



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2022

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par : ***Krama Hadjer** ***Laribi Rabia**

Le : [Click here to enter a date.](#)

Thème

Etude de la symbiose actinorhizienne du sol de l'Algérie

Jury

Mme Djouamaa Manel	MAA	Université de Biskra	président
Mme Baba Arbi Souad	MCB	Université de Biskra	rapporteur
Dr Amairi Toufik	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2021/2022

Remerciement

Nous remercions **Allah** tout puissant qui nous a donné la santé, le courage et la patience de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous remercions notre encadreur **Mme BABA ARBI Souad**, Maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, l'Université de BISKRA pour son aide précieuse et ses conseils judicieux, ses observations et disponibilité qui nous ont été d'une grande utilité tout au long de ce travail nous lui assure le témoignage de notre profonde reconnaissance.

Des remerciements également aux **Membres du jury**, président et examinateur, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre modique étude et pour avoir accepté d'examiner, d'évaluer et d'enrichir par leurs propositions.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail : A mon très CHÈR PÈRE : **KRAMA BACHIR.**

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit elles ne sauraient exprimer ma gratitude, tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. je te dois ce que je suis aujourd'hui.

A ma très CHÈR MÈRE : **SASSI YASMINA.**

Tu m'as comblé de la tendresse et de ton affection tout au long de mon parcours, tu n'as cessé de me soutenir et m'encourager tout au long de mes années d'études. En ce jour mémorable, pour moi, acceptez ce travail en signe de ma profonde gratitude et de ma profonde reconnaissance.

À mes sœurs : Houria, Bouthaina, Ikram.

Aux grandes familles : Krama et Sassi.

A mes amies : Rima, Djamilla, Rawia.

A ma chère binôme : Rabia.

KRAMA HADJER

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail : A mon très CHÈR PÈRE : **LARIBI LAIMINE.**

Qui est toujours été là pour moi, m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

A ma très CHÈR MÈRE : **FRADJ WARDA.**

A la lumière de mon cœur et l'éclairage de mes yeux, à la source de la tendresse. Maman, je te remercie pour tes sacrifices et pour m'avoir soutenu jusqu'au bout. Je vous souhaite bonheur et tranquillité d'esprit.

J'adresse mes remerciements et ma gratitude à l'oncle Salim Haif, qui a toujours été à mes côtés et m'a aidé dans tous les nombreux aspects.

A mes chers frères : Mohamed, Khalil, Faresse, Haider, Ammar, Ayoub, Souhaib.

Aux grandes familles : Laribi et Fradj.

A mes amies : Hadjer, Abeer.

A ma chère binôme : Hadjer

LARIBI RABIA

Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

Première partie : Synthèse bibliographique Chapitre 1 : Généralités sur la symbiose actinorhizienne

1.1. Symbiose actinorhizienne.....	5
1.1.1. Partenaire végétal : les plantes actinorhiziennes.....	6
1.1.1.1. Généralités.....	6
1.1.1.2. Diversité morphologique des plantes actinorhiziennes.....	7
1.1.1.3. Intérêt des plantes actinorhiziennes	8
1.1.2. Partenaire bactérienne : actinomycète <i>Frankia</i>	8
1.1.2.1. Généralités.....	8
1.1.2.2. Diversité morphologique de <i>Frankia</i>	8
1.1.2.3. Diversité taxonomique de <i>Frankia</i>	9
1.1.3. Intérêt de symbiose actinorhizienne	10

Deuxième partie : Partie expérimentale Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Nodulation.....	14
2.2. Activité enzymatique (Activité nitrogénase).....	15
2.3. Etude génotypique.....	15
2.3.1. Extraction d'ADN génomique.....	15
2.3.2. Séquençage du génome partiel.....	15

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.1. Nodulation.....	18
3.2. Activité enzymatique (Activité nitrogénase).....	20
3.3. Etude génotypique.....	22
3.3.1. Séquençage du génome partiel.....	22
Conclusion	27
Références Bibliographiques	30

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie et répartition géographique des plantes actinorhiziennes (Dawson, 2008).....	6
Tableau 2 : Classification des actinomycètes (Narayanasamy et <i>al.</i> , 2020).....	10
Tableau 3 : Pourcentage, nombre moyen et poids sec des nodules par semis de <i>Casuarina cunninghamiana</i> et <i>Casuarina glauca</i> (Belaid et <i>al.</i> , 2022).....	19
Tableau 4 : Caractéristique de génome des <i>Frankia</i> souches.....	22

Liste des figures

Figure 1: L'arbre tropical <i>casuarina glauca</i> et la bactérie <i>Frankia</i> (Hocher et al, 2009).	5
Figure 2: Plante actinorhizienne <i>Alnus glutinosa</i> (Benabdoun, 2012).....	7
Figure 2: Feuilles de plante <i>Alnus glutinosa</i> (Benabdoun, 2012).....	7
Figure 4 : La morphologie retrouvée chez le genre <i>Frankia</i> (Lafond-Lambert, 2014)....	9
Figure 5 : La stratégie shotgun (Schutz, 2017).....	16
Figure 6 : Nodules racinaires de <i>Casuarina cunninghamiana</i> et <i>Casuarina glauca</i> (Belaid et al., 2022).....	18
Figure 7 : Nodule de <i>Casuarina cunninghamiana</i> (Belaid et al., 2020).....	20
Figure 8 : Activité nitrogénase des nodules induite par la souche <i>Frankia</i> B2 et CcI3 (Belaid et al., 2020).....	21
Figure 9 : Arbre phylogénétique déduite à l'aide de la méthode Neighbor-Joining basé sur l'ADNr 16S montrent la position de souche <i>Frankia</i> B2 (Belaid et al., 2020).....	24
Figure 10 : Arbre phylogénique de <i>Frankia</i> souches déduite avec FastME de génome BLAST Distance phylogénie (Mansour et al., 2020).....	24
Figure 11 : Arbre phylogénétique à Maximum Likelihood basé sur l'ADNr16s séquences montrant la position de <i>Frankia</i> souche BMG5.30 (Gueddou et al., 2019).....	25

Liste des abréviations

%GC	Pourcentage En guanine Et Cytosine.
ADNr	Acide Désoxyribonucléique Ribosomal.
16S	Gène d'ADN Ribosomique.
BAP	Bufferd Mineral Medium Added Of Phosphatidycholine.
°C	Degré Celsius.
C₂H₂	Acétylène.
C₂H₄	Ethylène.
N₂	Diazote.
h	Heur.
NCBI	National Centre For Biotechnology Information.
PGAP	Pipeline D'annotation Du Génome Procaryote.
ARA	Activité De Réduction De L'acétylène Spécifique.
NaCl	Chlorure De Sodium.
Mb	Méga-Base.
CDS	Séquence Codant D'un Gène (Coding DNA Séquence).
PCR	Polymérase Chainé Réaction.
PGAP	Pipeline D'annotation Du Génome Procaryote.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'azote est un élément très important pour les êtres vivants (Ueda et *al.*, 2017). Au niveau du sol, les quantités d'azote absorbées par les plantes sont faibles (Svistoonoff, 2003). Ce composé est l'élément majeur limitant la croissance végétale (Fustec et *al.*, 2010).

L'azote est présente en grande quantité dans l'atmosphère, avec un pourcentage de 78% sous forme de diazote (Benabdoun, 2012 ; Kaneko et *al.*, 2021).

Les procaryotes qui fixent l'azote, nommés diazotrophes (Fustec et *al.*, 2010) comprennent à la fois des organismes libres (*Azotobacteriaceae*) (Kraepiel et *al.*, 2009). Et des organismes qui forment des associations symbiotiques avec d'autres organismes (*Rhizobium* et actinomycète *Frankia*). (Svistoonoff, 2003 ; Franche et *al.*, 2009).

Les plantes actinorhiziennes (famille de *Casuarinacées* et *Allocassuarina*) ont été introduites pour la première fois en Algérie dans la première moitié du 19^{ème} siècle (Belaid et *al.*, 2020).

Ces plantes actinorhiziennes sont largement plantées en Algérie, notamment dans les zones désertiques, comme brise-vent (Toth, 1965).

Elle possède la capacité de former une association symbiotique avec des actinomycètes de genre *Frankia*, trouvée dans les nodules racinaires ou dans le sol (Diagne et *al.*, 2013). Ce dernier est une bactérie filamenteuse et septée, Gram positif fixatrice d'azote (Dommergues et *al.*, 1999).

L'objectif de ce travail est l'étude de symbiotes microbiens fixant l'azote atmosphérique et appartenant au genre actinomycète *Frankia* habitent des nodules racinaires de plantes actinorhizienne, c'est la « symbiose actinorhizienne ».

La présente étude, comporte :

Une partie bibliographique : un seul chapitre englobant les généralités sur les plantes actinorhizienne et la bactérie *Frankia* et leur symbiose actinorhizienne.

Une partie expérimentale : subdivisée en deux chapitres

L'un présentant la rubrique « matériel et méthodes » apportant les détails sur la mise en place d'une étude sur : la symbiose actinorhizienne (Nodulation), phylogénique et activité nitrogénase de genre *Frankia*.

La rubrique « résultats et discussion » est donc une synthèse des recherches arborant et discutant les résultats des publications scientifiques traitant le sujet de cette étude.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités
sur la symbiose
actinorhizienne

Chapitre 1 : Généralités sur la symbiose actinorhizienne

1.1. Symbiose actinorhizienne

La symbiose actinorhizienne est le résultat d'une association symbiotique entre des plantes appelées plantes actinorhiziennes et une symbionte microbiens fixant l'azote atmosphérique et appartenant au genre *Frankia*, cette actinomycète habitent des nodules racinaires de plantes ligneuses de huit familles d'angiospermes non légumineuses (fig. 1) (Baker et Schwintzer, 1990 ; Benson et Silvestre, 1993).

L'établissement de la symbiose actinorhizienne est assuré par deux modes d'infection :

- Infection par voie intracellulaire (déformation des poils absorbant).
- Infection par voie intercellulaire (pénétration entre les cellules épidermiques des racines) (Dommergues et *al.*, 1999).

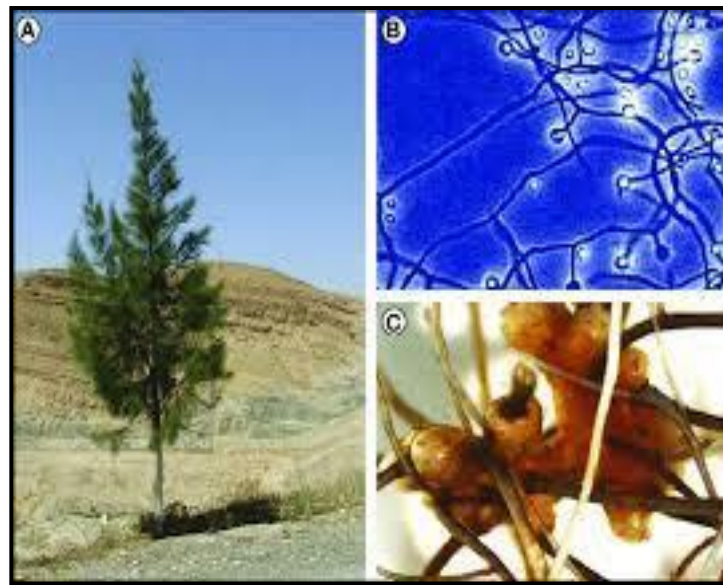


Figure 1. L'arbre tropical *casuarina glauca* et la bactérie *Frankia* (Hochoer et *al.*, 2009).

A : l'arbre *Casuarina glauca* ; **B :** aspect morphologique de la bactérie *Frankia* en culture pure ; **C :** Nodules actinorhiziens de *C. glauca*.

1.1.1. Partenaire végétaux : les plantes actinorhiziennes

1.1.1.1. Généralités

Le terme « plante actinorhizienne » a été inventé en 1978 à une époque réunion à Harvard Forestin Petersham Massachusetts (Baker et Schwintzer, 1990 ; Benabdoun, 2012). Ces plantes sont capables d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des actinomycètes du genre *Frankia* (Benson et Silvestre, 1993, Chaia et *al.*, 2010).

L'association symbiotique entre les plantes actinorhiziennes et l'actinomycète de genre *Frankia* aboutit à l'apparition des structures appelée nodules (Dawson 2008;Wall et Berry, 2008).

Les plantes actinorhiziennes sont des arbres et des arbustes appartenant au clade des Angiospermes, sauf pour le genre *Datisca*, qui est herbacé (Franche et *al.*, 1998).

On distingue environ 200 espèces de plantes actinorhiziennes réparties en 8 familles et comportant 24 genres (tab.1) (Huss-Danell, 1997 ; Schwencke et Carú, 2001 ; Dawson, 2008).

Tableau 1. Taxonomie et répartition géographique des plantes actinorhiziennes (Dawson, 2008).

Famille	Genre	Nombre totale d'espèces	Nombre d'espèces nodulantes	Origine géographique
<i>Betulaceae</i>	<i>Alnus</i>	47	47	Europe, Asie, Amérique du Nord, les Andes
<i>Casuarinaceae</i>	<i>Allocasuarina</i>	59	54	Australie
	<i>Casuarina</i>	18	18	Australie, Asie Tropicale, Pacifique Sud-ouest
<i>Datisceae</i>	<i>Datisca</i>	2	2	Asie, Amérique du nord, Europe
<i>Rhamnaceae</i>	<i>Adolphia</i>	1	1	Amérique du Nord

1.1.1.2. Diversité morphologique des plantes actinorhiziennes

Les plantes actinorhiziennes sont des plantes ligneuses (fig.2.3) à l'exception du genre *Datisca* (Hoher et *al.*, 2009).

Elles se présentent sous la forme d'arbre, d'arbuste ou d'arbrisseau (Franche et *al.*, 1998).

La famille des *Rosacées* comprend des plantes arbustives (*Dryas drummondii*) qui affectent même des formes prostrées, constituant des « assiettes » ou des « carpettes » (Moiroud, 1996).

la famille des *Casuarinaceae* comprennent 90 espèces d'arbres et d'arbustes divisée en 4 genres, *Ceuthostoma*, *Casuarina*, *Allocasuarina* et *Gymnostoma* (Diouf et *al.*, 2008 ; Hoher et *al.*, 2009). Les *Casuarinaceae* possèdent des rameaux chlophylliens à activité photosynthétique et des feuilles réduire à des écailles, ces caractéristiques donnent à la plante la capacité de résister les mauvaises conditions environnementales (résistance au climat chaud et sec) (Duhoux et Franche ,2003).



Figure 2. Plante Actinorhizienne *Alnus glutinosa* (Benabdoun, 2012).



Figure 3. Feuilles de plante *Alnus glutinosa* (Benabdoun, 2012).

1.1.1.3. Intérêt des plantes actinorhiziennes

Un taux de fixation d'azote équivalent à celui de la symbiose rhizobienne, de 2 à 300 kg N₂ /ha/an (Werner et Newton, 2005).

Les plantes de genre *Casuarina* sont généralement plantées comme brise-vent et utilisées en agroforesterie pour enrichir les sols et améliorer les rendements des cultures associées (Zhong et al., 2010).

Les plantes *Casuarina* sont utilisées dans les régions tropicales pour réhabiliter le sol dégradé et pour fixer les dunes mobiles (Benabdoun et al., 2012).

1.1.2. Partenaire bactérienne : actinomycète *Frankia*

1.1.2.1. Généralités

Frankia est un actinomycète de la famille des *Frankiaceae* se retrouvant dans le sol (Chaia et al., 2010). Le nom *Frankia* a été donné par Brunchorst en 1886 en l'honneur du professeur A. B. Frank, pour décrire l'endophyte qui forme des nodules racinaires chez les plantes non légumineuse (plante actinorhizienne) (Wheeler et al., 2008).

C'est une bactérie hétérotrophe à Gram positif très riche en G+C (entre 66-77%) (Benson et Silvester, 1993). Avec une croissance très lente, et possède un métabolisme aérophile ou micro aérophile (Baker et Schwintzer, 1990).

Capable de former une symbiose avec plus de 200 espèces de plantes de huit familles d'angiospermes (Berry et al., 1993 ; Persson et al., 2011). Cette association symbiotique aboutit le plus souvent à l'apparition de nodules racinaires (Chaia et al., 2010).

1.1.2.2. Diversité morphologique de *Frankia*

Une bactérie filamenteuse, capable de fixer l'azote de manière libre ou de manière symbiotique (Schwencke et Carú, 2001).

Selon Huang et Benson (2012) les souches de *Frankia* sont différenciées en trois structures différentes : les hyphes, les spores et les vésicules (fig. 4).

Les colonies sont mucilagineuses aux centres, ellipsoïdales ou sphériques (Narayanasamy et al., 2020).

En milieu de culture la majorité des hyphes végétatifs sont septes de 0.5 μm de largeurs (Chaia *et al.*, 2010). Forment de thalles danses compacts ou filamenteux minces (Narayanasamy *et al.*, 2020).

Les sporanges sont multiloculaires, ronds, cylindriques ou très irréguliers, et remplis de spores (Lechevalier, 1994 ; Pozzi, 2014).

Les vésicules sont les sites de fixation d'azote (Huang et Benson, 2012). Sont des structures recouvertes d'une enveloppe lipidique multicouche (Chaia *et al.*, 2010) constituée d'hypanoïdes qui agissent comme une barrière à la diffusion d'oxygène (Berry *et al.*, 1993).

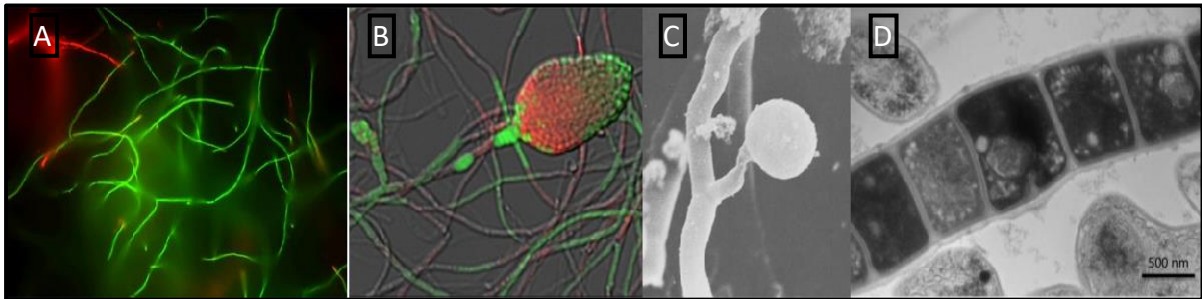


Figure 4. La morphologie retrouvée chez le genre *Frankia* (Lafond Lambert, 2014).

A : l'hyphe végétatif de *Frankia alni* ACN14a ; **B :** le sporange de *Frankia sp.* ARgP5 ; **C :** la vésicule de *Frankia* ; **D :** l'hyphe de *Frankia alni* ACN14a.

1.1.2.3. Diversité taxonomique de *Frankia*

La bactérie *Frankia* a été classé dans l'ordre des *Actinomycetales* sur la base des caractères morphologiques, la chimie cellulaire et des séquences d'ADNr 16S (Diagne *et al.*, 2013) (tab. 2)

La diversité morphologique : Dans les milieux artificiels et *in planta*, la bactérie *Frankia* produit la même morphologie générale : des hyphes ramifiés, des vésicules, et les sporanges (Lechevalier, 1994).

Physiologiquement : sont classés en deux groupes, groupes A comprend des groupes hétérogènes (Nouioui, 2014). Et le groupe B renferme des souches micro aérophiiles (Lechevalier, 1994).

Sur la base de leurs plantes hôtes, ont abouti à la définition de dix espèces : *Frankia alni*, *F. elaeagni*, *F. brunchorstii*, *F. discariae*, *F. casuarinae*, *F. ceanothi*, *F. coriariae*, *F. dryadis*, *F. purshiae* et *F. cercocarpi* (Nguyen et Pawlowski, 2017).

Tableau 2. Classification des actinomycètes (Narayanasamy et al., 2020).

Unité de Classification	Appellation latine
Phylum	<i>Actinobacteria</i>
Ordre	<i>Actinomycetales</i>
Sous-ordre	<i>Francineae</i>
Famille	<i>Frankiaceae</i>
Genre	<i>Frankia</i>
Espèce	<i>Frankia alni</i>

1.1.3. Intérêt de symbiose actinorhizienne

Comme exemple le cas de l'association entre *Frankia* et l'aulne.

La fixation biologique de l'azote est réalisée grâce à la symbiose avec la bactérie *Frankia* (Nouioui, 2014). Cette bactérie possède des structures spécialisé appelé vésicules (sont les sites de fixation d'azote) (Franche et al., 2009).

Selon Wall (2000) la formation des nodules racinaires chez les *Alnus* améliore la résistance de ces plantes aux agents pathogènes.

Les aulnes améliorent la qualité et la fertilité des sols (enrichir les sols pauvres en nutriments azotées) (Schwencke et Carú, 2001).

L'azote produit par la symbiose actinorhizienne n'est pas utilisée par la plante actinorhizienne seul, mais aussi par les autres plantes voisines (Huss-Danell, 1997).

Selon Diagne et *al.* (2013) les *Alnus* sont largement utilisées pour la régénération de sols et pour la stabilisation des dunes.

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Ce chapitre apportant les détails sur la mise en place d'une étude de synthèse des publications scientifiques traitant le sujet : la symbiose actinorhizienne (Nodulation), phylogénique et activité enzymatique (Activité nitrogénase) de genre *Frankia*.

2.1. Nodulation

Les souches de *Frankia* ont été sous-cultivées dans du BAP liquide milieu (voir annexe 2) (Murry et al., 1984) à 28°C pendant 4 semaines.

Semis de *Casuarina* ont ensuite été repiqués dans 1kg de sols sableux-argileux dans des sacs en polyéthylène.

Ensuite ces plants ont été arrosés avec la solution de Crone et solution de micronutriments, et cultivées dans un environnement contrôlée « Fitoclima ».

Inoculum de *Frankia* ont été utilisés pour inoculer des plantes *Casuarina* (*Casuarina equisetifolia*, *Casuarina cunninghamiana* et *Casuarina obesa*).

L'inoculation des plantes a été réalisée comme suit : les semis de *Casuarina* ont été inoculés en injectant 10 ml de chaque inoculum de *Frankia* (5,5 µg de protéine ml⁻¹) dans le sol environnant (rhizosphère), l'inoculation a été répétée à nouveau après une semaine.

Les semis ont été examinées pour la nodulation après 4 semaines d'inoculation et les plantes ont été récoltées après 3, 6 et 9 mois, lavées soigneusement sous l'eau du robinet et séché sur une serviette en papier.

Le nombre de nodules et poids sec de nodules par plante ont été mesurées (Sayed et al., 2008).

2.2. Activité enzymatique (Activité nitrogénase)

L'activité nitrogénase des nodules a été déterminée par le test de réduction d'acétylène (ARA).

L'enzyme nitrogénase est responsable de la fixation du N_2 réduit également le C_2H_2 (acétylène) à C_2H_4 (éthylène) (Dilworth, 1966). Cette enzyme fournit un test utile pour la quantification de la fixation de N_2 .

Les nodules de chaque plante ont été excisés et immédiatement exposés à un mélange air-acétylène à 10% dans des récipients hermétiques et incubés à 28°C pendant 3h et la production d'éthylène a été mesurée dans un chromatographe en phase gazeuse suivant la méthode de Postgate (1972).

L'activité nitrogénase spécifique dans la plante a été exprimée en nmol de C_2H_4 produit par heure et par mg de poids sec de nodules (Carú et al., 2000).

2.3. Etude géotypique

2.3.1. Extraction d'ADN génomique

L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide de DNeasy Plant kits (Qiagen, Hiden, Allemagne). Ensuite une amplification PCR du gène ADNr 16S et séquençage a été réalisée pour vérifier la qualité de l'ADN isolé (Gtari et al., 2015).

La qualité de l'ADN a été évaluée par l'A260/A280 ratio.

2.3.2. Séquençage du génome partiel

Le Séquençage du génome partiel de souche *Frankia* BMG5.30 a été réalisée sur une plateforme Illumina HiSeq 2500 utilisant la technologie Illumina.

Le standard Illumina shotgun librairie a été construite et séquencé à l'aide de la plateforme Illumina HiSeq2500 (fig. 5).

Ensuite les séquences Illumina étaient coupées par la version Trimmomatic 0.32 et assemblées avec Spades version 3.5.

Le génome de souche *Frankia* BMG5.30 a été annoté via le NCBI pipeline d'annotation du génome procaryote (PGAP) (Gueddou et al., 2019 ; Belaid et al., 2020).

Remarque :

Trimmomatic comprend une variété d'étapes de traitement pour lire découpage et filtrage, mais les principales innovations algorithmiques sont liées à l'identification des séquences d'adaptation (Bolger et *al.*, 2014).

Spades : est un algorithme d'assemblage du génome qui a été conçu pour les ensembles de données bactériennes unicellulaires et multicellulaires (Benkevich et *al.*, 2012).

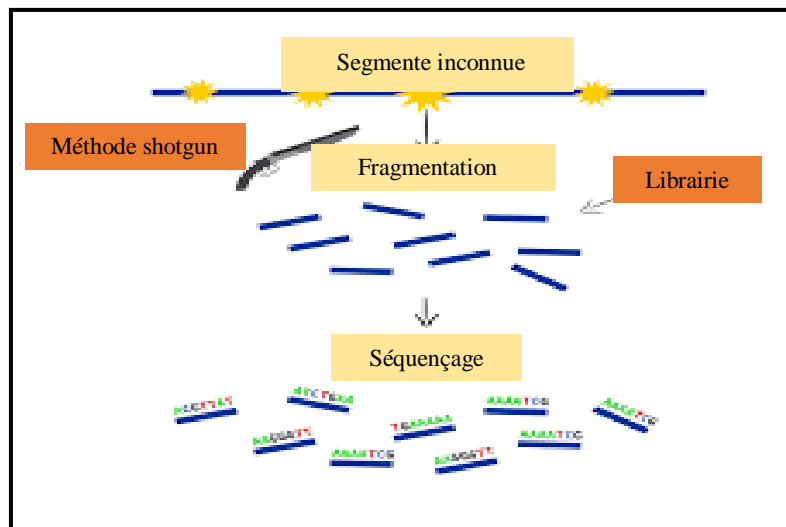


Figure 5. La stratégie shotgun (Schutz, 2017). (site web 1).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Ce chapitre mise en place une synthèse arborant et discutant les résultats des publications scientifiques traitant le sujet de cette étude : la symbiose actinorhizienne (Nodulation), phylogénique et activité enzymatique (Activité nitrogénase) de genre *Frankia*.

3.1. Nodulation

D'après Belaid et *al.* (2022) les systèmes racinaires de semis de *Casuarina Cunninghamiana* et *Casuarina glauca* ont été examinés pour la présence de nodules.

Les résultats indiquent qu'une faible proportion de semis produits en 12 pépinières ont été nodulées (fig. 6).

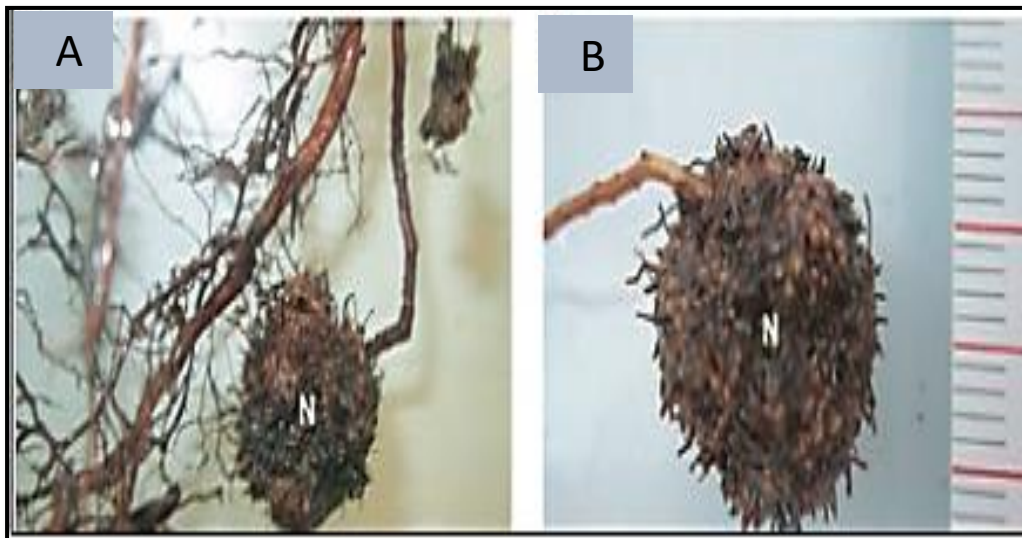


Figure 6. Nodules racinaires de *Casuarina cunninghamiana* et *Casuarina glauca*

(Belaid et *al.*, 2022). **A** : nodules racinaires de *Casuarina cunninghamiana*, **B** : nodules racinaires de *Casuarina glauca*.

Ces résultats sont similaires aux ceux décrits par Gtari et *al.* (2002) et qui montrent que les 16 sites de *Casuarinaceae* examinés (*C. cunninghamiana* et *C. glauca*) seuls cinq ont permis de trouver des plantes avec des nodules de plus de 20 cm de diamètre et de couleur rouge sang.

La moyenne de nodulation était de 28,8 % pour *Casuarina cunninghamiana* et 26,4% pour *Casuarina glauca*.

Les deux espèces ont montré un nombre relativement faible de nodules et poids sec de nodules par plante (tab. 3).

Le nombre et le poids sec des nodules par plant ont été drastiquement plus faibles dans les pépinières situées au Sud que ceux situés dans le nord du pays (tab. 3).

Tableau 3. Pourcentage, nombre moyen et poids sec des nodules par semis de *Casuarina cunninghamiana* et *Casuarina glauca* (Belaid et al., 2022).

Localisation de pépinière	<i>Casuarina cunninghamiana</i>			<i>Casuarina glauca</i>		
	Pourcentage des semis moduleés	Nombre de nodules par semis	Poids sec des nodules par semis	Pourcentage des semis moduleés	Nombre de nodules par semis	Poids sec des nodules par semis
Algérie	70.8	6.5±1.0 ^a	532.7±81.8 ^a	54.2	4.5±0.8 ^a	329.7±74.5 ^b
Algérie	37.5	1.8±0.6 ^a	124.4±35.7 ^a	41.7	3.0±0.8 ^b	141.7±38.4 ^b
Bejaïa	50.0	2.9±0.6	243.0±54.9 ^a	37.5	2.6±0.8 ^a	202.3±64.3 ^a
Elkala	54.2	7.0±1.4 ^a	278.1±56.2 ^a	29.2	3.0±1.1 ^b	156.7±56.7 ^a
Oran	3.3	2.0±0.6 ^a	97.2±30.2 ^a	45.8	2.8±0.7 ^b	100.8±26.0 ^a
Tlemcen	33.3	1.3±0.5 ^a	33.9±13.9 ^a	37.5	2.0±0.6 ^b	71.2±21.5 ^b
Pépinières du Nord	46.5±6.0 ^a	3.6±1.0 ^a	218.0±73.2 ^a	41.0±3.5 ^a	3.0±0.3 ^b	167.0±37.4 ^b
Adrar	29.2	1.1±0.4 ^a	16.9±6.3 ^a	25.0	0.5±0.2 ^b	12.8±5.4 ^a
Biskra	20.8	1.0±0.4 ^a	16.2±7.1 ^a	25.0	0.6±0.2 ^a	8.57±3.4
Djanet	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
El-Goléa	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
Tamanrasset	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
Tindouf	16.7	0.5±0.2 ^a	6.5±3.3 ^a	20.8	0.3±0.2 ^a	6.9±3.1
pépinières du sud	11.1±5.2 ^a	0.4±0.2 ^a	6.6±3.3 ^a	11.8±5.3 ^a	0.2±0.1 ^b	4.71±2.2
Valeur moyenne globale	28.8±6.5	2.0±0.7 ^a	112.4±47.3	26.4±5.3 ^a	1.6±0.4	85.9±30.3

Les résultats de Belaid et al. (2022) et Gtari et al. (2002) sont différents aux caractères présentés par Mansour et al. (1993) qui rapport que tous les plantes de *Casuarinas* (*C. cunninghamiana* et *C. glauca*) sont nodulées par la bactérie *Frankia*, mais avec un nombre et poids sec de nodules par plante moins que le nombre et poids sec de nodules par plante présenté par Belaid et al. (2022).

3.2. Activité enzymatique (Activité nitrogénase)

Pour mesurer le potentiel de fixation d'azote de la symbiose actinorhizienne entre la bactérie *Frankia* et plante *Casuarina cunninghamiana*, trois souche de *Frankia* (B2, CcI3, CcI6) ont été isolé à partir de nodules de *Casuarina cunninghamiana* trouvé en Algérie et Egypte.

D'après Belaid et al. (2020) la souche *Frankia* était capable de réinfecter *Casuarina cunninghamiana* (fig. 7).

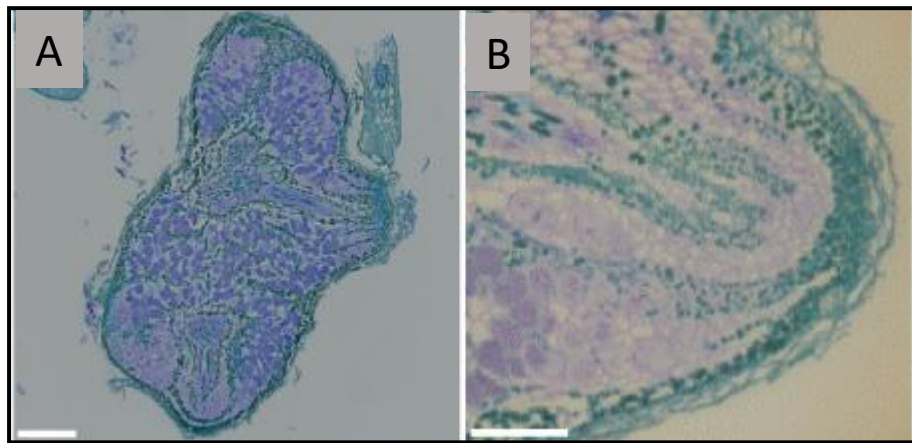


Figure 7. Nodule de *Casuarina cunninghamiana* (Belaid et al., 2020).

A : coupe longitudinale d'un nodule de *Casuarina cunninghamiana* coloré au bleu de toluidine, **B :** Gros plan du panneau « A » montrant un lobe de nodule.

L'activité de nitrogénase a été déterminée par le test de réduction d'acétylène (ARA) : les nodules produit par la souche B2 a montré un niveau plus élevée d'activité nitrogénase par rapport à *Casuarina* nodules avec la souche *Frankia* CcI3 (fig. 8).

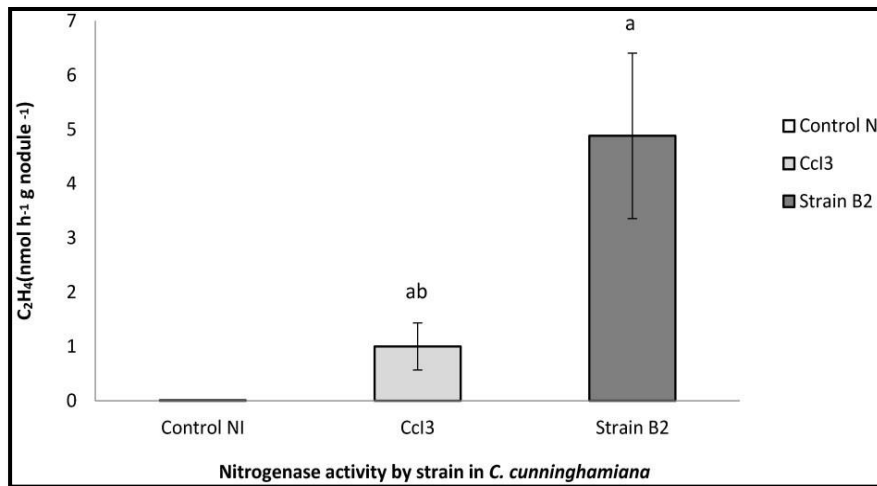


Figure 8. Activité nitrogénase des nodules induite par la souche

Frankia B2 et CcI3 (Belaid et al., 2020).

Ces résultats sont différents aux résultats décrits par Oshone et al. (2013) qui montrent une diminution d'activité de nitrogénase de *Casuarina cunninghamiana* avec la souche *Frankia* CcI6.

La différence entre les résultats des deux expériences est due à deux possibilités :

- La souche *Frankia* B2 pu établir une symbiose plus effective avec *Casuarina cunninghamiana* par rapport aux paires souches *Frankia* CcI3 (Belaid et al., 2020) et souche CcI6 (Oshone et al., 2013).
- La différence dans leurs protocoles, selon le travail d'Oshone et al. (2013) la souche *Frankia* CcI6 isolées à partir des nodules de *Casuarina cunninghamiana* été exposé à différents teneurs d'NaCl et saccharose, ces dernier sont capable d'influencer et inhiber l'activité de nitrogénase, ceci explique la diminution de nitrogénase activité de cette souche (CcI6).

3.3. Etude génotypique

3.3.1. Séquençage du génome partiel

Un protocole basé sur le séquençage du génome partiel à l'aide de la plateforme Illumina HiSeq2500 (utilisant la technologie Illumina) a été utilisé pour classer et estimer les caractéristiques génomiques et des relations phylogéniques entre cinq différentes souches de *Frankia* (B2, CgS1, CcI156, CgMI4, BMG5.30) isolées à partir des nodules des plantes actinorhizienne trouvées en Algérie, Egypte et Tunisie.

Les caractéristiques du génome des cinq *Frankia* souches isolées sont comparées avec autre génome de souche *Frankia* CcI3 capable d'infecter des plantes de la famille *Casuarinaceae* et souche *Frankia* BMG5.1 qui infect des plantes de la famille *Coriariaceae*.

D'après Belaid *et al.* (2020) et Mansour *et al.* (2020) montre que les caractéristiques du génome de souche *Frankia* B2 (isolée en Algérie) et souches *Frankia* CgS1, CcI156, CgMI4 (isolées en Egypte) sont similaires aux caractéristiques du génome de souche *Frankia Casuarinae* CcI3, Nous avons remarqué que la souche *Frankia* B2 possède des caractères génotypiques (la taille, pourcentage de G+C, nombre d'ARNt et ARNr) plus similaire à souche *Frankia casuarinae* CcI3 par rapport aux autres *Frankia* souches étudiées (CgS1, CcI156, CgMI4) (tab. 4).

Tableau 4. Caractéristique de génome des *Frankia* souches.

Souche	Taille (Mb)	Nombre d'ARNr	Nombre d'ARNt	Nombre de CDS	Pourcentage de G+C	Auteur
B2	5,33	6	46	4,79	70,1	(Belaid <i>et al.</i> , 2020)
CcI3	5,43	6	46	4,59	70,1	
CgS1	5,25	2	45	4,22	70,03	(Mansour <i>et al.</i> , 2020)
CcI156	5,33	2	45	4,30	69,90	
CgMI4	5,19	0	46	4,16	69,97	
BMG5.1	5,79	3	45	5277	7,16	(Gueddou <i>et al.</i> , 2019)
BMG5.30	5,81	5	45	4976	70,15	

CDS : séquence codant d'un gène (coding DNA séquence).

Ces résultats sont différents aux résultats décrits par Gueddou et *al.* (2019) qui ont montré qu'il y a une similarité entre les caractéristiques du génome de souche *Frankia* BMG5.30 (isolées en Tunisie) et souche *Frankia* BMG5.1 on peut remarquer que : (tab. 4).

- Même taille de genome étudié: environ (7.79 et 7.81).
- Les deux souches présentent un pourcentage de G+C similaire (entre 70.15% et 70.16%).
- Un nombre des séquences codant(CDS) environ 4976 et 5277.
- Un nombre d'ARNt identique entre les deux souches (45).

Les relations phylogénétiques entre les souches *Frankia* ont été détectées par l'analyse phylogénétique d'ADNr 16S d'isolats.

L'arbre phylogénétique des séquences d'ADNr 16S a été déterminé par les méthodes de maximum likelihood, Neighbor-Joining et FastME programme montrant la position et distance phylogénétique d'isolats.

Selon le résultat de Belaid et *al.* (2020) l'analyse phylogénétique de l'ADNr 16S montre l'existence d'une relation phylogénétique de souche B2 avec les génomes de *Frankia* séquencée. Comme prévu, la souche *Frankia* B2 est groupée avec la souche *Frankia casuarinae* CcI3 dans le même groupe avec une similarité de 100% (clade du groupe 1) (fig. 9).

Ces résultats sont en accord avec ceux décrits par Mansour et *al.* (2020) montrant que les souches *Frankia* CgS1, CcI156, CgMI4 sont regroupées dans le clade de groupe 1c avec la souche *Frankia casuarinae* CcI3 et la souche B2 (fig. 10). Ce groupe comprend des souches *Frankia* qui s'associent à l'hôte plantes *Casuarina* et *Allocasuarina*.

L'arbre phylogénétique déduit avec FastME programme (fig. 10) ont révélé que les souches CgS1, CcI156, CgMI4 ont montré un niveau de similitude élevée de 100% avec la souche B2 (isolées en Algérie) et la souche *Frankia casuarinae* CcI3.

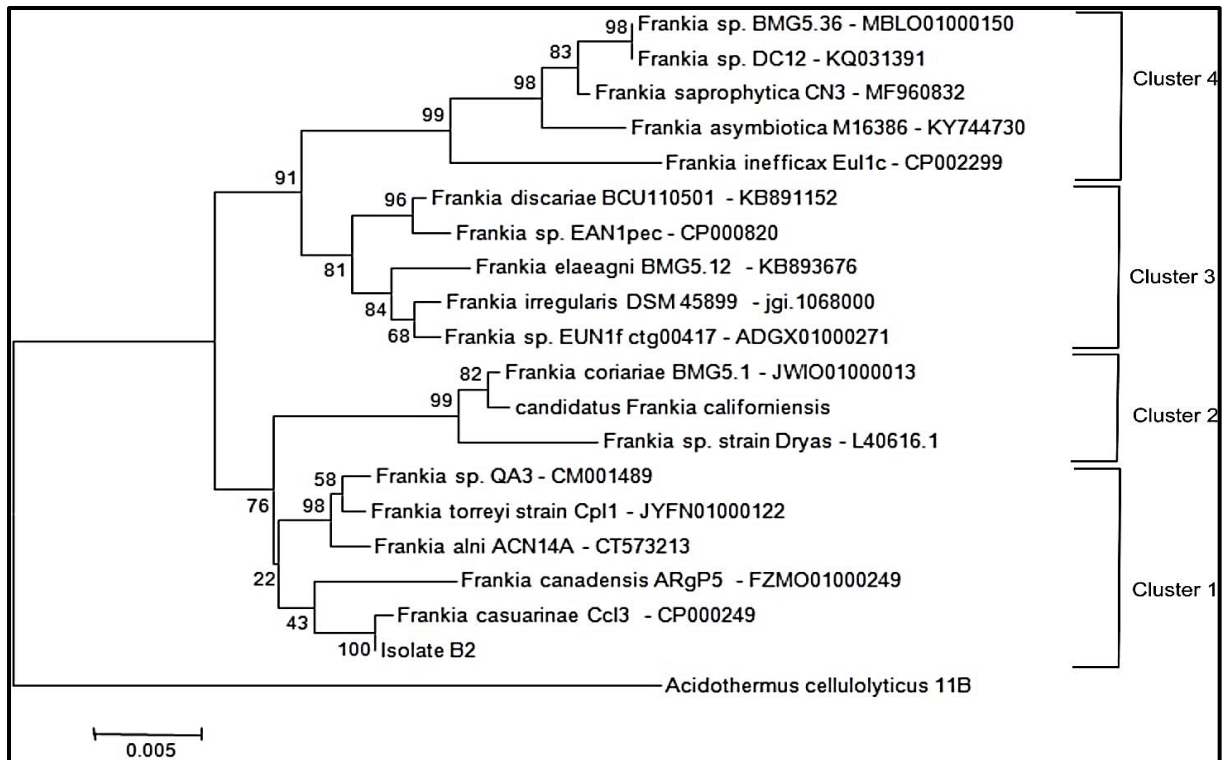


Figure 9. Arbre phylogénétique déduite à l'aide de la méthode Neighbor-Joining basé sur l'ADNr 16S montrent la position de souche *Frankia* B2 (Belaid et al., 2020).

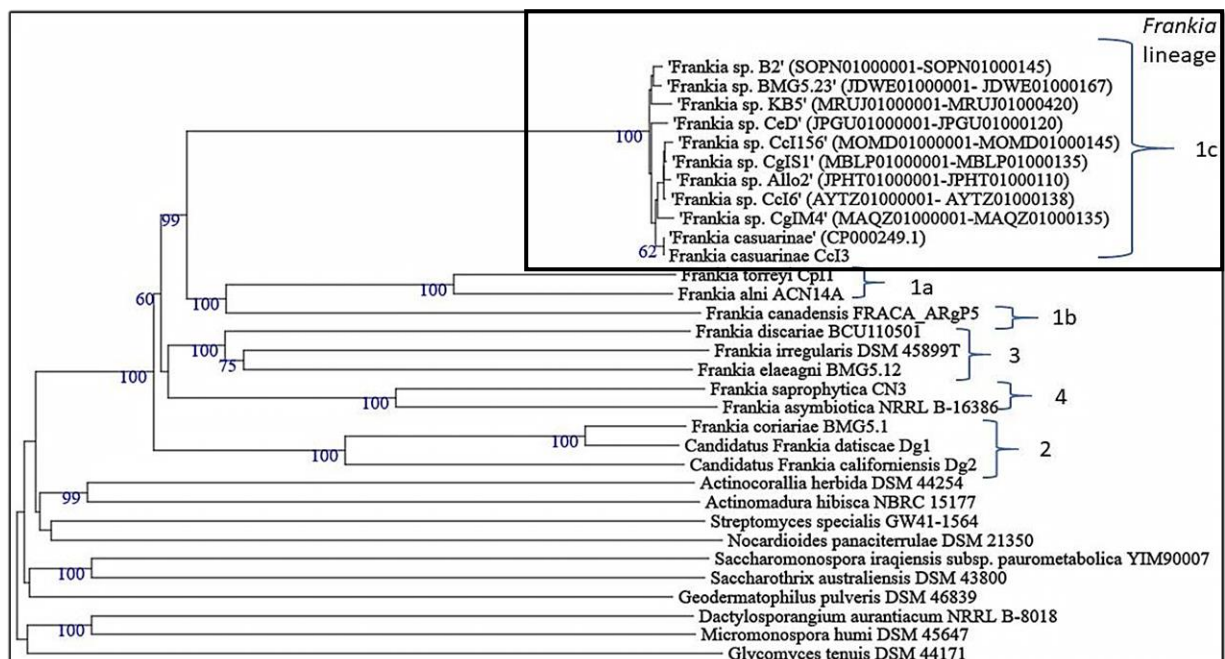


Figure 10. Arbre phylogénétique des souches *Frankia* déduite avec FastME de génome BLAST Distance phylogénie (Mansour et al., 2020).

Les résultats de Gueddou et *al.* (2019) sont différents aux caractères présentés par Belaid et *al.* (2020) et Mansour et *al.* (2020). Un arbre phylogénétique de Maximum Likelihood (fig. 11) montre que la souche *Frankia* BMG5.30 (isolée à partir de plante *Coriariae*) en Tunisie. Cet isolat est regroupé plus près de souche *Frankia Coriariae* BMG5.1 que les autres *Frankia* souches séquencées (*Candidatus*) avec une similitude plus supérieure entre 95 et 100%.

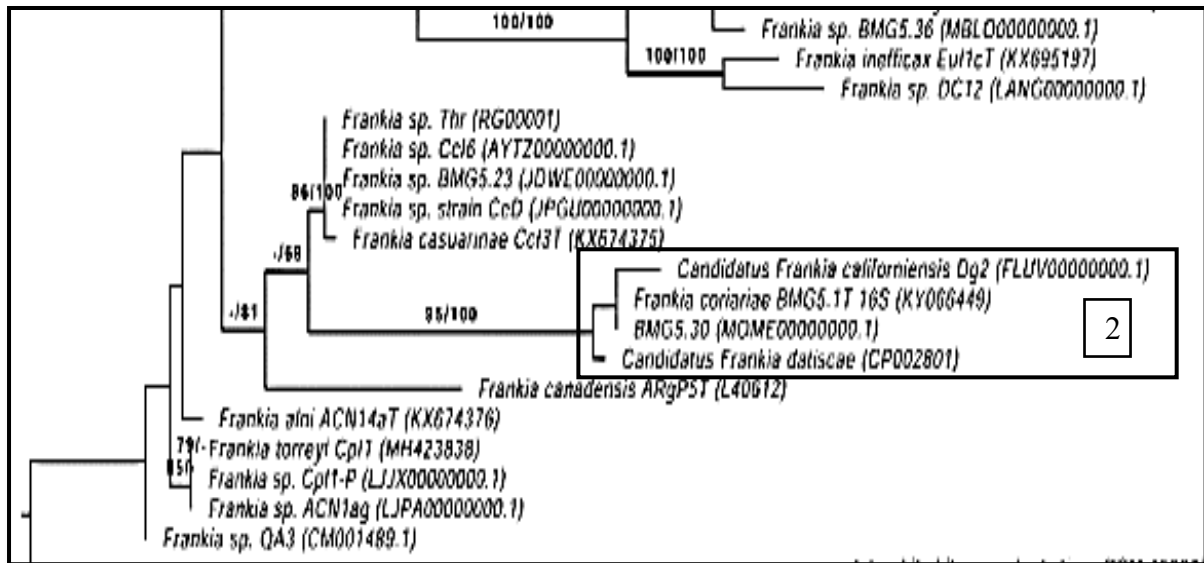


Figure 11 : Arbre phylogénétique à Maximum Likelihood basé sur l'ADNr16s séquences montrant la position de *Frankia* souche BMG5.30 (Gueddou et *al.*, 2019).

D'après les résultats de Belaid et *al.* (2020) ; Mansour et *al.* (2020) et Gueddou et *al.* (2019) ont révélé que les souches *Frankia* (CgS1, CcI156, CgMI4, B2) partageait une relation phylogénétique et des caractères similaires avec la souche *Frankia casuarinae* CcI3 donc ces isolates sont étroitement apparentés à *Frankia casuarinae*. À l'exception de souche BMG5.30 a montré une similarité avec la souche *Frankia coriariae* BMG5.1 donc cette souche est un membre des espèces *Frankia coriariae*.

Conclusion

Conclusion

Dans notre travail nous sommes proposés de présenter des études des symbiotes microbiens dans des régions d'Algérie, fixant l'azote atmosphérique et appartenant au genre actinomycète *Frankia* habitent des nodules racinaires de plantes actinorhizienne, c'est la « symbiose actinorhizienne ».

Cette étude est réalisée par la mise en place d'une étude de synthèse des publications scientifiques traitant le sujet de cette étude : mise en évidence de la nodulation (la symbiose actinorhizienne), l'activité nitrogénase et à la fin la phylogénie des souches des actinomycètes de genre *Frankia*.

On peut conclure que les bactéries de genre *Frankia* sont capable d'établir une symbiose effective avec des plantes actinorhiziennes *Casuarina cunninghamiana* et *Casuarina glauca*.

Concernent le potentiel de fixation d'azote de l'actinomycète *Frankia* on remarque que la souche *Frankia* B2 possède une activité nitrogénase élevées et capable d'établir une symbiose plus effective avec *Casuarina cunninghamiana*. Cependant, le stress salin et le saccharose affecte négativement sur la croissance et l'activité nitrogénase et le potentiel de fixation d'azote des *Frankia* souches.

Selon les résultats sur les relations existant entre les souches *Frankia* basés sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr16S et la comparaison des caractéristiques de génome de ces souches ont déduit la présence des relations phylogénétiques et similarité entre les souches d'actinomycètes appartient au genre *Frankia* symbiotique des plantes *Casuarina* et *Coriaria*.

Les souches *Frankia* B2, CgS1, CcI156, CgMI4 sont membres des espèces *Frankia casuarinae* alors que la souche *Frankia* BMG5.30 appartienne à l'espèce *Frankia coriariae*.

Ces isolats présentent des caractères phylogéniques très similaires entre eux par rapport les souches *Frankia* isolées des plantes différentes.

Au terme de cette étude, il serait intéressant de poursuivre ce travail par la recherche et étude des comportements et capacité des variétés des paires symbiotiques (symbiose actinorhizienne) pour résister à différentes conditions environnementales. Cette étude aura un rôle majeur dans l'ouverture d'un large horizon pour promouvoir et intensifier la culture des plantes actinorhiziennes en Algérie, en raison du leur rôle important et efficace qu'elles jouent dans l'amélioration du sol afin de lutter contre la désertification et contribuer à la régénération et stabilisation de sol.

Référence

Bibliographique

Reference Bibliographique

1. Baker D.D., Schwintzer C.R. 1990. Introduction. in *The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*. Academic Press, pp.1-4.
2. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. A., Dvorkin M., Kulikov A. S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prijibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P. A. 2012. SPAdes : a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology* 19(5) :455-477.
3. Belaid K., Potgieter L. J., Amrani S., Madjid Z., Gherbi, H. 2022. Casuarina species in Algeria : reviewing their identity, distribution and symbiotic status : Casuarina trees in Algeria. *Bois et Forêts des Tropiques* 351:15-28.
4. Belaid K., Swanson E., Carré-Mlouka A., Hocher V., Svistoonoff S., Gully D., Simpson S., Morris K., Thomas W.K., Amrani S., Tisa L.S., Gherbi H. 2020. Draft Genome Sequence of the Symbiotic Frankia sp. Strain B2 isolated from root nodules of Casuarina cunninghamiana found in Algeria. *Journal of genomics* 8 :11-15.
5. 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. Thèse de doctorat, université Montpellier 2, pp.6-13.
6. Benabdoun M., Gherbi H., Djekoun A., Bogusz D., Franche C., Ykhlef N. 2012. Fixation biologique de l'azote : la symbiose actinorhizienne Casuarina-Frankia. *Sciences & Technologie. C* (35) : 15-19.
7. Benson D.R., Silvester W.B. 1993. Biology of Frankia Strains, Actinomycete Symbionts of Actinorhizal Plants. *Microbiological Reviews* 57(2) :293-319.
8. Berry A. M., Harriott O. T., Moreau R. A., Osman S. F., Benson D. R., Jones A. D. 1993. Hopanoid lipids compose the Frankia vesicle envelope, presumptive barrier of oxygen diffusion to nitrogenase. *Proceedings of the national academy of sciences* 90(13) :6091-6094.
9. Bolger A. M., Lohse M., Usadel, B. 2014. Trimmomatic : a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30(15) :2114-2120.
10. Carú M., Becerra A., Sepúlveda D., Cabello A. 2000. Isolation of infective and effective Frankia strains from root nodules of *Alnus acuminata* (Betulaceae). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16(7) :647-651.

11. Chaia E. E., Wall L. G., Huss-Danell, K. 2010. Life in soil by the actinorhizal root nodule endophyte Frankia. A review. *Symbiosis* 3(51) :201-226.
12. Dawson J.O.2008. Ecology Of Actinorhizal Plants. In *Actinorhizal Symbiosis.in Nitrogen-Fixing Actinorhizal Symbioses*, pp.199-200.
13. Diagne N., Arumugam K., Ngom M., Nambiar-Veetil M., Franche C., Narayanan K. K., Laplaze, L. 2013. Use of Frankia and actinorhizal plants for degraded lands reclamation. *BioMed research international* 2013 :1-9.
14. Dilworth M. J.1966. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 127(2) :285-294.
15. Diouf D., Oureye-Sy M., Gherbi H., Bogusz D., Franche C.2008.Casuarinaceae.in *Compendium of Transgenic Crop Plants : Transgenic Tree Species*, p.280.
16. Dommergues Y., Duhoux E., Diem H. G. 1999. Les arbres fixateurs d'azote : caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux, avec référence particulière aux zones subhumides et arides, pp.35-45.
17. Duhoux E., Franche C. 2003. Les nodules actinorhiziens de Casuarina. *Biofutur* 235 :45-49.
18. Franche C., Laplaze L., Duhoux E., Bogusz D.1998. Actinorhizal symbioses : recent advances in plant molecular and genetic transformation studies. *Critical Reviews in Plant Sciences* 17(1): 1-28.
19. Franche C., Lindström K., Elmerich C.2009.Nitrogen-Fixing Bacteria Associated With Leguminous And Non-Leguminous Plants. *Plant Soil* 321 :35-59.
20. Fustec J., Lesuffleur F., Mahieu S., Cliquet J. B. 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30(1) :57-66.
21. Gtari M., Brusetti L., Aouani M. E., Daffonchio D., Boudabous A. 2002. Frankia nodulating *Alnus glutinosa* and Casuarinaceae in Tunisia. *Annals of microbiology*, 52(2) :145-154.
22. Gtari M., Ghodhbane-Gtari F., Nouioui I., Ktari A., Hezbri K., Mimouni M., Sbissi I., Ayari A., Yamanaka T., Normand P., Tisa L, S., Abdellatif B. 2015. Cultivating the uncultured : growing the recalcitrant cluster-2 Frankia strains. *Scientific Reports* 5(1) :1-8.
23. Gueddou A., Swanson E., Hezbri K., Nouioui I., Ktari A., Simpson S., Morris K., Thomas W.K., Gtari F.G., Gtari M., Tisa L. S.2019. Draft genome sequence of the

- symbiotic *Frankia* sp. Strain BMG5. 30 isolated from root nodules of *Coriaria myrtifolia* in Tunisia. *Antoni Van Leeuwenhoek* 112(1), 67-74.
24. Hocher V., Auguy F., Bogusz D., Doumas P., Franche C., Gherbi H., Laplaze L., Obertello M., Svistoonoff, S. 2009. Les symbioses actinorhiziennes fixatrices d'azote : un exemple d'adaptation aux contraintes abiotiques du sol. *Cahiers Agricultures* 18(6) :498-505.
 25. Huang Y., Benson D. R. 2012. Growth and development of *Frankia* spp. strain CcI3 at the single-hypha level in liquid culture. *Archives of Microbiology* 194(1) : 21-28.
 26. Huss-Danell K. 1997. Actinorhizal Symbioses and their N₂ fixation. *New Phytol* 136(3) :375-405.
 27. Kaneko T. Hiromitsu K., Yamada H., Yamamoto M., Yoshida T., Attri P., Koga K., Murakami T., Kuchitsu K., Ando S., Nichikawa Y., Tomita K., Ono R., Ito T., Ito A.M., Eriguchi K., Nozaki T., Tsutsumi T., Ishikawa K. (2021). Functional nitrogen science based on plasma processing : quantum devices, photocatalysts and activation of plant defense and immune systems. *Japanese Journal of Applied Physics* 61 :1-25.
 28. Kraepiel A. M. L., Bellenger J. P., Wichard T., Morel F. M. M. 2009. Multiple roles of siderophores in free-living nitrogen-fixing bacteria. *BioMetals* 22(4) : 573-581.
 29. Lafond-Lambert C. 2014. La Morphogénèse d'hyphes toruleux chez l'Actinomycete *Frankia* spp. Mémoire de magistère, université de Sherbrooke, Canada, p.18.
 30. Lechevalier M.P. 1994. Taxonomy of the Genus *Frankia* (Actinomycetales). *International Journal of Systematic Bacteriology* 44(1) :1-8.
 31. Mansour S. R., Baker D. D. 1993. Sélection trials for effective N₂-fixing *Casuarina*-*Frankia* combinations in Egypt. *Soil Biology and Biochemistry* 26(5) :655-658.
 32. Mansour S., Swanson E., Pesce C., Simpson S., Morris K., Thomas W. K., Tisa L. S. 2020. Draft genome sequences for the *Frankia* sp. Strains CgS1, CcI156 and CgMI4, nitrogen-fixing bacteria isolated from *Casuarina* sp. In Egypt. *Journal of genomics* 8 :84-88.
 33. Moiroud A. 1996. Diversité et écologie des plantes actinorhiziennes. *Acta botanica gallica* 143(7) :651-661.
 34. Murry M. A., Fontaine M.S., Torry J.G. 1984. Growth kinetics and nitrogenase induction in *Frankia* sp. HFP ArI3 grown in batch culture. *Plant and Soil*. 78 :61-78.
 35. Narayanasamy M., Dhanasekaran D., Thajuddin N. 2020. *Frankia*. In *Beneficial in Microbes In Agro-Ecology*. Academic Press, pp.186-187.

36. Nguyen T.V., Pawlowski K.2017.12 Frankia and Actinorhizal Plants : Symbiotic Nitrogen Fixation .in Rhizotrophs : Plant Growth Promotion to Bioremediation, Vol 2, pp.238.
37. Nouioui I.2014. Phylogénie et évolution du genre Frankia. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I, France, pp.13-23.
38. Oshone R., Mansour S. R., Tisa, L. S.2013. Effect of salt stress on the physiology of Frankia sp strain CcI6. Journal of biosciences 38(4) :699-702.
39. Persson T., Benson D. R., Normand P., Heuvel B. V., Pujic P., Chertkov O., TESHIMA H., Bruce D.C., Detter C., Tapia R., Han S., Han J., Woyke T., Pitluck S., Pennacchio L., Nolan M., Ivanova N., Pati A., Land M.L., Pawlowski K., Berry, A. M.2011. Genome Sequence of “Candidatus Frankia datiscae Dg1, the Uncultured Microsymbiont from Nitrogen-Fixing Root Nodules of the Dicot Datisca glomerata. Journal of Bacteriology 193(24) :7017-7018.
40. Postage J.R.1972.chapter XIII the Acetylene Reduction Test for Nitrogen Fixation.in Methodes in microbiology.Academic Press. 6 :343-356.
41. Pozzi A.C.2014.Roles adaptatifs et contraintes de la sporulation chez les microorganismes associés aux plantes : cas de sporulation in planta dans la symbiose actinorhizienne Frankia (Frankiaceae)-Alnus (Betulaceae). Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I, France, p.77.
42. Sayed W, F., Zahran H, H., Salem W, M .2008. Rhizosphere Microbiota and Frankia-Casuarina Symbiosis. Catrina : The International Journal of Environmental Sciences 3(1) :101-110.
43. Schutz S.2017. le séquençage de nouvelle génération. <https://dridk.me/ngs.html>
44. Schwencke J., Carú, M. 2001. Advances in actinorhizal symbiosis : host plant-Frankia interactions, biology, and applications in arid land reclamation. A review. Arid Land Research and Management 15(4) :285-327.
45. Svistoonoff S.2003.Implication d'une subtilase dans les étapes précoces des symbioses actinorhiziennes thèse de doctorat, université Montpellier II-sciences et techniques du Languedoc, français, p.1.
46. Toth J. 1965. Aspect forestier d'une plantation saharienne. Revue forestière française, (10) :674-695.
47. Ueda Y., Konishi M., Yanagisawa S. 2017. Molecular basis of the nitrogen response in plants. Soil Science and Plant Nutrition 63(4) :329-341.

48. Wall L. G. 2000. The actinorhizal symbiosis. *Journal of plant growth regulation* 19(2) :167-182.
49. Wall L., Berry A .2008. Early Interactions, Infection And Nodulation In Actinorhizal Symbiosis.in *Nitrogen-Fixing Actinorhizal Symbioses*, p.147.
50. Werner D., Newton W. E.2005. Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment, Vol. 4, Springer, p.144.
51. Wheeler C.T., Akkermans A.D., Berry A.M.2008.Frankia And Actinorhizal plants : A Historical Prespective.in *Nitrogen-fixing Actinorhizal Symbioses*, p.1.
52. Zhong C., Zhang Y., Chen Y., Jiang Q., Chen Z., Liang J., Pinyopusarek K., Franche C., Bogusz, D. 2010. Casuarina research and applications in China. *Symbiosis* 1(50) :107-114.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Tableau présentant les articles scientifiques servant de support à la réalisation de la partie expérimentale de la présente étude.

N°	Titre	Auteurs
1	Growth kinetics and nitrogenase induction in Frankia sp. HFP ArI3 grown in batch culture.	Murry <i>et al.</i> (1984)
2	Rhizosphere Microbiota and Frankia-Casuarina symbiosis.	Sayed <i>et al.</i> (2008)
3	The Acetylene Reduction Test for Nitrogen Fixation.	Postage (1972)
4	Acetylene Reduction by Nitrogen-Fixing Preparations from Clostridium Pasteurianum.	Dilworth (1966)
5	Isolation of infective and effective Frankia strains from root nodules of Alnus acuminata (Betulaceae).	Carú <i>et al.</i> (2000)
6	Cultivating the uncultured : growing the recalcitrant cluster-2 Frankia strains.	Gtari <i>et al.</i> (2015)
7	Draft genome sequence of the symbiotic Frankia sp. Strain BMG5.30 isolated from root nodules of Coriaria myrtifolia in Tunisia.	Gueddou <i>et al.</i> (2019)
8	Trimmomatic : A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data.	Bolger <i>et al.</i> (2014)
9	Spades : A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing.	Benkevich <i>et al.</i> (2012)
10	Casuarina species in Algeria : reviewing identity, distribution and symbiotic status.	Belaid <i>et al.</i> (2022)
11	Frankia nodulating Alnus glutinosa and Casuarinaceae in Tunisia.	Gtari <i>et al.</i> (2002)
12	Selection trials for effective N ₂ -fixing Casuarina-Frankia combinations in Egypte.	Mansour <i>et al.</i> (1993)

13	Draft genome sequence of the symbiotic Frankia sp. Strain B2 isolated from root nodules of Casuarina cunninghamiana found in Algeria.	(Belaid <i>et al.</i> , 2020)
14	Effect of salt stress on the physiology of Frankia sp. Strain CcI6.	Oshone <i>et al.</i> (2013)
15	Draft genome sequences for the Frankia CgS1, CcI156 and CgMI4, nitrogen fixing bacteria isolated from Casuarina sp. in Egypte.	Mansour <i>et al.</i> (2020)

Annexe 2 : Composition du milieu BAP par Murry *et al.* (1984).

Solutions mères	BAP
NH ₄ Cl	5 ml
CaCl ₂ .2H ₂ O	10 ml
Propionate de Na	5 ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	5 ml
Fe.Na ₂ EDTA	1 ml
Oligoéléments	1 ml
Vitamines BAP	1 ml
Tampon BAP	10 ml
pH a 6.7	

الملخص

تستند هذه الدراسة التحليلية إلى العمل البحثي على سلالات *Frankia* المعزولة من العقيدات الجذرية للنباتات الشعاعية

أظهرت السلالات المختلفة المعزولة من البكتيريا *Frankia* القدرة على تكوين عقيدات جذرية على النباتات الشعاعية *Casuarina cunninghamiana* و *Casuarina glauca*. على الخصوص أظهرت السلالة المعزولة *Frankia B2* المعزولة في الجزائر نشاطا قويا لأنزيم النيتروجينيز.

أكد التوصيف الجزيئي القائم على تسلسل DNAr 16S أن سلالات *Frankia* المعزولة من النباتات من النباتات الشعاعية *Coriaria* و *Casuarina* تنتمي إلى نوع *Frankia casuarinae* و *Frankia coriariae* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Frankia*، النباتات الشعاعية، عقدة، DNAr 16S، نيتروجينيز.

Résumé

Cette étude synthétique est basée sur des travaux de recherche sur les souches de *Frankia* isolées de nodules racinaires des plantes actinorhiziennes.

Les isolates d'actinomycètes du genre *Frankia* montrent une capacité remarquable à former des nodules racinaires sur des plantes hôtes *Casuarina cunninghamiana* et *Casuarina glauca*. Particulièrement la souche *Frankia B2* isolées en Algérie est qui présente aussi une forte activité nitrogénase.

La caractérisation moléculaire basés sur le séquençage de l'ADNr 16S à confirmer que les *Frankia* isolées appartiennent des plantes *Casuarina* et *Coriaria* appartiennent aux espèces *Frankia casuarinae* et espèces *Frankia coriariae* respectivement.

Mots clés : *Frankia*, plantes actinorhiziennes, nodulation, ADNr16S, nitrogénase.

Summary

This synthetic study is based on research work on *Frankia* strains isolated from root nodules of actinorhizal plants.

Actinomycete isolates of the genus *Frankia* show a remarkable ability to form root nodules on host plants *Casuarina cunninghamiana* and *Casuarina glauca*. Particularly the *Frankia B2* strain isolated in Algeria is also showing a strong nitrogenase activity.

Molecular characterization based on 16S rDNA sequencing confirmed that *Frankia* isolated from *Casuarina* and *Coriaria* plants belong to *Frankia casuarinae* species and *Frankia coriariae* species respectively.

Key words : *Frankia*, actinorhizal plants, nodulation, 16S rDNA, nitrogenase.