



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 : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : بيولوجيا و ايكولوجيا النباتات

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétales

Intitulé :

La voie de signalisation « Nod-dépendante » : création d'une base de données du gène *dmi2*

Présenté et soutenu par : *Mme. BOUZRED Ahlem*

Le : 16/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : *KELLOU Kamel* (M.A.A - UFM Constantine).

Encadrante : *BENABDOUN Faiza Meriem* (M.C.B - UFM Constantine).

Examineur : *HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid* (Professeur - UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon papa,

A ma très chère maman, qu'est ce que j'aurais fait sans toi ma grande !!! Je ne sais pas trop par où commencer... Je t'offre mes sincères sentiments d'amour pour tes sacrifices, et ta présence quotidienne auprès de moi et de m'avoir soutenue jusqu'au bout.

Je tiens vivement à exprimer mes dédicaces les plus chaleureuses à mon mari Aziz pour sa grande disponibilité à mes côtés, son encouragement et de m'avoir poussé jusqu'au bout, pour sa compréhension, son soutien et sans oublier ma belle famille et surtout ma belle mère qui est une deuxième maman pour moi.

A tous mes frères qui m'ont vraiment encouragé et surtout à mon beau « Bitchou ».

A ma seule sœur qui compte énormément chère pour moi, et a son mari Yacine.

Une dédicace spéciale est consacrée à ma future fille qui va naître dans quelques jours.

Je t'aime trop ma chérie même si je ne t'ai pas encore vu.

Remerciements

Au terme de ce mémoire, je remercie avant tout, Dieu tout puissant de m'avoir guidé de suivre le chemin de la science et m'avoir donné le courage pour la réalisation de ce présent travail. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

*Je voudrais remercier du fond du cœur **Dr. BENABDOUN Faiza Meriem**, qui a encadrée ce travail au quotidien. Elle fut toujours présente, en particulier lorsque je me suis confrontée au doute, je lui suis reconnaissante pour : sa grande disponibilité, son ouverture d'esprit, ainsi que pour ses multiples et précieux conseils scientifiques, professionnels ou tout simplement humaines.*

*J'adresse aussi mes remerciements à **Mr. Kellou Kamel**, maitre assistant à l'université Mentouri de Constantine d'avoir accepté d'être président du jury. Je remercie également **Pr. HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid** membres du jury d'avoir accepté d'assister et de juger mon travail.*

Résumé :

Les plantes de la famille des Légumineuses sont capables d'établir une interaction symbiotique avec des bactéries du sol, collectivement appelées « *Rhizobium* ». Cette interaction aboutit à la formation d'un nouvel organe appelé « nodule » et dans lequel les bactéries différenciées fixent l'azote atmosphérique au bénéfice de la plante hôte.

Les facteurs « Nods » rhizobiens sont des molécules clés responsables de la spécificité d'hôte, et sont capables à eux seuls d'induire de nombreuses réponses développementales racinaires. Parmi les acteurs moléculaires intervenant dans la signalisation symbiotique, on cite le gène *dmi2* dont l'expression est fortement induite au cours du processus de nodulation chez les Légumineuses.

L'objectif de ce travail est de créer une base de données de *dmi2* afin de comparer la structure fine de ce gène au sein de différentes espèces végétales. Cette base de données regroupe toutes les informations concernant ce gène : taille, nombre d'introns et d'exon, nombre d'acides aminés. Les résultats montrent que la structure de *dmi2* est différente ainsi que indépendante et spécifique pour chaque espèce végétale à l'exception de sa présence qu'en une seule copie au niveau de toute les espèces végétales.

Mots clés : Légumineuses, *Rhizobium*, nodulation, facteurs « Nods », *dmi2*, base de données.

Abstract:

The plants of the legume family are able to establish a symbiotic interaction with soil bacteria collectively "Rhizobium". This interaction leads to the formation of a new body called "nodule" and in which the differentiated bacteria fix atmospheric nitrogen for the benefit of the host plant.

The Factors "Nods" rhizobia are key molecules responsible for host specificity and are capable alone of inducing many answers developmental root . Among the molecular players involved in the symbiotic signaling, mention the *dmi2* gene whose expression is strongly induced in the nodulation process in legumes.

The objective of this work is to create a *dmi2* database to compare the fine structure of this gene in different plant species. This database includes all the information about this gene: size, number of introns and exon number of amino acids. The results show that the *dmi2* structure is different and independent and specific for each species with the exception of its presence only in one copy in all plant species.

Keywords : Legumes, Rhizobium , nodulation, factors "Nods", *dmi2*, database.

ملخص:

نباتات العائلة البقولية قادرة على إقامة تفاعل التكافلية مع بكتيريا التربة، والمعروفة بـ "البكتريا العضوية هذا التفاعل يؤدي إلى تشكيل هيئة جديدة تسمى "العقيدات" وفيه البكتيريا المتباينة تثبت لنيتروجين الغلاف الجوي لصالح النبات المضيف.

العوامل "الإيماءات" الريزوبيا هي عبارة عن جزيئات رئيسية مسؤولة عن خصوصية التثبيت وقادرة وحدها على إحداث العديد من الإجابات الجذر التنموي ومن بين العناصر الجزيئية التي تشارك في إشارة هذه التكافلية، ناهيك عن *dmi2* الجين الذي يفعل بقوة في عملية الدرنه عند البقوليات.

والهدف من هذا العمل هو إنشاء قاعدة بيانات لهذا الجين للمقارنة بين التركيب الدقيق في الأنواع النباتية المختلفة وتشمل هذه القاعدة جميع المعلومات عن هذا الجين: حجم وعدد إنترونات واكسون و عدد الأحماض الأمينية. وأظهرت النتائج أن هيكله هذا الجين مختلفة ومستقلة ومحددة لكل نوع مع استثناء وجودها فقط في نسخة واحدة في جميع الأنواع النباتية

الكلمات المفتاحية: البقوليات، قاعدة بيانات ، البكتريا العضوية ،درنه، الإيماءات.

BNL : **B**actéries **N**odulant les **L**égumineuses

BD: **B**ase de données

CH₄ : Gaz naturel

dmi1 : **d**oesn't **M**ake **I**nfection 1

dmi2 : **d**oesn't **M**ake **I**nfection 2

dmi3 : **d**oesn't **M**ake **I**nfection 3

DRO : **D**érivés **R**éactifs de l'**O**xygène

HMGR1 :3-**H**ydroxy-3-**M**éthylglutaryle coenzyme a **R**éductase

GFP : **G**reen fluorescent **P**rotein

LRR : **L**eucine **R**ich **R**epeat

LCO : **L**ipochito-**O**ligosaccharides

NO₃⁻ : Nitrates

NH₄⁺ : Ions d'ammonium

NaNO₃ : Nitrate de sodium

NH₄NO₃ : Nitrate d'ammonium

NO : **O**xyde **N**itrique

NodD : **F**acteur **N**od **D**ependent

NORK : **N**odulation **R**eceptor **k**inase

NSP : **N**odulation **S**ignaling **P**athway

RLK : **L**eucine-**R**ich **R**epeat **R**eceptor-**L**ike **K**inase

RCK : **R**egulator of the **C**onductance of **K**⁺

SGBD : **S**ystème de **G**estion de **B**ases de **D**onnées

SIE3 : **S**ymrk **I**nteracting **E**3

SINA4 : **S**even **I**n **A**bsentia **4**

Figure 1 : Le Cycle de l'azote.....	4
Figure 2 : Quelques Légumineuses.....	12
Figure 3 : Flagelles du <i>Rhizobium leguminosarum</i>	14
Figure 4 : Dialogue moléculaire <i>Légumineuses/Rhizobium</i>	16
Figure 5 : Structure des « facteurs Nods ».	17
Figure 6 : La voie de signalisation « Nod dépendante ».	21
Figure 7 : Les différents modèles d'une base de données.....	23

<i>Introduction générale</i>	1
------------------------------------	---

Chapitre I : La symbiose rhizobienne

I. La fixation de l'azote	3
1. Le cycle de l'azote.....	3
2. Les principales sources de l'azote.....	3
2.1. Le sol.....	3
2.2. Les amendements organiques.....	4
2.3. Les engrais minéraux.....	5
2.4. Interactions plante/bactérie.....	5
3. La fixation non biologique de l'azote.....	5
4. La fixation biologique de l'azote.....	6
4.1. Les fixateurs libres.....	7
4.2. Les fixateurs symbiotiques.....	7
II. Les interactions symbiotiques <i>Rhizobium</i>-Légumineuses	8
1. Généralités sur la symbiose rhizobienne.....	8
2. Spécificité de la symbiose rhizobienne.....	8
3. Les partenaires intervenants dans la symbiose rhizobienne.....	10
3.1. Partenaire végétal :Les Légumineuses.....	10
3.2. Partenaire bactérien : <i>Rhizobium</i>	13
4. Fixation symbiotique de l'azote et développement durable en Algérie.....	15
III. Bases moléculaires de la symbiose rhizobienne	15
1. Dialogue moléculaire symbiotique.....	15
1.1. Les flavonoïdes.....	16
1.2. Les facteurs « Nods ».....	17
2. Cascade de la voie de signalisation « Nod Dépendante ».....	18
2.1. la perception des facteurs Nods.....	18
2.2. Activation des oscillations calciques.....	18
2.3. Gènes impliqués dans l'activation des oscillations calciques.....	19
3. Les facteurs de transcriptions NSP1 et NSP2.....	20

Chapitre II : Comment créer une base de données ?

I. Base de données en bioinformatique	22
1. Qu'est-ce qu'une base de données.....	22
2. Utilité d'une base de données.....	22
3. Les différents modèles d'une base de données.....	22
4. La gestion des bases de données.....	24

II. Système utilisé pour la création d'une base de données	24	
1. Les éléments d'une base de données « Access ».....	25	
2. Les logiciels « Access » VS « Excel ».....	26	
3. Création d'une base de données avec « Access ».....	27	
 Chapitre III : Base de données du gène <i>dmi2</i>		
I. Présentation de gène <i>dmi2</i>	30	
II. Comment créer une base de données du gène <i>dmi2</i> ?	31	
III. Structure du gène <i>dmi2</i> chez les différentes espèces étudiées	33	
 Conclusion générale		38
 Références bibliographiques		40

Introduction générale

L'azote, constituant essentiel des molécules biologiques telles que les nucléotides, les acides aminés, et les protéines, est un nutriment indispensable à la croissance et au développement des plantes. Même si il fait partie des éléments les plus abondants sur terre, c'est également un des principaux facteurs limitant pour la croissance des plantes (Wang *et al.*, 2012). Dans les sols, on le trouve principalement sous sa forme gazeuse (N_2), non assimilable par les plantes, alors que les formes assimilables comme l'ammonium (NH_4^+), le nitrate (NO_3^-), ou le nitrite (NO_2^-) y sont très peu retenues. Pour faire face à ce problème, l'utilisation de fertilisants azotés constitue, dans l'agriculture, l'un des principaux recours. Entre 1960 et 2000, elle est passée de 10 à 88 millions de tonnes, et les prévisions pour 2040 font état de l'utilisation de 120 millions de tonnes (Vance, 2001).

Cependant, une grande quantité d'azote résiduel n'est pas absorbée par les cultures et reste dans le sol, engendrant de nombreux problèmes environnementaux et sanitaires tels que l'émission de gaz à effets de serre ou encore la pollution de l'air et de l'eau. De plus, les prix d'engrais azotés ne cessent d'augmenter depuis les années 2000, compte tenu de la raréfaction des énergies fossiles et des politiques de lutte contre le changement climatique.

Les formes d'azote disponibles pour les plantes peuvent également être renouvelées dans les sols de manière naturelle, par des processus de minéralisation de la matière organique, ou par l'action de certains microorganismes spécialisés. De plus les plantes de la famille des Légumineuses peuvent établir une symbiose avec des bactéries du sol, les Rhizobia, qui sont capables de fixer l'azote atmosphérique dans des excroissances racinaires appelées « nodosités » (ou nodules).

La culture de ces plantes ne nécessite donc pas (ou très peu) de fertilisants azotés pour leur croissance. Les Légumineuses sont en outre des espèces à propriétés agronomiques intéressantes : leurs graines sont riches en protéines (fève, soja, pois sec, lentilles, haricots...), et leurs parties aériennes sont utilisées dans la constitution des fourrages (luzerne, trèfle...). Cultivées sur environ 15% des terres arables dans le monde, on estime que les légumineuses couvrent 33% de nos besoins alimentaires en azote, et permettent la production de plus de 35% d'huile végétale industrielle.

Au-delà des apports nutritionnels, l'introduction de Légumineuses dans une rotation de cultures a des effets bénéfiques, conduisant notamment à une moindre utilisation d'engrais azotés. Ainsi, il est estimé que la mise en culture de 514 000 hectares

supplémentaires de Légumineuses sur des surfaces occupées par des céréales ou des graminées fourragères permettrait d'économiser environ 90 000 tonnes d'engrais azotés par an (Graham et Vance, 2003).

L'interaction symbiotique Légumineuses/*Rhizobium* est très spécifique, elle dépend d'une reconnaissance entre des exsudats racinaires de la plante hôte qui se comportent comme étant des inducteurs de l'hôte végétale pour attirer les facteurs bactériens appelés « facteurs Nod ». Ces facteurs sont essentiels pour l'activation d'une voie de signalisation qui favorise ensuite l'organogenèse de nodosités indispensable à la fixation de l'azote. Ce processus aussi est conditionné par l'intervention des certains gènes tel que le gène *dmi2* (*doesn't make infections 2*) qui appartient au partenaire végétal et qui intervient dans la cascade de la voie de signalisation pour réguler la démarche de cette interaction symbiotique.

- Objectifs du travail :

L'objectif du travail est la création d'une base de données (BD) du gène *dmi2* afin d'étudier sa structure fine au sein de différentes espèces végétales qui établissent des interactions symbiotiques.

Cette BD englobe toutes les informations concernant ce gène (taille, nombre d'introns et d'exon, nombre d'acides aminés...etc.) dans le cadre de mieux regrouper les données de *dmi2* d'une manière structurée et organisée sur un support *in silico*.

- Le mémoire est présenté en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la symbiose rhizobienne et la voie de signalisation «Nod-dépendante ».

Le second chapitre représente l'approche méthodologique pour la création de la BD ou on a déterminé le système utilisé et les étapes nécessaires pour la création de cette dernière.

Le troisième chapitre représente les résultats de la base de données du gène *dmi2* ou on a présenté la structure fine de ce gène au sein des différentes espèces.

Chapitre I :
La symbiose rhizobienne

I. La fixation de l'azote

1. Le cycle de l'azote

L'atmosphère terrestre est composée à près de 80% d'azote (N_2) qui est un élément important dans la constitution de nombreuses molécules organiques (acides aminés et protéines, en particulier) (Zahran, 1999). Les plantes ne peuvent pas assimiler l'azote moléculaire (atmosphérique), ce dernier est assimilé par les racines sous forme de nitrates (NO_3^-) ou, parfois, d'ions ammonium (NH_4^+). Ces ions proviennent de la décomposition de la matière organique azotée dans le sol (Drevon, 2004).

L'azote se déplace sans cesse entre sa forme minérale et sa forme organique. Les molécules organiques contenant de l'azote se décomposent dans le sol sous l'action des microorganismes du sol. Cette décomposition produit de l'azote sous forme minérale (des nitrates). Les plantes utilisent les nitrates puisés par leurs racines pour fabriquer de la matière organique azotée ; et le cycle recommence.

Les plantes produisent de la matière organique azotée (acides aminés et autres molécules organiques azotées) à partir des sucres fabriqués par photosynthèse et d'ions NO_3^- puisés dans le sol. Les animaux utilisent la matière organique azotée des plantes pour fabriquer leur propre matière organique azotée. Les décomposeurs du sol (bactéries, mycètes) transforment la matière organique azotée provenant des plantes ou des animaux morts en CO_2 , H_2O et ammoniac NH_3 . Au contact de l'eau, l'ammoniac se transforme en ions NH_4^+ . D'autres bactéries du sol, les bactéries nitrifiantes, transforment le NH_4^+ en nitrate NO_3^- qui peut être assimilé par les plantes. Certaines plantes peuvent assimiler l'ion NH_4^+ qui se forme directement à partir d'ammoniac (**Figure 1**).

2. Les principales sources d'azote

2.1. Le sol

La première source d'azote utilisée par les plantes est l'azote du sol. En absence de tout apport d'engrais les plantes non fixatrices d'azote utilisent l'azote du sol durant leur cycle physiologique. Même les plantes fixatrices d'azote atmosphérique utilisent d'abord l'azote de la semence et du sol durant la première phase de la croissance. L'azote du sol est essentiellement sous forme organique. C'est par minéralisation que la matière organique du sol libère l'azote utilisable par les plantes.

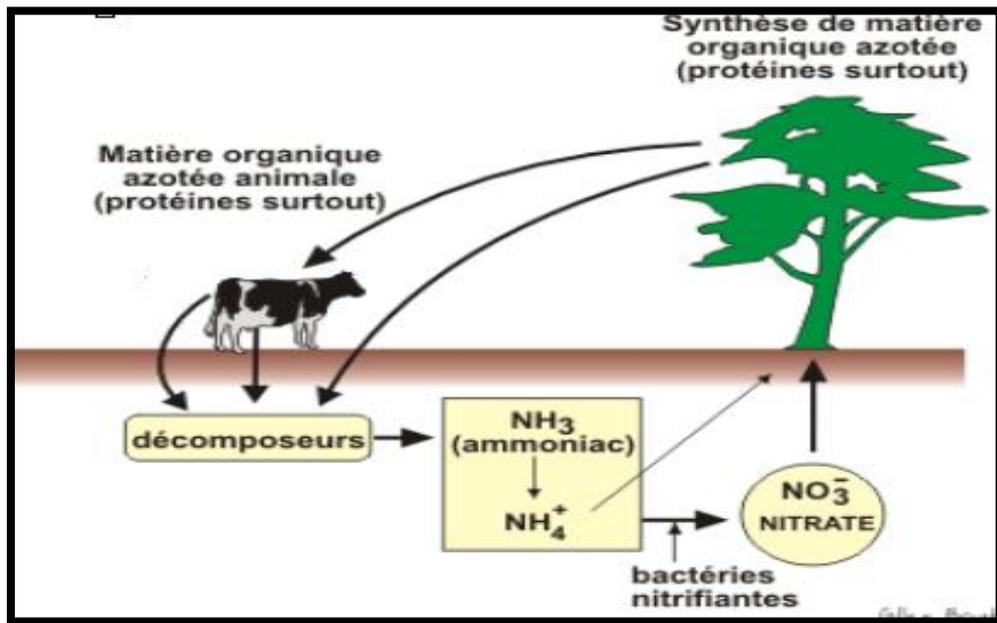


Figure 1 : Le cycle de l'azote (Saoudi, 2008)

L'azote inorganique ou azote minéral, principalement NO_3^- et NH_4^+ , disponible pour la plante, constitue une petite fraction de l'azote total du sol (2-5%). L'azote minéral se trouve essentiellement dans la solution du sol et une petite quantité de NH_4^+ adsorbée aux sites d'échange cationique sur les colloïdes du sol. Très peu de N est libéré des minéraux du sol (Newton, 1998).

2.2. Les amendements organiques

Les amendements organiques ont une origine végétale. Ils allègent les terres lourdes, donnent du corps aux terres légères et reconstituent le stock de matière organique du sol. Par leur minéralisation progressive, ils permettent de nourrir durablement les végétaux, sans risque de lessivage, tout en assurant une meilleure circulation de l'air et de l'eau. En fait, ils "nourrissent" le sol avant de nourrir la plante, une fois la matière organique décomposée en substances minérales assimilables.

Les résidus organiques laissés sur le sol après les récoltes constituent une litière temporaire. Quand ils sont enfouis en début de saison, ces résidus enrichissent la matière organique du sol. Les principaux amendements organiques incorporés aux sols sous forme de fumier d'animaux d'élevage à l'automne ou de compost en fin d'hiver viennent également enrichir et constituent une source d'azote et d'humus. Les fumiers contiennent

de l'azote minéral, principalement sous forme ammoniacale et de l'azote organique, alors que les composts ne contiennent pratiquement que l'azote organique, sachant que les fumiers fournissent de 45 à 70 % de l'azote totale, alors que les composts fournissent jusqu'à 50 % d'azote.

2.3. Les engrais minéraux

L'azote du sol et les amendements organiques ne suffisent pas pour atteindre des rendements optimums. Des engrais minéraux azotés sont utilisés comme complément d'azote pour augmenter les rendements et intensifier la production végétale. Dans l'agriculture conventionnelle, la plus grande partie de l'azote minéral vient des engrais dissous avec une contribution de minéralisation de l'azote organique dans sol par ailleurs plusieurs types d'engrais minéraux azotés sont utilisés par les producteurs comme : l'urée, les solutions azotés, toutes fois l'urée reste l'engrais le plus utilisé.

L'urée avec 46% d'azote sous forme ammoniacale, est l'engrais sec le plus riche en azote et il est complètement soluble à l'eau, il agit moins rapidement que les nitrates et son effet dure plus longtemps. En revanche, les solutions azotés peuvent être obtenus à la suite d'un mélange d'ammoniac, de nitrate d'ammonium, d'urée et d'eau et contiennent en moyenne entre 28% et 32 % d'azote (Ziadi, 2007).

2.4. Les interactions plantes/bactéries

La plus grande partie de l'azote de la biosphère se trouve dans l'atmosphère (Foth, 1990). La fixation d'azote est le principal moyen naturel par lequel l'azote atmosphérique est ajouté au sol. Mais seul un nombre réduit de genres bactériens vivant librement ou en symbiose avec les plantes sont capables de réduire l'azote moléculaire de l'atmosphère. Par la symbiose entre les bactéries réductrices de l'azote atmosphérique, une grande partie des Légumineuses utilisent principalement l'azote provenant de l'atmosphère. A l'échelle mondiale, la fixation biologique annuelle de l'azote est estimée au double de l'utilisation mondiale des engrais. Elle est très importante pour fournir l'azote disponible pour les plantes dans les systèmes naturels et dans les régions agricoles où l'engrais synthétique est trop cher ou non disponible (Newton, 1998).

3. La fixation non-biologique de l'azote

Au niveau mondial, on estime que la masse d'azote fixé par voie biologique est de 100 millions de tonnes par an (Graham et Vance, 2003), soit le même ordre de grandeur

que la production d'azote fixé par l'industrie chimique à l'aide du procédé d'Haber-Bosch (1909). Il est anticipé que la production d'engrais azotés par voie chimique continue à progresser au cours du temps pour atteindre les 120 millions de tonnes en 2040 (Vance, 2001). Le processus de fabrication chimique est très coûteux, car le marché du pétrole influence le cours des engrais azotés. La fixation non biologique correspond à la fixation industrielle de l'azote qui peut produire de l'engrais azoté à partir de l'azote de l'air par la réaction de Haber-Bosh.

Le dihydrogène est produit à partir de gaz naturel (CH_4). L'ammoniac produit peut être utilisé directement ou converti en nitrates (ex. nitrate de sodium NaNO_3 ou nitrate d'ammonium NH_4NO_3). Il faut l'équivalent de 2 à 3 tonnes de pétrole pour produire une tonne d'engrais azoté par le processus Haber-Bosch (le gaz naturel pour fournir l'hydrogène et température et pression élevées nécessaires pour la réaction). On produit environ 40 millions de tonnes d'ammoniac par le procédé Haber/Bosh par année. C'est environ 1/5 de ce qui est produit par les bactéries fixatrices d'azote sur toute la planète.

La moitié de l'engrais ajouté est absorbée par les plantes cultivées. Le reste est absorbé par d'autres plantes ou lessivé. Les hauts rendements agricoles qui permettent actuellement de nourrir la population mondiale ne seraient pas possibles sans cette production industrielle d'engrais azoté.

4. La fixation biologique de l'azote

C'est le processus de la fixation biologique de l'azote qui permet de produire des substances protéiques à partir de l'azote gazeux présent dans l'atmosphère et l'environnement. C'est une réduction enzymatique de N_2 (azote moléculaire) en azote ammoniacal, ou ammoniac (NH_3). Cette forme d'azote combiné, appelée intermédiaire-clé, représente la fin de la réaction de fixation et le début de l'incorporation de l'azote fixé dans le squelette carboné (Hopkins, 2003).

Dans le système biologique fixateur de N_2 , les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent à une pression de 0,2 à 1,0 atmosphérique de N_2 et une température de 30-35°C, alors que les conditions de la catalyse chimique sont très sévères (pression de 250- 1.000 atm de N_2 et température de 450°C).

4.1. Les fixateurs libres

Les fixateurs libres comprennent des genres très divers : des bactéries aérobies chimioorganotrophe (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *diazotrophicus*), des bactéries anaérobies strictes (*Clostridium*) ou des aérobies facultatives (*Klebsiella*, *Bacillus*, *Pseudomonas*), des bactéries phototrophes à photosynthèse anoxygénique (*Rhodobacter*, *Rhodospirillum*) et des cyanobactéries (*Synechococcus*) appelées aussi « algues bleues ». Ces associations vont de la simple multiplication bactérienne à la surface de la racine à la colonisation des espaces intercellulaires, caractéristiques des bactéries endophytes.

D'autres associations avec les fixateurs libres ont évolué en de véritables symbioses, mais sans organogenèse particulière au niveau de la plante. C'est le cas de bactérie endophyte *Azoarcus* qui peut pénétrer dans les cellules de la graminée tropicale *Leptochloa fusea* (Hurek, 1997).

4.2. Les fixateurs symbiotiques

La réduction de l'azote étant coûteuse en énergie, les systèmes les plus efficaces sont ceux qui permettent un couplage entre la photosynthèse et la fixation biologique de l'azote. Dans ces associations fixatrices d'azote, le microorganisme induit l'apparition de structures différenciées, appelées « nodules », chez le partenaire végétal, et lui fournit une grande partie de l'azote nécessaire à sa croissance. C'est le cas des systèmes associant des plantes de la famille des Légumineuses et certaine bactérie Gram négatif, communément et collectivement appelées « Rhizobias » ou « bactéries nodulant les Légumineuses (BNL) » (Moulin, 2002).

D'autres bactéries actinomycètes du genre *Frankia* (bactérie Gram positif, filamenteuses et sporulantes) nodulent des plantes ligneuses appartenant à différentes familles de dicotylédones appelées les plantes actinorhiziennes, dont les genres *Alnus*, *Eleagnus*, *Casuarina* ou *Myrica* (Benson et Silvester, 1999). En outre, plusieurs espèces de *Parasponia* de la famille des Ulmaceae, peuvent également développer des nodules fixateurs d'azote avec certaines bactéries (Davey *et al.*, 1993).

Les orages sont aussi considérés comme une forme de fixation de l'azote biologique. Au voisinage des éclairs, les hautes températures et pressions engendrées permettent la formation d'oxydes d'azote qui retombent au sol avec la pluie.

II. L'interactions symbiotiques *Rhizobium*-Légumineuses

1. Généralités sur la symbiose rhizobienne

La majorité des espèces de Légumineuses peuvent entrer en symbiose avec des bactéries appelées « Rhizobias ». Ces symbioses ont des phénotypes très variés, aux regards de la localisation, de la forme, et de l'anatomie des nodules engendrés (Boivin *et al.*, 2009). Ces bactéries de la famille des Rhizobiascées et du genre *Rhizobium* peuvent infecter les racines de ces Légumineuses entraînant la formation d'un organe spécialisé, le « nodule », à l'intérieur duquel la bactérie se différencie en bactéroïde, capable de fixer l'azote atmosphérique.

La symbiose rhizobienne commence par l'attachement des bactéries (ou microsymbiontes) aux poils absorbants des racines de la plante ; on pense que cette liaison initiale dépend d'une reconnaissance cellulaire entre des molécules de surface comme des glycoprotéines des bactéries et de la plante.

Le partenaire végétal va permettre aux bactéries de bénéficier d'un micro habitat exceptionnellement favorable en leur procurant un apport en substrats carbonés issus de la photosynthèse nécessaires à leur nutrition. En échange, ces Rhizobias vont fixer et réduire l'azote atmosphérique en ammonium, directement assimilable par les plantes hôtes se qui aide la plante à survivre et à rivaliser efficacement sur les sols pauvres en azote. L'établissement et le fonctionnement de la symbiose sont sous le contrôle génétique de chacun des deux partenaires (Postgate, 1974).

2. Spécificité de la symbiose rhizobienne

La symbiose Légumineuses-*Rhizobium* est très spécifique. Un *Rhizobium* donné n'est capable d'effectuer une symbiose fixatrice d'azote que si l'autre partenaire appartient à son spectre d'hôte et le contraire est juste. Les amplitudes des spectres des Légumineuses et des Rhizobias sont très variables. Certaines espèces de Légumineuses peuvent être infectées par des Rhizobias provenant de genres bactériens différents tandis que d'autres espèces sont très restrictives et ne s'associent qu'avec un nombre très réduit de symbiontes. Ces spécificités d'hôte sont généralement dépendantes de la composition des exsudats racinaires les « flavonoïdes », ainsi que de la nature de déterminants moléculaires secrétés par les Rhizobias appelés « facteurs Nods » (Perret *et al.*, 2000b). Cette spécificité s'agit-il donc de la reconnaissance entre les flavonoïdes et les facteurs Nods.

Les premières étapes de l'interaction symbiotique sont caractérisées par la production de facteurs « Nods » bactériens, la réorientation de la croissance apicale des racines des cheveux, la formation d'un fil d'infection dans les chevelus racinaires, et l'induction de la division cellulaire dans les cellules corticales internes des racines, conduisant à une formation de primordium nodulaire.

Les dernières découvertes ont détecté d'autres facteurs qui peuvent déterminer la spécificité dans les étapes précoces de cette interaction symbiotique. Ces facteurs sont les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO, en anglais *Reactive Oxygen Species*, ROS) et de l'Oxyde Nitrique (NO). Ce sont des signaux déterminants pour arbitrer la spécificité de cette association mutualiste et des modifications dans leur contenu peuvent nuire au développement de l'association symbiotique. La diminution du niveau ROS empêche la formation du fil d'infection, et celle de NO conduit à la formation de nodule retardée. Dans les poils absorbants, tandis que NADPH oxydases se sont révélés produire des ROS qui pourrait être impliqué dans le processus de croissance de la coiffe racinaire.

Les ROS sont des dérivés chimiques oxygénés telles que des radicaux libres, des ions oxygénés et des peroxydes, rendus chimiquement très réactifs par la présence d'électrons de valence non appariés. Les DRO peuvent être d'origine exogène produits par des rayonnements ionisants par exemple ou bien endogène, apparaissant comme sous-produits du métabolisme normal de l'oxygène et jouant alors un rôle important dans la communication entre les cellules. Leur concentration peut cependant croître significativement en période de stress sous l'effet de la chaleur ou de l'exposition aux ultraviolets par exemple et endommager les structures cellulaires, ce qu'on appelle le stress oxydant. Ceci conduit à la perturbation de métabolisme de la plante et donc vont inhibés la sécrétion des métabolites secondaires telles que les flavonoïdes intervenant dans le processus de la reconnaissance entre l'hôte et la bactérie.

La transcriptomique a déterminé le succès d'intervention des ROS et NO dans le processus d'infection, l'induction de l'expression de la noduline précoce, et la répression de la défense des plantes, favorisant ainsi la mise en place de la symbiose (Damiani *et al.*, 2016).

3. Les partenaires intervenants dans la symbiose rhizobienne

3.1. Partenaire végétal : les Légumineuses

3.1.1 Classification

Les Légumineuses constituent la troisième super famille par ordre d'importance chez les angiospermes, l'un des groupes de végétaux supérieurs les plus abondant et les plus diversifié (Broughton, 1984).

Ces plantes appartiennent à la famille des *Fabaceae* (ou *Leguminosae*) qui regroupe plus de 20 000 espèces, la plaçant en seconde position derrière les *Poaceae*, en terme de diversité (Polhill *et al.*, 1981). Elle est subdivisée en trois sous familles d'importance inégale en trois sous-familles : les *Caesalpinioideae*, les *Mimosoideae*, et les *Papilionidae*. La grande majorité des plantes d'intérêts agronomiques appartiennent à la sous-famille des *Papilionidae* (Franche *et al.*, 2009).

Les *Mimosoideae* ont de très nombreuses petites fleurs en grappes serrées à nombreuses étamines saillantes en dehors des petits pétales ; les fleurs sont symétriques. Ces espèces sont en majorité des arbres et arbuste des régions tropicales et subtropicales avec 62 genres et environ 2500 espèces.

Les *Caesalpinioideae* ont habituellement des fleurs comme des papillons et à étamines unies comprenant environ 150 genres et 2200 espèces, et sont principalement des arbres ou arbustes retrouvés en régions tropicales et subtropicales ; 23 % seulement des espèces parmi celles examinées, sont connues pour être nodulées par les Rhizobias. Ces espèces nodulées se retrouvent majoritairement dans les tribus des *Caesalpinieae* et *Cassieae* ; les tribus *Cercideae* et *Amherstieae* étant très peu nodulées (Maxted et Bennett, 2001a).

Les *Papilionaceae* représentent la sous-famille la plus diversifiée avec 429 genres et plus de 12000 espèces, principalement herbes et petits arbustes distribués dans le monde entier, présentes en régions tempérées et tropicales, et inclut les Légumineuses à grain bien connues telles que des haricots et des pois (Ferchichi, 2006). Elles ont des fleurs en forme de papillon avec un pétale supérieur appelé étendard, deux pétales latéraux ou ailes et une carène formée par deux pétales inférieurs unis ; les sépales au nombre de cinq sont soudés en tube ; les dix étamines sont habituellement incluses dans les pétales, unies par leurs filets en un tube qui entoure le pistil, ou avec une étamine. Parmi les 21 % d'espèces déjà

examinées la grande majorité (97%) est nodulée (pois, haricot, fève, lentille...) par les Rhizobias (Maxted et Bennett, 2001b).

3.1.2. La diversité floristique au niveau du bassin Méditerranée

Le bassin Méditerranéen est le berceau de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales d'intérêt fourrager et/ou pastoral. Les genres *Trifolium*, *Medicago*, *Vicia*, *Astragalus*, *Lathyrus*, *Ononis*, *Avena*, *Eragrostis*, *Hordeum*, *Dactylis*, ..., sont largement représentées.

Le nombre d'espèces végétales est très élevé dans les pays du bassin Méditerranéen ; en Algérie, il y a 3 139 espèces (Quezel et Santa, 1962). L'endémisme de la flore du bassin Méditerranéen est très élevé; sur les 976 espèces des 18 genres de Fabacées fourragères et/ou pastorales, 336 espèces sont endémiques à la région méditerranéenne.

A titre d'exemple, en Algérie, l'endémisme est assez important chez les Fabacées et les Poacées. En Tunisie, l'absence des hautes montagnes n'a pas permis le développement d'une flore endémique importante comme c'est le cas en Algérie ; les taxons propres à la Tunisie sont au nombre de 34 dont environ 6 sont des fabacées et 1 est une Poacée .

3.1.3. Morphologie et caractéristiques

Les Légumineuses sont des herbacées, des arbres, des arbustes ou des lianes, à feuilles habituellement composées, souvent trifoliolées, rarement simples, généralement avec des stipules. Beaucoup sont grimpantes et possèdent des feuilles ou des parties de feuilles modifiées en vrilles. Les fleurs, pentamères avec dix étamines, ou parfois plus, caractéristiques, ressemblent souvent à des papillons. Le fruit est une gousse uniloculaire s'ouvrant en deux valves séparées et contenant de nombreuses graines (**Figure 2**) (Wathan, 1967).

3.1.4. Intérêt économique

Les Légumineuses grainières représentent la famille ayant la plus grande importance économique, Elles sont distribuées dans le monde entier, principalement dans les régions chaudes.



Figure 2 : Quelques Légumineuses

Elles constituent une part très importante de l'alimentation de nombreuses populations, notamment en Asie, en Afrique et en Amérique Centrale et Latine (Reddy *et al.*, 1985).

Cette famille de plantes est l'une des plus importantes familles des dicotylédones qui regroupe un nombre intéressant d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient, alimentaires, industrielles ou médicinales. L'intérêt alimentaire est évident : cette famille représente le 2^{ème} rang mondial (derrière les céréales). On peut citer le soja, les lentilles, les haricots et autres fèves... De nombreuses légumineuses constituent une source majeure de protéines et d'huiles végétales (Graham et Vance, 2003) et sont largement cultivées sur l'ensemble de la planète. On peut citer par exemple : le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le soja (*Glycine max*), le pois (*Pisum sativum*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), la fève (*Vicia faba*), le niébé (*Vigna unguiculata*), la lentille (*Lens esculenta*), la cacahuète (*Arachis hypogea*). Ainsi qu'elle représente de nombreuses espèces constituent des ressources en fourrage (luzerne, trèfle, sainfoin) qui ont la capacité d'améliorer les propriétés physiques et biologiques des sols (Hoshikawa, 1990) grâce à leurs résidus qui sont riches en azote.

Les Légumineuses ont aussi la capacité à solubiliser des phosphates de calcium et le phosphore occlus par leurs exsudats racinaires. De plus l'introduction de ces plantes dans

des rotations diminue les pertes d'azote par lessivage et la pollution des nappes par des nitrates.

Cette famille de plantes regroupe aussi des espèces qui ont des propriétés médicinales, horticoles (mimosas) ou de colorants (indigo) et des espèces qui fournissent des propriétés qui peuvent être utilisés en différents industries telle que les gommés, teintures, résines, huiles et nombreux bois de construction, bois (palissandres), aliments (soja, haricot, arachides).

3.1.5. Rôle de Légumineuses dans la dépollution des sols

Les nitrates peuvent être des polluants lorsqu'ils atteignent les nappes d'eaux souterraines et les cours d'eau. Or les Légumineuses en croissance ne sont généralement pas des sources importantes de nitrates dans les eaux de drainage. Au contraire, ce sont des plantes qui, bien qu'elles fixent l'azote de l'air par son association avec les Rhizobias, permettent de réduire la quantité de nitrates lessivés dans le profil car elles utilisent très bien les nitrates résiduels. Lorsqu'elles croissent dans un milieu riche en azote, elles fixent simplement moins d'azote de l'air.

3.2. Partenaire bactérien : *Rhizobiums*

3.2.1. Généralités

L'étude taxonomique des *Rhizobiums* revêt une importance capitale pour leur utilisation en agriculture. Ces bactéries comprennent les bactéries fixatrices d'azote des genres *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* infectant les systèmes racinaires de nombreuses Légumineuses et d'un non Légumineux, *Parasponia* (Ulmacées). D'autres bactéries appartiennent aussi au genre *Azorhizobium* ou *Bradyrhizobium* formant à la fois des nodosités racinaires et caulinaires chez quelques rares Légumineuses.

3.2.2. Classification

Les Rhizobias sont des bactéries gram-négatives de la classe des α - et β -protéobactéries et sont retrouvées dans 13 genres (Franche *et al.*, 2009). Sur la base des groupes d'inoculation croisée définis comme des ensembles de plantes-hôtes dont la nodulation est induite par les mêmes souches bactériennes, les bactéries fixatrices d'azote ont d'abord été groupées en un seul genre *Rhizobium* comprenant six espèces :, *R. meliloti*,

R. trifolii, *R. phaseoli*, *R. leguminosa* l, *R. lupini* et *R. japonicum*. Puis, sur la base de vitesse de croissance, les espèces sont reclassées dans deux genres : le genre *Rhizobium* révisé comprenant les souches à croissance rapide et le nouveau genre *Bradyrhizobium*, pour les espèces à croissance lente (Jordan, 1982). L'étude combinée des caractères phénotypiques et phylogénétiques a confirmé cette séparation en deux genres (Crow *et al.*, 1981).

3.2.3. Morphologie et caractéristiques

Les Rhizobias sont des bâtonnets à extrémités arrondies, asporogènes, d'une longueur de 1,2 à 3,0 μm et d'une largeur de 0,5 à 0,9 μm . Elles contiennent souvent des granules de poly- β -hydrox butyrate, oxydase et catalase positive, mobiles par un flagelle polaire ou subpolaire ou bien 2 à 6 flagelles peritriches (**Figure 3**) et se trouvent isolés, en paires ou bien en amas. Elles sont aérobies à métabolisme respiratoire, mais se développent très bien en présence de faible pression en oxygène.

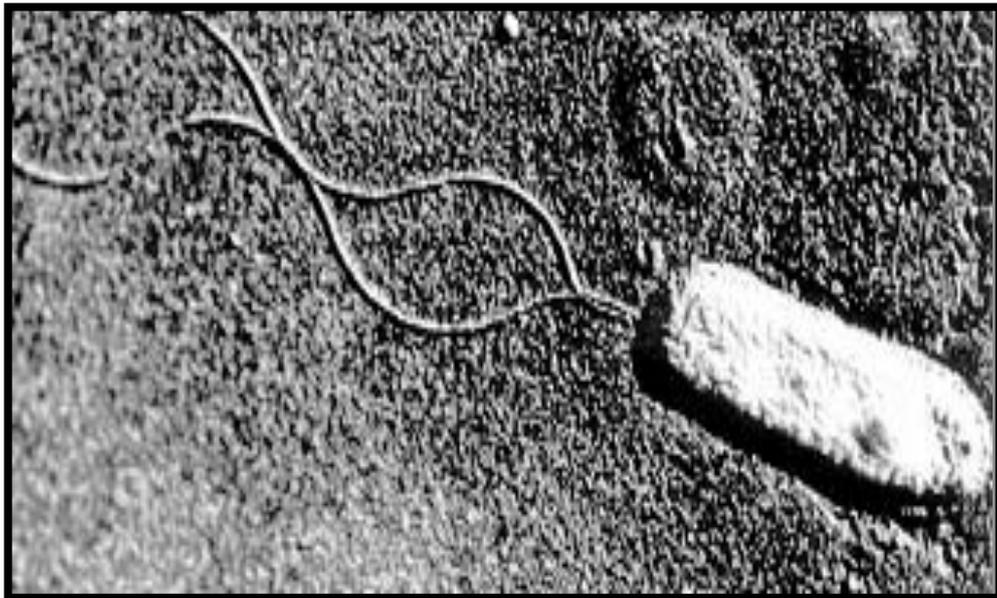


Figure 3 : Flagelles du *Rhizobium leguminosarum*.

En anaérobiose, ces bactéries sont capables d'utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons. Ils sont photosynthétiques, chimioorganotrophes, certaines souches possédant une hydrogenase peuvent se développer en chimolithotrophie en présence de H_2O , CO_2 , d'une faible pression partielle en O_2 et de faible concentration en sels d'ammonium ou de nitrate. Des études ont démontrés que si l'intérieur des nodules est rose /rouge, ceci est du à

la présence de leghemoglobine qui favorise la fixation de l'azote. Lorsque les nodules sont jeunes et pas encore fixateurs d'azote, ils sont blancs ou gris à l'intérieur.

4. Fixation symbiotique d'azote et développement durable en Algérie

Selon les données collectées pour la période 1983-1991, aussi bien pour la zone nord que pour la zone sud des hautes plaines sétifiennes, les engrais les plus utilisés sont l'ammonitrate et l'engrais phosphaté. Lors du forum interprofessionnel de la protection des plantes et de la fertilisation, qui s'est tenu le 15 novembre 2009 à Alger, des études ont mis en évidence que le niveau d'utilisation des engrais en Algérie est le plus faible tant au niveau du bassin méditerranéen qu'au Maghreb. Le renforcement de la présence de Légumineuses dans les rotations est une piste prometteuse pour limiter la dépendance des systèmes de grandes cultures vis-à-vis des engrais. En plus de leur contribution à la fertilisation des sols, les Légumineuses sont plantées en Algérie afin de lutter contre la désertification, et contribuer à la régénération et la fixation du sol (Benabdoun, 2012).

III. Bases moléculaires de la symbiose rhizobienne

1. Dialogue moléculaire symbiotique

L'établissement de la symbiose plante-microorganisme est le résultat d'interactions complexes, impliquant un dialogue moléculaire, entre la bactérie et la plante-hôte (Long, 1996). Dans un premier temps, la plante produit des exsudats racinaires contenant des flavonoïdes qui seront perçus par la bactérie ce qui permet l'activation de la transcription de gènes bactériens particuliers.

Ces derniers, sont responsables de la biosynthèse de composés appelés « facteurs de nodulation » ou « facteurs Nod », qui, en retour, vont déclencher chez la plante le programme d'organogenèse. D'après ce phénomène de reconnaissance, les bactéries s'agglutinent sur les poils absorbants et forment un cordon infectieux qui va pénétrer dans la racine. Sous l'action des bactéries, le poil absorbant se déforme selon une allure bien particulière. Arrivées au niveau des vaisseaux conducteurs les bactéries provoquent le développement d'une tumeur qui formera la nodosité organe responsable de la fixation d'azote (Hynes et O'Connell, 1990). Par ces nodules, la plante-hôte offre un microhabitat exceptionnellement favorable à la bactérie tout en lui procurant des substrats carbonés provenant de la photosynthèse (**Figure 4**).

et al., 2010). Au cours de ce processus, la protéine NodD bactérienne agit à la fois comme un récepteur des flavonoïdes, et un activateur transcriptionnel des gènes *nod*.

La présence d'un mélange spécifique de flavonoïdes dans les exsudats racinaires de Légumineuses ainsi que la perception de ces flavonoïdes par les protéines NodD des différents Rhizobias jouent également un rôle dans la spécificité d'hôte (Hassans *et al.*, 2012).

1.2. Les facteurs « Nods »

Les facteurs *nods* sont des lipochito-oligosaccharides (LCO), formés d'une suite de 4 ou 5 unités de N-acétyl-D-glucosamine réunies par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (structure de la chitine), et comprenant une chaîne lipidique (acide gras) (Spaink et col, 1992). Selon le *Rhizobium*, le squelette de base est décoré par des groupements chimiques variés (fructose, arabinose, carbamate, méthyle, acétyle,...), présent sur les glucosamines situés aux deux extrémités (Perret *et al.*, 2000b) (Figure 5).

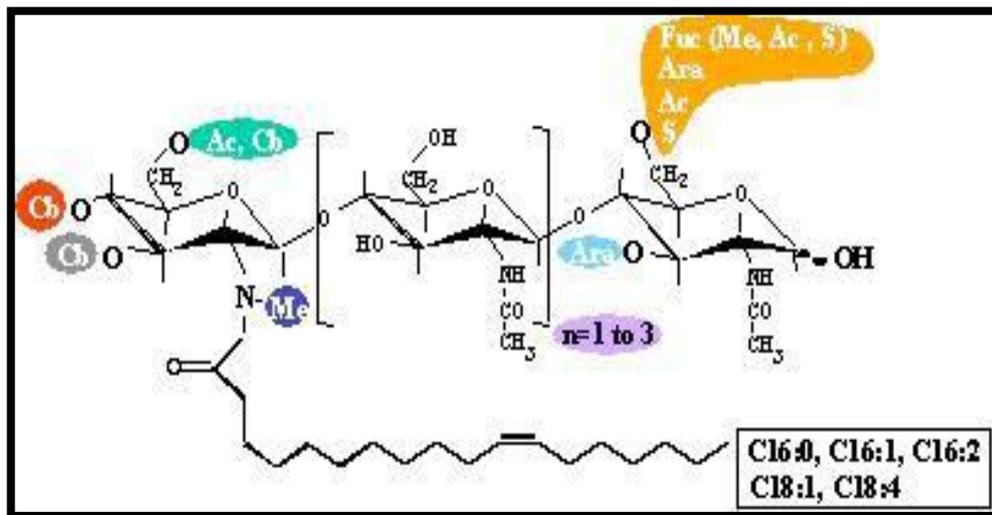


Figure 5 : Structure des « facteurs Nods ».

Chez ces bactéries, on trouve des gènes spécifiques de la nodulation, appelés « opéron *nod* ». Parmi ces opérons, les gènes *nod D* qui codent pour la synthèse des protéines constituant le facteur de transcription. Chez les diazotrophes, ce gène s'exprime de manière constitutive. Les facteurs de transcription sont donc continuellement synthétisés, que la bactérie soit en symbiose ou non (Dénarié *et al.*, 1996). La protéine NodD bactérienne agit à la fois comme un récepteur des flavonoïdes et un activateur transcriptionnel des gènes *nod* (Hassan et Mathesius, 2012). Cette protéine fait partie de la

famille des régulateurs transcriptionnels de type LysR. En réponse à des flavonoïdes appropriés, cette protéine peut se lier à des séquences d'ADN spécifiques appelées « *nod* boxes », que l'on retrouve dans les régions promotrices des gènes *nod*. Cette liaison faciliterait l'accès de l'ARN polymérase et augmenterait l'activité transcriptionnelle des gènes *nod* sur le site promoteur où NodD est présent (Peck *et al.*, 2006).

2. Cascade de la voie de signalisation « Nod Dépendante »

2.1. Perception des facteurs « Nods »

L'induction de l'expression des nodulines précoces dans l'épiderme résulte de la perception des NFs, et d'une cascade de signalisation déclenchée par cette perception (Oldroyd et Downie, 2008). Les oscillations calciques seront décrites par la suite, sont un composant essentiel de la transduction du signal NF. Bien que la perception initiale des NFs se produise dans l'épiderme racinaire, la signalisation engendrée reste importante au cours de l'infection bactérienne dans le cortex racinaire, et de la libération des bactéries dans le nodule (Den Herder *et al.*, 2007).

Cependant, l'affinité dans la perception des NFs diffère selon les stades de la symbiose. Beaucoup d'évènements apparentés aux étapes précoces de la nodulation sont induits par les NFs, où les poils absorbants répondent aux NFs des Rhizobias par des changements morphologiques particuliers (déformations et courbures des poils absorbants). En plus des réponses épidermiques, les NFs sont capables dans de nombreux cas d'activer la division des cellules corticales, et d'induire la formation de cordons de pré-infection.

2.2. Activation des oscillations calciques

Les oscillations calciques jouent un rôle indispensable dans la voie de signalisation induite par les NFs ; elles agiraient comme un second messenger pour transduire le signal NF. Des criblages de mutants ont pu mettre en évidence plusieurs composants requis pour l'activation de ces oscillations calciques par les NFs. En plus des LysM-RLKs, un LRR-RLK (Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinase) (Stracke *et al.*, 2002), au moins deux canaux cationiques (Riely *et al.*, 2007), et deux nucléoporines (Saito *et al.*, 2007) sont nécessaires à l'induction des oscillations calciques. Des approches biochimiques et pharmacologiques ont de plus indiqué que la signalisation des phospholipides est liée à la voie de signalisation des NFs (Sun *et al.*, 2007).

2.3. Gènes impliqués dans l'activation des oscillations calciques

i. *dmi2*

En plus des LysM-RLKs, la transduction du signal NF requiert un deuxième type de récepteur kinase. Le gène *dmi2* (*doesn't make infection 2*) ou *NORK* (nodulation receptor kinase) de *Medicago truncatula* est l'orthologue du gène *SYMRK* de *Lotus japonicus* (Stracke *et al.*, 2002). *dmi2* code pour un récepteur kinase localisé à la membrane plasmique (Limpens *et al.*, 2005). Il possède un domaine extracellulaire de 595 acides aminés qui contient trois répétitions LRR, un domaine transmembranaire, et un domaine kinase intracellulaire (Endre *et al.*, 2002) Les domaines LRR sont connus pour être impliqués dans les interactions protéine-protéine ou protéine-ligand.

Il est donc possible que *dmi2* soit activé par un ligand généré suite à la perception des NFs, ou qu'il fasse partie du complexe comprenant les récepteurs des NFs, même si son mode d'action n'a pu être caractérisé à ce jour. *dmi2* est essentiel à l'activation des oscillations calciques et de l'expression des nodulines précoces, mais à l'inverse des LysM-RLKs, il n'est pas requis pour l'activation des flux calciques (Miwa *et al.*, 2006a).

Ces observations indiquent une bifurcation dans la voie de signalisation en réponse aux NFs, immédiatement en aval des LysM-RLKs ; un branchement mènerait aux oscillations calciques, et l'autre aboutirait aux flux calciques. Des études de fusion transcriptionnelle *promoteur GUS* ont montré que *dmi2* est exprimé dans l'épiderme et le cortex racinaire avant l'infection, et que son expression est fortement induite dans le primordium nodulaire avant contact avec le cordon d'infection. De plus ce gène est exprimé dans la zone d'infection des nodules matures (Bersoult *et al.*, 2005).

ii. *dmi1*

dmi1 (*doesn't make infection 1*), tout comme *dmi2*, est requis pour l'induction des oscillations calciques en réponse aux NFs. *dmi1* code pour une protéine membranaire qui contient quatre domaines transmembranaires (Peiter *et al.*, 2007). Il est donc peu probable que *dmi1* soit un transporteur de calcium (Ca^{2+}). La région C-terminale cytoplasmique *dmi1* contient un domaine *RCK* (*regulator of the conductance of K^+*) qui serait impliqué dans le contrôle de l'activité de ce canal. Des expériences de fusions traductionnelles à la *GFP* (*green fluorescent protein*) ont permis de montrer que *dmi1* est localisé dans l'enveloppe nucléaire (Riely *et al.*, 2007) . Ces résultats ont par la suite été confirmés et précisés par

des expériences d'immunolocalisation montrant que *dmi1* est préférentiellement localisé dans la membrane interne du noyau (Capoen *et al.*, 2011) . Il apparaît donc que *dmi2*, localisé dans la membrane plasmique, activerait *dmi1* dans l'enveloppe nucléaire, par l'intermédiaire d'une cascade de signalisation encore non identifiée. Cette cascade de signalisation impliquerait probablement la voie des phospholipides (Sun *et al.*, 2007).

iii. *dmi3*

Le gène *dmi3* (*doesn't make infection 3*) (=CCaMK) de *M. truncatula*, orthologue de LjCCaMK chez *L. japonicus*, code pour une protéine kinase Ca²⁺/Calmoduline dépendante requise dans la symbiose rhizobienne (Levy *et al.*, 2004) . Bien que CCaMK soit nécessaire à l'induction de l'expression des nodulines précoces en réponse aux NFs, cette protéine n'est pas nécessaire à l'activation des oscillations calciques (Wais *et al.*, 2000). Cela suggère que CCaMK joue un rôle en aval des oscillations calciques dans la voie de signalisation. L'expression de *dmi3* est restreinte aux racines et aux nodules chez *Medicago* (Levy *et al.*, 2004). De plus des fusions traductionnelles à la GFP ont montré que cette protéine est localisée dans le noyau des cellules de *Medicago*, indépendamment de la perception des NFs (Kalo *et al.*, 2005).

3. Les facteurs de transcription NSP1 et NSP2

NSP1 et *NSP2* (*nodulation signaling pathway*) sont deux régulateurs transcriptionnels de la famille des GRAS impliqués dans la voie de signalisation NF en aval des oscillations calciques (Smit *et al.*, 2005). Ces deux protéines ont été identifiées à la fois chez *M. truncatula* et chez *L. japonicus* (Heckmann *et al.*, 2006). Les FTs GRAS font partie d'une large famille multigénique que l'on retrouve à travers le règne végétal, et ces protéines ont des rôles variés au cours du développement (Hirsch et Oldroyd, 2009).

Bien que *NSP1* et *NSP2* codent tous deux pour des membres de la famille des GRAS, ils présentent une faible similarité (17% d'identité, 32% de similarité), ce qui pourrait suggérer des fonctions potentiellement similaires mais non redondantes dans la voie de signalisation NF. Chez *M. truncatula*, les mutants *nsp1* et *nsp2* sont altérés dans l'activation du primordium nodulaire, l'infection rhizobienne, l'expression génique induite par les NFs, et la déformation des poils absorbants racinaires en réponse aux bactéries est réduite chez ces mutants (Oldroyd et Long, 2003) (**Figure 6**).

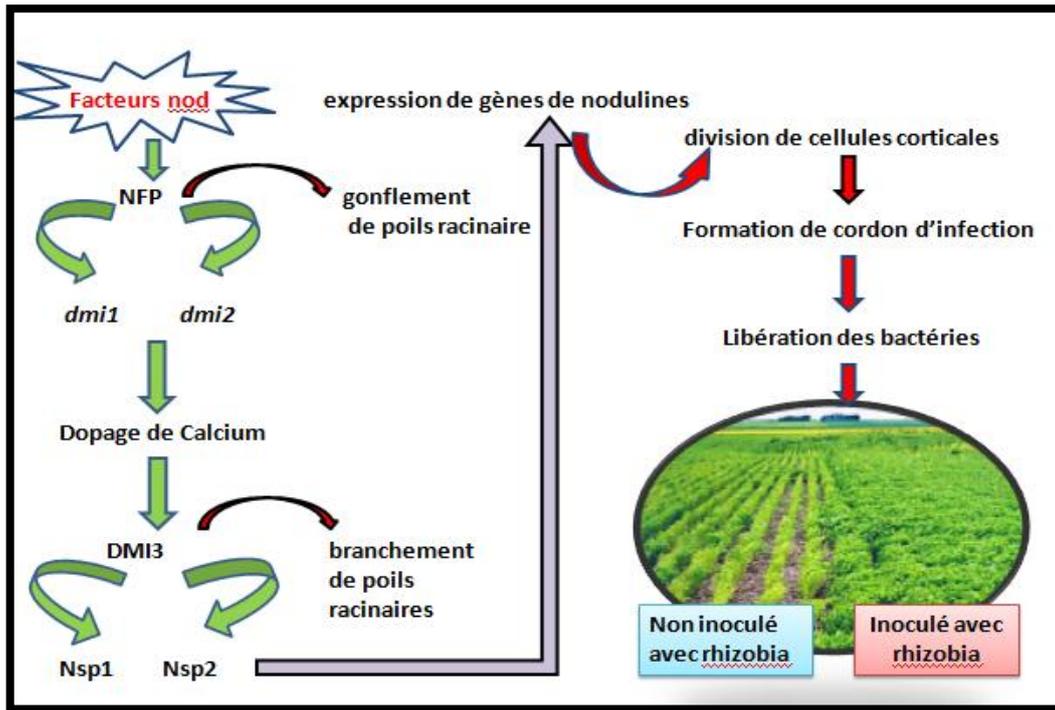


Figure 6 : La voie de signalisation « Nod dépendante ».

Chapitre II :

Comment créer une base données

I. Bases de données en bioinformatique

1. Qu'est-ce qu'une base de données ?

Une base de données (son abréviation est BD) est une entité dans laquelle il est possible de stocker des données de façon structurée et avec le moins de redondance possible. Ces données doivent pouvoir être utilisées par des programmes, par des utilisateurs différents. Ainsi, la notion de base de données est généralement couplée à celle de réseau, afin de pouvoir mettre en commun ces informations, d'où le nom de base. On parle généralement de système d'information pour désigner toute la structure regroupant les moyens mis en place pour pouvoir partager des données.

2. Utilité d'une base de données

Une base de données permet de mettre des données à la disposition d'utilisateurs pour une consultation, une saisie ou bien une mise à jour, tout en s'assurant des droits accordés à ces derniers. Cela est d'autant plus utile que les données informatiques sont de plus en plus nombreuses.

Elle peut être locale, c'est-à-dire utilisable sur une machine par un utilisateur, ou bien répartie, c'est-à-dire que les informations sont stockées sur des machines distantes et accessibles par réseau. L'avantage majeur de l'utilisation de bases de données est la possibilité de pouvoir être accédées par plusieurs utilisateurs simultanément.

3. Les différents modèles de bases de données

Les bases de données sont apparues à la fin des années 60, à une époque où la nécessité d'un système de gestion de l'information souple se faisait ressentir. Il existe cinq types de BD qui se distinguent de par la façon dont les données sont structurées et sont différenciés selon la représentation des données qu'elle contient (**Figure 7**).

- Le modèle hiérarchique : les données sont classées hiérarchiquement, selon une arborescence descendante. Ce modèle utilise des pointeurs entre les différents enregistrements. Il s'agit du premier modèle de SGBD (Système de Gestion de Bases de Données) ou en anglais DBMS (Database Management System).

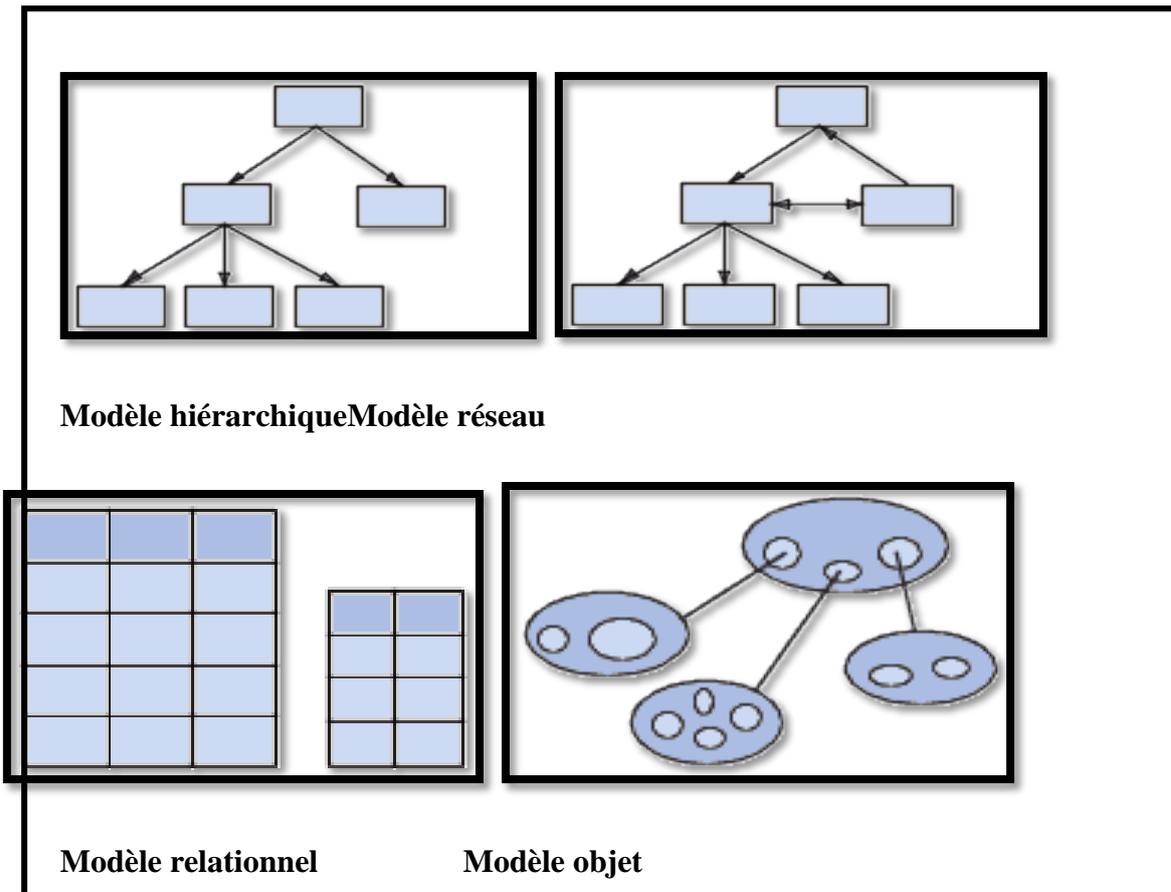


Figure 7 :Les différents modèles de base de données.

- Le modèle réseau : comme le modèle hiérarchique ce modèle utilise des pointeurs vers des enregistrements. Toutefois la structure n'est plus forcément arborescente dans le sens descendant.
- Le modèle relationnel (SGBDR) « Système de Gestion de Bases de Données Relationnelles » : les données sont enregistrées dans des tableaux à deux dimensions (lignes et colonnes). La manipulation de ces données se fait selon la théorie mathématique des relations. A la fin des années 90 les bases relationnelles sont les bases de données les plus répandues (environ trois quarts des bases de données).
- Le modèle déductif : les données sont représentées sous forme de table, mais leur manipulation se fait par calcul de prédicats.

- Le modèle objet (SGBDO) « Système de Gestion de Bases de Données Objet » : les données sont stockées sous forme d'objets, c'est-à-dire de structures appelées « classes » présentant des données membres. Les champs sont des instances de ces classes.

4. La gestion des bases de données

Afin de pouvoir contrôler les données ainsi que les utilisateurs, le besoin d'un système de gestion s'est vite fait ressentir. La gestion de la base de données se fait grâce à un système appelé SGBD.

Le SGBD est un ensemble de services (applications logicielles) permettant de gérer les données d'une base de données (Pillou, 2015)

- Permettre l'accès aux données de façon simple.
- Autoriser un accès aux informations à de multiples utilisateurs.
- Manipuler les données présentes dans la base de données (insertion de nouvelles données, supprimer et chercher des données, mettre à jour et donc modifier les données).
- Sécuriser les données.

Le SGBD peut se décomposer en trois sous-systèmes :

- le système de gestion de fichiers : il permet le stockage des informations sur un support physique.
- le SGBD interne : il gère l'ordonnancement des informations.
- le SGBD externe : il représente l'interface avec l'utilisateur.

II. Système utilisé pour la création d'une base de données

Un SGBDR (Système de Gestion de Bases de Données Relationnel) est un SGBD qui permet de gérer les données d'une base de données relationnelle.

Parmi les logiciels utilisés pour la création d'une BD, on cite « Access » qui est un logiciel relationnel permet de créer une BD composée d'un ensemble de tables ou sont structurées et stockées les données relatives à un sujet par des relations, utilisé pour gérer des petites bases de données. Il offre un ensemble d'outils permettant de saisir, de mettre à

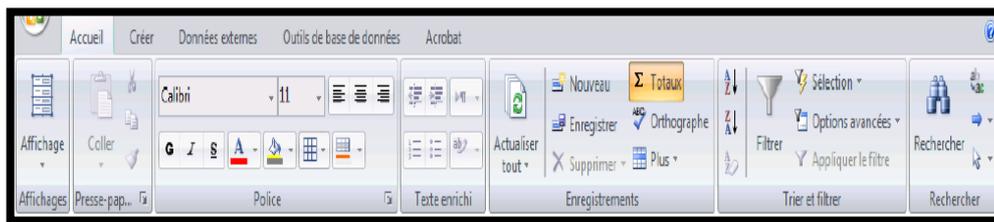
Chapitre II : Comment créer une base de données ?

jour, de manipuler, d'interroger et d'imprimer des données. Sachant qu'une BD Access ne peut pas dépasser 2 Go.

1. Les éléments d'une base de données « Access »

La gestion d'une base de données par le logiciel « Access » doit contenir un ruban et ses quatre onglets principaux.

– Accueil: manipuler les enregistrements, mettre en forme les caractères...



– Créer: créer des objets, tables, requête, formulaires...



- Données externes : importer ou exporter des données...



- Outils de base de données: créer des relations, des macros, déplacer les données...



Le 'Bouton Office' en haut à gauche de la fenêtre Access affiche le menu qui regroupe toutes les commandes de fichier : créer, enregistrer, imprimer, fermer un

fichier... et donne accès aux options d'Access. On retrouve ce même bouton dans toutes les applications Office 2007.

Les commandes de bouton Office sont :

- Nouveau : pour créer une base de données vierge ou basée sur un modèle.
- Ouvrir : pour ouvrir une base de données.
- Enregistrer : pour enregistrer les dernières modifications des objets de la base de données.
- Enregistrer sous : pour enregistrer la base de données sous un autre nom, un autre format ou dans un autre dossier.
- Imprimer : pour accéder à l'impression rapide, à l'aperçu avant impression ou aux paramètres d'impression.
- Gérer : pour compacter, sauvegarder ou changer les propriétés de la base de données.
- Courrier électronique : pour envoyer l'objet sélectionné sur votre messagerie.
- Publier : pour publier l'objet sélectionné sur Internet ou un intranet.
- Fermer la base de données : pour fermer la base de données sans arrêter « Access ».

2. Les logiciels « Access » VS « Excel »

Le logiciel « Excel », comme « Access », gère des tables d'informations (données) et les deux se complètent ; on peut par exemple stocker et gérer les données sous « Access » puis les exporter sous « Excel » pour effectuer des statistiques et créer des graphiques.

Excel :

- Gestion faible.
- Les listes sont indépendantes : on peut insérer un paramètre associée à aucun élément.
- Volume des données gérées est relativement faibles.

Access :

- L'un des gros avantages d'Access est de lier entre les tables (ça évite les incohérences).
- Efficace pour volumes important

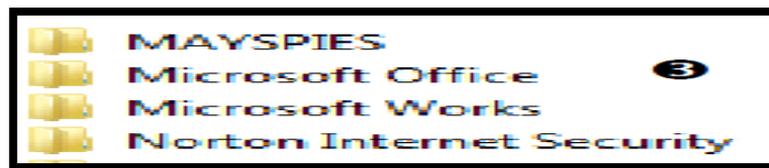
3. Création d'une base de données avec « Access »

A l'aide du bouton 'Démarrer', en double cliquant sur un raccourci posé sur le 'Bureau', ou en ouvrant un fichier 'Access' (accdb).

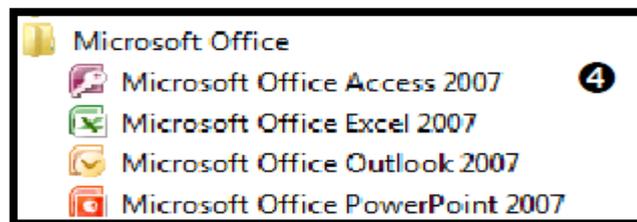
- Cliquez sur le bouton 'Démarrer' à gauche de la barre des tâches Windows.
- Cliquez sur 'Tous les programmes'.



- Cliquez sur 'Microsoft Office'.



- Cliquez sur 'Microsoft Office Access 2007'.



- La fenêtre 'Access' s'ouvre sur une page Prise en main de Microsoft Office Access.
- Cliquez sur nouvelle base de données vide.

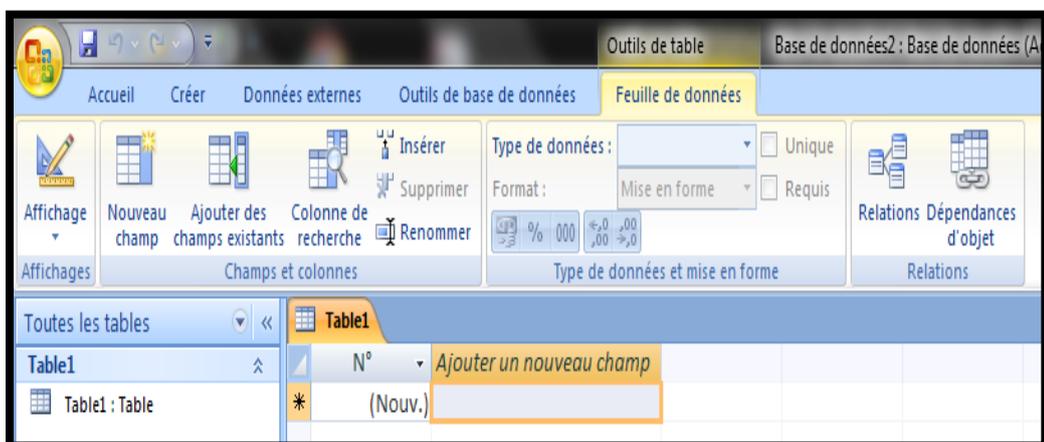
Chapitre II : Comment créer une base de données ?



- Vous nommez votre base de données puis vous cliquez sur créer.



- Et voilà votre base de données est créé , vous pouvez commencer de la remplir selon vos paramètres et rajouter un nouveau champ à chaque fois.



Chapitre II : Comment créer une base de données ?

- La barre d'outils Accès rapide est située en haut à gauche de la fenêtre juste au-dessus.
- Cliquez sur l'option 'Enregistrer' pour enregistrer les modifications.
- A la fin si vous voulez fermer une base de données en conservant la fenêtre de l'application 'Access', cliquez sur le 'Bouton Office' puis sur 'Fermer la base de données' ou cliquez sur la case de fermeture de la base de données.
- Si un objet de la base de données a été modifié mais pas encore enregistré, un message d'invite propose de le faire : cliquez sur 'Oui' pour enregistrer les modifications, ou sur 'Non' pour fermer la base de données sans enregistrer les modifications en suspens.

Chapitre III :

Base de données de gène *dmi2*

I. Présentation du gène *dmi2*

Le gène *dmi2*, est un acteur de la voie de signalisation symbiotique chez les différentes espèces végétales. Concernant la structuration de gène *dmi2*, on distingue une diversification de cette dernière au sein des espèces susmentionnées. Cette différenciation est concentrée dans sa localisation au niveau de chromosome, sa taille, son domaine extramembranaire, son ARNm, le nombre d'exon et d'intron, et le nombre d'acides aminés qu'il code.

Le gène *dmi2* n'est présent qu'en un seul exemplaire et ce dernier été confirmé par une étude qui a été réalisée en 2008 où l'homologue du gène *dmi3a* été isolé chez *Casuarinaglaucapar* l'équipe Rhizogenèse (Gherbiet *al.*,2008a) et chez *D. glomerata*(Markmannet *al.*, 2008). Une hybridation de type Southern a montré que, comme chez les Légumineuses, le gène *SymRK* n'est présent qu'en une seule copie dans les plantes actinorhiziennes.

Le gène *dmi2* fonctionne d'une manière similaire et identique entre toutes ces espèces végétales et dans de différentes conditions d'associations symbiotiques. Il se comporte donc toujours comme un gène qui code pour récepteur kinase localisé à la membrane plasmique, et un activateur des oscillations calciques de l'expression des nodulines précoces donc il intervient comme un récepteur déclenchant une cascade de transduction essentielle pour la nodulation conduisant à des divisions de cellules corticales de signal, formation de fil d'infection et la libération finale de bactérie à l'espace intracellulaire, formant le symbiosome. C'est également un acteur principal dans l'établissement des symbioses actinorhiziennes et mycorhiziennes.

Par ailleurs, de nouveaux outils de génomique basés sur le séquençage à haut débit (454, Solexa) pourront également aider à élucider les étapes précoces de l'infection des plantes par les microorganismes. Les analyses d'ESTs chez *C. glaucamontrent* qu'il y a une homologie de séquences avec les gènes impliqués dans la cascade signalétique Nod-dépendante chez les Légumineuses. De plus, l'analyse du transcriptome de *Casuarina* et de l'aulne, au moyen des puces à ADN (microarrays) lors des étapes précoces de la nodulation a permis, d'identifier des homologues de la plupart des gènes de la voie de signalisation symbiotique des Légumineuses (Hoher *et al.*, 2011b).

L'implication du gène *SymRK* dans la transduction des signaux de *Frankia* a été confirmée chez *D. glomerata*. En effet, seulement 16% de racines ARNi-*DgSymRK* présentent des structures nodulaires (Markmann *et al.*, 2008). Les résultats obtenus sur le gène *SymRK* chez les plantes actinorhiziennes renforcent donc l'hypothèse d'un mécanisme génétique universel pour les endosymbioses racinaires. Ce gène symbiotique représente le premier élément commun à l'ensemble des voies de signalisation conduisant à des endosymbioses racinaires (Gherbiet *et al.*, 2008a).

II. Comment créer une base de données du gène *dmi2* ?

La création d'une base de données du gène *dmi2* se fait de la même manière que les démarches précédentes (voir chapitre II).

Cette base de données se constitue de quatre tables qui ont relation entre elles :

- La première table représente la table d'espèces avec les différentes espèces végétales étudiées et dont le gène a été identifié.

code	nom scientifique	famille	nom commu	symbiote	code gene	genre de symbiot
34297	<i>Datisca glomerata</i>	Datisceae	dastica	bactérie	AM931079	Frankia
3874	<i>Glycine max</i>	Fabacées	SOJA	bactérie	DQ341398	Bradyrhizobium
3860	<i>Lathyrus sativu</i>	Fabacées	lentille	bactérie	DQ403853	Rhizobium
34305	<i>Lotus japonicus</i>	Fabacées	Lotier	bactérie	AF492655_1	Rhizobium
3880	<i>Médicago truncatula</i>	Fabacées	Luzerne	bactérie	AJ418369	Rhizobium
3885	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabacées	haricot	bactérie	HQ385321	Rhizobium
4081	<i>Solanum lycopersicum</i>	Solanacées	tomate	champignon	AY935266	Glomus intraradices
4577	<i>Zea mais cultivar B73</i>	Poacées	mais	bactérie	NC_024465	Azospirillum

- La seconde table indique la table gène ou les paramètres et les éléments du gène *dmi2* y figurent. Cette table contient toutes les informations de ce gène (taille, localisation chromosomique, nombre d'acide aminés...etc). Les informations ont été soutirées à partir de portail de données biotechnologiques NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Chapitre III : Base de données du gène *dmi2*

CDs	espece	gene	protéine	Relations						
nom	code gene	taille	CHROMOSO	séquence	% GC	acides amin	code protéin	sequence de l'ARN	espece	
SYMRK	NC_024465	9230 pb	7	ATGGCCGCCCGCTCCCTCCTCCTC TACGCGCTGCTCCTGGCCCT CGCCACCGCCGACCGTCCACG GCCTCACTCAAGGTAGATTCTT GCCGTCGTGACTGAAACCGTTT TCAAGTTCTGATTATCAGCTCGC G CGCACCGAGTCCGCTGGGATAT	43.911159	579	NP_001105860		Zea mais cultivarB73	
symrk	AF492655_1	3342 pb	2	GTTTATCATCAATTATTAACATA GAAAAAACAATAATTAACAA TGGATTGTACTAATCAACCTCC A AGTCATCTCCCTCACTTCTCTAG CTACCTCTGCAGTTTACAGGCC TGAAGTCAAACCATATTTAAG AGTATTCTTCTTCTAGCTACTCT	41.262717	923	AAM67418.1	GUUUUAUCAUAUU AUUAAACUAGAAAA AAAAACAUAUUAA CAAUGGAUUUGUAC UAAUUAACUCCCAA GUCAUCUUCUCCAC UUUCUAGCUACCUC CUGCAGUUU	Lotus japonicus	
NORK	AJ418369	3568 pb	5	TAATGTTTAAACATCAACAATAAA ACTATAGGAAAAAACAATAATC AACTATGCATTGTAATTCAA TC TCTAACTCGTCTCCATCTCTTTC CTAGCTACTCTCGAGTTTCTT TCCAGGCCTAAAGTCAAACACC ATATTTTAACAATTTCTTCTTC	38.480942	925	Q8L4H4	UAAUGUUUAAUAUC AACAAUAAACUAU AGAAAAAACA UAAUCAACUAUGCAU UGUAUAAUUAUC UCUAAUCUGCUUCC AUCUCUUUCCUAGCU	Médicago truncatula	

- La table de protéine ou on trouve les données de la protéine codée par ce gène pour chaque espèce végétale.

CDs	espece	gene	protéine	Relations						
code protéin	sequence	code de dor	taille de domaine	sequence de domaine	longueur de	espece				
AAM67418.1	MMELPATRILSQAVTCFLCLYIFIGSASA TEGFESIACCADLNYPDPLTLNYTDTY WFSDKRCKRIPETELRNRSENVRLFD	PS50011 Q8LKX1	594-871	ERYKTLIGEGGFGSVYRGLNDGQEVAVKVR SATSTQGTRE FDNELNLSAIQHENLVPLLYGYNESDQQL VYVYPMFMSNGSL QDRLYGEPAKRKILDWPTRLSIALGAARGL AYLHTFPG	278	Lotus japonicus				
AAY22389	MEVDNCWNIRLVNVCVIILYIYQSAFA QEGFLSIQCATANFTEPRTNLSWISDGI WFPENQSCISRVPVYKSEHYERARSFSSDI	Q2TDW9 PS50011	575-884	QNYKTLIGEGGFGSVYRGLPDGVEVAVKVR SATSTQGI RE FNNELNLSAITHENLVPLIGYCCENEQQL VYVYPMFMSNSLQ DRLYGGAARKKILDWPARLSIALGAARGL LYLHTFSE	310	Solanum lycopersicu				
ABC70466				AKPYIRVSKMDEIVDPGKGGYHAEAMWRV VEVALQCLEP FSAYRPNMVDIVRELEDALIENNASEYMK SIDSLGGSNRYSIIEKRVLPSTSSSTAEST ITTTQALSHPPQR		Glycine max				
ABD64156	MMELQVIWIIRLVVACVLCLCFIISASS ATEGFESIACCADSNYDPKTLNLYTDD YRWYSDKSSCRQI	PS50011 Q208K3	595-872	EKYKTLIGEGGFGSVYRGLDDGQEVAVKVR SATSTQGTRE FDNELNLSAIQHENLVPLLYGYNEDQQL VYVYPMFMSNGSL DRLYGEPAKRKILDWPTRLSIALGAARGL AYLHTFPG	278	Lathyrus sativu				
ADQ74920.1	MMELPEIWWLRLVVASAVCLHIFIRSVS GFATEGFENIACCADSNYDPQTTLNLYT TDYSWFPDRGSCRPPKIGLNEKVRFLSI	PS50011 E9N017	590-867	ERYKTLIGEGGFGSVYRGLNDGQEVAVKVR SATSTQGTRE FDNELNLSAIQHENLVPLLYGYNENDQQL VYVYPMFMSNGSL QDRLYGEPAKRKILDWPTRLSIALGAARGL AYLHTFPG	278	Phaseolus vulgaris				
CAP62376	MMMEGLHNWVLRVLFECVILCFFTLFGS ASAQEGFVSLACCTDSNFTNTNTNISW TPDYNWFSDRNTNCTIKLTVNNADDE	PS50011	602-878	QKYSTLIGEGGFGSVYRGLPDGQEVAVKVR SATSTQGTRE FENERKLLSFRNENLVPLLYGCSENDQQL VYVYPMFMSNGSLQ DRLYGELSKRPLDWPTRISIALGAARGL TYLHTVVG	277	Datisca glomerata				
NP_001105860	MAARSLLYALLALATAAPSHGLTQA DVAKRKLVELSERNRGHEMLDSWNGD GDPCSPSTWEGFSCEP	PS50011	249-526	SNYKTMIGEGGFGAVYR GALANGQEVAVK VRSSSTQGT R EFNNEKLLSAVWHENLVPLLYGCECKDQQL VYVYPMFMSNGS LQDRLYGEASRKRKLDWPTRLSVIGAA RGLVYLNHFAG	278	Zea mais cultivarB73				
Q8L4H4	MMELQVIRIFRLVAVFLCLCFIRASASS ATKGFESIACCADSNYDPKTTLYTDDH WFSDKRCKRIPETELRNRSENVRLFD	PRU00159	596-873	EQYKTLIGEGGFGSVYRGLDDGQEVAVKVR SATSTQGTRE FDNELNLSAIQHENLVPLLYGYNEDQQL VYVYPMFMSNGSLD RNYGASRKRKLDWPTRLSIALGAARGL AYLHTFPG	278	Médicago truncatula				

- La table CDsou on trouve toutes les informations concernant les introns et les exons du gène *dmi2*.

CDs	Nombre d'e	Nombre d'ir	code gene	nom de l'espce
join(1..100,838..1351,2149 ..2627,2726..2876,2991..3062, 1..341	15	14	AM931079	Datisca glomerata
1..2775	1	0	DQ403853	Lathyrus sativu
384..3155	1	2	AF492655_1	Lotus japonicus
376..3150	1	2	AJ418369	Médicago truncatula
323..3082	1	2	HQ385321	Phaseolus vulgaris
263..2974	1	2	AY935266	Solanum lycopersicum
join(1..82,341..497,740..816 1,890..961,1309..1377,	6	6	NC_024465	Zea mais cultivarB73

III. Structuredu gène *dmi2* chez les différentes espèces étudiées

Pour mieux comprendre le mécanisme de son fonctionnement et sa structuration on a diversifié le choix des espèces végétales qui établissent des interactions symbiotiques différentes avec des microorganismes du sol différents : La Légumineuses *M. truncatula* entre en symbiose avec une bactérie du genre *Rhizobium*, la plante actinorhizienne *D. glomerata* a la capacité aussi d'établir une interaction symbiotique mais avec une bactérie du genre *Frankia*, la graminée *Z. mays* peut vivre en symbiose avec des bactéries de sol du genre *Azospirillum*, la plante appartenant à la famille des Solanacées (*S.lycopersicum*) peut aussi établir une symbiose végétale avec des champignons mycorhiziens arbusculaires.

Medicago truncatula

M. truncatula est considérée comme la Légumineuse modèle. C'est une luzerne annuelle, proche de la luzerne cultivée (*M. sativa*). Cette espèce est herbacée de la famille des *Fabaceae* elle suscite un intérêt croissant sur la scène internationale. Elle est utilisée pour étudier divers aspects des interactions plantes-microorganismes et surtout les interactions symbiotiques fixatrices d'azote qui s'effectuent entre la luzerne et les bactéries du genre *Rhizobium*.

Cette interaction symbiotique nécessite l'intervention de certains gènes. Parmi ces gènes, le gène *dmi2* (*doesn't make infection 2*) ou *nork* (*nodulation receptor kinase*) situé au niveau du chromosome 5 et localisé dans la partie distale de la zone d'infection au niveau de la membrane plasmique et dans la membrane du cordon d'infection.

dmi2 code pour un récepteur kinase localisé au niveau de la membrane plasmique (Limpenset *al.*, 2005). Il possède un domaine extracellulaire de 595 acides aminés qui contient trois répétitions LRR (leucine-rich repeat), un domaine transmembranaire, et un domaine kinase intracellulaire (Endre et *al.*, 2002). Les domaines LRR sont connus pour être impliqués dans les interactions protéine-protéine ou protéine-ligand. Il est donc possible que *dmi2* soit activé par un ligand généré suite à la perception des NFs, ou qu'il fasse partie du complexe comprenant les récepteurs des NFs, même si son mode d'action n'a pu être caractérisé à ce jour.

dmi2 est essentiel à l'activation des oscillations calciques et de l'expression des nodulines précoces, mais à l'inverse des LysM-RLKs, il n'est pas requis pour l'activation des flux calciques (Miwa et *al.*, 2006a). Ces observations indiquent une bifurcation dans la voie de signalisation en réponse aux NFs, immédiatement en aval des LysM-RLKs ; un branchement mènerait aux oscillations calciques, et l'autre aboutirait aux flux calciques. Des études de fusion transcriptionnelle promoteur : *GUS* ont montré que *dmi2* est exprimé dans l'épiderme et le cortex racinaire avant l'infection, et que son expression est fortement induite dans le primordium nodulaire avant contact avec le cordon d'infection. De plus ce gène est exprimé dans la zone d'infection des nodules matures (Bersoult et *al.*, 2005).

- *Lotus japonicus*

Le lotier est une plante herbacée annuelle ou vivace de la famille des Fabacées, sous-famille des *Papilionoidées* couramment cultivée comme plante fourragère. Cette espèce peut

établir aussi une symbiose rhizobienne par l'intervention de gène *dmi2* qu'elle le contient et qui est localisé au niveau du chromosome 2 et code pour 923 acides aminés. Ce gène possède un domaine de taille 278 pb avec trois répétitions LRR.

chez *L. japonicus*, le gène *dmi2* est un récepteur kinase essentiel à l'activation des oscillations calciques et de l'expression des nodulines précoces (Den Herder *et al.*, 2012)

- *Solanum lycopersicum*

La tomate est une espèce de plantes herbacées de la famille des Solanacées, originaire du Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, largement cultivée pour son fruit. La tomate a donné lieu au développement d'une importante industrie de transformation de grande importance économique, elle est l'objet de nombreuses recherches scientifiques. Elle est considérée comme une plante-modèle en génétique et constitue un bon réservoir d'antioxydants, comme le lycopène, l'acide ascorbique, la vitamine E, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques.

Cette espèce établit une symbiose végétale avec des champignons mycorhiziens arbusculaires avec le champignon *Glomus intraradices* et les racines de la tomate afin d'améliorer la teneur en nutriment minéral du fruit. La réalisation de cette symbiose est conditionnée par la présence de gène *symrk* analogue au gène *nork* de la luzerne.

Le gène *dmi2* chez *S. lycopersicum* est localisé au niveau de chromosome 2, code pour 903 acides aminés et possède un domaine de taille 310 pb, il est identifié comme un récepteur kinase des signaux et un activateur des oscillations calciques et des gènes intervenants dans la mychorisation.

- *Datisca glomerata*

D. glomerata est une plante actinorhizienne, herbacée, vivace, appartenant à la famille *Datiscaceae* et forme héberge des bactéries fixatrices d'azote dans ses racines. Cette association conduit à la formation d'un nouvel organe racinaire fixateur d'azote constitué de plusieurs lobes anatomiquement semblables à une racine latérale. Cet organe est le « nodule actinorhizien » également appelé « actinorhize ».

Pour l'établissement de cette interaction symbiotique, un gène indispensable à l'aboutissement de nodules est le gène *dmi2* qui se constitue d'un domaine de taille 277 pb et code pour 934 acides aminés.

- *Glycine max*

Le soja (*Glycine max*) est une espèce de plante annuelle de la famille des Légumineuses. Cette plante est caractérisée aussi par ces interactions symbiotiques avec les bactéries fixatrices d'azote du genre *Bradyrhizobium*. Le gène *nork/dmi2* intervient aussi dans le processus de cette interaction.

Ce gène est situé chez *G. max* au niveau de chromosome 1 et code pour 112 acides aminés. Son domaine est inconnu jusqu'à présent par rapport à son fonctionnement et participe toujours dans l'événement des oscillations calciques et la régulation de la cascade de la voie de signalisation symbiotique.

- *Phaseolus vulgaris*

Le Haricot, ou Haricot commun est une espèce de plantes annuelles de la famille des *Fabaceae* (Papilionacées), du genre *Phaseolus*, couramment cultivée comme légume. Cette plante joue un rôle important dans l'alimentation humaine (source d'amidon et de protéines) et dans la fixation biologique de l'azote.

Le Haricot a une racine principale non dominante qui est très rapidement complétée de racines latérales. Elles sont le siège du phénomène de « nodulation », les nodules étant des excroissances provoquées par l'infestation par des bactéries du genre *Rhizobium*. Ces bactéries vivent en symbiose avec la plante : elles reçoivent par la sève des hydrates de carbone et lui fournissent de l'ammonium synthétisé à partir de l'azote atmosphérique. Les principales espèces nodulant le haricot sont *Rhizobium etli* et *R. phaseoli*.

Cette interaction symbiotique dépend de l'expression finement coordonnée d'une batterie de gènes impliqués dans l'infection et les procédés de l'organogenèse. Après la perception du facteur Nod, le récepteur kinase (*SymRK*) déclenche une cascade de transduction essentielle pour la nodulation conduisant à des divisions de cellules corticales de signal, formation de fil d'infection et la libération finale de *Rhizobium* à l'espace intracellulaire, formant le symbiosome.

Ce gène est exprimé au niveau de l'épiderme de nodule, et dans les cellules non infectées de la zone d'infection. D'autre part, l'expression de knock-down *PvSymRK* a conduit à la formation de nodules rares et défectueux, ce qui présente des altérations dans la formation de fil d'infection et la formation du système vasculaire (López *et al.*, 2011).

- *Zea mays*

Le maïs (*Z. mays* cultivar B73), est une plante herbacée, tropicale annuelle de la famille des *Poacées* (graminées), largement cultivée comme céréale pour ses grains riches en amidon, mais aussi comme plante fourragère. Le terme désigne aussi le grain de maïs lui-même.

Comme chez *P.vulgaris*, *G.max*, *D.glomerata*, *S. lycopersicum*, *L.japonicus*, *M.truncatula*, le maïs peut établir des interactions symbiotiques avec des bactéries de sol du genre *Azospirillum brasilense* pour fixer l'azote atmosphérique par l'intervention de gènes *dmi2* qui fonctionnent d'une manière similaire que celle des autres espèces. Chez *Z.mais* le gène *dmi2* est situé au niveau de chromosome 7 et code pour 579 acides aminés avec un domaine transmembranaire de 278 pb.

Conclusion générale

Les ressources en azote de la planète sont pratiquement illimitées grâce au réservoir atmosphérique. Pourtant l'azote est, après l'eau, le principal facteur limitant la croissance des végétaux. En effet, pour être utilisable par les végétaux, l'azote doit être sous forme minérale (NH_4^+ et NO_3^-), ce qui peut se réaliser par deux voies : la voie de la fixation biologique et la voie industrielle de synthèse des engrais azotés.

La fixation biologique, découverte à la fin du XIXe siècle, implique uniquement les procaryotes (bactéries ou cyanobactéries), une centaine d'espèces au plus, qui vivent à l'état libre ou en association avec certaines plantes.

Ces bactéries sont capables de réduire l'azote gazeux (N_2) en ammoniac (NH_3), qui est transformé en ammonium (NH_4^+). L'ion ammonium sera incorporé immédiatement dans divers types d'acides aminés. Cette réaction analogue à celle mise en œuvre industriellement dans la production d'engrais azotés se fait, par contre, sous des conditions normales de température et de pression, grâce à la nitrogénase, complexe enzymatique particulier et de nature comparable chez tous les organismes fixateurs. Cependant, la réduction de l'azote atmosphérique est un processus très coûteux en énergie. Les organismes fixateurs d'azote doivent donc trouver dans leur environnement de grandes quantités de carbone, qu'ils se procurent.

Dans les sols, on constate en général que les bactéries fixatrices libres ne jouent qu'un rôle mineur. Par contre, dans le cas d'une association avec un végétal, la fixation d'azote bénéficie directement des photosynthétats de la plante et on obtient alors un système très performant.

Cette association se traduit par la formation d'organes nouveaux, les nodosités, situées le plus souvent sur le système racinaire, dans lesquelles les bactéries se multiplient et réduisent l'azote de l'air. La plante hôte fournit une niche protectrice et de l'énergie aux bactéries qui, en échange, cèdent l'azote fixé à la plante. On a donc bien une symbiose, c'est-à-dire une association à bénéfice réciproque.

La grande majorité des plantes connues pour former des nodosités fixatrices d'azote sont les Légumineuses (ou fabacées) qui s'associent avec les *Rhizobia*. L'établissement de la symbiose *Rhizobium*-Légumineuse est contrôlé par une voie de signalisation. Pour mieux comprendre le mécanisme de cette interaction symbiotique, il faut tout d'abord identifier les gènes intervenant dans cette voie de signalisation.

Pour cela, on a créé une base de données du gène *dmi2* (*doesn't make infections 2*), l'un des principaux acteurs moléculaires de la cascade signalétique, afin de comparer sa structure fine au sein de différentes espèces végétales. D'après la comparaison de la structure de ce gène chez différentes espèces végétales, on est arrivé à conclure que ce gène est différent d'une espèce à une autre et même au sein de la même famille.

Références bibliographiques

- **Benson, D.R., and Silvester, W.B.** 1999. biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiological Reviews*. **57**: 293-319.
- **Benabdoun, F.M.** 2012. Étude moléculaire des étapes précoces de la symbiose actinorhizienne *Casuarina-Frankia*: analyse fonctionnelle des gènes de la plante hôte contrôlant l'infection. Doctorat Biotechnologie et Génomique Végétales, Université Mentouri, Constantine.
- **Boivin, C., Giraud, E., Perret, X., and Batut, J.** 2009. Establishing nitrogenfixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? *Trends in microbiology*. **17**: 458-466.
- **Broughton, W.J.** 1984. Nitrogen fixation: Legumes. *The Journal of Chartto and Windus 2Td londress*. **117**
- **Bersoult, A., Camut, S., Perhald, A., Kereszt, A., Kiss, G.B., and Cullimore, J.V.** 2005. Expression of the *Medicago truncatula* DMI2 gene suggests roles of the symbiotic nodulation receptor kinase in nodules and during early nodule development.
- **Crow, V.L., Jarvis, B.D., and Greenwood, R.M.** 1981. Deoxyribonucleic acid homologies among acid producing strains of *Rhizobium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **31**: 152-172.
- **Cooper, J.E.** 2007. Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. *Journal of Applied Microbiology*. **103**: 1355-1365.
- **Cooper, J.E.** 2004. Multiple responses of rhizobia to flavonoids during legume root infection. *Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology*. **41**: 1-62.
- **Capoen, W., Sun, J., Wysham, D., Otegui, M., Venkateshwaran, M., Hirsch, S., Miwa, H., Downie, J., Morris, R., Ane, J., and Oldroyd, G.** 2011. Nuclear membranes control symbiotic calcium signaling of legumes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **108**: 14348-14353.
- **Drevon, J.J., and Hinsinger.** 2004. Nutrition phosphatée et réponse des plantes et de la symbiose rhizobienne à la déficience en phosphore .
- **Davey, M.R., Webster, G., Manders, G., Ringrose, F.L., Power, J. B., and Cocking, E.C.** 1993. Effective nodulation of micro-propagated shoots of the non-legume *Parasponia andersonii* by *Bradyrhizobium*. *Journal of experimental botany*. **44** : 863-867
- **Damiani, I., Pauly, N., Puppo, A., Brouquisse, R., and Boscari, A.** 2016. Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide Control Early Steps of the Legume – *Rhizobium* Symbiotic Interaction. *NcbI*

- **Dénarié, J., Debelle, F., and Promé, J.C.**1996. *Rhizobium* lipochitooligosaccharidenodulationfactors :Signaling molecules medatingrecognition and morphogenesis. *Annu. Rev.Bochem.***65**: 503-535.
- **Den Herder, J., Vanhee, C., De Rycke, R., Corich, V., Holsters, M., and Goormachtig, S.** 2007. Nod factor perception during infection thread growth fine-tunes nodulation. *Molecular Plant-Microbe Interactions.***20**:129-137.
- **Den Herder, G., Yoshida, S., Llovera, M., Ried, M.K., and Parniske, M.**2012. Lotus japonicus E3 Ligase SEVEN IN ABSENTIA4 Destabilizes the Symbiosis Receptor-Like Kinase SYMRK and Negatively Regulates Rhizobial Infection. *Plant Cell* .**24**:1691-1707.
- **Endre, G., Kereszt, A., Kevei, Z., Mihacea, S., Kalo, P., and Kiss, G.B.** 2002. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature* **417**.
- **Foth, H. D.**1990. Fundamentals of soil science. Henry, D. Foth (ed), John Wiley etsons,New York. **336**.
- **Franche, C., Lindström, K. and Elmerich, C.** 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil.***321**: 35-59.
- **Ferchichi, A.**2006. workshop International «Diversité des Fabaceae Fourragères et de leurs Symbiotes »-Alger- Academic Publ.**39** :51-75.
- **Ferrer, J.L., Austin, M.B., Stewart, C., and Noe, J.P.** 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry* .**46**:356-370.
- **Graham, P.H.,and Vance, C.P.** 2003. Legumes: importance and constraints to greater use.*Plant Physiol.* **131**: 872-877.
- **Gherbi, H., Markmann, K., Svistoonoff, S., Estevan, J., Autran, D., Giczey, G., Auguy, F., Peret, B.,Laplaze, L., Franche, C., Parniske, M., andBogusz, D.** 2008a. SymRK defines a common genetic basis for plantroot endosymbioses with arbuscularmycorrhiza fungi, rhizobia, and *Franki*bacteria. *ProcNatlAcadSci USA.***105**: 4928-4932.
- **Hurek, T., Handley, L.L., Hurek, B., and Piche, Y.** 1997. Azoarcus grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state. *Mol Plant Microbe Interact* .**15**:233-242.
- **Hoshikawa, K.** 1990.Significance of legume crops in improving the productivity and stability of cropping systems. Paper presented at the international symposium on the use of stable isotopes in Plant Nutrition Soil fertility and Environment Studies. Vienna, Austria.
- **Hopkins, W. G.** 2003. Physiologie végétale. Université des Sciences de Lille. Edition deboeck. 99-120.

- **Hynes, M. F., and O'Connell, M.P.**1990 . Host plant effect on competition among strains of *Rhizobium leguminosarum*. *Can. J.Microbiol.* **36**: 864-896.
- **Hassan, S., and Mathesius, U.**2012. The role of flavonoids in root-rhizospheresignalling: opportunities and challenges for improving plant-microbe interactions. *Journal of Experimental Botany* .**63**:3429-3444.
- **Heckmann, A.B., Lombardo, F., Miwa, H., Perry, J.A., Bunnell, S., Parniske, M., Wang, T.L., and Downie, J.A.** 2006. Lotus japonicus nodulation requires two GRAS domain regulators, one of which is functionally conserved in a non-legume. *Plant Physiology* **142**.
- **Hirsch, S., and Oldroyd, G.E.D.** 2009. GRAS-domain transcription factors that regulate plant development. *Plant signaling & behavior* .**4**:698-700.
- **Hocher, V., Alloisio, N., Auguy, F., Fournier, P., Doumas, P., Pujic, P., Gherbi, H., Queiroux, C., DaSilva, C., Wincker, P., Normand, P. and Bogusz, D.** 2011a. Transcriptomics of actinorhizal symbioses reveals homologs of the whole common symbiotic signaling cascade. *Plant Physiol.***156**:700-711.
- **Hocher, V., Alloisio, N., Bogusz, D. and Normand, P.** 2011b. Early signaling in actinorhizal symbioses. *Plant Signal Behav.***6**:1377-1379.
- **Jordan, D.C.** 1982. transfert of *Rhizobium japonicum* buehner to *Bradyrhizobium* gen. nov. A genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. *Int.J. syst.Bacteriol.***32**: 136-139.
- **Kalo, P., Gleason, C., Edwards, A., Marsh, J., Mitra, R., Hirsch, S., Jakab, J., Sims, S., Long, S., Rogers, J., Kiss, G., Downie, J., and Oldroyd, G.** 2005. Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators. *Science* .**308**:1786-1789.
- **Long, S.R.**1996. Rhizobium symbiosis : nod factors in perspective. *Plant cell.***8**: 1885-1898.
- **Levy, J., Bres, C., Geurts, R., Chalhoub, B., Kulikova, O., Duc, G., Journet, E.P., Ane, J.M., Lauber, E., Bisseling, T., Denarie, J., Rosenberg, C., and Debelle, F.** 2004. A putative Ca²⁺ and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses. *Science* .**303**:1361-1364.
- **Limpens, E., Mirabella, R., Fedorova, E., Franken, C., Franssen, H., Bisseling, T., and Geurts, R.**2005. Formation of organelle-like N₂-fixing symbiosomes in legume root nodules is controlled by DMI2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* .**102**:10375-10380.
- **López, R., Jáuregui, D., Nava, N., Affantranger, X., Montiel, J., Santana, O., Sanchez, F., and Quinto, C.**2011. Down-regulation of SymRK correlates with a deficiency in vascular bundle development in *Phaseolus vulgaris* nodules.

- **Moulin, L.** 2002. Etude moléculaire de la diversité symbiotique des rhizobia : de l'analyse du gène nodA à l'identification de rhizobia au sein des béta-Protéobactéries. Thèse de doctorat des sciences biologie. Université CLAUDE BERNARD-LYON I. France.289.
- **Maxted, N.,and Bennett, S.J.** 2001a. Conservation, diversity and use of Mediterranean Legumes. Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Maxted N, and Bennett S. J. PO Box 17, 3300 AA Dordrecht , Netherlands, Kluwer Academic Publ.**39**:1-32.
- **Maxted, N., and Bennett, S.J.** 2001b.Legume diversity in the Mediterranean region. Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Maxted N and Bennett S. J. PO Box 17,3300 AA Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publ.**39**: 51-75
- **Moscatiello, R., Squartini, A., Mariani, P., and Navazio, L.** 2010. Flavonoid-induced calcium signalling in Rhizobium leguminosarumbv. viciae. New Phytologist.**188**:814-823.
- **Miwa, H., Sun, J., Oldroyd, G., and Downie, J.** 2006a. Analysis of nod-factor-induced calcium signaling in root hairs of symbiotically defective mutants of Lotus japonicus. Molecular Plant-Microbe Interactions .**19**:914-923.
- **Markmann,K., Giczey , G.,and Parniske, M.** 2008.Functional Adaptation of a Plant Receptor- Kinase Paved the Way for the Evolution of Intracellular Root Symbioses with Bacteria
- **Newton, W.R** .1998. Nitrogénase : fonction et évolution. Bull. Soc. Fr. Microbiol. **13** : 238-241.
- **Oldroyd, G.E.D., and Downie, J.M.** 2008. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. Annual Review of Plant Biology .**59**:519-546.
- **Oldroyd, G.E.D., and Long, S.R.** 2003. Identification and characterization of nodulation-signaling pathway 2, a gene of Medicago truncatula involved in Nod actor signaling. Plant physiology .**131**:1027-1032.
- **Perret, X.,Lin, S.C., and Selander, R.K.**2000b.Molecular basis of symbiosticpromiscuity.Microbiol. Mol.Biol. Rev. **64**: 180-201.
- **Polhill, R.M., Raven, P.H.; and Stirton, C.H** .1981. Evolution and systematic of Leguminous. In: Advances in legume Systematics. Eds. Polhill, R.M, andRoyal, Botanic Gardens, Kew, UK.
- **Postgate, J.R.** 1974 .Evolution within nitrogen-fixing systems. Symposia of the Society forGeneral Microbiology, **24**: 263-292.
- **Peiter, E., Sun, J., Heckmann, A.B., Venkateshwaran, M., Riely, B.K., Otegui, M.S., Edwards, A., Freshour, G., Hahn, M.G., Cook, D.R., Sanders, D., Oldroyd,**

- G.E.D., Downie, J.A., and Ane, J.M.** 2007. The *Medicago truncatula* DMI1 protein modulates cytosolic calcium signaling. *Plant Physiology* **145**:192-203.
- **Peck, M.C., Fisher, R.F., and Long, S.R.** 2006. Diverse flavonoids stimulate NodD1 binding to nod gene promoters in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology* **188**:5417-5427.
 - **Pillou, J.F.** 2015. <http://www.commentcamarche.net/#ID=104&module=contents>.
 - **Quezel, P., and Santa, S.** 1962. nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 462-541.
 - **Reddy, N.R., Pierson, M.D., Sathe S.K. and Salunke, D.K.** 1985. Dry beentannins: a review of nutritional implication. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **62**:541-549.
 - **Riely, B.K., Lounnon, G., Ane, J.M., and Cook, D.R.** 2007. The symbiotic ion channel homolog DMI1 is localized in the nuclear membrane of *Medicago truncatula* roots. *Plant Journal* **49**.
 - **Smit, P., Raedts, J., Portyanko, V., Debelle, F., Gough, C., Bisseling, T., and Geurts, R.** 2005. NSP1 of the GRAS protein family is essential for rhizobial Nod factor-induced transcription. *Science* **308**:1789-1791.
 - **Spaink, H.P., Arts, A., Stacey, G., Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J., and Kennedy, E.P.** 1992. Detection and separation of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* nod metabolites using thin layer chromatography. *MPMI* **5**:72-80.
 - **Stracke, S., Kistner, C., Yoshida, S., Mulder, L., Sato, S., Kaneko, T., Tabata, S., Sandal, N., Stougaard, J., Szczyglowski, K., and Parniske, M.** 2002. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature* **417**.
 - **Saito, K., Yoshikawa, M., Yano, K., Miwa, H., Uchida, H., Asamizu, E., Sato, S., Tabata, S., Imaizumi-Anraku, H., Umehara, Y., Kouchi, H., Murooka, Y., Szczyglowski, K., Downie, J.A., Parniske, M., Hayashi, M., and Kawaguchi, M.** 2007. NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses, and seed production in *Lotus japonicus*. *Plant Cell* **19**.
 - **Sun, J., Miwa, H., Downie, J., and Oldroyd, G.** 2007. Mastoparan activates calcium spiking analogous to nod factor-induced responses in *Medicago truncatula* root hair cells. *Plant Physiology* **144**:695-702.
 - **Saoudi, M.** 2008. Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.LP) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*. **3**
 - **Vance, C.P.** 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant physiology* **127**:390-397.
 - **Wathman, F.** 1967. Fleurs du bassin méditerranéen. Paris VI edition.

- **Wais, R., Galera, C., Oldroyd, G., Catoira, R., Penmetsa, R., Cook, D., Gough, C., Denarie, J., and Long, S.** 2000. Genetic analysis of calcium spiking responses in nodulation mutants of *Medicago truncatula*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America .**97**:13407-13412.
- **Zahran, H.H** .1999.*Rhizobium* legume symbioses and nitrogen fixation under severe conditions and in arid climate. Microbiol. Molec. Rev. **63**: 968-989.
- **Ziadi, N.**2007. Utilisation des engrais minéraux azotés en grandes cultures :description des différentes formes et leurs impacts en agroenvironnement.

Titre : La voie de signalisation « Nod-dépendante » : création d'une base de données du gène *dmi2*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et Génomique Végétales

Résumé :

Les plantes de la famille des Légumineuses sont capables d'établir une interaction symbiotique avec des bactéries du sol, collectivement appelées « *Rhizobium* ». Cette interaction aboutit à la formation d'un nouvel organe appelé « nodule » et dans lequel les bactéries différenciées fixent l'azote atmosphérique au bénéfice de la plante hôte. Les facteurs « Nods » rhizobiens sont des molécules clés responsables de la spécificité d'hôte, et sont capables à eux seuls d'induire de nombreuses réponses développementales racinaires. Parmi les acteurs moléculaires intervenant dans la signalisation symbiotique, on cite le gène *dmi2* dont l'expression est fortement induite au cours du processus de nodulation chez les Légumineuses. L'objectif de ce travail est de créer une base de données de *dmi2* afin de comparer la structure fine de ce gène au sein de différentes espèces végétales. Cette base de données regroupe toutes les informations concernant ce gène : taille, nombre d'introns et d'exon, nombre d'acides aminés. Les résultats montrent que la structure de *dmi2* est différente ainsi que indépendante et spécifique pour chaque espèce végétale à l'exception de sa présence qu'en une seule copie au niveau de toute les espèces végétales.

Mots clés : Légumineuses, *Rhizobium*, nodulation, facteurs « Nods », *dmi2*, base de données.**Jury d'évaluation :****Président du jury :** *KELLOU Kamel* (M.A.A - UFM Constantine).**Encadrante :** *BENABDOUN Faiza Meriem* (M.C.B - UFM Constantine).**Examineur :** *HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid* (Professeur - UFM Constantine).**Date de soutenance :** 16/06/2016