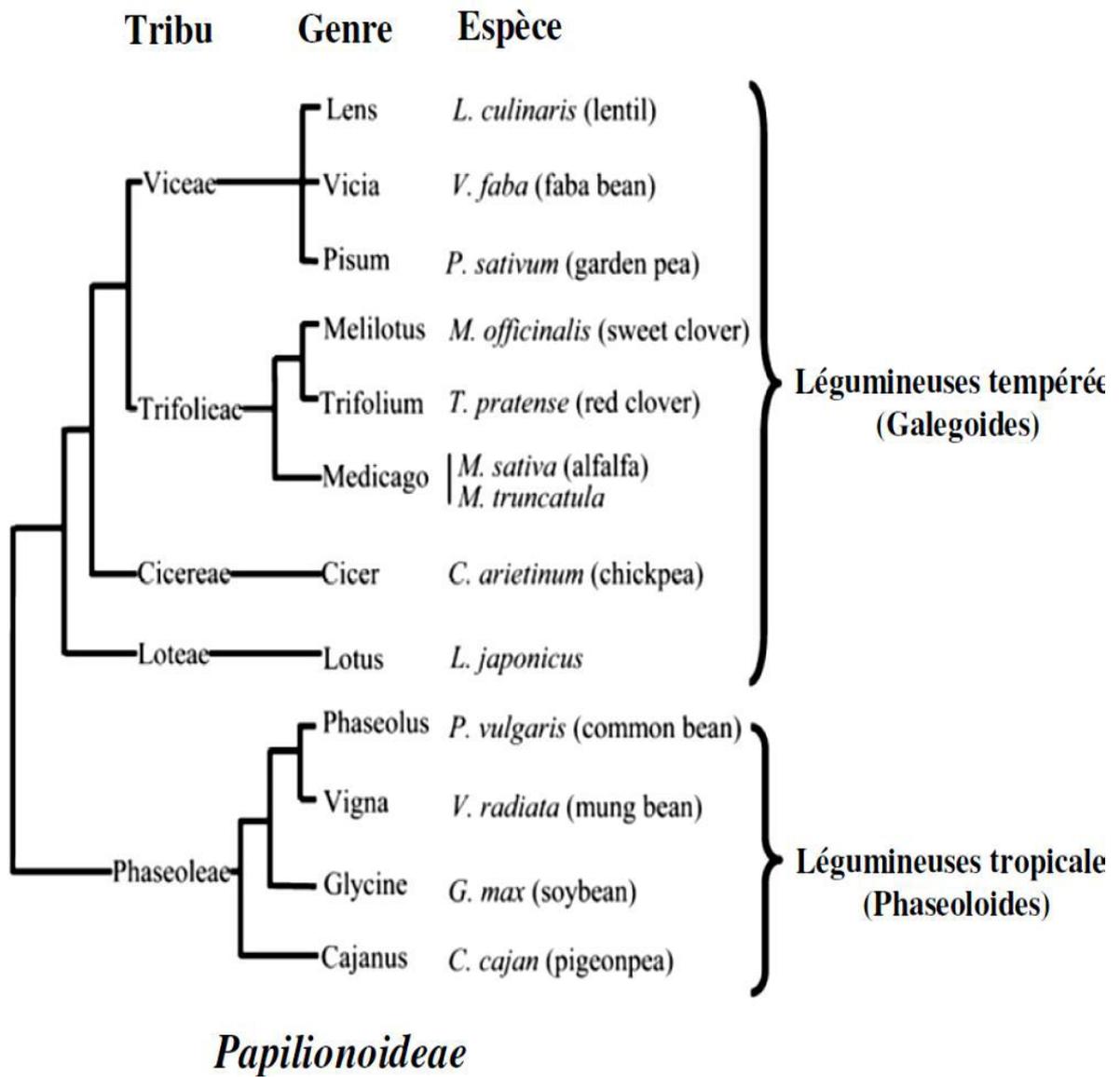
**Les *Mimosoideae*** : sont composés surtout des arbres ou des arbustes tropicaux ou subtropicaux, cette sous-famille renferme 77 genres et 3000 espèces (Doyle et Luckow, 2003).

### 2-3 Intérêt agronomique et écologique

Les légumineuses ont un rôle essentiel sur le plan économique. L'ONU a nommé l'année 2016 par « année internationale des légumineuses » afin de sensibiliser le monde de leur intérêt sur le plan nutritionnel, ainsi qu'agro-écologique en faveur d'un maintien d'une agriculture durable et d'une biodiversité face au changement climatique. A la lumière de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique, en association avec des rhizobia, les légumineuses constituent une grande source de protéines. Ainsi, les légumineuses ou légumes secs ont une importance majeure dans le système alimentaire surtout dans les pays pauvres, comme on les surnomme « la viande du pauvre ». Elles représentent un apport en protéines, une source d'huile, de gomme, de bois et de fourrage pour les animaux (luzerne, trèfle). Les légumineuses assurent un maintien durable de la fertilité des sols et de l'équilibre des écosystèmes. Elles servant comme des plantes pionnières et initiateurs de succession écologique pour revégétaliser les sols très pauvres et dégradés, elles sont utilisées comme engrais vert azotés qui pourront être utilisés par d'autres plantes non symbiotiques (Graham et Vance, 2003). Ces intérêts agronomiques et écologiques font des légumineuses des plantes largement cultivées sur la planète. Comme exemple, les légumineuses de la tribu des *Viciae* (Pois, lentille, fève...).

### 2-4 Les légumineuses de la tribu des *Viciae*

La tribu des *Viciae* comprenant principalement les genres *Pisum*, *Vicia*, *Lathyrus* et *Lens* (Figure 2).



**Figure 2 :** Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques des légumineuses *Papilionoideae* (Zhu et al., 2005) .

### 2-4-1 *Lens culinaris*

Le genre *Lens*, est classé dans la tribu des *Viciae*, divisé en 4 espèces : *Lens culinaris*, *Lens ervoide*, *Lens nigricans*, et *Lens lamottei*.

#### 2-4-1-1 Taxonomie

**Règne :** *Plantae*

**SousRègne :** *Viridiplantae*

**Infra Règne :** *Streptophyta*

**Super Division :** *Embryophyta*

**Division :** *Tracheophyta*

**Sous Division :** *spermatophytina*

**Classe :** *Magnoliopsida*

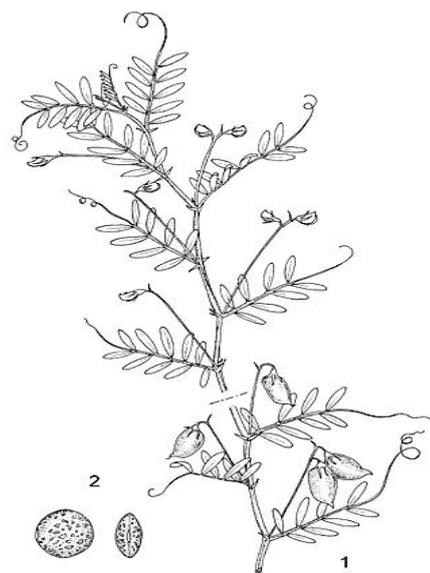
**Super Ordre :** *Rosanae*

**Ordre :** fabales

**Famille :** *Fabaceae*

**Genre :** *Lens*

**Espèce :** *Lens Culinaris*



**Figure 3 :** *Lens culinaris*

#### 2-4-1-2 Origine et répartition géographique

La lentille est probablement originaire d'Asie occidentale et s'est propagé vers la Méditerranée, en Asie, en Afrique et en Europe. Dans l'Antiquité, elle était l'aliment de base des pauvres. La lentille ne se rencontre pratiquement plus à l'état sauvage, elle est maintenant largement cultivée dans de très nombreux pays, En Afrique tropicale, elle est cultivée au Soudan, à Madagascar, en Erythrée, en Tanzanie, en Ethiopie, au Kenya, au Malawi, au Zimbabwe, à la Réunion et à l'île Maurice. Elle est cultivée aussi au Maroc, en Tunisie, en Algérie, en Libye, en Egypte et en Afrique du Sud (Bejiga, 2006).

### 2-4-1-3 Description

La lentille cultivée est classée selon la taille de la graine en deux groupes : Le groupe *macrosperma* (diamètre supérieur à 6 millimètres), Le groupe *microsperma* (diamètre inférieur à 6 millimètres). Les lentilles sont des plantes herbacées annuelles, de 20 à 72 centimètres de haut. La tige est dressée et très ramifiée, ses feuilles sont alternes, composées pennées, avec 10 à 14 folioles ovales opposées et des vrilles simples ou bifides aux extrémités (Figure 3). A la base, elles ont des stipules dentées. Les fleurs sont de couleur blanche ou bleu clair, et sont divisées en 2 à 4 petites grappes. Le calice est régulier, à cinq dents étroites et relativement longues. La floraison estivale a lieu entre mai et juillet. Le fruit est une gousse courte et plate, contenant deux graines plates, de la forme caractéristique d'un disque à dôme faible (Bejiga, 2006 ; Chauvet, 2015).

### 2-4-1-4 Ecologie et croissance

La lentille pousse à des températures moyennes de 6 à 27 C°, elle a besoin d'une précipitation annuelle près de 750 millimètres, temps sec au moment de la récolte et pH= 7, à exposition ensoleillée et climat plutôt frais. La lentille est souvent considérée comme une culture tolérant la sécheresse et les températures élevées. La récolte se fait en milieu d'été avant l'arrivée à maturité des graines (Bejiga, 2006).

### 2-4-1-5 Utilisations

Les lentilles sont principalement utilisées pour l'alimentation humaine et l'amélioration des sols, elles sont cultivées pour leurs graines mûres, qui sont riches en protéines et en minéraux, surtout le fer, le magnésium, le zinc et le potassium. Les lentilles sont principalement utilisées dans les sauces et les soupes, elles apportent les fibres et les vitamines du groupe B en quantités appréciables et elles sont très riches en amidon. Elles sont également des antioxydants pour prévenir certains cancers. Dans certains pays, les graines sont moulues en farine et utilisées pour faire des gâteaux et des pains (Conan ,2021).

### 2-4-2 *Pisum sativum*

Le genre *Pisum*, est classé dans la tribu des *Fabeae* (ou *Viciae*), sa classification récente ne regroupe plus que trois espèces (Smýkal et al., 2011).

*P. sativum*L.

\_ Subsp. *Sativum* (comprend var. *sativum* et var. *arvense*).

\_ Subsp. *elatius*

*P. fulvum*

*P. abyssinicum*

#### 2-4-2-1 Taxonomie

**Règne :** *Plantae*

**Sous règne :** *Viridiplantae*

**Infra règne :** *Magnoliopsida*

**Super division:** *Embryophyta*

**Division:** *Tracheophyta*

**Sous division :** *Spermatophytina*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Super ordre :** *Rosanae*

**Ordre :** Fabales

**Famille :** *Fabaceae*

**Genre :** *Pisum* L.

**Espèce :** *Pisum sativum* L.



**Figure 4 :** *Pisum sativum*

### 2-4-2-2 Origine et répartition géographique

L’Ethiopie et l’Asie occidentale ont été désignées par la FAO comme centres de diversité de *Pisum sativum*, avec des centres secondaires dans le sud de l’Asie et la région méditerranéenne. Le pois était bien connu dans les régions montagneuses d’Afrique centrale et orientale avant l’arrivée des Européens. Actuellement, *Pisum sativum* se trouve dans tous les pays tempérés et dans la plupart des hautes terres tropicales et orientales (Messiaen et *al.*, 2006).

### 2-4-2-3 Description

Le pois est une plante grimpante herbacée annuelle, 2 à 3 mètres de hauteur, racine pivotante et bien développée, pouvant atteindre une profondeur de 1 à 2 mètres de long, tige creuse de section cylindrique, non ou peu ramifiée, se caractérise par un certain nombre de nœuds. Les feuilles sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée (Figure 4). Les fleurs sont bisexuées, papilionacées. Le fruit est une gousse ovale de 4 à 15 centimètres de long, contenant de 2 à 10 graines, les graines sont globuleuses de couleur vert pâle à maturité, ou bien blanchâtre, jaune ou brune (Messiaen et *al.*, 2006).

### 2-4-2-4 Ecologie et croissance

Le pois cultivé est une plante de climat tempéré frais et relativement humide, pour des rendements optimaux, la température doit être comprise entre 13 et 21°C. La pluviométrie idéale se situe entre 800 et 1000 millimètres par an. Il est peu sensible à la photopériode. Le pois s’accommode sur des sols de toutes natures, bien drainés et à pH entre 5,5 et 7,0 (Messiaen et *al.*, 2006).

### 2-4-2-5 Utilisations

Le pois est une principale source de plusieurs types d’aliments pour l’homme comme pour les animaux. Il existe trois principaux types de cultivars de pois : le pois sec, cultivé pour ses graines sèches ; le petit pois, cultivé pour ses graines vertes immatures ; et le pois mangetout, cultivé pour ses gousses immatures. Dans les pays occidentaux, les graines mûres de pois sont

très utilisées pour l'alimentation animale. Les pailles sont utilisées comme fourrage, foin, ensilage ou engrais vert (Messiaen et *al.*, 2006).

### 2-4-3 *Vicia faba*

#### 2-3-3-1 Taxonomie

**Règne:** *Plantae*

**Sous règne:** *Viridiplantae*

**Infra règne:** *Streptophyta*

**Super division:** *Embryophyta*

**Division:** *Tracheophyta*

**Sous division:** *Spermatophytina*

**Classe:** *Magnoliopsida*

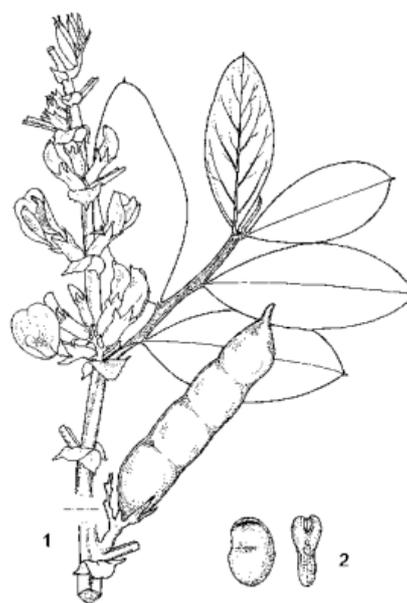
**Super ordre:** *Rosanae*

**Ordre:** Fabales

**Famille:** *Fabaceae*

**Genre:** *Vicia* L.

**Espèce:** *Vicia faba* L.



**Figure 5 :** *vicia faba*

#### 2-4-3-2 Origine et répartition géographique

Le genre *Vicia* comprend environ 140 espèces, l'espèce *Vicia faba* (La fève) est une plante dicotylédone cultivée, elle est répartie principalement dans les régions de l'Asie occidentale aussi répandue en Europe, en Afrique et en Asie centrale, de plus elle a décentré de diversité secondaires en Éthiopie et en Afghanistan, cette espèce est largement répandue dans l'ensemble du bassin méditerranéen. Aujourd'hui, elle est cultivée dans les régions tempérées et subtropicales, ainsi que dans les zones de haute altitude des régions tropicales. En Afrique tropicale, on la cultive principalement au Soudan et en Éthiopie (Jarso et Keneni, 2006).

### 2-4-3-3 Description

*Vicia faba* est une plante annuelle d'une hauteur allant jusqu'à 1 mètre. Ses tiges sont dressées, quadrangulaires, assez robustes et ramifiées, elles atteignent 30 à 80 centimètres de haut. Ses feuilles sont épaisses, avec des folioles ovales gris-vert. La plante n'a pas de vrilles à accrocher (Figure 5). La fleur est blanche avec une grande tache noire centrale. Le fruit est une grande gousse verte, 10 à 20 centimètres de long. Les graines sont grosses et assiettes, et chaque graine se compose de deux cotylédons (Jarso et Keneni, 2006).

### 2-4-3-4 Ecologie et croissance

Comme chaque plante, *Vicia faba* a des exigences pédologiques et agronomiques, elle est très exigeante en humidité du sol surtout pendant les périodes initiales de son développement. Sa croissance optimale est à 13°C, elle peut résister à -3 °C (Zerihun, 2006). Elle est connue par une plante de jour long qui se traduit par une exigence importante en luminosité. La fève préfère le type de sol sablo-argileux humifié avec un pH neutre à alcalin (7 - 8,3) et une texture plus lourde (Peron, 2006).

### 2-4-3-5 Utilisations

C'est une plante herbacée annuelle, ses graines riches en protéines et en amidon renferment des vitamines surtout B, C et PP, des sels minéraux et oligo-éléments, principalement du calcium, du magnésium et du potassium, riches en fibres. Elles luttent contre la paresse intestinale. Elles sont destinées à la consommation humaine (légume sec ou frais). La féverole est utilisée majoritairement en alimentation animale (volaille, porc, bovin, poisson) (Jarso et Keneni, 2006).

**2-4-4 *Vicia sativa*****2-4-4-1 Taxonomie****Domaine:** *Biota***Règne:** *Plantae***Sous-Règne:** *Viridiplantae***Infra-Règne:** *Streptophyta***Super-division:** *Embryophyta***Division:** *Tracheophyta***Subdivision:** *Spermatophytina***Classe:** *Magnoliopsida***Super-Ordre:** *Rosanae***Ordre:** Fabales**Famille:** *Fabaceae***Tribu:** *Fabeae***Genre:** *Vicia***Espèce:** *Vicia sativa***Figure 6 :** *Vicia sativa***2-4-4-2 Origine et répartition géographique**

*Vicia sativa* est originaire d'Eurasie, elle est répartie principalement au sud de l'Europe et est maintenant répandue dans le bassin méditerranéen, en Asie occidentale et centrale, en Chine, en Asie orientale, en Inde et aux États-Unis. C'est une espèce messicole, se rencontre aussi dans les champs, les parcours, parmi les buissons et au bord des chemins sur des terrains à altitude variable (Heuzé et *al.*, 2015).

### 2-4-4-3 Description

*Vicia sativa* est une plante herbacée annuelle, grimpante. La tige est mince, simple ou ramifiée, et peut atteindre 70 centimètres de hauteur. Les feuilles sont composées de 3 à 8 paires de folioles opposées et terminées par une vrille ramifiée. Les stipules contiennent généralement du nectar. Chez certaines variétés, des taches d'anthocyanes sont observées sur les tiges (Figure 6). Les fleurs sont violettes ou pourpres, plus ou moins violacées, rarement blanches, de 1 à 3 centimètres, appariées, rarement solitaires, et à pédoncule court. La gousse est allongée, cylindrique ou légèrement aplatie, jusqu'à 60 mètres de long. Les graines sont rondes, mais aplaties de couleur brune jaunâtre à brune châtain, à parois lisses (Heuzé et *al.*, 2015).

### 2-4-4-4 Ecologie et croissance

La vesce commune (*Vicia sativa*) est une plante à croissance rapide et annuelle qui germe, s'accroît, fleurit, fructifie et meurt. Elle est modérément tolérante au froid et peut pousser dans des régions aux hivers doux (Sattell et *al.*, 1998). Elle se trouve dans des zones et des sols variés, elle préfère les sols drainés, une bonne fertilité et un pH de 6 à 7. Elle ne tolère pas la sécheresse au début de la colonisation, il est recommandé de la planter en automne (FAO, 2010). Elle peut résister à un engorgement à court terme, mais ne peut pas résister à de grandes inondations (Heuzé et *al.*, 2015).

### 2-4-4-5 Utilisations

Au néolithique, la vesce a été utilisée dans l'alimentation humaine. Les jeunes pousses et les jeunes feuilles peuvent être consommées comme légumes. Les fleurs sont également comestibles et peuvent être utilisées comme décorations. Bien que ses graines soient nutritives (d'où l'ancienne culture de cette plante) et n'aient pas un goût agréable, elles sont parfois utilisées comme farine. Cette légumineuse est principalement utilisée comme engrais vert et plante fourragère (Bouby et Léa, 2006).

**2-4-5 *Lathyrus sativus*****2-4-5-1 Taxonomie****Domaine :** *Biota***Règne :** *Plantae***Sous-Règne :** *Viridiplantae***Infra-Règne :** *Streptophyta***Super division :** *Embryophyta***Division :** *Tracheophyta***Subdivision :** *Spermatophytina***Classe :** *Magnoliopsida***Super-Ordre :** *Rosanae***Ordre :** Fabales**Famille :** *Fabaceae***Tribu :** *Fabeae***Genre :** *Lathyrus***Espèce :** *Lathyrus sativus***Figure 7 :** *Lathyrus sativus***2-4-5-2 Origine et répartition géographique**

L'origine de la gesse (*Lathyrus sativus*) est inconnue, il existe des plantes sauvages *Lathyrus sativus* en Irak. *Lathyrus sativus* peut être dérivé de *Lathyrus cicera* L. sauvage dans le sud de l'Europe, en Afrique du Nord et en Asie occidentale, et où il est parfois cultivé. La domestication de la gesse a probablement eu lieu dans les Balkans vers 6000 avant J.-C et les restes de *Lathyrus sativus* remontant à 2000–1500 avant J.-C en Inde. Actuellement, la gesse est cultivée sur de vastes régions en Asie (en particulier le Bangladesh, l'Inde, le Népal, le Pakistan et le Proche-Orient), en Europe méridionale et en Afrique du Nord, et dans une moindre en Amérique, en Australie et en Afrique du Sud. En Afrique tropicale (Ethiopie),

mais aussi au Soudan, en Érythrée, au Kenya, en Tanzanie, en Angola et à l'île Maurice (Yadav et Bejiga, 2006).

### 2-4-5-3 Description

*Lathyrus sativus* est une plante herbacée annuelle, 30-60 centimètres de hauteur avec une forte racine pivotante bien développée. Leur tige est mince, carrée et ailée. Le pétiole étroitement ailé (1 à 2,5 millimètres). Les feuilles sont composées à 2 folioles linéaires, se terminant par une vrille simple ou ramifiée (Figure 7). Les fleurs sont bisexuées, papilionacées de couleurs blanches, rosées ou bleuâtres. La gesse produit des gousses de 30-35 millimètres, ovales-rhomboidales, elles contiennent des graines de 7 millimètres, aplaties, anguleuses (Yadav et Bejiga, 2006).

### 2-4-5-4 Ecologie et croissance

La gesse pousse bien dans les zones où les précipitations annuelles sont de 400 à 650 millimètres par an et la température moyenne est de 10 à 25°C. Elle fleurit 1,5 à 4 mois après le semis, supporte de fortes pluies dans les premiers stades de croissance et des sécheresses à long terme pendant le remplissage du grain. Le cycle de culture complet est de 3 à 6 mois. Elle pousse bien comme culture d'hiver dans la zone subtropicale. La gesse pousse sur une variété de sols, y compris les sols pauvres et l'argile lourde, elle tolère l'étouffement des racines et une salinité modérée (Yadav et Bejiga, 2006).

### 2-4-5-5 Utilisations

En Éthiopie et en Érythrée, les graines de gesse sont principalement consommées sous forme de sauce. Les parties végétatives jeunes se préparent comme légume vert ; on le fait également sécher pour les employer comme légume hors saison. Les jeunes plantes de gesse servent de fourrage pour le bétail ou de pâture dans de nombreux pays. S'il s'agit de fourrage, les plantes peuvent se manger vertes ou en foin ; elles ne peuvent pas être ensilées. La gesse se cultive aussi comme engrais vert. En Inde, les graines entières sont bouillies dans de l'eau, la farine produite par broyage de graines entières ou brisées est vendue sous le nom de « besan ». Au Bangladesh, le « roti » fabriqué à partir de farine de gesse est l'aliment de base

des travailleurs agricoles, En Asie, les gousses immatures sont cuisinées et consommées comme légume, ou bien elles servent d'amuse-gueule, une fois cuites à l'eau et salées (Yadav et *al.*, 2018).

***Chapitre III***  
***Les Rhizobia***

### 3- Les rhizobia

#### 3-1 Caractères généraux

##### 3-1-1 Caractères morphologiques

Les rhizobiums sont des bactéries du sol, en forme de bâtonnet à Gram négatif, mobiles et non sporulantes (Jordan, 1984). On distingue deux formes (Somasegaran et Hoben, 1994) :

- **La forme végétative** : Les rhizobia sont des bâtonnets réguliers de 1,2 à 3  $\mu\text{m}$  de longueur sur 0,5 à 0,9  $\mu\text{m}$  de large, pourvus d'un flagelle polaire, ou de plusieurs flagelles péritriches. Les rhizobia pourvus de 2 à 6 flagelles sont caractérisés par une croissance rapide, tandis que les rhizobia à un seul flagelle polaire ou subpolaire ont une croissance lente.

- **La forme bactéroïde** : les rhizobia à l'intérieur des nodules se transforment en bactéroïdes de forme régulière ou irrégulière. Chez les groupes *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium meliloti* et *Rhizobium leguminosarum*, les individus sont irréguliers et ont une taille à peu près dix fois plus grande que celle de la forme végétative.

##### 3-1-2 Caractères biochimiques

Les rhizobiums sont des bactéries hétérotrophes, utilisent des carbohydrates simples tels que le glucose, le saccharose, le mannitol et des composés aminés. Certaines espèces exigent des vitamines (Somasegaran et Hoben, 1994).

##### 3-1-3 Caractères physiologiques

Les rhizobia sont des bactéries aérobies ou microaérophiles et peuvent se contenter d'une faible tension en oxygène (pression de 0,01 atmosphérique), dont la température optimale de croissance est de 28°C et le pH optimal est de 6 à 7 plus précisément 6,8, mais certaines souches tolèrent les environnements acides (pH = 4) tel que *Rhizobium japonicum* (Somasegaran et Hoben, 1994).

##### 3-1-4 Caractères culturaux

Les rhizobia à croissance rapide, produisent une turbidité dans le milieu liquide en 2-3 jours. Les bradyrhizobiums à croissance lente, produisent une turbidité dans le milieu liquide

dans 3-5 jours. Les rhizobiums cultivés nécessitent un milieu de culture, qui contient une source de carbone, une source d'azote et des sels minéraux (Somasegaran et Hoben, 1994). Le yeast mannitol agar (YMA) est un milieu solide favorable pour la culture de rhizobiums, sur lequel, la colonie apparaît ronde, blanche, opaque ou blanche laiteuse, humide, translucide, et elle peut être lisse et brillante ou rugueuse. Les colonies jaunes sont pâles, en particulier dans les cultures plus anciennes (Somasegaran et Hoben, 1994 ; Vincent, 1970).

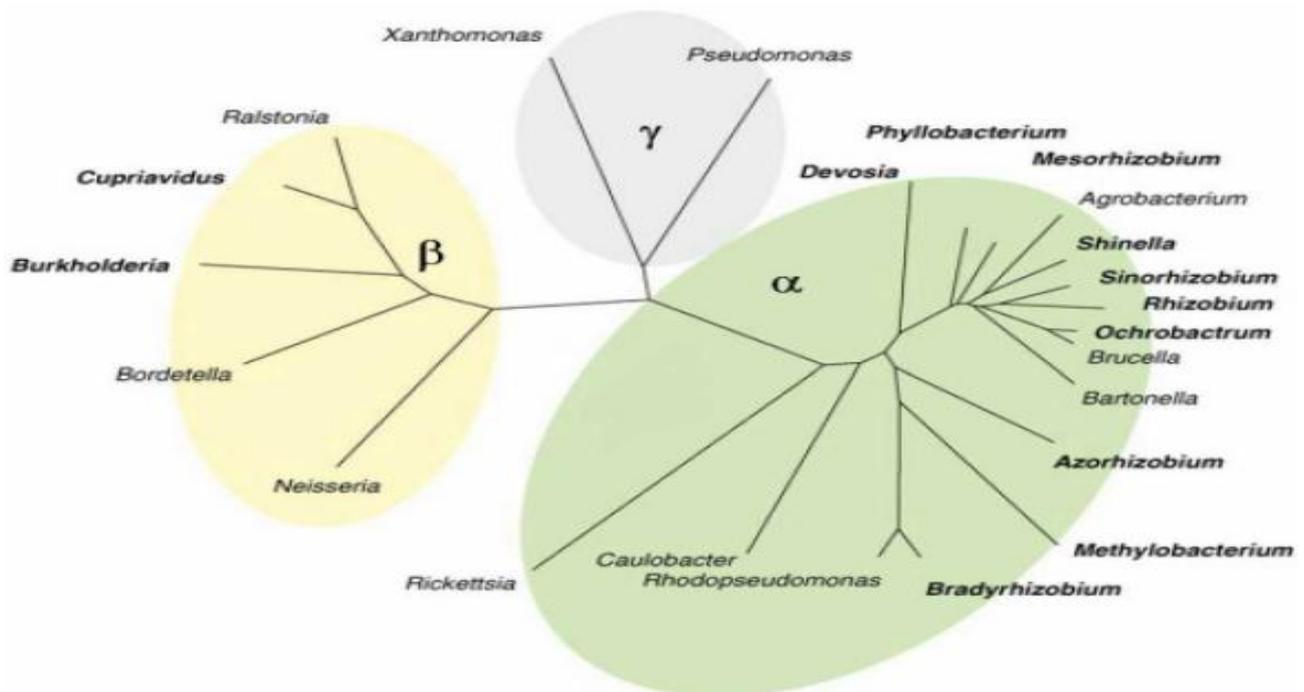
### 3-2 Historique de la taxonomie des rhizobia

Le terme *Rhizobium* vient du grec rhiza qui signifie "racine" et bio "vie", provient de la première appellation du premier genre bactérien vivant dans le sol et capable de noduler une légumineuse, cette nomenclature remonte à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle (Beijerinck, 1888). L'année suivante, cette bactérie est appelée *Rhizobium leguminosarum* (Frank, 1889). Avec le temps, la taxonomie des rhizobia a été influencée par la spécificité de l'hôte (Fred et *al.*, 1932). En premier, les rhizobia ont été décrits comme bactéries appartenant à la famille des Rhizobiacées, Gram négatif, non sporulantes, aérobies, leur capacité à noduler les plantes a été le critère initiale. Plus tard, Jordan (1982) a classé les bactéries symbiotiques en 2 genres en fonction de leur temps de génération et leur vitesse de croissance sur milieu de culture, tels que : le genre *Rhizobium* correspondant aux souches à croissance rapide et le genre *Bradyrhizobium* pour les souches à croissance lente. Par la suite, d'autres techniques basées sur la biologie moléculaire (Par exemple le séquençage de l'ADN 16S et des gènes de ménages) ont été proposé pour la caractérisation taxonomique des Rhizobia.

La notion de symbiovar (sv) a été introduite pour différencier les bactéries d'une même espèce mais qui possèdent une gamme d'hôte différente. L'espèce *R. leguminosarum* est un des exemples les mieux décrits dans la littérature. Les symbiovars *phaseoli*, *trifolii* et *viciae* nodulent réciproquement les espèces des genres *Phaseolus*, *Trifolium* et *Vicia/Pisum*. Cette distinction en biovars repose sur le spectre d'hôte qui est lui-même lié au type de gènes symbiotiques hébergés par la souche (Jordan, 1984 ; Rogel et *al.*, 2011).

### 3-3 Evolution et diversité des rhizobia

Actuellement, Les rhizobia comprennent 17 genres appartenant à la sous classe d'Alphaprotéobactéries (*Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* ou *Ensifer*, *Bradyrhizobium*, *Microvirga*, *Azorhizobium*, *Ochrobactrum*, *Methylobacterium*, *Phyllobacterium*, *Devosia*, *Shinella*...) et 3 genres appartenant à la sous classe des Betaprotéobactéries (*Paraburkholderia*, *Cupriavidus* et *Trinickia*) (<http://edzna.ccg.unam.mx/rhizobial-taxonomy>) (figure 8). Cette classification des rhizobiums s'enrichit d'année en année de nouvelles espèces et nouveaux genres de bactéries grâce à l'exploration de la diversité des symbiotes associés aux légumineuses dans les différentes régions du monde.



**Figure8:** 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).

### 3-4 Diversité des rhizobia associés à la tribu des Viciae

Depuis l'année 2008, la classification des rhizobiums nodulant les légumineuses de la tribu des *Viciae* a subi un changement en raison de l'ajout de plusieurs nouvelles espèces à l'espèce *Rhizobium leguminosarum* (Tableau 1).

**Tableau1** : les espèces de rhizobiums nodulant la tribu des *Viciae*.

| Espèces                         | Plante d'origine                   | Origine géographique | Référence                     |
|---------------------------------|------------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| <i>Rhizobium leguminosarum</i>  | <i>Pisum sativum</i>               | USA                  | (Frank, 1980)                 |
| <i>Rhizobium pisi</i>           | <i>Pisum sativum</i>               | Inconnu              | (Ramírez-Bahena et al., 2008) |
| <i>Rhizobium fabae</i>          | <i>Vicia faba</i>                  | Chine                | (Tian et al., 2008)           |
| <i>Rhizobium laguerreae</i>     | <i>Vicia faba</i>                  | Tunisie              | (Saïdi et al., 2014)          |
| <i>Rhizobium bangladeshense</i> | <i>Lens culinaris</i>              | Inde                 | (Rashid et al., 2015)         |
| <i>Rhizobium anhuiense</i>      | <i>Vicia faba et pisum sativum</i> | Chine                | (Zhang et al., 2015)          |
| <i>Rhizobium binae</i>          | <i>Lens culinaris</i>              | Inde                 | (Rashid et al., 2015)         |
| <i>Rhizobium lentis</i>         | <i>Lens culinaris</i>              | Inde                 | (Rashid et al., 2015)         |
| <i>rhizobium ruizarguesonis</i> | <i>Pisum sativum</i>               | Italie               | (Jorin et al., 2020)          |
| <i>Rhizobium indicum</i>        | <i>Pisum sativum</i>               | Inde                 | (Rahi et al., 2020)           |

Des études récentes ont montré que *Rhizobium leguminosarum* peut être divisé en espèces distinctes et pourrait être considéré comme un complexe d'espèces (le Rlc), mais symbiovar n'est pas un caractère spécifique pour distinguer ces espèces. (Boivin et al. 2020; Youseif et al. 2020; Young et al. 2021). Actuellement, cinq espèces sont nommées au sein des espèces du complexe *R. leguminosarum* (*R. leguminosarum*, *R. laguerreae*, *R. sophorae*, *R. ruizarguesonis* and *R. indicum*) et une étude récente indique qu'il y en a d'autres qui pourraient être nommés à l'avenir (Young et al., 2021).

*Chapitre IV*  
*La symbiose*

## 4- La symbiose *Rhizobium*-légumineuse

### 4-1 Généralités sur le processus de la symbiose

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse est un processus bénéfique et réciproque permet pour les légumineuses (macrosymbiontes) de fixer l'azote atmosphérique par l'intermédiaire des bactéries appelées rhizobiums (microsymbiontes). Les légumineuses sécrètent des composés phénoliques qui attirent ces bactéries. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange bénéfique pour les deux partenaires (Gibson et *al.*, 2008).

### 4-2 Spécificité de la symbiose

La spécificité de l'hôte est l'une des principales caractéristiques de la symbiose entre les deux partenaires. Chaque espèce de *Rhizobium* a un spectre d'hôte étroit, elle ne peut affecter qu'un nombre bien défini d'espèce d'hôte (légumineuses) (Wang et *al.*, 2012). De même, chaque plante hôte (légumineuse) ne peut être affectée qu'avec un nombre d'espèces bactériennes (*Rhizobium*) limité. En contrepartie, certains symbiotes sont capables de noduler un large spectre d'hôte. Ainsi, certaines légumineuses dites à large spectre d'hôte acceptent plusieurs espèces de rhizobia (Doyle and Luckow, 2003).

La notion de symbiovar (sv) a été introduite pour différencier les bactéries d'une même espèce mais qui possèdent une gamme d'hôte différente. L'espèce *R. leguminosarum* est un des exemples les mieux décrits dans la littérature. Les symbiotes *phaseoli*, *trifolii* et *viciae* nodulent réciproquement les espèces des genres *Phaseolus*, *Trifolium* et *Vicia/Pisum*. Cette distinction en biovars repose sur le spectre d'hôte qui est lui-même lié au type de gènes symbiotiques hébergés par la souche (Jordan, 1984 ; Rogel et *al.*, 2011).

### 4-3 Effets des facteurs biotiques et abiotiques sur la symbiose

#### 4-3-1 Facteurs biotiques

L'optimisation de la symbiose *Rhizobium*-légumineuses peut être influencé par les facteurs biotiques comme la présence des souches bactériennes rhizosphériques compatibles, compétitives et effectives, ainsi que les génotypes des plantes hôtes (Laguerre et *al.*, 2003). Les maladies bactériennes provoquées par les agents pathogènes (virus, bactéries et mycoses), les insectes et les nématodes qui sont des vecteurs des virus. Les nématodes s'attaquent aux nodosités et perturbent l'établissement de la symbiose (Corre-Hellou et Crozat, 2006).

#### 4-3-2 Facteurs abiotiques

La croissance, la survie des rhizobiums et l'établissement de la symbiose *Rhizobium*-légumineuse peuvent être influencés par plusieurs conditions environnementales comme le pH du sol, la salinité, le stress osmotique et la température (Graham et Vance, 2000). L'augmentation des sols acides causée par le réchauffement climatique et les pratiques agricoles a un effet nuisible sur la productivité des légumineuses. La plupart des terres agricoles sont alcalines, ce qui provoque une faible disponibilité des nutriments complexés au calcium, un retard de croissance chez les bactéries fixatrices d'azote, et une viabilité symbiotique limitée. La température a un impact nuisible sur la structure chimique des enzymes ce qui conduit à l'inhibition ou l'inactivation de la nitrogénase. Elle affecte également la survie et la nodulation des rhizobiums (Graham et Vance, 2003).

*Chapitre V*

*Les signaux*

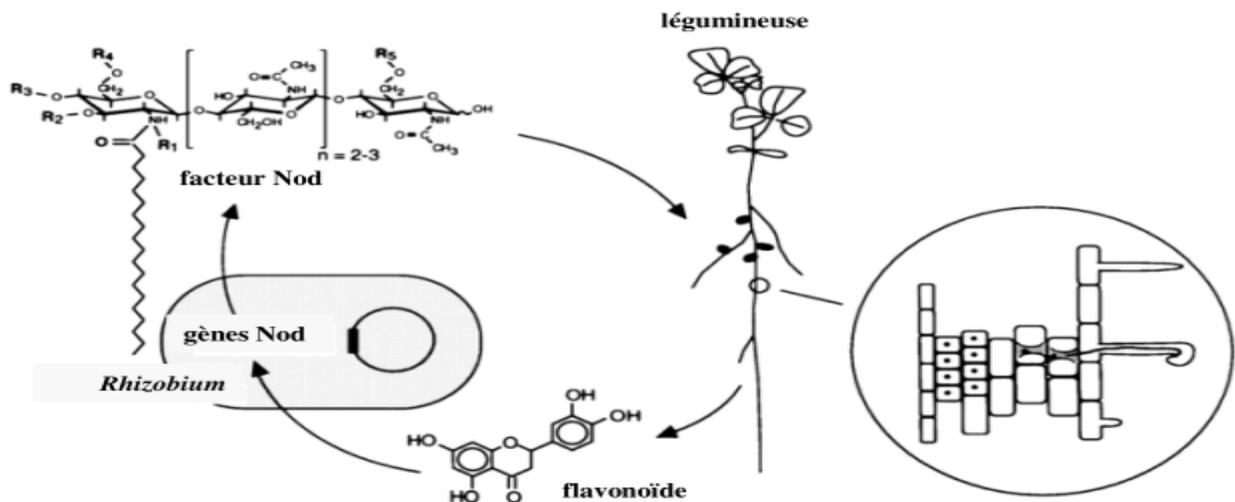
*moléculaires et la*

*spécificité symbiotique*

## 5- Signaux moléculaires et spécificité de la reconnaissance symbiotique

### 5-1 Dialogue moléculaire

L'installation de la symbiose est contrôlée par un dialogue moléculaire qui se met en place entre la bactérie et la plante-hôte (Figure 9). Les flavonoïdes libérés par les racines de la plante constituent le premier signal moléculaire ; ils sont reconnus spécifiquement par des protéines régulatrices bactériennes, les protéines Nod D. L'activation de ces protéines conduit à l'expression des gènes de nodulation (gènes *nod*). Les produits de ses gènes *nod* sont impliqués dans la biosynthèse des facteurs Nod, ces signaux émis par les rhizobia sont reconnus par des récepteurs spécifiques de la plante hôte. Les facteurs Nod sont responsables de la courbure des poils absorbants racinaires, ils constituent le second signal moléculaire indispensables pour l'infection et la colonisation de la plante aboutissant au déclenchement de l'organogénèse de la nodosité (Dénarié et *al.*, 1996) (figure9).



**Figure 9** : Le dialogue moléculaire *Rhizobium*-Légumineuse. Le zoom montre un cordon d'infection passant le cortex racinaire vers un groupe de cellules en division, qui deviendra le primordium nodulaire (Lindström et *al.*, 2010).

## 5-2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de nature aromatiques exsudés par les racines de la plante dans la rhizosphère. Il existe plus de 4 000 flavonoïdes identifiés dont la grande majorité intervient dans la spécificité d'interaction hôte-symbiote. Chaque plante exsude un mélange de différents flavonoïdes dont les isoflavonoïdes qui sont spécifiques des légumineuses (Perret et *al.*, 2000).

## 5-3 Facteurs Nod

Les facteurs Nod sont des lipochitooligosaccharides, constitués de résidus de N-acétyl-D-glucosamine reliées entre elles par des liaisons  $\beta$ -1,4 et couplées à une chaîne d'acide gras à son extrémité non réduite (Figure 8). La structure des facteurs Nod varie selon la longueur du squelette carboné d'oligosaccharides (3 à 5 résidus), du type de chaîne d'acide gras couplé à son extrémité et du type des substitutions chimiques qui décorent les résidus d'oligosaccharides (acétyl, arabinosyl, fucosyl, mannosyl, sulfate...) et confèrent aux facteurs Nod leur spécificité (Perret et *al.*, 2000).

## 5-4 Gènes de nodulation

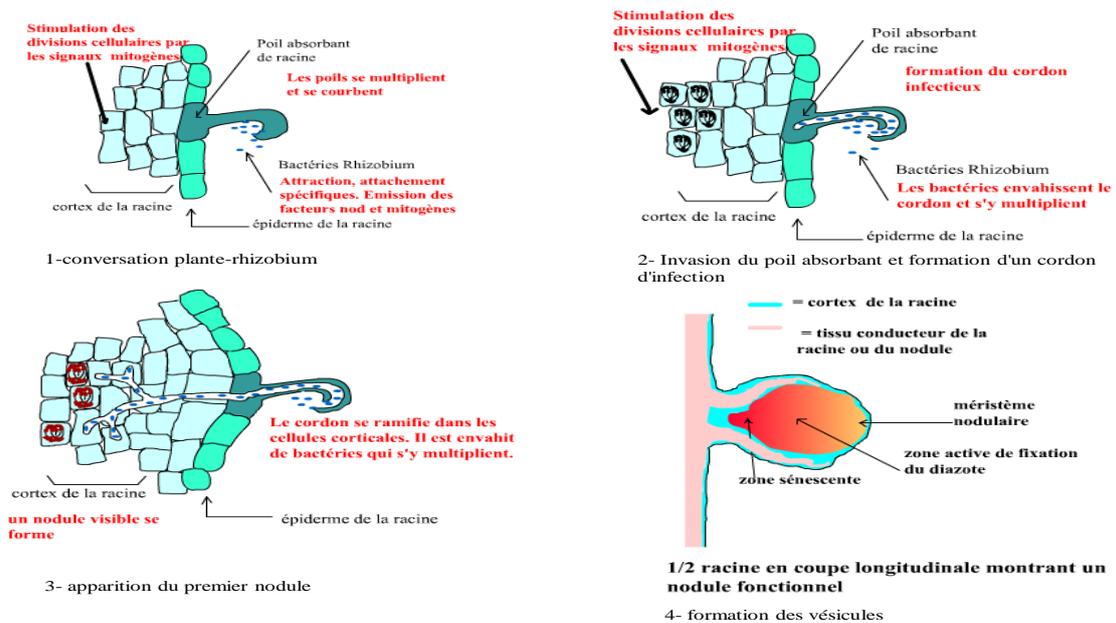
- Les gènes *nod* régulateurs : comprend le gène *nod D* qui est par conséquent le premier gène *nod* transcrit lors du processus de nodulation. Ils codent pour des protéines qui, en présence de signaux sécrétés par la plante (flavonoïdes), activent l'expression des autres gènes *nod* dits gènes *nod* communs (Spaink, 2000).
- Les gènes *nod* communs ou structuraux (*nod ABC*) : sont responsables de la biosynthèse du squelette oligosaccharidique des facteurs Nod chez presque tous les rhizobia (Dénarié et *al.*, 1996).
- Les gènes *nod* spécifiques (ou hsn pour « host specific nodulation »), sont responsables des substitutions variables qui s'opèrent sur le squelette de base du facteur Nod, ils jouent un rôle crucial dans la spécificité entre la bactérie et la plante (Perret et *al.*, 2000).

***Chapitre VI***  
***La nodulation***

**6- Infection et organogenèse du nodule**

**6-1 Mode d'infection**

L'étape préalable à l'infection s'initie par un dialogue moléculaire spécifique entre les deux partenaires. Les bactéries colonisent le sol à proximité immédiate des poils absorbants et s'attachent aux poils, la reconnaissance est spécifique, de type polysaccharides de surface des bactéries / protéines lectines de la légumineuse (chimiotactisme). Les rhizobia colonisent l'intérieur des poils absorbants de la plante. Ces poils absorbants se replient et un cordon d'infection se forme, au sein duquel les bactéries se multiplient. Le cordon pénètre dans le cortex racinaire et se ramifie. Il progresse vers le site définitif de libération des bactéries : le primordium nodulaire qui devient ensuite le lobe nodulaire (Figure 9). Les rhizobia utilisent la paroi du cordon d'infection pour être endocytés à l'intérieur des cellules (Duhoux et Nicole, 2004).



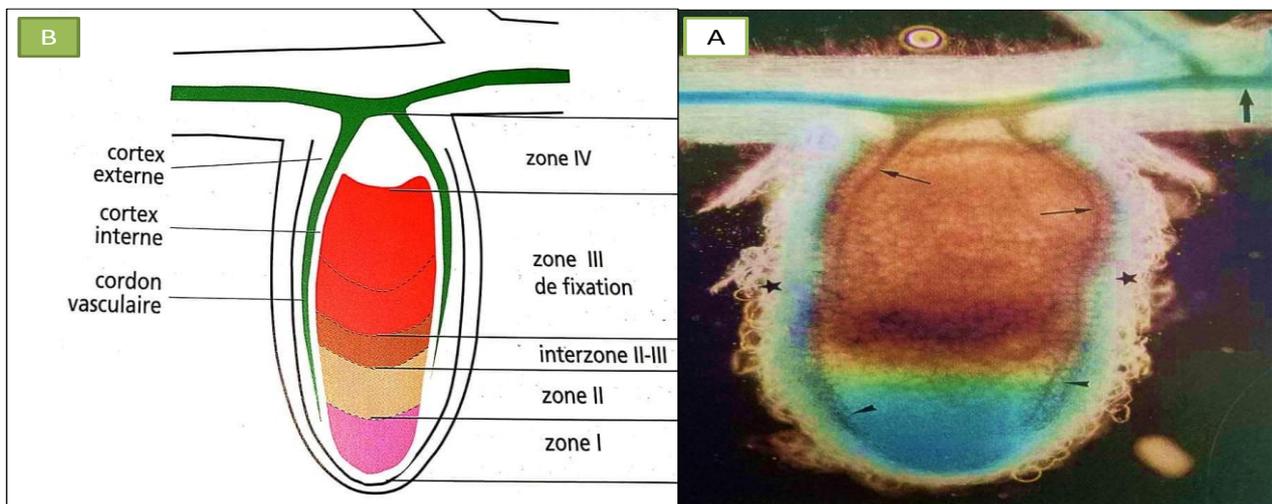
**Figure10:** schémas représentatifs des étapes de l'établissement de la nodulation (Perrin, 2019).

**6-2 Développement du nodule**

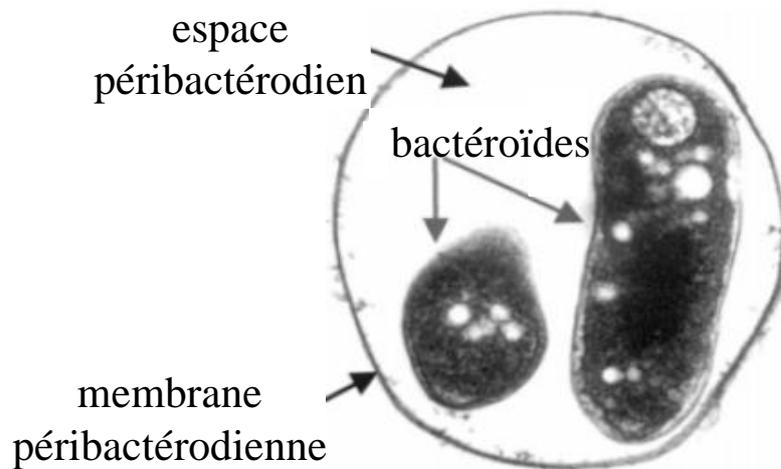
La différenciation cellulaire conduit à la formation d'un nodule avec des tissus vasculaires périphériques qui se raccordent à ceux de la racine et un tissu central nodulaire réparti en plusieurs zones fonctionnelles (Figure 10). Le nombre de nodules et leur masse sont

contrôlés par la plante en fonction des conditions environnementales et de son état physiologique (Duhoux et Nicole, 2004).

Sur une coupe longitudinale (Figure 10) le nodule à croissance indéterminée présente, à partir de l'apex, un méristème apical (zone I), une zone de différenciation, ou zone de préfixation (zone II), dans laquelle les bactéries sont libérées dans les cellules de la plante. Ces bactéries ont une morphologie et une physiologie nouvelle «bactéroïdes ». Les *Rhizobium* sont acheminés dans les cellules végétales au travers d'un cordon d'infection qui se ramifie. Les bactéries sont déversées dans la cellule par un processus d'endocytose et sont entourées d'une membrane pér bactéroïde, qui dérive de la membrane cytoplasmique de la cellule-hôte. Une nouvelle unité fonctionnelle est réalisée, le symbiosome, qui comprend le bactéroïde, l'espace pér bactéroïdien, et la membrane pér bactéroïde (Figure 11). Dans l'interzone II-III, les bactéroïdes montrent une structure modifiée et les cellules végétales accumulent des amyloplastes. La fixation optimale de l'azote a lieu dans la zone III, tandis qu'au niveau de la zone de sénescence IV, les cellules végétales ne sont plus fonctionnelles et les bactéroïdes sont lysés (Duhoux et Nicole, 2004).



**Figure 11 :** **A)** photo microscopique d'un nodule de légumineuse de 3 semaines, petite flèche pointue, cordon vasculaires du nodule, large flèche, vascularisation, astérisque, cortex nodulaire de la plante (Truchet et Coll, 1989). **B)** schéma correspondant à la figure A (Duhoux et Nicole, 2004).



**Figure 12:** Symbiosome comportant deux bactéroïdes.

### 6-3 La symbiose fixatrice d'azote

Le processus de fixation d'azote se fait via une enzyme appelée nitrogénase pouvant être inactivée de façon irréversible si elle entre en contact avec de l'oxygène. La nodosité lui confère une niche protectrice grâce à la présence d'une protéine végétale, la leghémoglobine qui fixe l'oxygène et permet de maintenir un niveau bas de l'oxygène. (Ott *et al.*, 2005). Une fois que les nodules sont matures et que le processus de fixation d'azote est fonctionnel, les nodules sont généralement de couleur rosée du fait de la présence de cette leghémoglobine. Le bactéroïde fournit la machinerie génétique pour la synthèse de la nitrogénase : ce sont les gènes *nif* et *fix*. Les gènes *fix* sont des gènes essentiels à la fixation d'azote mais sont rencontrés uniquement chez les microorganismes fixateurs symbiotiques. Les gènes *nif*, codent la biosynthèse de la nitrogénase. Le complexe enzymatique nitrogénase est composé de deux sous unités fonctionnelles à groupement prosthétiques, la dinitrogénase réductase et la dinitrogénase.

# *Conclusion*

## Conclusion

Cette étude théorique a pour but d'étudier la symbiose *Rhizobium*-légumineuse et de classer les espèces de rhizobiums nodulant les légumineuses de la tribu des *Viciae*. Elle s'est appuyée sur :

- Les principales caractéristiques (taxonomie, description botanique, écologie et croissance, origine géographique, et l'utilisation) de chaque espèce végétale étudiée.
- La taxonomie récente de rhizobia nodulant ces légumineuses.

On estime qu'il y a une immense variété de légumineuses cultivées dans le monde entier, elles recouvrent une multitude d'espèces, dont la tribu des *Viciae* (*lens culinaris*, *vicia faba*, *vicia sativa*, *pisum sativum*, et *lathyrus sativus*). Ces plantes ont une grande diversité d'usages et d'intérêts économique, agro-économique, et environnementales.

On conclut que la première grande qualité des légumineuses est le pouvoir d'établir des relations symbiotiques avec les bactéries du sol, rhizobia, à fin de fixer l'azote atmosphérique et le rendre assimilable. Ces derniers se caractérisent par des propriétés physiologiques, biochimiques, génétiques et culturelles, notamment leur spécificité d'hôte.

Depuis l'année 2008, la classification des rhizobiums s'enrichit d'année en année de nouvelles espèces nodulant les légumineuses de la tribu des *Viciae* grâce à l'exploration de la diversité des microsymbiotes dans différentes zones géographiques du monde en se basant sur de nouvelles techniques de biologie moléculaire.

*Références  
bibliographique*

## Références bibliographique

- Barton L, McLay CDA, Schipper LA, Smith CT. 1999.** Annual denitrification rates in agricultural and forest soils: a review. *Australian Journal of Soil Research*. **37**: 1073-1093.
- Beijerinck MW. 1888.** Culture des *Bacillus radicolaaus* den Kno'llchen. *Bot Ztg*. **46**: 740-750.
- Bejiga G. 2006.** *Lens culinaris* Medik. In: Brink M, Belay G. (eds). Ressources végétales de l'Afrique tropicale, Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas. P 102–107.
- Boivin S, Mahé F, Pervent M, Tancelin M, Tauzin M, Wielbo J, Mazurier S, Young JPW, Lepetit M. 2020.** Genetic variation in host-specific competitiveness of the symbiont *Rhizobium leguminosarum* symbiovar viciae. Authorea.
- Bouby L, Léa V. 2006.** Exploitation de la vesce commune (*Vicia sativa* L.) Au Néolithique moyen dans le Sud de la France. Données carpologiques du site de Claparouse (Lagnes, Vaucluse) .*Comptes Rendus Palevol*. **5** : 973-980.
- Chauvet M. 2015.** Encyclopédie des plantes alimentaires. (ed) Belin. Paris. p 880.
- Conan C. 2021.** La lentille: verte, brune, corail. *Journal of passeport sante*. In Agriculture et Agroalimentaire Canada. Lentilles : situation et perspectives. *Le Bulletin Bimensuel*. Le 7 juin 2002. **15**: p6.
- Corre-Hellou G, Fustec J, Crozat Y. 2006.** Interspecific competition for soil N and its interactions with N<sub>2</sub> fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant and Soil*. **282**: 195–208.
- Denarié J, Debelle F, Prome JC. 1996.** *Rhizobium* lipo-chitoooligo-saccharide nodulation factors: signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annual Review of Biochemistry*. **65**: 503–535.
- Doyle JJ, Luckow MA. 2003.** The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol*. **14**: 334–342.
- Duhoux E, Nicole M. 2004.** Biologie végétale, Associations et interactions chez les plantes, Préface de Marc-André Selosse. (ed) 1ère cycle / licence, Prépas, Parpes, Pharmacie. Paris. P 8-14. ISBN 2 10 006930 6.
- FAO. 2010.** Indice des prairies. Un catalogue consultable de légumineuses graminées et fourragères. FAO, Rome, Italie.
- Franche C, Lindstrom K, Elmerich C. 2009.** « Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. » *Plant and Soil*. **321**: 35-59.
- Frank B. 1889.** Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. *Ber Dtsch Bot Ges*. **7**: 332–346.
- Fred EB, Baldani JI, McCoy E. 1932.** Root nodule bacteria and legume plants. University of Wisconsin, USA.
- Gibson KE, Kobayashi H, Walker GC. 2008.** Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics*. **42**: 413–441.
- Graham PH, and Vance CP. 2003.** Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiol*. **131**: 872–877.

- Graham PH, Vance CP. 2000.** Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research*. **65**: 93–106.
- Heuzé V, Tran G, Baumont R. 2015.** Vesce commune (*Vicia sativa*). Feedipedia, un programme de l'INRAE, CIRAD, l'AFZ, et FAO.
- Jarso M, Keneni G. 2006.** *Vicia faba* L. In: Brink M, Belay G. (eds). Ressources végétales de l'Afrique tropicale, Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas. P 220–225.
- Jordan DC. 1984.** Family III. Rhizobiaceae. In: Krieg NR, Holt JG (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore. P: 234–242.
- Laguerre G, Louvrier P, Amarger N. 2003.** Compatibility of rhizobial genotypes within natural populations of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* for nodulation of host legumes. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**: 2276–2283.
- Lewis G, Schrire B, MacKinder B, Lock M. 2005.** Legumes of the world. Royal Botanical Gardens, Kew, UK.
- Lindström K, Murwira M, Willems A, Altier N. 2010.** The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia. *Research in Microbiology*. **161**: 453–463.
- Machefert SE, Dise NB, Goulding KWT, Whitehead PG. 2002.** Nitrous oxide emission from a range of land uses across Europe. *Hydrology and Earth System Sciences*. **6**: 325–337.
- Magrini MB, Bedoussac L. 2017.** Les légumineuses : Définition. Dictionnaire d'Agroécologie, <https://dicoagroecologie.fr/encyclopedie/les-legumineuses/>.
- 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.
- Messiaen CM, Seif AA, Jarso M, Keneni G. 2006.** *Pisum sativum* L. In: Brink M, Belay G. (eds). Ressources végétales de l'Afrique tropicale, Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas. P 171 –178.
- Ott T, van Dongen JT, Gunther C, Krusell L, Desbrosses G, Vigeolas H, Bock V, Czechowski T, Geigenberger P, Udvardi MK. 2005.** Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Current Biology*. **15**: 531–535.
- Peron JY. 2006.** Références. Production légumières. 2eme (eds). p 613.
- Perret X, Staehelin C, Broughton WJ. 2000.** Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **64**: 180–201.
- Perrin JF. 2019.** Assimilation du diazote. [http://www.perrin33.com/microbiologie/azote/entree-n\\_3.php](http://www.perrin33.com/microbiologie/azote/entree-n_3.php).
- Pujic P, Normand P. 2009.** La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutura*. **298**: 26–29.
- Rogel MA, Ormeño-Orrillo E, Martínez Romero E. 2011.** Symbiovars in rhizobia reflect bacterial adaptation to legumes. *Systematic and Applied Microbiology*. **34**: 96–104.
- Roger PA, Dommergues Y, Balandreau J, Dreyfus B, Sougoufara B. 1996.** La fixation biologique de l'azote, quelles potentialités pour le développement, conférence-débat de l'ORSTOM présentée le 30 mai 1996.

- Sattell R, Dick R, Luna J, McGrath D, Peachey E. 1998.** Vesce commune (*Vicia sativa* L.). in: Cultures de couverture de l'Oregon. Service de vulgarisation de l'Université d'État de l'Oregon, Corvallis.
- Smýkal P, Kenicer G, Flavell AJ, Corander J, Kosterin O, Redden RJ, Ford R, Coyne CJ, Maxted N, Ambrose MJ, Ellis NTH. 2011.** Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources*. **9**: 4–18.
- Somasegaran P, Hoben HJ. 1994.** Handbook for Rhizobia. Springer-Verlag. Berlin.
- Spaink HP. 2000. Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. *Annual Review of Microbiology*. **54**: 257–288.
- Vincent JM .1970.** The manual for the practical study of root nodule bacteria. Blackwell Scientific Publication Ltd, Oxford. United Kingdom.
- Wang D, Yang S, Tang F, Zhu H. 2012.** Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism. *Cell. Microbiol*. **14**: 334–342.
- Yadav S, Ghosh V, Kumar I. 2018.** Impact of perceived stress on general health: A study on engineering students. *International Journal of Social Sciences*. p 1347-1363.
- Young JPW, Moeskjær S, Afonin A, Rahi P, Maluk M, James EK, Cavassim MIA, Rashid M O, Aserse AA, Perry BJ, Wang ET, Velázquez E, Andronov EE, Tampakaki A, Flores Félix JD, Rivas González R, Youseif SH, Lepetit M, Boivin S, Jorrin B, Kenicer GJ, Peix Á, Hynes MF, Ramírez-Bahena MH, Gulati A, Tian CF. 2021.** Defining the *Rhizobium leguminosarum* Species Complex. *Genes* **12**: 111.
- Youseif SH, El-Megeed FHA, Mohamed AH, Ageez A, Veliz E, Martínez-Romero E. 2020.** Diverse *Rhizobium* strains isolated from root nodules of *Trifolium alexandrinum* in Egypt and symbiovars. *Syst Appl Microbiol*. **44**: 126-156.
- Zerihun B. 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. p 73.

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Ecologie microbienne**

**Présentée par :** KRIMI Sabrina.  
FELOUAT Rayene.  
BOUHLAIES Amani.

**Intitulé :**

**Symbiose *Rhizobium*-légumineuse et diversité des rhizobia nodulant les légumineuses de la tribu des *Viciae***

**Résumé :**

Cette étude bibliographique a été réalisée à fin d'étudier la symbiose *Rhizobium*-légumineuse chez la tribu des *Viciae* (*Vicia*, *Lens*, *Pisum* et *Lathyrus*). L'association symbiotique s'établit par un dialogue moléculaire entre les deux partenaires. Elle présente une spécificité entre les espèces rhizobiennes et les légumineuses, les flavonoïdes libérés par les racines induisent l'expression des gènes nod chez les rhizobia, conduisant à la synthèse des facteurs Nod pour coopérer avec leur plante hôte et initier la formation de nodules. Dans ces nodosités, les rhizobia transforment l'azote de l'air ( $N_2$ ) en ammoniac ( $NH_3$ ) sous l'action de la nitrogénase et le fournir comme nutriment azoté à la plante hôte, en échange la plante fournit de l'énergie à son microsymbiote. Cette association symbiotique joue un rôle important dans l'agroécologie, qui peut être affectée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Ces dernières années, de profonds changements ont été apportés dans la taxonomie des rhizobia. Il a été montré que de nouvelles espèces provenant de différentes régions géographiques du monde étaient impliquées dans la nodulation des légumineuses de la tribu des *Viciae*. Actuellement, *Rhizobium leguminosarum* peut être divisé en espèces distinctes et pourrait être considéré comme un "complexe d'espèces (Rlc).

**Mot clés :** Fixation de l'azote, *Rhizobium*, légumineuses de la tribu des *Vicia*, nodules racinaires, Taxonomie des rhizobia.

**Membre du jury :**

**Président du jury :** Mme. M. Benkahoul (MCA- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. N. Riah (MCB - UFM Constantine).

**Examineurs :** Mme. Z. Hachemi (MAA- U S. Boubnider Constantine 3).

**Année universitaire : 2020-2021**