

Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la
vieDépartement des sciences de la nature et de la vie
Filière science biologiques



Référence..... /2024

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté et soutenu par :

Ghazali alaeddine

Ghiboub taher

Le :

**La recherche de nouvelles espèces de la tribu
Genisteeae dans la région de Biskra et ses environs**

Jury :

M	Nacer BELOUCIF	MAA	Université de Biskra	Président
Mme.	DJOUAMAA Manel	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Widad BOUGUENOUN	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné le courage et la détermination pour mener à bien ce travail. Nous exprimons notre profonde gratitude à notre directrice de thèse, Mme Djouama Manel, pour ses conseils et son soutien.

Nous exprimons également notre gratitude à tous les enseignants du Département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohamed Khider Biskra pour la qualité de leur enseignement et les connaissances qu'ils nous ont transmises tout au long de nos années d'études.

Nous remercions également les membres du jury d'avoir accepté de juger notre mémoire.

Nous n'oublions pas l'équipe administrative, le personnel des laboratoires et de la bibliothèque, qui veillent à notre confort et à notre bien-être. Un autre merci va aux chercheurs du CSTR, notamment Mme Selmakour Noura, ainsi qu'à l'Institut ITDAS. Un merci spécial aux travailleurs de la municipalité de la commune d'Ain Zaatout, M. Berbouche Samir et M. Wastani Abdelhakim, ainsi qu'à ceux qui ont aidé dans la recherche, notamment Haicher Tarek.

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mon père et ma mère

Pour leur soutien, leur encouragement, leur affection et leurs sacrifices.

Je suis reconnaissant à mon ami Ghiboub Taher pour son ardeur et sa persévérance dans le travail.

À toute ma famille

À mes frères Nora, Taher, Abdelwadoud, et Tajeddine et loubna, ainsi qu'aux enfants de mes frères Asef, Djwana, et Ithar.

À mes chers amis Nafea, Ilyas, Mohamed, Abdelaziz, et Oussama, et à ceux qui ont aidé dans la recherche, notamment Fatma.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Alaeddine

Dédicace

Je dédie ce travail :

À ma mère et à mon père.

À mes sœurs, Salima, Shakra, Iman.

À mes frères, Ramzi et Ahmed.

À toute ma famille, à ma tante (qu'elle repose en paix), et à mon cousin (qu'il repose en paix), qui m'ont toujours aidé.

Je suis reconnaissant à mon ami Alaeddine Ghazali pour son ardeur et sa persévérance dans le travail, et je remercie également mon ami Ahmed Ghiboub.

Mohamed, Younes, Walid, Said, Zino, Ilias, Akram, chihab, Islam, Ziad, Hakim Gattaya, Walid, Abdelhak, Islam, Abdo, Issa, Nassim, Omar, Ibrahim, Lahcen, Youssef.

À toute l'équipe SNV : Adel, Oussama, Mourad, Sofiane, Nabil, Zaki, Abdelfattah, Karim. À ceux qui m'ont soutenu : Hadil, Halima, Zainab, Sarah, Amani, et à tous ceux avec qui j'ai étudié.

À mon ami de travail Souheib, Mohammed et sa femme.

À tous ceux qui m'aiment de près ou de loin et à tous ceux qui ont contribué à ce travail.

Taher

Table des matières

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : Généralités sur les légumineuses.....	4
1. Generalité	5
1.1. Les légumineuses :.....	5
1.2. Taxonomie et Classification :.....	5
1.2. Légumineuses sahariennes	5
1.2.1 la tribu <i>Genisteeae</i>	6
1.3. Mécanisme de nodulation	12
Chapitre 2 :.....	14
Matériels et méthodes	14
2.1. Partie pratique.....	15
2.1.1. Zone d'échantillonnage :	15
2.1.2. Collecte des graines et des nodules :.....	15
2.1.3. Le materiel biologique	16
2.1.4. Test de nodulation.....	16
2.1.4.5. Germination des graines	19
2.2. Partie théorique.....	22
2.2.1. Les différentes méthodes de nodulation	22
2.2.2. Collecte d'échantillons :	22
2.2.3. Isolement des bactéries	24
2.2.4. Test de nodulation.....	27
CHAPITRE 3 :	29
Résultats et discussion.....	29
3.1. Résultats des méthodes utilisées	30
3.1.1. Collecte des nodules :	30
3.1.2. Isolement des bactéries :.....	30
3.1.3. Test de nodulation	32
Conclusion.....	36

Références Bibliographique	38
Annexes	43
Résumés	43

Liste des Tableaux

Tableau 1. Taxonomie des légumineuses (Baba Arbi, 2016).....	5
Tableau 2. Récapitulatif de la répartition géographique du genre Retama dans le monde selon ILIDIS	9
Tableau 3. Systematique du genre Retama APG III (2009).....	9
Tableau 4. Classification du genre Gensita APG III (2009)	11
Tableau 5. Le tableau montre la région, l'usine et l'année/période de collecte des échantillons.....	22
Tableau 6. les résultats des bactéries isolées.....	30

Liste des Figures

Figure 1.A. *Retama raetam* (Forssk.) Webb (Photo originale), B. *Retama monosperma* (L.) Boiss ,C. *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (Photo originale)..... 7

Figure 2.les fruites de *Retama raetam* (Forssk.) Webb (D) (Photo originale), (E) les fruites de *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (Photo originale)..... 7

Figure 3.Répartition géographique des trois espèces de *Retama* en Algérie..... 8

Figure 4.Photo de *Genista capitellata* Coss et Dur et et *Genista saharea* Coss et Dur 10

Figure 5.Photo de *Genista Microcephala* (Photo originale). 12

Figure 6.La nodulation implique le développement coordonné de l'infection bactérienne et de l'organogenèse du nodule..... 13

Figure 7. Localisation géographique du site d'échantillonnage dans la wilaya de biskra..... 15

Figure 8.Préparation des jarres (Originale).Préparation des jarres (Originale). 17

Figure 9.Préparation du sable (Originale). 17

Figure 10.Préparation du Jarre. A : Jarre de Léonard, B : Jarres utilisé dans notre étude (Originale). 18

Figure 11.Fin de la préparation les jarres (Originale). 18

Figure 12.Présentation des graines A : *Vigna unguiculata*., B. *Retama raetam* (Photo originale), C. *Genista Microcephala* (Photo originale), D. *Retama sphaerocarpa* (Photo originale). E. *Genista saharea* (Photo originale)..... 19

Figure 13.Germination des graines En utilisant l'EDS (Originale). 20

Figure 14. A : Graines de *Vigna* après germination , B : Inoculation des jarres (Originale). 20

Figure 15.Préparation du Jarre après Inoculation (Originale). 21

Figure 16.: A, B Transporter les Jarres et les placer en salle de culture (Originale)..... 21

Liste des abréviations

APG III: Angiosperm Phylogeny Group III

BNL : Bactéries Nodulantes des Légumineuses

CaCl₂ : Chlorure de calcium

Coss et Dur : Cosson et Durieux

CRSTRA : Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides

DO: Density Optical (Densité Optique)

EDS: Eau Distillé stérile

FAO: Food and Agriculture Organization

(Forssk.) Webb: Forsskal et Webb

GPA : Glucose Peptone Agar

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HEPES: N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid

HgCl₂ : Chlorure de mercure

ILIDIS : International Legume Database and Information Service

ITDAS : Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne

(L.) Boiss : Boissier et Linnaeus

NN : Number of Nodules per plant (Nombre de nodules par plante)

Nod: Nodulation de plante

ORS : Organisme de référence symbiotique

Pb : Plomb (élément chimique)

PHB : Poly β-hydroxybutyrates

REP-PCR : Répétitions palindromiques extragéniques - PCR

SDW: Shoot Dry Weight (Poids sec des parties aériennes)

TYA: Tryptone Yeast Agar

TNS : Total Nitrogen in Shoots (Azote total dans les parties aériennes des plantes)

YMA: Yeast-Mannitol Agar

YEM: Yeast- Extract- Mannitol Agar

YMB : Milieu de culture pour bactéries (Yeast Mannitol Broth).

Zn : Zinc (élément chimique)

Introduction

Introduction

Les plantes légumineuses revêtent une grande importance à l'échelle mondiale, en particulier dans les pays au climat méditerranéen (Zakhia *et al.*, 2004). La famille des légumineuses (*Fabaceae*) est la troisième plus grande famille des angiospermes. Les arbustes légumineux dominant dans divers écosystèmes arides et extrêmes, où ils constituent un microhabitat stable, facilitant l'établissement et la croissance de la végétation herbacée. (Rodríguez-Echeverría *et al.*, 2014).

Les importantes variations climatiques Nord-Sud dans les régions d'Afrique du Nord donnent lieu à des formes de végétation très diverses, présentant une richesse extraordinaire avec plus de 500 espèces pastorales endémiques. (abdelguerfi et Abdelguerfi-Laouar, 2004) En Algérie, les espèces végétales des systèmes pastoraux et fourragers sont remarquablement diversifiées, avec un taux élevé d'endémisme chez les légumineuses. (kazi Tani, 2010) Parmi ces espèces, Il comporte 23 espèces dont 11 sont endémiques à l'Algérie (ATI, 2018).

Les *Genisteae* constituent l'une des plus grandes tribus au sein de la famille des légumineuses (Cardoso *et al.*, 2013). Ce genre se distingue également par son grand nombre d'espèces, sous-espèces et variétés endémiques et peu communes (Lograda, 2010). Les légumineuses interagissent de manière symbiotique avec les rhizobia fixateurs d'azote, qui sont des bactéries du sol pouvant résider de manière intracellulaire dans les nodules se développant sur les racines des plantes légumineuses (Dent et Cocking, 2017).

La symbiose entre les légumineuses et les rhizobiums permet l'assimilation de l'azote atmosphérique. Elle présente ainsi un intérêt agronomique et écologique majeur, en permettant de réduire l'utilisation des engrais azotés. Grâce à cette interaction naturelle, les sols s'améliorent et deviennent plus aptes à soutenir une agriculture durable et productive (Oldroyd et Downie, 2008).

Dans le cadre des travaux visant à caractériser les bactéries symbiotiques présentes dans les nodules des légumineuses de la tribu *Genisteae*, nous avons envisagé de rechercher de nouvelles légumineuses endémiques des régions arides en particulier la région de Biskra et ses

environs, et analysé 15 articles pour comprendre l'importance des rhizobia vivant en association avec les légumineuses sauvages.

Ce travail est partagé en trois chapitre :

Chapitre I : Synthèse bibliographique : La partie théorique du mémoire met l'accent sur les légumineuses (la tribu *Genisteeae*) et le mécanisme de nodulation avec les bactéries de type *Rhizobia*.

Chapitre II Matériels et méthodes : Sortir sur le terrain et mener une recherche approfondie sur les légumineuses appartenant à la tribu *Genisteeae*, collecter des nodules, des graines et tester la performance symbiotique des isolats bactériens sur ces différentes *Genisteeae*.

Une analyse d'un nombre important de recherches scientifiques récentes (15 articles). En basant sur les différentes méthodes utilisées pour confirmer la performance symbiotique des souches isolées de différente légumineuse.

Chapitre III Résultats et discussion : Analyse des résultats finaux avec leur discussion en regard des travaux scientifiques récents.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les légumineuses

1. Generalité

1.1. Les légumineuses :

La famille des légumineuses, également connue sous le nom de famille des haricots et des pois, se classe comme la troisième plus grande famille de plantes à fleurs après les orchidées (*Orchidaceae*) et les astéracées (*Asteraceae* ou *Compositae*). (Lewis G, 2005) Ils sont souvent présents en tant que composants majeurs de la plupart des types de végétation dans le monde, et nombreux sont ceux qui ont la capacité de coloniser des terres marginales ou stériles en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce à des nodosités racinaires (Sprent, 2001). Avec environ 20 000 espèces, la superfamille des *Fabacées* se classe en deuxième position après les *Poacées* en termes de diversité, démontrant ainsi une grande variété au sein de cette famille (Selami, 2015). On reconnaît les légumineuses comme une seule famille avec trois sous-familles : *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* et *Papilionoideae*. (Du Puy, 2002)

1.2. Taxonomie et Classification :

Traditionnellement, les légumineuses sont subdivisées en trois sous-familles : les *Caesalpinioideae*, les *Mimosoideae* et les *Papilionoideae* (ou *Faboideae*). (Vernié, 2008)

Voici la taxonomie des légumineuses sous forme de tableau :

Tableau 1. Taxonomie des légumineuses (Baba Arbi, 2016).

Niveau hiérarchique	Catégorie taxonomique
Sous règne	<i>Trachéobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsidia</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous famille	- <i>Papilionoideae</i> - <i>Mimosoideae</i> - <i>Caesalpinioideae</i>
Sous règne	<i>Trachéobionta</i>

1.2. Légumineuses sahariennes

Étant donné les conditions édaphoclimatiques difficiles du Sahara, les légumineuses présentent un intérêt particulier grâce à leur capacité à s'associer avec les rhizobia, permettant la fixation biologique de l'azote atmosphérique. Cette aptitude leur donne un avantage adaptatif, leur

permettant de mieux prospérer sur des sols appauvris et dégradés. (CHAÏCH, 2018).

1.2.1 la tribu *Genisteae*

1.2.1.1 Généralités sur genre *Retama*

Les Légumineuses du genre *Retama*, également connue sous le nom de *R'tm*, est une plante qui pousse naturellement dans la famille des *fabacées*. Cette plante est essentielle pour améliorer la fertilité des sols, car elle aide à stabiliser les dunes de sable grâce à sa capacité à se développer dans des conditions difficiles. En outre, le *Retama* est utilisé depuis de nombreuses années pour traiter toute une série de maladies (Mahdhi et Mars, 2006) Les espèces végétales de *Retama* possèdent également des flavones uniques appelées rétamatriosides, qui ont des propriétés cytotoxiques et antimicrobiennes (Benmiloud-Mahieddine *et al.*, 2011)

1.2.1.2. Description générale du genre *Retama*

La plante *retama* est un buisson ou un arbuste qui mesure entre un et quatre mètres de haut. Elle a de longues branches qui ressemblent à des joncs et n'a pas ou très peu de feuilles pour survivre dans le désert aride où l'eau est limitée. Le *retama* prospère dans des conditions chaudes et peut tolérer la salinité (Abd El-Rahman et El-Monayeri, 1967). Les fruits sont des gousses étroites de moins de 2 cm de long, se rétrécissant en une pointe acérée, et contenant une ou deux graines (Quézel et Santa, 1962).

Les graines renferment de la cytosine, un alcaloïde nocif. Les tiges sont robustes, avec des parois extérieures épaisses et une cuticule épaisse qui recouvre la couche externe. Les fleurs se présentent en grappes de couleur blanche ou jaune, selon l'espèce. Les racines poussent en profondeur et sont toujours en contact avec les couches humides du sol, atteignant jusqu'à dix mètres de long (Abd El-Rahman et El-Monayeri, 1967).

En se référant aux caractéristiques physiques, le genre *Retama* a été révisé pour inclure des espèces telles que *R. raetam* Webb et Berthel., *R. sphaerocarpa* Boiss., *R. dasycarpa* Coss. Ainsi que diverses sous-espèces et variétés. Ainsi que diverses sous-espèces et variétés. La sous-espèce *eu-monosperma* var. *webbii* (Spach) Maire est originaire du Maroc, tandis que la sous-espèce *bovei* Webb est originaire d'Algérie et du Maroc (Benmiloud-Mahieddine *et al.*, 2011). (Benmiloud-Mahieddine *et al.*, 2011).

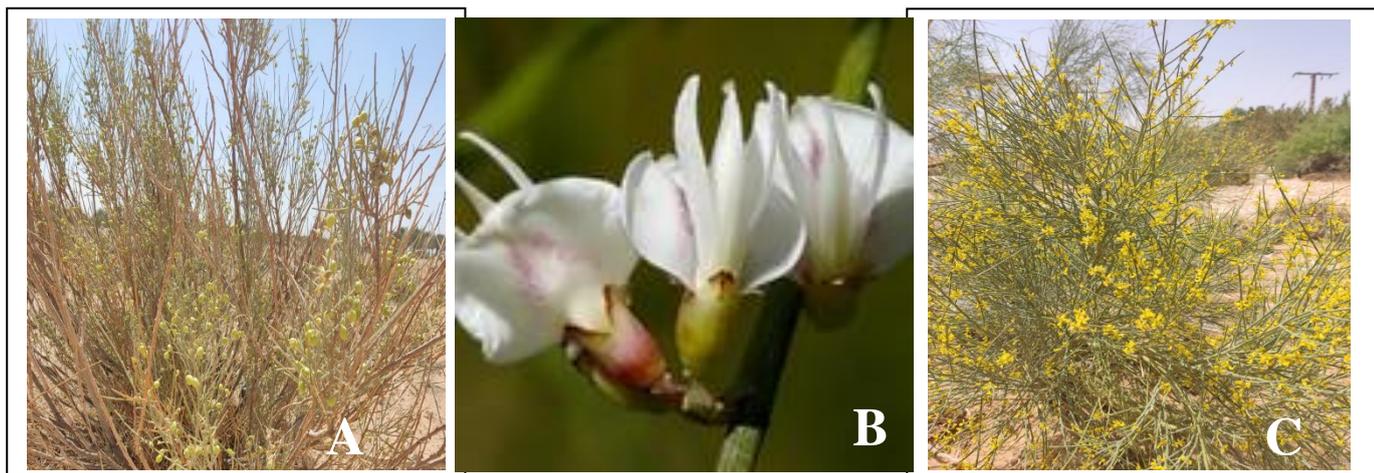


Figure 1 .A. *Retama raetam* (Forssk.) Webb (Photo originale)., B. *Retama monosperma* (L.) Boiss, C. *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (Photo originale).



Figure 2. les fruites de *Retama raetam* (Forssk.) Webb (D) (Photo originale)., (E) les fruites de *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (Photo originale).

1.2.1.3. Distribution géographique du genre *Retama*, en Algérie

Les rétamas sont caractérisées par une large distribution géographique, On pense que les rétamas sont originaires du nord-ouest de l'Afrique, probablement des îles Canaries. En Algérie, ces plantes couvrent une grande partie du territoire, des régions septentrionales aux régions méridionales.

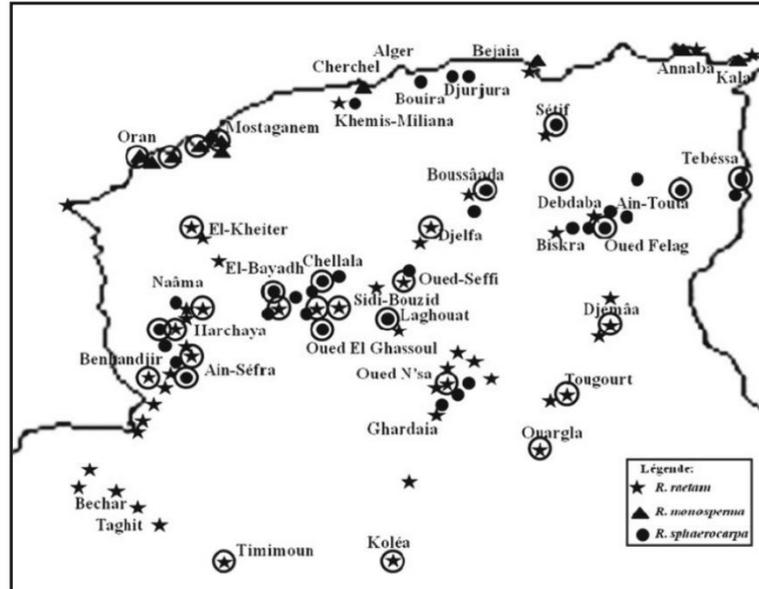


Figure 3. Répartition géographique des trois espèces de Retama en Algérie (Benmiloud-Mahieddine et al., 2011)

A : *R. monosperma* : La plante est communément trouvée dans les dunes côtières, les forêts ouvertes et les pâturages rocailloux sur les collines et les basses montagnes dans des zones avec des niveaux variables de disponibilité en eau, allant des régions bien arrosées aux régions semi-arides et arides (Benmiloud-Mahieddine *et al.*, 2011 ; Maire, 1952)

B : *R. raetam* : La plante *R. raetam* prospère dans les dunes et les lits de rivière d'Algérie, où elle est bien adaptée à l'environnement désertique. Elle est fréquemment observée dans la région du Sahara septentrional et peut être trouvée aussi loin au sud que Tademaït et le plateau de Tinghert (Quézel et Santa, 1962).

C : *R. sphaerocarpa* : est une plante qui pousse dans les pâturages montagneux, rocailloux et argileux, forêts claires, bords des torrents dans les steppes (Maire, 1952). Dans l'Algérie, *R. sphaerocarpa* est signalée à Ain Sefra, Oued M'Zab, Constantine, Maillot, Bouira (Quézel et Santa, 1962).

Tableau 2. Récapitulatif de la répartition géographique du genre *Retama* dans le monde selon ILIDIS

	<i>R. monosperma</i> . Boiss	<i>R. raetam</i> (Forsskal) Webb	<i>R. sphaerocarpa</i> . Boiss
Afrique	Algérie (N) Maroc (N) Egypte (N)	Algérie (N) Maroc (N) Tunisie (N) Libye (N) Egypte (N) Saharaoccidentale (N)	Algérie (N) Maroc (N) Tunisie (N)
Europe	Italie (I) Portugal (N) Espagne (N)	Grande Bretagne (I) Sicile (N)	Bulgarie (I) Portugal (N) Espagne (N)
Australie	Australie (I) Tasmanie (I)		
Moyen orient		Les frontières Israélo-jordanienne (N) Les frontières Libano Syrienne (N) Arabie Saoudite (N) La péninsule du Sinaï (N)	Argentine (I)
Amérique du sud	Argentine (I)		

(N) : native. (I) : introduite

1.2.1.4. Systématique du genre *Retama*

Selon Classification APG III (2009) les *retames* sont classés dans le taxon suivant :

Tableau 3. Systématique du genre *Retama* APG III (2009).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Végétal
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous famille	<i>Papilionaceae</i>
Tribu	<i>Genisteeae</i>
Genre	<i>Retama</i>
Espèce	<i>raetam</i> (Forsskal) Webb <i>sphaerocarpa</i> (L.) Boiss. <i>dasycarpa</i> . Cosson.
Nom vernaculaire	<i>R'tem</i>

1.2.2.1. Généralités sur genre *Genista*

La famille des Fabacées est reconnue comme le plus grand groupe de plantes médicinales.

Elle compte plus de 490 espèces utilisées depuis longtemps comme remèdes traditionnels (Boutaghane *et al.*, 2013). Le genre *Genista*, qui appartient de cette famille, comprend une 100 d'espèces que l'on trouve principalement dans la région méditerranéenne (Boutaghane *et al.*, 2013) Parmi ces espèces, Il comporte 23 espèces dont 11 sont endémiques à l'Algérie (ATI, 2018).

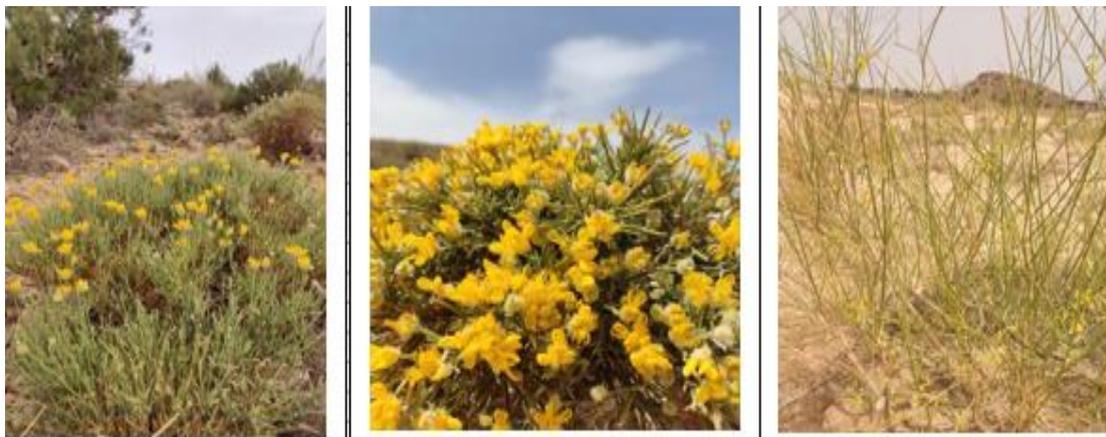


Figure 4. Photo de *Genista capitellata* Coss et Dur et et *Genista saharea* Coss et Dur

1.2.2.2. Répartition géographique du genre *Genista*

Genista, une espèce de plante, se trouve dans plusieurs pays dont l'Algérie, l'Italie (Sardaigne), le Maroc et la Tunisie. Son aire de répartition géographique s'étend sur plus de 20 000 km² et elle pousse généralement à des altitudes allant du niveau de la mer jusque 500 m.

1.2.2.3. Description du genre *Genista* selon Quezel et santa 1962

Le calice de la fleur est composé de 5 segments, les 2 supérieurs étant soit séparés, soit réunis, tandis que les 3 inférieurs forment une lèvre avec 3 dents profondes. Parfois, le calice peut avoir une forme de cloche avec 5 dents presque égales. La carène, ou quille, est oblongue et droite ou légèrement renflée sur les côtés (Quézel et Santa, 1962).

Les étamines sont minces et il y a 10 étamines fusionnées, dont 5 longues et 5 courtes. Le stigmate est incliné, la gousse s'ouvre pour libérer les graines, et l'aspect de la gousse est variable. Les arbustes peuvent avoir des épines ou être dépourvus de feuilles et avoir des branches droites. Les feuilles ont généralement de 1 à 3 feuilles et peuvent avoir ou non des

stipules. Les graines ne sont pas recouvertes d'un arille (Quézel et Santa, 1962).

1.2.2.4. Classification du genre *Genista*

Tableau 4. Classification du genre *Genista* APG III (2009)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Sous règne	<i>Trachéobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Phylum (Division)	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Dicotyledones (Magnoliopsidia)</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Super famille	<i>Légumineuses</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous famille	<i>Fabiodeae</i>
Tribu	<i>Genisteeae</i>
Genre	<i>Genista</i>

1.2.2.5. Espèce *Genista microcephala* var. *capitellata* Coss. & Dur.

Cette plante est appelée arbuste éphédroïde et mesure entre 20 et 50 cm de haut. Elle possède de nombreuses branches partant de la base. Les ramifications sont vertes et couvertes de poils simples. Les feuilles sont toutes à une seule feuille et poussent de manière alternée ou légèrement inversée à la base des jeunes rameaux. Elles sont attachées à un petit coussinet qui dépasse légèrement, et les feuilles mesurent de 3 à 8 millimètres de long. Elles sont de forme allongée ou oblongue-linéaire, avec des côtés lisses, et leur surface inférieure est recouverte d'une couche dense de poils (Lograda, 2018 ; Quézel et Santa, 1962).



Figure 5. Photo de *Genista Microcephala* (Photo originale).

1.2.2.6. *Genista saharae* Coss. et Dur

Arbuste de 1 à 2 m, avec de longs rameaux. Les feuilles sont unifoliées, étroites et très caduques. Les fleurs sont espacées le long des rameaux, tandis que les gousses pendantes sont longues et ont des parois parcheminées. Les nombreux ramules florifères alternes forment des grappes lâches. Cet arbuste, recommandé pour les troubles digestifs. (CHAÏCH, 2018)

1.3. Mécanisme de nodulation

Les légumineuses ont la capacité remarquable de former des relations symbiotiques avec des bactéries du sol fixatrices d'azote appelées rhizobiums .Ce mutualisme conduit à la formation d'un nouvel organe végétal appelé nodule ,dans lequel les micro-symbiotes convertissent l'azote atmosphérique en ammoniac ,une forme biologique directement consommable par la plante .Ce processus biologique joue un rôle essentiel dans l'agriculture durable car il réduit le besoin d'engrais azotés exogènes tout en offrant un moyen efficace de produire des aliments riches en protéines (Wang *et al.*, 2012).

La nodulation chez les légumineuses est activée par des molécules de signalisation rhizobiennes appelées facteurs de nodulation (Nod). Bien que les facteurs Nod soient produits par des bactéries ,ils se comportent à bien des égards de la même manière que les hormones végétales : ce sont des signaux diffusibles qui activent divers processus de développement chez les plantes .Le facteur Nod est constitué d'un squelette de chitine et d'un fragment d'acide gras lié à l'azote relié à un sucre terminal non réducteur ,le développement coordonné des racines est un facteur clé dans le développement de la théorie de l'infection bactérienne .Les infections bactériennes se produisent généralement lorsque les cellules ciliées se serrent autour de la racine

et que les bactéries associées sont localisées .Ces bactéries se développent et forment des foyers d'infection ,à partir desquels commence la chaîne d'infection .Les fils infectieux sont des envahisseurs végétaux uniques capables de traverser les limites cellulaires ,permettant aux bactéries d'envahir les cellules corticales ,Accompagnant ces réactions épidermiques ,une ligne d'infection peut se développer à travers le cortex. (Figure 6) Les cellules corticales à la base de la lignée d'infection présentent une structure de front d'infection formée par des arrangements cytoplasmiques qui prédisent le cheminement futur de la lignée d'infection .Les cellules endothéliales situées sous le site de l'infection ont commencé à se diviser ,formant des méristèmes nodulaires Des tubercules primordiaux se forment (Figure 6). Les filaments infectieux se développent vers l'ébauche en développement et les rhizobiums sont libérés dans les cellules internes du nodule via un mécanisme endocytaire qui encapsule les bactéries dans la membrane végétale .Ces membranes et bactéries enfermées se différencient en structures de type organite appelées symbiotes ,dans lesquelles les bactéries différenciées (bactéries) sont responsables de la fixation de l'azote. (oldroyd *et al.*, 2011)

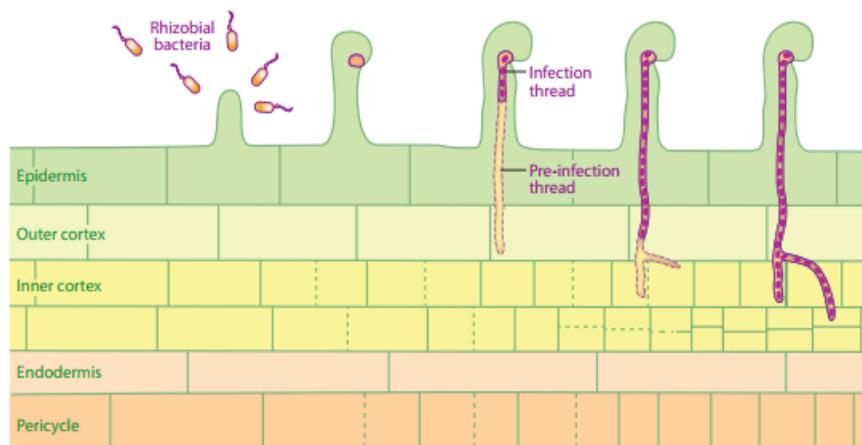


Figure 6. La nodulation implique le développement coordonné de l'infection bactérienne et de l'organogenèse du nodule (Oldroyd et Downie, 2011)

Chapitre 2 :

Matériels et méthodes

2.1. Partie pratique

2.1.1. Zone d'échantillonnage :

Nous avons fait des sorties sur le terrain afin de chercher des légumineuses à la tribu de *Genisteae* depuis le mois de février jusqu'à mai après un effort de recherche, 04 types de légumineuses à croissance spontanée appartiennent à la famille des Fabaceae, Tribu Genisteae ont été collectées :

Genista capitellata Coss. et Dur en février 2024 (*Genista microcephala* Maire), qui pousse dans la région d'Ain Zaatout Il est à 48 km de la wilaya de Biskra (lat 35.185221° ; long 5.83733°), *Genista saharae* Coss. Et Dur en mai 2024 dans la région de Bouchagroun Il est à 38 km de la wilaya de Biskra (lat 34.7372219° ; long 5.4608605°), *Retama raetam* (Forssk.) en mars 2024 dans la région de Hassi Zrari Il est à 23 km de la wilaya de biskra (34.7600289° ; long 5.5309664°) et *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss en avril 2024 dans la région de chaaiba Il est à 83 km de la wilaya de biskra (lat 34.840943° ; long 4.925354°).

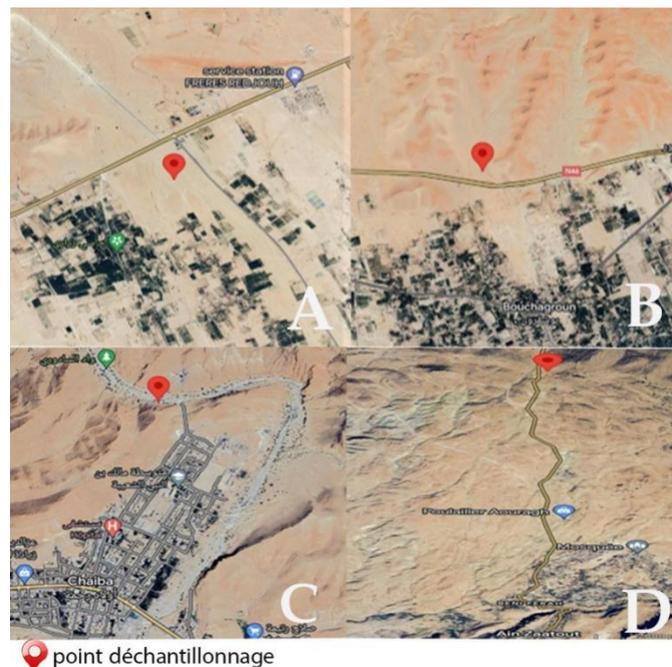


Figure 7. Localisation géographique du site d'échantillonnage dans la wilaya de Biskra

2.1.2. Collecte des graines et des nodules :

Les graines ont été récoltées par les arbustes de chaque site d'échantillonnage lorsqu'ils étaient présents au mois de Mai 2024, nous avons remarqué que les graines étaient encore vertes et ce stade affecte le processus de germination. En raison de cette condition, nous avons besoin que les graines soient complètement sèches, ce qui n'était pas disponible au moment du mois de Mai ,2024. Nous avons rencontré le défi de temps, surtout étant donné que la date limite de

soumission des mémoires est le 20 juin 2024. Nous avons donc dû arrêter l'expérience et remplacer ces graines par d'autres échantillons plus adaptés, les graines de *Vigna unguiculata* (nibié).

Concernant la collecte des nodules : aucun nodule n'a été trouvé au mois de Mai 2024, probablement causés par un stress environnemental.

2.1.3. Le matériel biologique

L'isolement, purification et conservation des souches nodulant la plante *G. saharea*. Ce travail a été effectué par les étudiants master de l'année 2017-2018.

2.1.4. Test de nodulation

Nous avons réalisé le test en utilisant la technique des jarres de Léonard. Ce test consiste en l'inoculation des graines germé de la plante hôte (*Vigna unguiculata*)

Ce test sert de point de départ pour l'identification des souches. Il évalue leur capacité et leur aptitude à créer des nodules avec la plante hôte sous des conditions bactériologiques rigoureusement contrôlées. (Vincent, 1970 et Beck *et al.*, 1993)

Cette technique est réalisée selon les étapes suivantes :

2.1.4.1. Préparation des jarres :

On a utilisé dans l'expérience, des bouteilles d'eau minérale en plastique. Ils sont désinfectés avec de l'éthanol après avoir été lavées avec un détergent courant. Ils ont été coupés horizontalement en deux parties. (Chabbi, 2010).

Les bouchons percés à l'aide d'une pince et les cordons sont stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Les deux parties de la jarre sont ensuite reliées par un cordon de compresse stérile

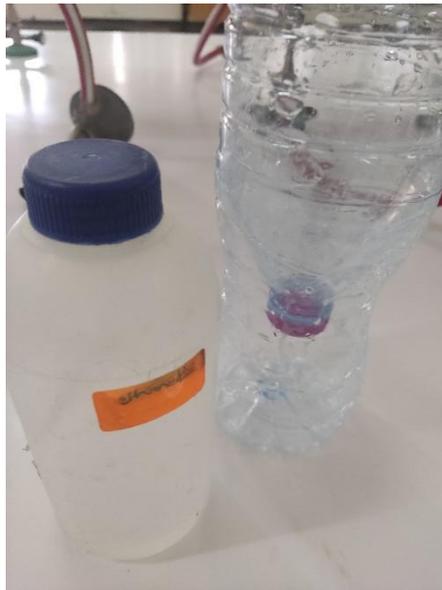


Figure 8. Préparation des jarres (Originale).

2.1.4.2. Préparation du sable

Sable collecté dans les zones suivantes : Chaiba et Hassi Zerari et Bouchagroun est d'abord rincé à plusieurs reprises jusqu'à ce que l'eau devienne claire. Ensuite, il est rincé 2 à 3 fois à l'eau distillée puis humidifié avec la solution nutritive de Fährus (Annexe 1) et stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes, dans des béciers recouverts de papier aluminium. (Annexe 2) (Chabbi, 2010).



Figure 9. Préparation du sable (Originale).

Les bouteilles sont remplies après que tout ait été préparé. Le sable stérile remplit la partie

supérieure, tandis que la solution nutritive de Fährus est placée dans la partie inférieure. Ainsi, le cordon de compresse reliant les deux parties permet d'humidifier le sable avec la solution nutritive.

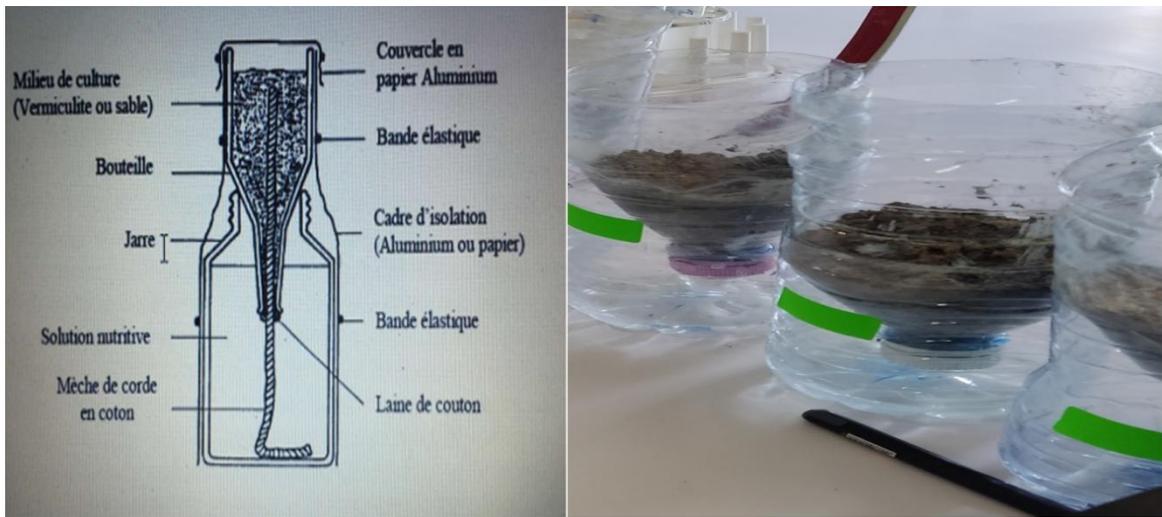


Figure 3. Préparation du Jarre. A : Jarre de Léonard (Vincent, 1970), B : Jarres utilisées dans notre étude (Originale).

A la fin de la préparation les jarres sont recouvertes pour éviter toute contamination (**Figure 11**)



Figure 4. Fin de la préparation les jarres (Originale).

2.1.4.3. Sélection des graines

Pour sélectionner les graines avant leur stérilisation, il faut s'assurer qu'elles soient intactes, propres et de taille uniforme et sèches. Les graines de notre plantes hôtes, *G. saharae*, *G. Microcephala*, *R. sphaerocarpa* et *R. retam* croissent lentement in vitro (plus 8 semaines)

(Problème de germination), ce qui excède la durée de notre étude expérimentale, nous avons choisi d'utiliser les graines de niébé (*Vigna unguiculata*). Disponibles toute l'année, ces graines se caractérisent par une germination rapide et une croissance rapide in vitro et la capacité de fixer l'azote atmosphérique grâce à une symbiose avec plusieurs type des bactéries nodulantes des légumineuses. *Vigna unguiculata* (niébé) est bien connue pour être très promiscuité (Pongslip, 2012).



Figure 5. Présentation des graines A : *Vigna unguiculata*., B. *R. raetam* (Photo originale)., C. *G. Microcephala* (Photo originale)., D. *R. sphaerocarpa* (Photo originale). E. *G. saharea* (Photo originale).

2.1.4.4. Stérilisation des graines

La méthode de stérilisation suit les protocoles de Vincent (1970) et Somasegaran et Hoben (1994) de la manière suivante :

- 1.Placer les graines de *Vigna unguiculata* dans un b cher stérile contenant de l'éthanol 95% pendant 5 à 10 secondes.

- 2.Transférer immédiatement les graines dans de l'eau de javel concentré pendant 3 minutes.

- 3.Rincer les graines 10 fois avec de l'EDS stérile. Après le dernier rinçage, les laisser gonfler pendant 1 heure. (Annexe 2).

2.1.4.5. Germination des graines

Après stérilisation, les graines ont été germé dans des boîtes de Pétri recouvertes de coton, puis de l'EDS a été ajouté. Les boîtes, recouvertes d'une feuille d'aluminium pour assurer une obscurité totale, sont placées dans une étuve à 20 C pendant 24 à 48 Heures, jusqu'à l'apparition des embryons. (Lamrani et al.,2013)

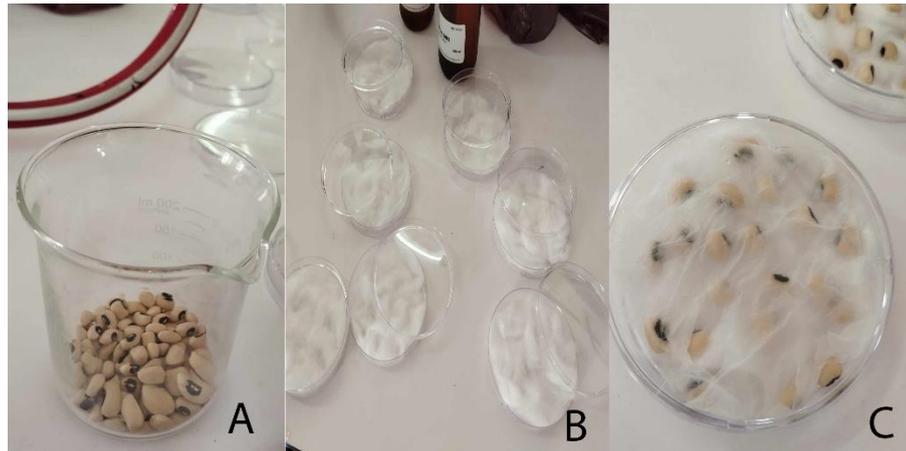


Figure 6. Germination des graines En utilisant l'EDS (Originale).

2.1.4.5. Inoculation des jarres

Après la germination, les graines ayant développé des racines droites de 1 à 2 cm de longueur sont plantées dans le sable stérile à une profondeur de 2 cm, à raison de trois graines par jarre. Elles sont immédiatement inoculées avec 3 ml d'une suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance, issue d'une culture sur YMB à 28°C. (Vincent, 1970).

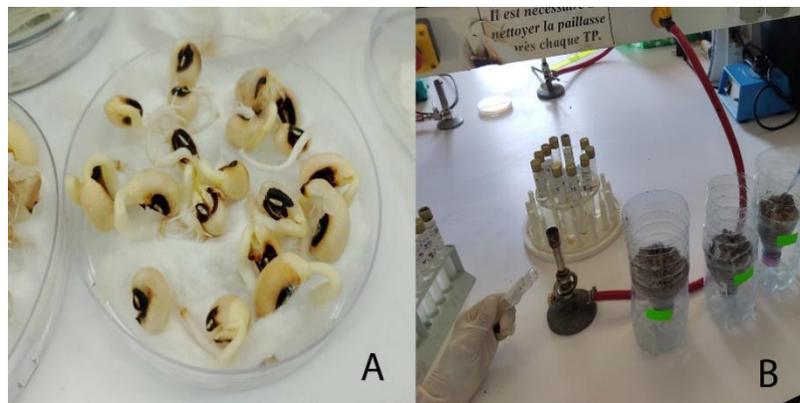


Figure 7. A : Graines de *Vigna* après germination., B : Inoculation des jarres (Originale).

Pour protéger les racines de la lumière, la partie supérieure des jarres est recouverte de plastique noir. Pendant les premières 24 heures suivant l'inoculation, les jarres sont également couvertes de papier aluminium et placées dans une chambre de croissance équipée d'un système d'éclairage.



Figure 8. Préparation du Jarre après Inoculation (Originale).

L'irrigation des jarres se fait de manière aseptique chaque fois que le niveau de la solution nutritive diminue, afin d'éviter le dessèchement du sable. Une jarre témoin non inoculée a également été préparée. Le 29 mai 2024, les graines germer ont été inoculés et les racines ont été rincées pour observer les résultats de la nodulation.



Figure 9. A, B : Transporter les Jarres et les placer en salle de culture (Originale).

2.2. Partie théorique

2.2.1. Les différentes méthodes de nodulation

La symbiose entre les légumineuses et les rhizobiums, un processus naturel par lequel ces bactéries fixatrices d'azote colonisent les racines des plantes hôtes, permet l'assimilation de l'azote atmosphérique et présente ainsi un intérêt agronomique et écologique majeur. En effet, cette interaction symbiotique joue un rôle crucial dans la réduction de l'utilisation des engrais azotés synthétiques, ce qui contribue non seulement à diminuer les coûts de production pour les agriculteurs, mais également à réduire les impacts environnementaux négatifs associés à l'excès d'azote, tels que la pollution des eaux et les émissions de gaz à effet de serre. En Algérie, et dans d'autres régions du monde, les recherches récentes ont montré que l'optimisation de cette symbiose peut améliorer significativement la fertilité des sols et la productivité des cultures, tout en soutenant la durabilité des systèmes agricoles.

Nous nous appuyerons sur une sélection de 15 articles scientifiques réfléchis qui abordent Différentes régions et différentes légumineuses

Articles étudiés et utilisant des méthodes de collecte d'échantillons, d'isolement de bactéries et test nodulation :

(Dekak *et al.*, 2018), (CHAÏCH *et al.*, 2017), (Torche *et al.*, 2010), (Lamin *et al.*, 2021), (Lamin *et al.*, 2019), (Hannane *et al.*, 2016), (Mahdhi *et al.*, 2007), (Ouslim *et al.*, 2015), (Dekak *et al.*, 2020) (Ramdani *et al.*, 2020), (Farida *et al.*, 2009), (Bourebaba, 2016), (Alami *et al.*, 2021), (Ahnia *et al.*, 2014), (Chahboune *et al.*, 2011)

2.2.2. Collecte d'échantillons :

Diverses plantes ont été collectées dans différentes régions et différentes plantes. Le tableau ci-dessous montre la région, l'usine et l'année/période de collecte des échantillons de chaque recherche :

Tableau 5. Le tableau montre la région, l'usine et l'année/période de collecte des échantillons

Article	Région et/ou endroit / Dates	Échantillons
(Dekak <i>et al.</i> , 2018)	Bir El Ater (34°43'24"N, 8°20'33"E), Negrine (34°29'24"N, 7°33'10"E), Metlili (35°15'49"N, 5°39'8"E) Février 2017	Deux espèces de plantes sauvages et endémiques de la famille des légumineuses ont été collectées dans le nord-est de l'Algérie : (1) <i>Argyrolobium uniflorum</i> des régions de Bir El Ater et Negrine, (2) <i>Genista microcephala</i> de la région de Metlili.

		Seuls des nodules rouge rosé ont été collectés.
(CHAÏCH <i>et al.</i> , 2017)	L'étude a été réalisée dans le Sahara septentrional, sur un rayon de 400 km, englobant les régions de "Chebkas" (wilaya de Ghardaïa) et de l'Erg oriental (wilaya de Ouargla). Onze sites ont été choisis : 1 sebka (Debbiche), 1 reg (reg de Zelfana), 4 ergs (HBA, Khbina, Belghit et El Morr), et 4 lits d'oueds (Echfar, Noumerat, Guemgouma, Chaab Sbaa, Oum Sedaïra). 2018	Des graines de <i>Genista saharae</i> ont été récoltées. Les nodosités ont été collectées à partir des plantes cultivées
(Torche <i>et al.</i> , 2010)	D'Ain El Bey, à la périphérie de la ville de Constantine. Sétif (Amoucha) et Oum El Bouaghi. La région d'El Faïd, située au sud-est de Biskra. Sétif : Bougaa, Ain Roua, et Ain Esfa. 2007	Les nodules sont collectés à partir de quatre espèces du genre <i>Hedysarum</i> . <i>H. spinosissimum subsp. Capitatum</i> est collectée dans le plateau d'Ain El Bey, à la périphérie de Constantine. <i>H. pallidum</i> se trouve à Sétif (Amoucha) et à Oum El Bouaghi. <i>H. carnosum</i> est récoltée dans la région d'El Faïd, au sud-est de Biskra. <i>H. naudinianum</i> est collectée à Sétif (Bougaa, Ain Roua et Ain Esfa).
(Lamin <i>et al.</i> , 2021)	Touissit-Sidi Boubker, situé dans l'est du Maroc, près de la frontière avec l'Algérie (34° 28' 26" N–001° 46' 19" W), à une altitude de 1148 mètres.	Des nodules racinaires ont été collectés sur des plantes de <i>Retama monosperma</i>
(Lamin <i>et al.</i> , 2019)	Les résidus miniers abandonnés de Touissit, dans l'est du Maroc, à la frontière avec l'Algérie (34° 28' 26" N – 001° 46' 19" W)	Les nodosités racinaires de plantes de <i>Retama monosperma</i> collectées sur dix jeunes plants cultivés dans un sol contaminé par le plomb
(Hannane <i>et al.</i> , 2016)	In Oran Northwestern Algeria Les racines ont été retirées de trois zones : <i>Retama monosperma</i> Cap falcon (35° 44 940 N 00° 47 250 W (Et Bousfer(Hai Mardjadjou 35° 43 898 N 00° 50 509 W) .Et Mers El Hadjadj (35° 47 112 N 00° 07 721 W)	Des nodules racinaires ont été collectés sur des plantes de <i>Retama monosperma</i>
(Mahdhi <i>et al.</i> , 2007)	Nafta en Tunisie situées à 34°49'59"N, 7°42'7"E. Cette opération a été réalisée à une date non spécifiée.	La collecte des nodosités des plantes <i>G. saharae</i>
(Ramdani <i>et al.</i> , 2020)	Quatre localités différentes de la ville de Bejaia (nord-est de l'Algérie), à savoir : Adekar, Barbacha, Semaoun et SidiAïch.	Les nodosités racinaires utilisées dans cette étude ont été collectées à partir de plantes sauvages de <i>S. junceum</i> (L.)

(Ouslim <i>et al.</i> , 2015)	Six wilayas de l'ouest de l'Algérie : Mostaganem, Oran, Relizane, Mascara, Tlemcen et Aïn Témouchent. Saison des pluies (novembre, décembre, janvier) 2015	Les nodosités ont été collectées sur les racines des plantes de fève (<i>Vicia faba</i>)
(Dekak <i>et al.</i> , 2020)	Février 2017 sur le site de Bekkaria (35°21'10.45"N, 08°15'16.14"E) situé près de la ville de Tébessa	Les racines de <i>Genista cinerea</i>
(Farida <i>et al.</i> , 2009)	Nord-est de l'Algérie Sidi Abdelaziz Souk El Tenine Souk El Tenine Hammam El Biban Amizour Seddouk Toudja	Les nodules racinaires ont été collectés sur des plantes de <i>Retama raetam</i> et <i>Retama Sphaerocarpadans</i>
(Bourebaba <i>et al.</i> , 2016)	Une large région du bassin méditerranéen occidental, spécifiquement dans le nord de l'Algérie et le sud-ouest de l'Espagne.	Les nodules de <i>Lupinus micranthus</i> ont été collectés
(Alami <i>et al.</i> , 2021)	Zaida situé aux coordonnées 32°53'41.8"N et 5°00'8.010"W. au Maroc	Les graines de <i>R.sphaerocarpa</i>
(Ahnia <i>et al.</i> , 2014)	Nord-Est de l'Algérie, région de Bejaia, plus précisément à Oued Dass et Saket	Les nodules ont été prélevés à partir de plantes <i>Cytisus villosus</i>
(Chahboune <i>et al.</i> , 2011)	Le lieu de l'étude est la région centro-occidentale du Rif marocain, à environ 1600 m d'altitude, près des villages de Fifi (34°57' N, 5°14' W) et Aoudal (35°08' N, 5°20' W).	Cinq nodules par plante ont été collectés sur les racines de <i>Cytisus villosus</i> sauvages et arbustifs.

2.2.3. Isolement des bactéries

Après sélection et échantillonnage, les souches ont été isolées par différentes méthodes dans cette étude :

Le premier groupe a utilisé la méthode de Vincent (1970) :

(Ahnia *et al.*, 2014), (Farida *et al.*, 2009), (Bourebaba *et al.*, 2016), (Chahboune *et al.*, 2011), (CHAÏCH *et al.*, 2017), (Torche *et al.*, 2010), (Lamin *et al.*, 2021), (Lamin *et al.*, 2019), (Mahdhi *et al.*, 2007), (Ouslim *et al.*, 2015).

La méthode Vincent (1970) : Les nodules ont été lavés à l'eau courante, puis stérilisés en surface

par immersion dans du HgCl₂ à 0,1% pendant 2 minutes, lavés soigneusement à l'eau distillée stérile, placés indépendamment dans des boîtes de Petri, et enfin écrasés dans une goutte d'eau stérile avec un verre stérile. La suspension obtenue a été étalée sur du milieu YEM (extrait de levure-mannitol) supplémenté de 0,0025% (p/v) de rouge Congo. Après incubation des boîtes de Petri à 28 °C pendant plus de 10 jours, les colonies ont été purifiées sur le même milieu et conservées à 4 °C. Après identification, toutes les souches rhizobiennes utilisées dans cette étude ont été cultivées de manière routinière dans un milieu TY (extrait de levuretryptone).

La méthode dépend des étapes :

- Après avoir retiré les nodules racines, stérilisez la surface avec une solution stérile.
- Rincer les nodules avec de l'eau distillée stérile.
- Broyer les nodules dans des gouttes d'eau distillée stérile.
- Postez un commentaire sur les plaques de gélose YEM.
- Maintenir les isolats purs par remise en culture sur plaques de gélose YEM.
- Conserver les isolats

Le type de stérilisateur utilisé variait selon les articles qui ont utilisé la méthode Vincent (1970) : L'éthanol, le HgCl₂, le NaClO et le CaCl₂ ont été utilisés à différentes concentrations, et le temps de stérilisation a varié de 20 secondes à 5 minutes. Pour la méthode de propagation, la plupart des articles ont utilisé la gélose YEM, tandis que certains articles ont utilisé la gélose YMA avec des additifs tels que le rouge Congo ou le BTB. Les méthodes de conservation des isolats variaient de 20 % à 50 % de glycérol à différentes températures.

Dans l'étude de CHAÏCH *et al.*, (2017) La surface a été stérilisée avec 3 % de CaCl₂ pendant 2 minutes, rincée avec de l'eau distillée, ensemencée sur de la gélose YEM et conservée dans 50 % de glycérol.

Dans l'étude de Torche *et al.*, (2010) Stérilisation de surface avec 95% d'éthanol suivi de 0,1% de HgCl₂ pendant 3 minutes, rinçage 10 fois, propagation sur YMA avec Congo Red, BTB et GPB agar, conservation dans YMA avec CaCO₃.

Dans l'étude de Lamin *et al.*, (2019) Stériliser la surface avec 0,1% de HgCl₂ pendant 2 minutes, rincer avec de l'eau distillée, propager sur agar YEM avec du rouge Congo, cultiver sur agar TY pour des études futures.

Dans l'étude de Mahdhi *et al.*, (2007) Propager sur YMA, replanter sur YMA pour assurer la pureté.

Dans l'étude de Ouslim *et al.*, (2015) Stériliser la surface avec 3 % de NaClO pendant 3

minutes, rincer 10 fois, écraser les nœuds dans de l'eau distillée, appliquer sur YEMA.

Dans l'étude de Farida *et al.*, (2009) Stérilisation de surface avec 95% d'éthanol pendant 20 secondes, puis avec 4% de NaClO pendant 2-3 minutes, rincer 10 fois, écraser les nœuds, superposer sur YEM, conserver dans 20% de glycérol.

Dans l'étude de Bourebaba *et al.*, (2016) Stériliser avec de l'éthanol à 96% pendant 30 secondes, puis avec du NaClO (12%) pendant 3 minutes, laver avec de l'eau distillée, broyer, cultiver sur YMA, conserver dans du glycérol (20%) à -80°C.

Dans l'étude de Ahnia *et al.*, (2014) Stériliser avec de l'éthanol à 95 % pendant 20 secondes, puis avec du NaClO (4 %) pendant 2 à 3 minutes, laver avec de l'eau distillée, broyer, cultiver sur de la gélose YEM, conserver dans du glycérol (20 %) à -80 °C.

Dans l'étude de Chahboune *et al.*, (2011) Stériliser avec du HgCl₂ (0,25%) pendant 5 minutes, laver avec de l'eau distillée, écraser, cultiver sur TSA, YEM et PSY, conserver dans de la gélose YEM.

Dans l'étude de Lamin *et al.*, (2021) Stériliser avec HgCl₂ (0,1%) pendant 2 minutes, laver avec de l'eau distillée, écraser, cultiver sur agar YEM avec 0,0025% (p/v) de rouge Congo, conservation dans le milieu TY.

Le deuxième groupe a utilisé la méthode de Somasegaran and Hoben (1994) :

(Dekak *et al.*, 2018), (Hannane *et al.*, 2016), (Ramdani *et al.*, 2020), (Dekak *et al.*, 2020), (Alami *et al.*, 2021)

La méthode de Somasegaran and Hoben (1994) :

Les nodules conservés ont été réhydratés dans de l'eau distillée stérile pendant 24 heures à 4 °C, puis à température ambiante pendant 1 heure. Les nodules réhydratés ont été stérilisés en surface en les immergeant dans de l'éthanol à 95 % pendant 5 à 10 secondes et dans une solution de chlorure mercurique à 0,1 % pendant 2 minutes. Les nodules ont ensuite été rincés dix fois et laissés pendant 1 heure dans de l'eau distillée stérile. Dans des conditions aseptiques, les nodules désinfectés ont été écrasés individuellement avec une goutte d'eau stérile puis des aliquotes de 100 µL ont été étalées séparément sur de l'agar mannitol-levure (YMA) avec du rouge Congo. Des colonies uniques ont été sélectionnées et étalées en surface sur YMA plusieurs fois jusqu'à purification. Les cultures pures des isolats ont été maintenues sur des pentes YMA à 4 °C ou dans du glycérol à 25 % à -80 °C.

Le type de stérilisateur utilisé variait selon les articles qui ont utilisé la méthode Somasegaran and Hoben (1994) :

La stérilisation varie entre l'utilisation d'alcool éthylique (95%) et de chlorure mercurique

(0,1%) dans de nombreuses études, certaines recherches privilégiant l'hypochlorite de sodium (2-3%) et le chlorure de calcium (3%). Pour les stérilisateur, l'alcool éthylique (95 %) et le chlorure mercurique (0,1 %) sont couramment utilisés, certaines études privilégiant l'hypochlorite de sodium (2 à 3 %) et le chlorure de calcium (3 %). En ce qui concerne les méthodes de propagation, les divers milieux comprennent CR-YMA, YMA avec l'ajout de Rouge Congo, et YEMA, avec différentes conditions d'incubation et méthodes d'inoculation pour obtenir des cultures pures. Quant aux méthodes de conservation, elles vont de la conservation des cultures dans 15% à 25% de glycérol à -80°C, avec des variations dans la concentration et les conditions exactes de conservation.

Dans l'étude de Dekak *et al.*, (2018) Réhydratation dans l'eau distillée stérile à 4°C pendant 24 heures, puis à température ambiante pendant 1 heure, Stérilisation en surface avec éthanol à 95% (5-10 secondes) et chlorure mercurique à 0,1% (2 minutes), Étalement sur CR-YMA et GPA, Conservation à long terme dans du glycérol à 25% à -80°C.

Dans l'étude de Hannane *et al.*, (2016) Stérilisation en surface avec éthanol à 95% (30 secondes) et hypochlorite de sodium à 5% (3 minutes), Étalement sur YMA avec rouge Congo, Conservation à long terme dans du YM avec 15% de glycérol à -80°C.

Dans l'étude de Ramdani *et al.*, (2020) Réhydratation des nodules à 4°C toute la nuit, Stérilisation avec éthanol à 70% (1-2 minutes) et NaOCl à 2-3% (2-3 minutes), Étalement sur YEMA, Conservation à court terme sur YEMA avec CaCO₃ à 4°C, et à long terme dans du YEM avec 20% de glycérine à -80°C.

Dans l'étude de Dekak *et al.*, (2020) Stérilisation en surface avec éthanol à 95% (5-10 secondes) et chlorure mercurique à 0,1% (2 minutes), Étalement sur YMA avec rouge Congo, Conservation à long terme dans du glycérol à 25% à -80°C.

Dans l'étude de Alami *et al.*, (2021) Stérilisation en surface avec éthanol (30 secondes) et HgCl₂ à 0,1% (1 minute), Étalement sur YEM avec Congo red, Conservation à long terme dans du TY medium.

2.2.4. Test de nodulation

De nombreuses méthodes ont été utilisées ici :

La méthode de Vincent (1970) en utilisant jarr de Leonard :

Ont été Inoculation des graines de *Argyrolobium uniflorum* et *Genista microcephala* avec une suspension bactérienne (Dekak *et al.*, 2018), Inoculation des graines de *Hedysarum* avec

suspension bactérienne, évaluation après plusieurs mois (Torche *et al.*, 2010), Inoculation des plantules avec suspension bactérienne, évaluation de la formation des nodosités. (Dekak *et al.*, 2020)

Jensen HL (1942) méthode pour différentes espèces de plantes

Inoculation des graines de différentes espèces (*R. sphaerocarpa*, *R. monosperma*, etc.) avec suspension bactérienne (Lamin *et al.*, 2021), Inoculation des graines de *C. villosus*, *Spartium junceum*, *Lupinus angustifolius*, *L. luteus*, *G. max* avec suspension bactérienne (Ahnia *et al.*, 2014)

Méthode de Vincent (1970) en conditions hydroponiques

Utilisation de bouteilles avec solution nutritive, inoculation et évaluation après 14 semaines (Lamin *et al.*, 2019), Inoculation des graines de *Retama monosperma* dans un système hydroponique, évaluation après 4 et 6 mois (Hannane *et al.*, 2016), Utilisation de tubes en verre avec attapulгите calcinée, inoculation avec suspension bactérienne (Chaich *et al.*, 2017), Inoculation des graines de *Genista saharae* dans des tubes en verre avec milieu d'agar, évaluation après 3 semaines (Mahdhi *et al.*, 2007), Inoculation des plantules après germination, évaluation de la nodulation après plusieurs mois. (Chahboune *et al.*, 2011).

Méthode de Somasegaran and Hoben (1994)

Inoculation des graines de *S. junceum* avec suspension bactérienne dans des flacons, évaluation après 12 semaines (Ramdani *et al.*, 2020), Utilisation de graines de *Vicia faba*, inoculation dans une solution nutritive, évaluation après 4 et 6 mois. (Ouslim *et al.*, 2015), Inoculation des graines de *R. raetam* et *R. sphaerocarpa* avec suspension bactérienne, évaluation de la nodulation (Farida *et al.*, 2009), Inoculation des graines de *Lupinus micranthus* avec suspension bactérienne, évaluation de la formation des nodosités. (Bourebaba, 2016), Inoculation des graines avec différentes souches bactériennes, évaluation après 60 jours. (Alami *et al.*, 2021)

Ces méthodes présentent une similitude dans le schéma de base de l'expérience, avec quelques légères différences dans les détails ou les conditions utilisées.

CHAPITRE 3 :

Résultats et discussion

3.1. Résultats des méthodes utilisées

3.1.1. Collecte des nodules :

Lors de la collecte des nodules, aucune note n'a été faite à partir des articles suivants :

(Torche *et al.*, 2010), (Lamin *et al.*, 2021), (Lamin *et al.*, 2019), (Hannane *et al.*, 2016), (Mahdhi *et al.*, 2007), (Ouslim *et al.*, 2015), (Ramdani *et al.*, 2020), (Farida, 2009), (Bourebaba, 2016), (Alami *et al.*, 2020), (Ahnia, 2014), (Chahboune *et al.*, 2011).

Cependant, dans l'étude de Dekak *et al.*, (2018) et CHAÏCH *et al.*, (2017) et Dekak *et al.*, (2020) Les nodules collectés ont montré une diversité en termes de taille et de forme, reflétant la diversité génétique des bactéries présentes dans les nodules.

3.1.2. Isolement des bactéries :

Après avoir étudié les bactéries isolées de chaque étude, nous placerons les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Tableau 6.les résultats des bactéries isolées

Article	Nombre de souches
(Dekak <i>et al.</i> , 2018)	13 isolats de rhizobium ont été sélectionnés.
(CHAÏCH <i>et al.</i> ,2017)	Un total de 57 isolats de rhizobia ont été obtenus à partir de ces nodules de <i>G. saharae</i> .
(Torche <i>et al.</i> , 2010)	L'aspect morphologique des 11 isolats sur les différents milieux de culture montre une croissance rapide
(Lamin <i>et al.</i> , 2019)	La diversité globale des 44 isolats nodulant <i>R. monosperma</i>
(Lamin <i>et al.</i> , 2021)	Quatre souches (RMB2, RMB4, RMB7 et RMB9) ont été isolées à partir des quatre nodules.
(Hannane <i>et al.</i> , 2016)	53 isolats bactériens ont été isolés à partir des nodules des arbustes <i>R. monosperma</i>
(Dekak <i>et al.</i> , 2020)	10 isolats bactériens endophytiques ont été obtenus à partir des racines
(Ramdani <i>et al.</i> , 2020)	Une collection de 23 souches rhizobiennes a été réalisée à partir des nodules racinaires de <i>S. junceum L.</i> (SjAD3, SjAD5, SjAD19 , SjAD26)
(Mahdhi <i>et al.</i> 2008)	28 souches bactériennes isolées des nodules racinaires de <i>G. saharae</i>

(Ouslim <i>et al.</i> , 2015)	Un total de 140 souches a été isolées à partir des nodules racinaires de cette légumineuse.
(Ahnia, 2014)	51 isolats symbiotiques efficaces obtenus des nodules de plantes natives de <i>C. villosus</i> . 37 isolats d'Oued Dass (CTO) 14 isolats de Saket (CTS)
(Soufiane, 2021)	51 isolats obtenus à partir des nodules de <i>R. sphaerocarpa</i> . Identification des rhizobia Vrais Rhizobia : 43 isolats (présence du gène nodC et formation de nodules sur l'hôte original). Endophytes Nodulaires : 8 isolats non poursuivis dans cette étude.
(Farida, 2009)	125 isolats obtenus
(Bourebaba, 2016)	101 souches de rhizobia ont été isolées à partir de nodules racinaires de <i>Lupinus micranthus</i> provenant du nord de l'Algérie (60 souches) et du sud-ouest de l'Espagne (41 souches).
(Chahboune, 2011)	73 souches bactériennes isolées des nodosités racinaires de <i>Cytisus villosus</i>

Toutes les souches ont prouvé leur efficacité et leur rapidité de croissance Dekak *et al.*, (2018) et Torche *et al.*, (2010) et Lamin *et al.*, (2019) et Hannane *et al.*, (2016) et Ouslim *et al.*, (2015) et Ramdani *et al.*, (2020) et Bourebaba, (2016) et Alami *et al.*, (2020) et Ahnia, (2014) et Chahboune *et al.*, (2011), (Mahdhi *et al.* 2008).

On remarque que :

- Un total de 57 isolats de rhizobia a été obtenus à partir de ces nodules de *G. saharae*. Les colonies des isolats, en croissance sur un milieu agar YEM, à l'exception de l'isolat Gs663 qui a montré une croissance très lente (15 jours). Cinq isolats étaient muqueux, entraînant une croissance dense, tandis que les autres ne l'étaient pas (CHAÏCH *et al.*, 2017).
- Trois isolats (RMB4, RMB7 et RMB9) étaient à croissance lente et l'apparition de leurs colonies a commencé après 7 jours, tandis que le quatrième (RMB2) était à croissance rapide et ses colonies sont apparues après 24 heures d'incubation à 28 °C (Lamin *et al.*, 2021).
- Six isolats ont été identifiés comme des « croissants rapides », formant des colonies visibles en un jour, tandis que quatre autres isolats étaient des « croissants lents » avec des colonies visibles en 3 à 5 jours Tous les isolats ont montré une capacité à infecter les plantules de l'hôte (Dekak *et al.*, 2020).
- Sur les 125 isolats obtenus, seuls 67 isolats étaient capables de re-noduler leur plante hôte d'origine, ainsi que d'autres espèces de *Retama* (Farida, 2009).

3.1.3. Test de nodulation

Les résultats suivants montrent Test de nodulation chaque article :

- Isolats ont démontré leur capacité à noduler leurs plantes hôtes natives, confirmant leur classification en tant que bactéries nodulantes.

Les nodules formés sur les plantes hôtes ont été observés, indiquant que les bactéries isolées possédaient les gènes nécessaires pour former des nodules symbiotiques. (Dekak *et al.*, 2018)

- **Évaluation de la Symbiose :** Les souches représentatives récupérées de *G. saharae* ont été évaluées pour leur potentiel symbiotique, y compris la souche de référence *Ensifer garamanticus* ORS1400T. Toutes ont nodulé et fixé l'azote sur *G. saharae*.

Nombre de Nodules : Les isolats d'*Ensifer* ont produit un nombre significativement plus élevé de nodules par plante ($P < 0.0001$). Parmi eux, l'isolat Gs6615 a montré le plus grand nombre moyen de nodules ($11,8 \pm 0,75$).

La biomasse sèche : des nodules la plus élevée a été obtenue avec *Neorhizobium* sp. Gs675, qui a produit peu de nodules mais de grande taille ($7,8 \pm 0,8$ nodules par plante). En ce qui concerne la biomasse aérienne : des plantes, l'isolat *Ensifer* sp. Gs656 s'est révélé le plus efficace avec une biomasse sèche des nodules de $4,94 \pm 1,00$ mg, une hauteur de plante de $22,92 \pm 1,46$ cm et une biomasse totale de 9,12 mg ($P < 0.0001$). Ces résultats contrastent fortement avec les valeurs de biomasse relativement faibles obtenues pour les plantes témoins négatives, soulignant l'efficacité de la fixation de l'azote par les isolats de *Genista saharae* (CHAÏCH *et al.*, 2017).

- Les isolats sont infectifs et stimulent efficacement la partie racinaire et le développement de la partie aérienne des plantes hôtes.

La présence de la souche *R.sullae* en inoculant un couple de souches n'a pas d'influence sur la formation de nodules par les souches testées (Torche *et al.*, 2010)

- Confirmée Toutes les bactéries portant les gènes de nodulation (Nod C) ont été capables de former des nodosités racinaires lorsqu'elles ont été réinoculées sur des semis de *R. monosperma* dans des conditions axéniques.

L'isolement de 20 bactéries non nodulantes à partir des nodules suggère la présence

d'endophytes ou de contaminants. Ces isolats non nodulants ne portaient pas de gènes de nodulation et n'ont pas réussi à former des nodules lorsqu'ils ont été inoculés sur des semis de *R. monosperma*. La présence de telles bactéries pourrait être due au microbiome complexe du sol ou indiquer des propriétés potentielles de promotion de la croissance des plantes, sans lien avec la nodulation (Lamin *et al.*, 2019)

- Les quatre souches isolées ont été soumises à un test de nodulation.
Trois de ces souches, à savoir RMB4, RMB7 et RMB9, ont démontré la capacité de former des nodosités racinaires fonctionnelles sur ces deux espèces de plantes. Cela signifie qu'elles étaient capables d'établir une symbiose avec les racines des plantes, induisant la formation de nodosités, qui sont des structures nodulaires spécialisées où la fixation biologique de l'azote peut se produire. (Lamin *et al.*, 2021)
- 53 isolats bactériens ont été isolés à partir des nodules des arbustes *R. monosperma subsp. bovei var. oranensis*. Tous les isolats étaient Gram négatif et de forme de bâtonnets. Les colonies bactériennes de six isolats nodulants étaient circulaires et convexes, de couleur crème et non muqueuses, et classées comme des croissances lentes. Les isolats incapables de former des nodules avec *R. monosperma* étaient muqueux et classés comme des croissances rapides. La morphologie des colonies de ces croissances rapides était très similaire à celle décrite pour les agrobactéries non nodulantes (Hannane *et al.*, 2016).
- Le test de nodulation a révélé que toutes les bactéries endophytes isolées étaient capables d'infecter la plante hôte. Les racines de *G. cinerea* ont été utilisées pour isoler dix bactéries endophytes, principalement Gram-négatives et non répliquatives, qui ont été cultivées sur un milieu YMA à 28°C. La plupart de ces isolats étaient transparents avec une consistance mucilagineuse et n'ont pas adsorbé les bactéries Congo Red sur un milieu YMA-RC. La plupart de ces isolats étaient transparents avec une consistance mucilagineuse et n'adsorbaient pas les bactéries Congo Red sur le milieu YMA-RC. Parmi ces isolats, six (GI, GIg11, GIg12, GIg13, GIg15 et GIg23) se sont développés rapidement, formant des colonies visibles dès le premier jour d'incubation. En revanche, les isolats GD, GIg14, GIg21 et GIg22 ont eu une croissance plus lente. (Dekak *et al.*, 2020).
- Toutes les souches de rhizobia isolées ont pu induire la formation de nodules racinaires sur leur plante hôte d'origine.

Le nombre moyen de nodules par plante (NN) a montré des variations significatives ($P < 0,001$) entre les souches, avec une nodulation maximale observée chez Sjad16, suivie de Sjab7. La souche Sjad16 s'est avérée la plus efficace, avec une concentration de 3,51% d'azote total dans les parties aériennes des plantes (TNS).

Toutes les plantes inoculées ont présenté des concentrations plus élevées de TNS par rapport au témoin négatif. De manière remarquable, toutes les souches ont conduit à un poids sec des parties aériennes (SDW) supérieur à celui du témoin négatif, avec des SDW maximum observés chez les plantes inoculées avec Sjad16, Sjab7, Sjsa10 et Sjsa16 (Ramdani et al., 2020)

- La majorité des isolats ont formé de trois à six nodules par plantule après 03 semaines. Seuls quatre isolats, qui ont été classés comme *Phylobacterium* (GN15, GN25, GN26, GN33) par des analyses de séquençage du gène 16S rRNA n'ont pas réussi à noduler leur plante hôte d'origine. Nombre de nodules en détail donné dans le (Table.1) dans l'article (Mahdhi *et al.* 2008)
- Tous les isolats ont montré la capacité de nodules leur plante hôte. deux caractéristiques clés, l'infectivité (capacité à former des nodules) et l'efficacité symbiotique (capacité à fixer l'azote), ont été utilisées pour évaluer la relation entre les rhizobiums et la plante hôte. 30 des 40 isolats ont réussi à renoduler leur plante hôte, *Vicia faba*. (OUSLIM *et al.* 2015)
- Tests d'inoculation croisé : Espèces testées : *Lupinus luteus*, *L. angustifolius* et *S. junceum*. Les souches ont nodulés *L. angustifolius*, *L. luteus*, et *S. junceum* (tribu Genisteeae), mais pas le soja G. Max (tribu Phaseoleae). Les bactéries endosymbiotiques Brady rhizobium nodulant *C. villosus* en Afrique du Nord montrent une diversité complexe et un statut taxonomique varié (Ahnia, 2014).
- Caractéristiques des Souches Rs4, Rs9, Rs19, Rs27 : Croissance en Présence de Métaux Lourds : Toutes les souches ont bien poussé en présence de différentes concentrations de métaux lourds, incluant 300 µg/ml d'acétate de plomb. Amélioration de la Croissance : Les souches Rs4, Rs9, et Rs19 ont significativement amélioré le poids sec des parties aériennes et racinaires par rapport au contrôle non inoculé. La souche Rs27 n'a montré aucune amélioration significative. (Soufiane, 2021)
- Les résultats des tests de nodulation ont montré que les isolats de *Retama* étaient capables de noduler les deux espèces de *Retama*, avec une similitude élevée entre les

gènes de nodulation des isolats, soutenant ainsi leur capacité à noduler croisé ces espèces sans différenciation génétique importante en fonction de l'espèce hôte (Farida, 2009).

- Toutes les souches isolées ont été capables de noduler efficacement les plantes de *L. micranthus* dans des conditions contrôlées sur le plan bactériologique. Cela indique que ces souches de rhizobia étaient compétentes pour former des nodules symbiotiques avec les plantes hôtes de *L. micranthus*, ce qui est un indicateur de leur capacité à fixer l'azote et à établir une symbiose efficace avec la plante. (Bourebaba, 2016)
- 11 souches de *B. canariense* et 3 souches de *B. japonicum* ont formé une symbiose efficace avec leur hôte d'origine, sans former de nodules sur le soja. Les souches représentatives de Mesorhizobium, CTAW51, CTAW162 et CTAW202, ont également formé des nodosités sur *C. villosus*. Aucune nodulation n'a été détectée lorsque la souche CTAW64, représentant le groupe Rhizobium/Agrobacterium, a été utilisée pour l'inoculation. Les tests de nodulation ont confirmé leur capacité à former une symbiose efficace avec *C. villosus*. (Chahboun e ,2011).

Les résultats des études montrent que les différents isolats bactériens possèdent une grande capacité de formation de nodules racinaires et de fixation de l'azote, ce qui reflète leur efficacité en tant qu'agents biostimulants pour améliorer la croissance des plantes dans divers environnements, y compris les environnements difficiles et pollués. Les isolats ont montré une efficacité significative dans la fixation de l'azote et la formation de nodules racinaires dans des plantes telles que *Genista microcephala*, *Argyrolobium uniflorum* et *G. saharae*, avec une diversité génétique significative parmi les isolats. Certains isolats se sont également révélés capables d'optimiser la croissance des plantes dans un sol contaminé par des métaux lourds. Ces résultats renforcent le potentiel des isolats bactériens pour améliorer la croissance des sols et des plantes dans différentes conditions environnementales.

Conclusion

L'étude a mis en évidence la capacité des isolats rhizobactériens à former des nodules efficaces avec diverses plantes hôtes légumineuses. Des tests de nodules ont été menés pour isoler les souches dans des conditions environnementales difficiles telles qu'un sol salé contaminé par des métaux lourds.

Dans ces études, un grand nombre de souches de *Rhizobium* ont été isolées des nodules racinaires de différentes espèces végétales dans plusieurs régions, comme les régions de Mitlili et setif dans le désert du nord-est, ainsi que des racines de plantes telles que *Spartium junceum L.*, *Genista cinerea* et *Genista microcephala*. Toutes ces souches ont montré la capacité de former des nodules racinaires sur leurs plantes indigènes, avec une capacité de stabilisation symbiotique et une efficacité variable, reflétant la diversité biologique et physiologique des souches isolées. Certaines variétés ont montré une grande tolérance aux conditions environnementales difficiles telles que le stress salin, tandis que d'autres se sont révélées sensibles aux conditions acides.

Les résultats ont prouvé que les souches étudiées sont fiables et efficaces pour former des nodules. Les isolats de rhizobactéries peuvent être utilisés comme biofertilisants pour améliorer la fertilité des sols et la croissance des plantes dans les systèmes agricoles. Leur capacité à fixer l'azote et à s'adapter à diverses conditions environnementales en fait des candidats prometteurs pour des applications agricoles durables et respectueuses de l'environnement.

Références Bibliographique

Références de théorique

- **Abdelguerfi, A., & Abdelguerfi-Laouar, M. (2004).** Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : Diversité, collecte et valorisation au niveau méditerranéen. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 62, 29-41.
- **Abd El-Rahman, A. A., & El-Monayeri, M. (1967).** Germination of some desert range plants under different conditions.
- **Ati, S. (2018).** *Etude biologique et phytochimique de trois genres Endémiques en Algérie : Genista numidica Spach, Genista ferox Poiret et Genista tricuspidata* (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat. Biologie Végétale. Univ Annaba. p 65-67
- **Azi Tani, C. (2010).** Contribution à l'étude des communautés d'adventices des cultures du secteur phytogéographique Oranais (nord-ouest algérien): aspects botanique, agronomique et phyto-écologique. Doctoral dissertation, University of Tlemcen, Algeria.
- **Baba Arbi, S. (2016).** *Étude phénotypique et génotypique des rhizobia symbiotiques des légumineuses spontanées Medicago littoralis Rhode et Melilotus indicus (L.) All. présentes dans les palmeraies de la région de Touggourt (Wilaya de Ouargla)* (Doctoral dissertation, Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat microbiologie appliquée, université badji mokhtar–Annaba).
- **Beck, D. P., Materon, L. A., & Afandi, F. (1993).** Practical Rhizobium-legume technology manual. *Practical Rhizobium-legume technology manual.*, (19).
- **Benmiloud-Mahieddine, R., Abirached-Darmency, M., Brown, S. C., Kaid-Harche, M., & Siljak-Yakovlev, S. (2011).** Genome size and cytogenetic characterization of three Algerian Retama species. *Tree genetics & genomes*, 7(5), 987-998. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0389-z>
- **Beringer, J. E. (1974).** R factor transfer in Rhizobium leguminosarum. *Microbiology*, 84(1), 188-198. <https://doi.org/10.1099/00221287-84-1-188>
- **Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Harakat, D., Simon, A., & Kabouche, Z. (2013).** Triterpene saponins of *Genista ulicina*

Spach. *Phytochemistry*, 93, 176-181. [10.1016/j.phytochem.2013.03.020](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.03.020)

- **Cardoso, D. B. O. S., Pennington, R. T., de Queiroz, L. P., Boatwright, J. S., Van Wyk, B. E., Wojciechowski, M. F., & Lavin, M. (2013).** Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. *South African Journal of Botany*, 89, 58-75. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.05.001>
- **Chabbi, R. (2010).** Caractérisation des bactéries isolées à partir du genre.
- **CHAÏCH, K. (2018).** *Diversité des associations Rhizobium-Légumineuses de quelques espèces spontanées du Sahara septentrional* (Doctoral dissertation).
- **Dent, D., & Cocking, E. (2017).** Establishing symbiotic nitrogen fixation in cereals and other non-legume crops: The Greener Nitrogen Revolution. *Agriculture & Food Security*, 6(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s40066-016-0084-2>
- **Du Puy, D. (Ed.). (2002).** *The leguminosae of Madagascar*. Royal Botanic Gardens Kew.
- **LAMRANI, N., ELABDELLAOUI, F., TOUHAMI, A. O., BENKIRANE, R., & DOUIRA, A. (2013).** Etude de la mycoflore des grains de trois variétés de riz et effet d'*Alternaria padwickii* (Ganguly) MB Ellis sur les grains pré-germés. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, (35), 1-7.
- **Lograda, T. (2018).** *Etude caryologique et phytochimique de six espèces endémiques du genre genista L. en algérie* (Doctoral dissertation).
- **Lock, M. (2005).** *Legumes of the World* (Vol. 577). G. P. Lewis, B. Schrire, & B. Mackinder (Eds.). Kew : Royal Botanic Gardens
- **Maire, R. (1952).** Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara).
- **Mosbah, M., & Mars, M. (2006).** Genotypic diversity of rhizobia isolated from *Retama raetam* in arid regions of Tunisia. *Annals of microbiology*, 56, 305-311. <https://doi.org/10.1007/BF03175022>
- **Oldroyd, G. E., & Downie, J. A. (2008).** Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 519-546. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839>
- **Pongslip, N. (2012).** *Phenotypic and genotypic diversity of rhizobia*. Bentham Science Publishers.
- **Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques

méridionales.

- **Rodríguez-Echeverría, S., Moreno, S., & Bedmar, E. J. (2014).** Genetic diversity of root nodulating bacteria associated with *Retama sphaerocarpa* in sites with different soil and environmental conditions. *Systematic and applied microbiology*, 37(4), 305-310. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.11.003>
- **Nawel, S. E. L. A. M. I. (2015).** *Etude des Associations Symbiotiques de Retama monosperma: Approches Morphologique, Anatomique et Ultrastructurale, Caractérisation moléculaire des Isolats* (Doctoral dissertation, University of sciences and technology in Oran).
- **Sprent, J. I., & Platzmann, J. (2001).** *Nodulation in legumes* (p. 146p). Kew: Royal Botanic Gardens.
- **Vernié, T. (2008).** *Analyse fonctionnelle d'EFD, un régulateur transcriptionnel de la nodulation au cours de l'interaction symbiotique entre Medicago truncatula et Sinorhizobium meliloti* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- **Vincent, J. M. (1970).** A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*.
- **Wang, D., Yang, S., Tang, F., & Zhu, H. (2012).** Symbiosis specificity in the legume–rhizobial mutualism. *Cellular microbiology*, 14(3), 334-342. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x>
- **Zakhia, F., Jeder, H., Domergue, O., Willems, A., Cleyet-Marel, J. C., Gillis, M., ... & De Lajudie, P. (2004).** Characterisation of wild legume nodulating bacteria (LNB) in the infra-arid zone of Tunisia. *Systematic and applied microbiology*, 27(3), 380-395. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00273>

Références de Synthèse

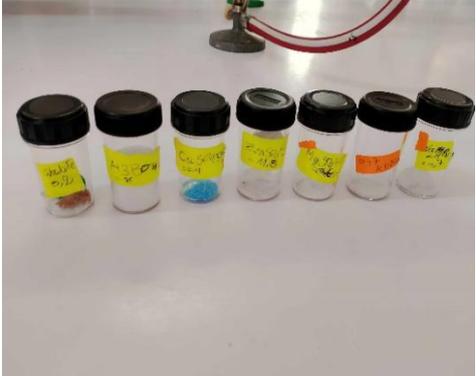
- **Ahnia, H., Boulila, F., Boulila, A., Boucheffa, K., Durán, D., Bourebaba, Y., ... & Rey, L. (2014).** *Cytisus villosus* from Northeastern Algeria is nodulated by genetically diverse Bradyrhizobium strains. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105, 1121-1129.
- **Alami, S., Lamin, H., Bennis, M., Bouhnik, O., Lamrabet, M., El Hachimi, M. L., ... & El Idrissi, M. M. (2021).** Characterization of *Retama sphaerocarpa* microsymbionts in Zaida lead mine tailings in the Moroccan middle Atlas. *Systematic and Applied Microbiology*, 44(3), 126207.

- **Bourebaba, Y., Durán, D., Boulila, F., Ahnia, H., Boulila, A., Temprano, F., ... & Rey, L. (2016).** Diversity of Bradyrhizobium strains nodulating *Lupinus micranthus* on both sides of the Western Mediterranean: Algeria and Spain. *Systematic and applied microbiology*, 39(4), 266-274.
- **Chahboune, R., Barrijal, S., Moreno, S., & Bedmar, E. J. (2011).** Characterization of Bradyrhizobium species isolated from root nodules of *Cytisus villosus* grown in Morocco. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(6), 440-445.
- **Chaïch, K., Bekki, A., Bouras, N., Holtz, M. D., Soussou, S., Mauré, L., ... & Cleyet-Marel, J. C. (2017).** Rhizobial diversity associated with the spontaneous legume *Genista saharae* in the northeastern Algerian Sahara. *Symbiosis*, 71, 111-120. doi:10.1016/j.syapm.2009.09.003
- **Dekak, A., Chabi, R., Menasria, T., & Benhizia, Y. (2018).** Phenotypic characterization of rhizobia nodulating legumes *Genista microcephala* and *Argyrolobium uniflorum* growing under arid conditions. *Journal of advanced research*, 14, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.06.001>
- **Dekak, A., Menasria, T., Benhizia, Y., & Chenchouni, H. (2020).** Endophytic passenger bacteria associated with *Genista cinerea* nodules growing in North African drylands. *Rhizosphere*, 14, 100205 <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100205>
- **Farida, B., Géraldine, D., Abdelghani, B., Djellali, B., Said, B., & Gisèle, L. (2009).** *Retama* species growing in different ecological–climatic areas of northeastern Algeria have a narrow range of rhizobia that form a novel phylogenetic clade within the Bradyrhizobium genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(4), 245-255.
- **Hannane, F. Z., Kacem, M., & Kaid-Harche, M. (2016).** Preliminary characterization of slow growing rhizobial strains isolated from *Retama monosperma* (L.) Boiss. root nodules from Northwest coast of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 15(20), 854-867. [10.5897/AJB2016.15226](https://doi.org/10.5897/AJB2016.15226)
- **Lamin, H., Alami, S., Bouhnik, O., ElFaik, S., Abdelmoumen, H., Bedmar, E. J., & Missbah-El Idrissi, M. (2019).** Nodulation of *Retama monosperma* by *Ensifer aridi* in an abandoned lead mine soils in eastern Morocco. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1456. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01456>
- **Lamin, H., Alami, S., Lamrabet, M., Bouhnik, O., Bennis, M., Abdelmoumen, H.,**

- ... & Missbah-El Idrissi, M. (2021). Bradyrhizobium sp. sv. retamae nodulates Retama monosperma grown in a lead and zinc mine tailings in Eastern Morocco. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 639-649. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00420-7>
- **Mahdhi, M., Nzoué, A., Gueye, F., Merabet, C., De Lajudie, P., & Mars, M. (2007).** Phenotypic and genotypic diversity of Genista saharae microsymbionts from the infra-arid region of Tunisia. *Letters in applied microbiology*, 45(6), 604-609. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02233.x>
 - **Ouslim, S., Merabet, C., Boukhatem, Z., Bouchentouf, L., & Bekki, A. (2015).** Phenotypic and symbiotic diversity, of nodulating rhizobia associated with bean (Vicia faba) in West Algeria. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, 3(9), 130-138.
 - **Ramdani, N., Belhadi, D., Kaci, Y., & Benallaoua, S. (2020).** Symbiotic, phenotypic and genotypic characterization of Bradyrhizobium sp. nodulating Spartium junceum L. from Bejaia, northeastern Algeria. *Symbiosis*, 81, 25-37. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00679-8>
 - **Torche, A., Benhizia, Y., Benguedouar, A., Gharzouli, R., Benhizia, H., Khelifi, D., & Squartini, A. (2010).** Caractérisation des bactéries isolées à partir des nodules des espèces de légumineuses du genre Hedysarum: H. pallidum Desf., H. spinosissimum subsp. capitatum, H. carnosum Desf. et H. naudinianum Coss. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 43-50.

Annexes

Solution nutritive: Annexe (1)

<p>Solution micro éléments g/l :</p>	<p>H3BO4 MnSO4·4H2O ZnSO4·7H2O CuSO4·5H2O Na2MoO4·2H2O</p>	<p>2.86 2.03 0.22 0.08</p>	
<p>Solution nutritive en g/l (Fâhraeus, 1957) :</p>	<p>CaCl2 MgSO4·7H2O KH2PO4 Na2HPO4 Citrate de fer Micro éléments</p>	<p>0.10 0.12 0.10 0.15 0.005 1ml</p>	 

Le pH ajusté à 6.8 et la stérilisation est réalisée à 120° C pendant 20 mn.

Image pratique : Annexe (2)



Figure 01 : la stérilisation de sable (Originale)

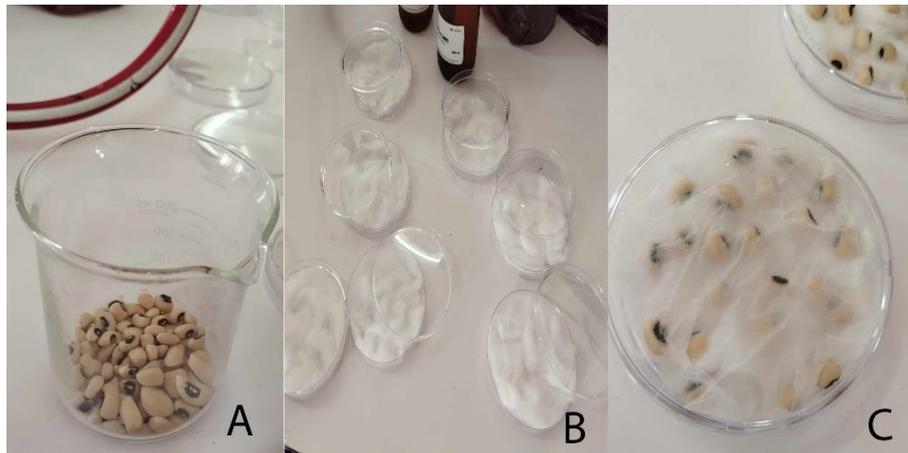


Figure 02 : Les étapes de stérilisation respectivement (Originale)

Résumés

ملخص

كان هدفنا إجراء بحوث متعمقة على البقوليات التي تنتمي إلى قبيلة الجينيستات وجمع العقيدات والبذور واختبار الأداء التكافلي للعزلات البكتيرية على هذه الجينيستات المختلفة. وبعد بحث مكثف، قمنا بتحديد النباتات التالية: جينيستا كابيتيلاتا *Coss et Dur* عين زعوط، وجينيستا صحاري *Coss et Dur* بوشقرون، وكذلك ريتاما رايتام *(Forssk.) Webb* حاسي زراري، وريتاما سفيروكاربا *Boiss (L.)* شعيبية.

لقد أرفقنا عدداً من المقالات: خمسة عشر مقالاً، لفهم أهمية الريزوبيا التي تعيش بالاقتران مع البقوليات البرية المختلفة مع العديد من الأصناف المزروعة من مناطق مختلفة. تهدف جميع دراساتنا إلى مواصلة البحث عن الأصناف والمجموعات القادرة على إظهار ارتباط قوي في ظل ظروف محدودة، وتطوير استراتيجيات لتحسين التكافل بشكل فعال وإنتاج مخصبات حيوية عالية الجودة. تشير هذه النتائج بقوة إلى أن عزلات هذه البكتيريا الجذرية يمكن استخدامها كأسمدة حيوية عالية الجودة لتحسين خصوبة التربة ونمو النبات.

الكلمات المفتاحية: الجينيستا، جينيستا كابيتيلاتا *Coss et Dur*، جينيستا صحاري *Coss et Dur*، ريتاما رايتام *(Forssk.)*، وريتاما سفيروكاربا *Boiss (L.)*، الريزوبيا، العقيدات، المخصبات، الحيوية تثبيت النيتروجين.

Résumé

Notre objectif était de mener une recherche approfondie sur les légumineuses appartenant à la tribu *Genisteeae*, collecter des nodules, des graines et tester la performance symbiotique des isolats bactériens sur ces différentes *Genisteeae*. Après des recherches intensives, nous avons identifié les plantes suivantes : *Genista capitellata Coss et Dur* d'Ain Zaatout, *Genista saharae Coss et Dur* Bouchagroun, ainsi que *Retama raetam (Forssk.) Webb* Hassi Zrari, *Retama sphaerocarpa (L.) Boiss* chaaiba.

Nous avons joint un certain nombre d'articles : Quinze articles, pour comprendre l'importance des rhizobia vivant en association avec différentes légumineuses sauvages avec de nombreuses variétés cultivées de différentes régions. Toutes nos études visent à poursuivre la recherche de cultivars et de populations capables de montrer une forte association dans des conditions limitées, et à développer des stratégies pour optimiser efficacement la symbiose et produire des biofertilisants de haute qualité. Ces résultats suggèrent fortement que les isolats de ces rhizobactéries peuvent être utilisés comme biofertilisants de haute qualité pour améliorer la fertilité des sols et la croissance des plantes.

Mots clés : *Genisteeae*, *Genista capitellata Coss et Dur*, *Genista saharae Coss et Dur*, *Retama*

raetam, *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *rhizobiums*, nodulation, biofertilisants, Fixation de l'azote.

Abstract

Our aim was to carry out in-depth research on legumes belonging to the *Genisteeae* tribe, collect nodules and seeds and test the symbiotic performance of bacterial isolates on these different *Genisteeae*. After intensive research, we identified the following plants: *Genista capitellata* Coss et Dur d'Ain Zaatout, *Genista saharae* Coss et Dur Bouchagroun, as well as *Retama raetam* (Forssk.) Webb Hassi Zrari, *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss chaaiba.

We have attached a number of articles: Fifteen articles, to understand the importance of *rhizobia* living in association with different wild legumes with many cultivated varieties from different regions. All our studies aim to continue the search for cultivars and populations capable of exhibiting strong association under limited conditions, and to develop strategies to effectively improve symbiosis and produce high-quality biofertilizers. These results strongly suggest that isolates of these rhizobacteria can be used as high-quality biofertilizers to improve soil fertility and plant growth.

Key words: *Genisteeae*, *Genista capitellata* Coss et Dur, *Genista saharae* Coss et Dur, *Retama raetam* (Forssk.) Webb, *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, rhizobia, nodulation, biofertilizers, Nitrogen fixation.