

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIES



**Mémoire de fin d'étude**

**En vue de l'obtention de Diplôme de Master Académique**

**Option : Système de production Agro-écologique**

**THEME :**

**Caractérisations Culturelles de quelques  
rhizobacteries des légumineuses spontanées**

Présenté par : **TEFTAF Nacéra**

Devant le jury :

<b>M<sup>me</sup> BENREBIHA F/Z .</b>	P.R	U.Blida 1	Présidente de jury
<b>Mr ABBAD.M.</b>	M.C.A	U.Blida 1	Examineur
<b>M<sup>me</sup> BOUCHENAK.F.</b>	M.C.A	U.Blida 1	Promotrice
<b>Mr CHADI.A.</b>	Doctorant	U.Blida 1	Co-promoteur

**Année universitaire :2019/2020**

## **Remerciements :**

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est la présidente du jury

**M<sup>me</sup>.BENREBIHA F/Z** ,et ainsi **Mr. ABBAD.M**, pour l'examen de ce travail.

En second lieu ,nous tenons à remercier notre encadreur **M<sup>me</sup>.BOUCHENAK.F** et **Mr.CHADIA** pour l'organisation ,la confiance ,la patience qui a constitué

un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port .

Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

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

On réserve enfin nos derniers remerciements aux gens qui nous aidées le près

ou de loin pour réaliser ce travail.

## **DÉDICACES :**

Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir ,  
la force d'y croire ,la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le  
bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire

**« ya karim »**

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie ,  
La symbole de tendresse ,qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite,

A ma chère mère « **Aicha** »

A mon cher père « **Mohamed** » ,école de mon enfance...

A tous mes enseignants ....

Particulièrement **M<sup>me</sup>.BOUCHENAK.F** ,**Mr.CHADIA** et **Mr.DEGAICHIA** qui dieu les  
gardes et les protèges.

A mes chères sœurs :Sara ,Safa

mes frères :Mustafa, Rachid et Abd el Razak.

Et mon amie intime...

Tous mes amis et ma grand famille sans exception.

## Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction.....	1
<b>Chapitre 1:Synthèse bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>1:Diversité microbienne du sol.....</b>	<b>4</b>
1.1:La rhizosphère .....	5
1.1.1.Les Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère .....	6
1.1.2. Les facteurs favorisant la flore de la rhizosphère.....	6
1.2 :Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes .....	7
1.3:Diversité taxonomique des PGPR.....	7
1.3.1.Alphaproteobacteria.....	8
1.3.2.Betaproteobacteria.....	8
1.3.3.Actinobacteria.....	8
1.3.4.Gammaproteobacteria.....	8
1.4:Les mécanismes d'action des PGPR.....	9
1.4.1.Le mécanisme direct.....	9
1.4.1.1.La fixation d'azote.....	9
1.4.1.2.La solubilisation de phosphate.....	9
1.4.1.3.La solubilisation de potassium.....	10
1.4.1.4.Production des sidérophores.....	10
1.4.1.5.Production des phytohormones.....	10
1.4.2.Le mécanisme indirect .....	10

1.4.2.1.La compétition pour l'espace et nutriments .....	11
1.4.2.2.L'antibiose.....	11
1.4.2.3.Parasitisme.....	12
1.4.2.4.Résistance systémique induite ISR.....	12
1.5 :Effets des PGPR sur la croissance végétale.....	12
1.5.1Germination et émergence.....	12
1.5.2. Rendement et composantes du rendement.....	14
1.6.Le rôle des PGPR dans la tolérance des plantes aux stress abiotique .....	14
<b>2.Généralités sur l'azote.</b>	
2.1.L'azote .....	15
2.2.La fixation de L'azote. ....	16
2.2.1.La fixation industrielle. ....	16
2.2.2.La fixation biologique de L'azote .....	17
2.3.les microorganismes qui fixent l'azote atmosphérique. ....	17
2.3.1.les fixateurs libres .....	18
2.3.2.les fixateurs symbiotique (non libre).....	18
<b>3.LE MACROSYMBIOTE: Les légumineuses.</b>	
3.1.Généralités.....	18
3.2. Caractère communs des fabacée. ....	19
3.3.Intérêt des légumineuses fourragères spontanées .....	20
3.4. les espèces spontanées des légumineuses fourragère existant en Algérie(précisément dans la Mitidja ),et leur intérêt agronomique et écologique.	
3.4.1. <i>Vicia sativa L (Vesce commune)</i> .....	21
3.4.1.1.Intérêt agronomique de la vesce. ....	21
3.4.2. <i>Medicago</i> .....	22
3.4.2.1. Intérêt agronomique et écologique.....	22
3.4.3. <i>Hedysarum</i> .....	23

3.4.3.1. <i>Hedysarum pallidum</i> Desf .....	23
3.4.3.2. Intérêt agronomique et écologique.....	23
3.4.4. <i>Lablab purpureus</i> en Algérie .....	23
3.4.4.1. Intérêt agronomique et écologique.....	24
3.4.5. <i>Lathyrus</i> .....	25
3.4.5.1. Intérêt agronomique et écologique.....	25
3.4.6. <i>Loitier corniculé</i> .....	25
3.4.6.1. Intérêt agronomique et écologique.....	26
<b>4.LE MICROSymbiote :Les rhizobia .</b>	
4.1. Généralité .....	26
4.2. Caractérisation des rhizobium.....	27
4.2.1. Caractères morphologiques.....	27
4.2.2. Caractères biochimiques .....	27
4.2.3. Caractères physiologiques et cultureux.....	27
4.3. classification et taxonomie de rhizobia.....	28
4.4. Les espèces de Rhizobiums qui vivent en symbioses avec les légumineuses spontanées.....	29
<b>5. La symbiose légumineuses –rhizobia.</b>	
5.1. Aperçu général sur le processus de la symbiose.....	29
5.2. Mécanismes et spécificité de la reconnaissance symbiotique.....	30
5.3. L'infection et la nodulation.....	30
<b>6. Facteurs influençant la fixation d'azote.....</b>	
6.1. PH de sol.....	32
6.2. La température.....	32
6.3. Stress salin.....	32
6.4. Stress hydrique.....	33
6.5. Exemples d'association entre rhizobia et légumineuses.....	34

## **7. Les méthodes d'analyses utilisées pour caractériser ses espèces du rhizobium**

7.1. Isolement des bactéries rhizobia à partir des nodules .....	36
7.1.1. collecte des nodules .....	36
7.1.2. conservation des nodules .....	37
7.1.3. isolement des bactéries à partir des nodules .....	37
7.1.3.1. stérilisation des nodules .....	37
7.1.3.2. isolement des bactéries selon la méthode des nodules écrasés .....	38
7.2. caractères culturels.....	38
7.2.1. observation des colonies et conservation des isolats .....	38
7.2.1.1. Examen microscopique par la coloration de Gram .....	38
7.2.1.2. conservation des souches .....	38
7.3. caractérisation des bactéries .....	39
7.3.1. source de carbone.....	39
7.3.2. test de bleu de bromothymol.....	39
7.3.3. caractères culturels .....	39
<b>Conclusion</b> .....	<b>41</b>

### **Références bibliographiques.**

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Les organismes de sol.....	4
<b>Figure 02</b> : Représentant la rhizosphère.....	6
<b>Figure03</b> :Illustration botanique de <i>Vicia sativa</i> .....	20
<b>Figure 04</b> :Processus de la nodulation.....	31
<b>Figure 05</b> :collecte des nodules.....	36
<b>Figure06</b> :conservation des nodules.....	37
<b>Figure07</b> :Rhizobactérie sur milieu de culture .....	39



**Liste des tableaux :**

**Tableau 01 :** Taxonomie des rhizobium.....29

**Tableau 02 :** quelques exemples d'association entre rhizobia et légumineuses.....34

## **Résumé :**

Le bassin méditerranéen est le berceau de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales d'intérêt fourrager et ou/pastoral. Les genres *vicia sativa*, *Medicago*, *Lathyrus*, *Lablab purpureus*, *Hedysarum pallidum* et *Loitier corniculé*, sont également représentés au niveau du bassin méditerranéen, plusieurs espèces d'intérêt fourrager poussent dans différents milieux.

Des bactéries isolées à partir des nodules de quelques légumineuses fourragères spontanées sont caractérisées par des études phénotypiques et moléculaires (morphologiques, tests physiologiques, culturels et biochimiques génétiques) qui donnent une description comparable à celle des Rhizobia.

Des recherches ont prouvé que l'utilisation des rhizobactéries comme inoculant constitue une alternative biologique soutenable pour la production végétale. Elles sont très intéressantes pour l'application, en agriculture, comme Biofertilisants, biopesticides et en phytoremédiation.

L'étude consiste à faire une recherche bibliographique sur les bactéries qui vivent en association symbiotique avec les légumineuses fourragères spontanées, montrer leur importance, leur diversité pour être utilisées par la suite dans un autre travail (de mémoire) dans la lutte contre les stress salin chez les espèces maraichères.

**Mot clés :** Caractérisation, Rhizobia, Légumineuses.

**Abstract :**

The mediterranean basin is the cradle of diversification of a large number of plant species of fodder and /or pastoral interest.the genus genres *vicia sativa* , *Medicago*, *Lathyrus*, *Lablab purpureus* ,*Hedysarum pallidum* and *Loitier corniculé* ,are also represented in the mediterranean basin,several species of forage interest grow in different environments.

Bacteria isolated from the nodules of some spontaneous forage legumes are characterized by a phenotypic and molecular study (morphological, physiological,cultural and biochemical genetics tests )which gives a description comparable to that of rhizobia.

Research has proven that the use of rhizobacteria as an inoculant constitutes a sustainable biological alternative for plant production,they are very interesting for application ,in agriculture.As a biofertilizer and biopesticides and in phytoremediation.

The study consists in carrying out a biographical research on the bacteria which live in symbiotic association with spontaneous forage legumes,to show their importance ,their diversity to be used later in another work(of memory ) in the fight against saline stress in market garden species.

**Keywords :**characterization , rhizobia ,legumes.

ملخص:

يضم البحر الأبيض المتوسط مجموعة كبيرة من تنوع السلالات النباتية ذات أهمية رعوية، الأنواع *vicia sativa* , *Medicago* , *lathyrus* ، *Lablabpurpureus* , *Hedysarumpallidum* . و *Loitiercorniculé* موجودين بكثرة في حوض البحر الأبيض المتوسط وكثيرا من سلالاتهم ذات أهمية كبيرة ينمون في عدة اوساط مختلفة.

تتميز البكتيريا المعزولة من عقيدات بعض البقوليات العلفية العفوية بدراسة النمط الظاهري جزئي (مورفولوجية، كيميائية حيوية) والتي تعطي وصفا مشابها لوصف الريزوبيا .

اثبتت الأبحاث أن استخدام البكتيريا الجذرية كملقح بشكل بديلا بيولوجيا مستداما للانتاج النباتي وهي مفيدة جدا للتطبيق في الزراعة مثلا الأسمدة الحيوية و المبيدات الحيوية وفي المعالجة النباتية.

تتكون الدراسة من إجراء بحث بيبلوغرافي على البكتيريا التي تظهر بشكل تلقائي لاطهار أهميتها وتنوعها لاستخدامه لاحقا في عمل آخر (للذاكرة) في مكافحة الاجهاد في أنواع حدائق السوق.

الكلمات المفتاحية: توصيف، ريزوبيا، البقوليات.

## **Introduction :**

L'Algérie est caractérisée par une grande diversité de climats et de milieux. Les variations de la température, de l'altitude de la pluviosité (quantité et répartition), des types de sols (texture, salinité,....) ont permis une grande diversité d'espèces fourragères .

Le sol est un environnement complexe caractérisé par une grande diversité d'organismes (notamment les microorganismes), de composés chimiques, et par une structure physique complexe (**Kerbab Souhila.,2010**) .

La famille des légumineuses (Fabaceae) est la troisième grande famille des angiospermes, sont des plantes herbacées, des arbustes, des lianes ou des arbres à racines présentent souvent des nodosités traduisant une symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote (**Torche ,2006**). Elles jouent un rôle dans l'agriculture, l'économie et dans les balances alimentaires de nombreuses populations humaines. Certaines espèces des légumineuses contiennent des composés secondaires (les tanins) qui, selon leur nature et leur concentration, peuvent apporter des services zootechniques intéressants, les tanins présentent des propriétés antiparasitaires intéressantes (**patrice pierre,et al.,2016**).

La rhizosphère est une zone d'intense activité microbiologique en raison des exsudats racinaires des plantes, ces activités bénéfiques peuvent être directes par le biais des relations symbioses avec les plantes, ou indirectes via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère qui modifient les taux d'approvisionnement en éléments nutritifs et la répartition des ressources (**N.Belaid, M.cherifi, L.tebani.,2013**) .

Les microorganismes du sol peuvent être bénéfiques en affectant positivement la qualité du sol et la croissance des plantes, la diversité des communautés bactériennes rhizosphériques est influencée à la fois par le sol, sa composition, ses caractères physicochimiques, ainsi que par les exsudats racinaires produits par les plantes. Parmi cette grande diversité bactérienne, un groupe de bactéries communément appelé PGPR, de l'anglais «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» est capable de coloniser la rhizosphère des plantes et d'apporter un effet positif à leur croissance (**Kang et al.,2012**).

La symbiose légumineuse-rhizobia elle présente un intérêt agronomique considérable, permet l'enrichissement naturel du sol en azote et la réduction des apports d'engrais. L'azote fixé par la symbiose est restitué au sol après la décomposition de la matière végétale (racines, nodules, parties aériennes), ou via les déjections de animaux ayant pâture (**Selami,2017**)

Ces associations symbiotiques sont responsables chaque année de la réduction de 120 millions de tonnes d'azote atmosphérique en ammonium. Plusieurs symbioses fixatrices d'azote existent et sont classées en fonction des types de bactéries diazotrophes qu'elles impliquent : les Cyanobactéries, Frankia et Rhizobia (**Selami Nawal,2017**).

Les recherches sur la diversité des rhizobia peuvent non seulement améliorer la productivité des récoltes et augmenter la fertilité du sol, mais elles sont également importantes pour la consommation de l'énergie et pour la protection de l'environnement (**Weiwei et al., 2002**). Dans la dernière décennie, les légumineuses spontanées et leurs symbiontes ont attiré l'attention des écologistes en raison de leur tolérance aux conditions environnementales extrêmes, telles que la salinité, la sécheresse et les températures élevées (**Zahran,et al,2010** ). Cette caractéristique est très importante pour le Bassin Méditerranéen dont les légumineuses fourragères occupent une place économique et sociale importante.

L'introduction de légumineuses dans la rotation de cultures dans un système agricole réduit le risque d'érosion du sol en améliorant sa structure (stabilité de l'agrégat du sol, l'aération du sol et la capacité de rétention d'eau du sol)en plus de soutenir la biodiversité du sol (comme l'activité microbienne de stimulation des racines).en outre ,les légumineuses contribuent à réduire les parasites et les maladies (**FAO ,2017**).

Les objectifs de cette recherche bibliographique sont donc :

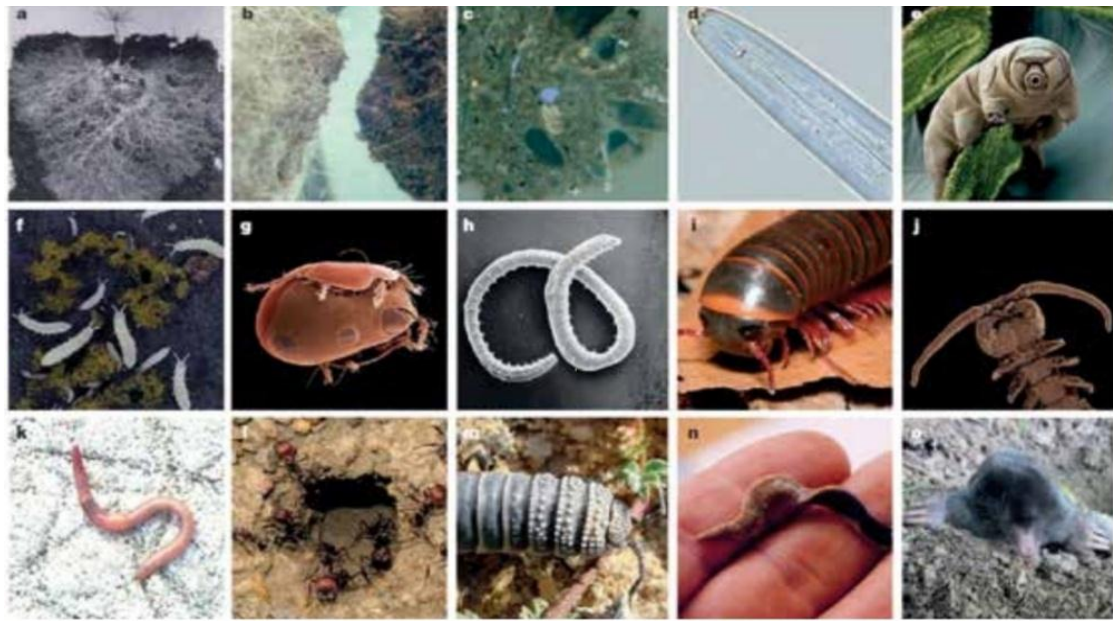
montrer l'importance des rhizobactéries isolées des nodosités de légumineuses spontanées ,et leurs rôles dans l'écosystème édaphique.

**SYNTHÈSE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1:Diversité microbienne du sol :

Le sol héberge une grande diversité de communautés microbiennes qui interagissent entre elles et qui, dans la rhizosphère, interagissent aussi avec les racines des plantes. Les activités de certaines populations microbiennes peuvent être bénéfiques à la croissance des plantes. Ces microorganismes utiles peuvent constituer des associations symbiotiques comme c'est le cas entre les légumineuses et des bactéries fixatrices d'azote. D'autres microorganismes dits «libres» possèdent aussi la capacité de favoriser la croissance des plantes, en solubilisant des nutriments non ou peu disponibles dans le sol, mais aussi en libérant dans la rhizosphère des substances de croissance de type hormonal (Alabouvette et Cordier.,2018).



**La figure 01 :**Les organismes de sol.une sélection d'organismes du sol (Bardgett et van der Putten ,2014).

De tous les organismes vivants du sol, c'est dans le monde de l'invisible, de «l'infiniment petit» que l'on trouve la diversité biologique la plus importante de notre planète. Cette richesse microbienne extraordinaire se traduit par une implication forte dans les fonctions et les services écosystémiques assurés par le sol. Ainsi, les communautés microbiennes contribuent par leur rôle dans les cycles biogéochimiques d'éléments majeurs tels que le carbone, l'azote, le phosphore, le soufre, ....déterminant pour la fertilité du sol. Ils ont également un impact sur la santé et la croissance des plantes, contribuent ainsi au service d'approvisionnement majeur qu'est la production agricole (Antonio et al.,2018).

Dans les sols, il existe une diversité d'espèces de bactéries extrêmement forte de l'ordre d'1 million d'espèces par gramme de sol. Elles peuvent être classées de plusieurs manières : sur la base de leurs caractéristiques (morphologie, métabolisme, ressources nutritives...) sur la base de leur génome ou par grandes catégories de fonctions.



Les bactéries du sol sont considérées comme les ingénieurs chimiques du sol. Les communautés microbiennes, et notamment bactériennes jouent un rôle dans la maintenance de l'état structural du sol (**Virginie RIOU, 2018**)

La diversité microbienne, ce n'est pas seulement la diversité en termes de nombre d'espèces qui existent, c'est aussi la diversité des propriétés des souches, à l'intérieur d'une espèce, c'est à dire la diversité infra-spécifique, (**Jacques Balandreau, 2000**).

### **1.1: La rhizosphère :**

Le mot «rhizosphère» a été introduit en 1904 par **Lorenz Hiltner**, «Rhizo» vient du grec «rhiza» signifiant «racine», «sphère» est le champ d'action ou d'influence (environnement naturel). La rhizosphère est la région du sol directement influencée par les racines et les micro-organismes associés. C'est un lieu d'échanges entre la végétal et le substrat minéral, (**Mohamed, 2019**).

La rhizosphère est une zone riche en nutriments en raison de l'accumulation d'une variété des exsudats végétaux, tel que les acides aminés, les acides organiques, les hydrates de carbone, les sucres, les vitamines, le mucilage et les protéines (**Ahmed et Kibret, 2013 ; Lines-Killy, 2005**). Les genres de bactéries les plus communs qui ont été signalés dans la rhizosphère sont : *Pseudomonas, Bacillus, Arthrobacter, Rhizobia, Agrobacterium, Alcaligenes, Azotobacter, Mycobacterium, Flavobacter, Cellulomonas et Micrococcus* (**Prashar et al, 2013**).

Le terme rhizosphère désigne la mince couche du sol qui entoure les racines absorbantes et dont la composition est profondément modifiée par l'activité et le métabolisme de la racine. Elle diffère de la masse du sol par son PH, son potentiel d'oxydoréduction, par l'abondance et la composition de la matière organique et enfin par sa forte activité biologique qui se traduit par une teneur élevée en CO<sub>2</sub>. Ainsi, malgré le petit volume qu'occupe la rhizosphère dans le sol, elle joue un rôle central dans le maintien du système sol-plante (**Mouas, 2012**)

**Selon Hinsinger et al, (2009)**, elle représente probablement l'habitat le plus dynamique sur la terre, et certainement la zone la plus importante en termes de définition de la qualité et de la qualité des ressources alimentaires terrestres de l'homme.

Les interactions bénéfiques entre les plantes et les microorganismes dans la rhizosphère sont déterminantes pour la santé des plantes et la fertilité des sols (**Gholami et al, 2012**).

Le volume de la rhizosphère est variable selon le développement racinaire : il représente entre 0.1 et 1 % du sol global des écosystèmes forestiers et près de 100% des premiers centimètres des sols prairiaux (**Mouas, 2012**).



**Figure 02** :Représentant la rhizosphère

[Filearchide.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom\\_f3ce1.pg](http://Filearchide.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom_f3ce1.pg)

### **1.1.1.Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère :**

D'une façon générale ,l'activité microbienne dans la rhizosphère est régie :

Par l'action des facteurs de l'environnement climatique ,notamment :l'humidité de l'air ,température ,radiation solaire, teneur en CO<sub>2</sub>.

Par des facteurs de l'environnement édaphique, notamment :teneur du sol en eau et en oxygène, température du sol, teneur du sol en éléments assimilables par les plantes , présence de composés phytotoxiques.

Par des échange de «molécules signal entre les racines des plantes et les microorganismes qui leur sont associés» (champignon ,bactéries, cyanobactéries....) mais quand il a par exemple une symbiose associative entre les PGPR et une plante, le rôle et l'importance de ces molécules est encore mal connu .les signaux rhizosphérique influent sur l'expression génique «épigénétique ».Ils sont souvent «phytobénéfique » en améliorant la croissance et le fonctionnement du système racinaire (**J.M.Gobat,et al. ,2003**).

### **1.1.2.Les facteurs favorisant la flore de la rhizosphère :**

L'aération :la plupart des micro-organismes utiles ont besoin d'air , donc ils sont aérobies

L'humidité :(même niveau pour les racines que pour les micro-organismes) elles doit être en moyenne de 18 à 20%.

- La température :
  - Activité nulle à 0°C
  - moyenne à 10-15°C
  - optimale à 30°C
- Le PH (optimum de 6 à 7.5) :voisin de la neutralité.si trop acide :destruction de la flore
- La présence de calcium échangeable (pour neutraliser les acides organique formés lors de l'activité microbienne)
- La qualité de matières organique :un apporte stimule la flore du sol mais une quantité élevée peut être un signe de mauvaise décomposition.
- La présence de la faune.
- Enfin ,le mode d'exploitation peut plus ou moins favoriser l'activité de la flore et de la faune du sol (**Maalem A,Sansri D .,2014**).

### **1.2:Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) :**

Le terme PGPR provenant de l'anglais «Plant Growth promoting Rhizobacteria» (**ABNATURA ,2013**). Ce sont des bactéries du sol colonisant la rhizosphère et le rhizoplane .Entre 2 et 5% des rhizobactéries d'un sol exercent un effet de promotion de croissance ou de développement de la plante, via la production et la sécrétion de multiples composés chimiques aux alentours de la rhizosphère .Les rhizobactéries ayant un effet bénéfique pour les plantes pourraient donc permettre de diminuer la dépendance aux engrais chimiques de synthèse de l'agriculture conventionnelle (**Basile Giroud et al.,2018**)

Les bactéries ,sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencées de manière bénéfique la plante par stimulation de leur croissance et leur protection contre les agents phytopathogènes (**Ahmed et al.,2008**).

Parmi les interaction bénéfiques aux plantes ,on peut citer les symbioses fixatrice d'azote ,les associations avec les bactéries promotrice de croissance (PGPR)ou de santé, ou l'interaction avec les champignons mycorrhizogènes (**Elaine,2015**).

### **1.3 :Diversité taxonomique des PGPR :**

Selon les dernières années ,le nombre de PGPR identifiées a augmenté d'une façon significative ,principalement puisque le rôle de la rhizosphère comme écosystèmes a gagné de l'importance dans le fonctionnement de la biosphère et que les mécanismes d'action des PGPR ont été suffisamment étudiés.

Ces microorganismes cultivables ,présentant une diversité de genres et d'espèces, appartiennent majoritairement aux quatre phyla suivants : *Proteobacteries* , *Firmicutes* , *Actinobacteries* et *Bacteroidetes* (**Hugenholtz, 2002**).

### **1.3.1. Alphaproteobacteria :**

Les PGPR appartenant à cette classe sont les Rhizobia d'abord classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Le genre *Rhizobium* contient également des souche PGPR qui plus tard ont été considérées comme de nouveaux genres : *Bradyrhizobium* ,*Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*(**Sawada et al.,2003**).Le genre *Gluconacetobacter* de la famille des *Acetobacteraceae* composé de bactéries endophytes obligatoires colonise les racines ,la tige et la feuilles de la canne à sucre(**Tejera et al.,2003**).

### **1.3.2.Betaproteobacteria :**

Dans la famille *Burkholderiaceae*, le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiques et écologiques variées. Quelques souches ont la capacité de fixer de façon symbiotique l'azote.

### **1.3.3.Actinobacteria :**

Le genre *Frankia* est fixateur symbiotique d'azote .Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont associées à des plantes actinorhiziennes pionnier de la colonisation des sols pauvres ou perturbés.

D'autre Actinobavteria sont également des promoteur de croissance des plantes mais ne participent pas à la symbiose .Ils appartiennent aux genres *Arthrobacter*,*Microccus*(**Gray et Smith,2005**)*Curtobacterium*(**Barriuso et al,2005**).

### **1.3.4.Gammaproteobacteria :**

Dans la famille des *Pseudomonadaceae*, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer l'azote et ne pas noduler les plantes (**Sturz et Christie, 2003**).Les *Pseudomonas* est le genre le plus abondant dans la rhizosphère parmi les bactéries à Gram –négatif du sol, et l'activité PGPR de certaines de ces souches est connue depuis de nombreuses années, résultant d'une large connaissance des mécanismes impliqués .Par contre ,les genre inclus dans la famille des *Enterobacteriaceae* assurant la fonction de PGPR sont *Citrobacter* ,*Enterobacter* ,*Erwinia* ,*Klebsiella*,*Kluyvera* ,*Pantoea* et *Serratia*(**Garrity,2005**)

## **1.4 :Les mécanismes d'action des PGPR :**

Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes ,de manière direct ou indirect .

Les mécanismes directe sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur nutrition, leur métabolisme et leur développement, tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes.

Sur la base de leur activités (**Somers et al.,2004**) sont classés les PGPR comme biofertilisant (augmentant la disponibilité des éléments nutritifs aux plantes), phytostimulateurs (améliorant la croissance des plantes , habituellement par la production de phytohormones), (lutte contre les maladies, principalement par la production de métabolites antibiotiques et antifongiques).

Les bactéries de la rhizosphère sont les PGPR qui peuvent améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes :

### **1.4.1.le mécanisme direct :**

#### **1.4.1.1.La fixation d'azote :**

Le sol contient de nombreuses espèces de bactéries pouvant transformer l'azote atmosphérique en ammoniac .Plusieurs de ces microorganismes vivent à la surface des racines des plantes ou même dans les tissus de végétaux. l'ammoniac est rapidement transformé en nitrates par les bactéries du sol (**Kim et Rees,1994**).

La fixation biologique de l'azote par les bactéries du sol est considérée l'un des principaux mécanismes par lequel les plantes bénéficient de l'association microbienne .L'azote est un aliment essentiel bien connu pour la croissance et le développement des plantes. L'utilisation de bio-engrais tels que les bactéries fixatrices d'azote peut accroître la productivité et constitue une alternative qui contribue à réduire la pollution due aux application d'engrais chimiques ,à préserver l'environnement et à baisser le cout de la production (**Munees et Mulugeta,2014**).

Ainsi, **Figueiredo et al.(2008)**ont rapporté que ,au cours des deux dernières décennies, l'utilisation de PGPR pour le développement durable de l'environnement et de l'agriculture a considérablement augmenté dans plusieurs régions du monde .

#### **1.4.1.2.Solubilisation du phosphate :**

Le phosphore (P) est un élément largement distribué dans la nature.il est considéré , avec l'azote (N) et le potassium (K) ,comme un constituant fondamentale de la vie des plantes et des animaux. Le phosphore a un rôle important dans le métabolisme de la plante ,et il est l'un des éléments nutritifs essentiels pour la croissance et le développement des végétaux .

Cependant ,le phosphore existe sous forme inaccessible pour la plante, il reste donc de le mobilisé dans le sol (**Qureshi et al.,2012**).Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétale et par la suite ,la majeure partie du phosphore absorbé est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction .Toutefois ,les plantes déficientes en phosphore montrant un retard de croissance (réduction de la croissance des cellules et des feuilles, perturbation de la respiration et de la photosynthèse) (**FAO,2004**).

#### **1.4.1.3.Solubilisation du potassium :**

Les concentration de potassium soluble dans le sol ont généralement très faible et plus de 90%de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (**Parmar et Sindhu.,2013**) .En raison de l'application déséquilibrée des engrais ,la carence en potassium devient l'un des principales contraintes dans la production végétales. sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendement plus faibles (**Kumar et Dubey ,2012**).

#### **1.4.1.4.La production des sidérophores :**

Les sidérophores sont des composés organiques ont une affinité très élevée et spécifique pour chélater le fer .Les sidérophores augment aussi la disponibilité du fer par la complexations du fer sur la surface de cellules .presque 500 structure de sidérophore sont connues jusqu'ici, qui sont produites par des bactéries, des mycètes et des plantes (**Boukhalfa et Crumbliss.,2002**)

#### **1.4.1.5.La production des phytohormones :**

Il existe deux source de phytohormones naturellement disponibles pour les plantes : production endogène par les tissus de la plante et exogène par des micro-organismes associés.Les PGPR produisent différentes phytohormones comme :l'AIA (acide indole acétique :auxines),l'acide gibbérellique et les cytokinines. Ce sont des petites molécules signal produites en très faible influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologique dans les plantes,(**Han et al.,2010**)

#### **1.4.2.Les mécanismes indirects :**

Le principal avantage de l'utilisation des PGPR est la résistance conférée aux plantes contre les maladies causées par les agents pathogènes.Les rhizobactéries jouent un rôle majeur dans la lutte contre ces agent ou un large spectre des maladies bactériennes ,fongiques et parasitaires est supprimé via la production d'antibiotiques ,compétition

(pour les éléments nutritifs, l'oxygène et l'espace)l'activation de la résistance systématique induite(ISR) et la production des enzymes (chitinase, protéase, lipase) ,cette production est nommée biocontrôle.De plus, les PGPR peuvent être utilisées comme un bio fertilisant dans l'amélioration du rendement des cultures par la production d'enzymes telles que(cellulases, amylases ,etc.) (**Lugtenberg et al.,2014**).

#### **1.4.2.1.La compétition pour l'espace et les nutriments :**

C'est un mécanisme biologique utilisé par les PGPR pour éliminer les phytopathogènes. cette compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance (**Dommergues. 2017**) .

Dans certains cas ,une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et, par conséquent ,leur croissance (**Piano et al.,1997**).

L'idée qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie fut beaucoup discutée. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (**Haas et Defago,2005**)

La compétition pour les nutriments et les différentes sources nécessaires pour la vie se produit généralement entre les microorganismes du sol.Ces PGPR fixateurs du fer et du phosphore, inhibent la croissance des pathogènes d'une part , et favorisent celle des plantes ,d'une autre part(**PAL et al.,2006**).

#### **1.4.2.2.L'antibiose :**

La production et la libération des molécules qui tuent ou réduisent la croissance des pathogènes cibles est le mécanisme le plus efficace par lequel les microorganismes peuvent contrôler les maladies des plantes (**Harman et Shorresh., 2007**). Il consiste à produire des antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène.Ces molécules bioactives sont des métabolites secondaires à faibles poids moléculaires tels que les antibiotiques comme l'ampicilline , le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) , cyanure d'hydrogène(HCN) et la phénazine qui agissent comme des facteurs contre l'attaque des pathogènes (**Corbaz ,2017**)

### **1.4.2.3.Le parasitisme :**

Ce mécanisme consiste en une interaction directe entre microorganismes ou les tissus vivants de l'un constituant une base nutritive pour l'autre (**Helluy et Holmes.,2005**). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste. L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques telles que les glucanases, les chitinases et les lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène (**Corbaz,1990**).

### **1.4.2.4.Résistance systémique induite ISR (Induced Systemic Resistance) :**

L'expression de mécanismes de défense systémique chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes lors d'un phénomène appelé ISR, ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelle attaque des agents pathogènes (virus, bactéries et champignon). De nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (**Gupta et al.,2015 ;Shameer et Prasad.,2017**).

## **1.5. Effets des PGPR sur la croissance végétale :**

La réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde dans les champs et sous serres. Les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruit et des graines (**Van Loon et al.,1998 ;Ramamoorthy et al.,2001**).

Les PGPR jouent un rôle dans la lutte biologique, elles peuvent supprimer un large spectre de maladies bactériennes, fongiques et parasitaires, comme elles peuvent aussi procurer une protection contre les maladies virales. De nombreux travaux présentent la diversité des agents microbiens impliqués dans la lutte biologique, l'antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante-hôte (**A.Boulanger.,2009**).

### **1.5.1. Germination et émergence :**

Les PGPR sont en mesure d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes telles que l'augmentation du taux de germination des graines. De nombreux travaux ont prouvé que l'utilisation des PGPR telles que *Azospirillum* spp (**Rodriguez et al.,2008**), *Hafnia alvei* P3 (**Vargas et al.,2001**), *Pseudomonas* PMZ2 ou avec *B.Japonicum*, *Azotobacter chroococcum* C2 (**Basavaraju et al.,2002**) et *Azotobacter* sp.17 et 20 (**Reyes et al.,2008**) ont donné une meilleure germination des graines de tomate, de poivre, de laitue, du radis, du maïs et des plants de soja.



Bien que les études mentionnées sur l'effet des souches bactériennes sur la germination des différentes espèces végétales aient été menées dans des conditions optimales, **Kaymak et al (2009)** ont suggéré que *Agrobacterium rubi* A16, *Burkholderia gladii* BA7, *putida* BA8, *B.subtilis* BA142, *B.megaterium* M3 appliquées sous stress salin pourrait procurer un pourcentage de germination plus élevé. De plus, les PGPR peuvent être employées contre des agents pathogènes. Ainsi, différents souches telles que *B.pumilus*, *B.subtilis*, *B. amylolique faciens* et *Brevibacillus brevis* ont servi à traiter des semences afin de supprimer les maladies causées par des champignons phytopathogènes. Ces souches augmentant la germination et la vigueur des plantules à des taux très élevés ont réduit l'incidence de la mycoflore des semences (**Begum et al., 2003**). Selon **Araujo(2008)**, l'inoculation des semences avec *B.subtilis* est une technologie prometteuse pour le traitement des semences.

Les travaux de **Lekhal R et Aziez S.E**, 2016 vise à mettre en évidence la capacité d'une rhizobactérie *Bradyrhizobium sp* (lotus) isolée à partir des nodosités de *Lotus ornithopodioides*. Elle a été identifiée et caractérisée par les travaux de Degaïchia H., 2010, 2012, 2015. Elle a la capacité de promouvoir le contournement du stress thermique chez l'orge *Hordeum vulgare* L inoculé par cette bactérie au stade germination et plantule. Leurs résultats suggèrent que *Bradyrhizobium sp. (Lotus)* pourrait contribuer à la tolérance de l'orge en mobilisant les réserves amylolytiques des graines, l'eau et améliorer certains paramètres de germination pour surmonter les contraintes thermiques.

Les travaux de **Moula .E 2015** montrent que en comparant les résultats des deux lots de plantes de Haricot (inoculées et non inoculées), on note une augmentation de la croissance relative chez les plantes du lot inoculées par *Bradyrhizobium sp. (Lotus)*. Ces travaux révèlent ainsi une augmentation du taux de chlorophylle totale, en sucres solubles totaux et en proline et cela en dépit des concentrations en sel.

**Degaïchia, H, 2015** constatent que l'inoculation de *Bradyrhizobium sp. (Lotus)* entraîne une augmentation des valeurs du taux cumulé de germination dans le milieu aux différentes concentrations en cuivre. Les résultats suggèrent que *Bradyrhizobium sp. (Lotus)* pourrait agir par détoxification ou chélation de ces métaux lourds afin de le rendre moins disponible et ainsi contribuer à la tolérance du lotier envers cet élément-trace métallique au stade germinatif. Cette bactérie protège le Lotus (légumineuse spontanée à intérêt fourrager) contre certains champignons phytopathogènes comme le *Fusarium oxysporum* en synthétisant des molécules antifongiques.

D'autres travaux ont montré que les apports exogènes d'osmoregulateurs comme la proline et de glycine bêtaïne ou l'inoculation de bactéries rhizosphériques comme *Azotobacter choroocum* sont une approche possible pour surmonter les effets délétères de l'environnement sur la croissance de l'orge *Hordeum vulgare* L en condition saline (**Silini A; 2012**).

### 1.5.2. Rendement et composantes du rendement :

L'augmentation et la qualité de la productivité agricole sont indispensables. Les applications des PGPR sont les pratiques les plus faibles offrant de meilleurs rendements des cultures agricoles. Les souches *Pseudomonas BA-8* et *Bacillus OSU-142* appliquées sur les feuilles et les fleurs des pommiers ont considérablement amélioré le rendement de la superficie de la section transversale du tronc (de 13.3 à 118.5%), le poids des fruits (4.2 à 7.5%), la longueur des tiges (de 20.8 à 30.1%), et le diamètre des tiges (9.0 à 19.8%) par rapport au témoin (**Pirlak et al., 2007**).

Ainsi, les combinaisons *Bacillus M3* et /ou *OSU-142* et /ou *Microbacterium FS01* ont le potentiel d'accroître le rendement et la croissance des pommiers. En outre, *Pseudomonas BA-8*, *Bacillus OSU-142* et *M3* ont également donné un effet bénéfique sur la longueur, le rendement des cultures et la qualité des fruits d'abricot, de cerise et de framboise (**Esitken et al., 2005**; **Ohran et al., 2006**).

Le poids moyen des fruits de tomate par plante traitée avec *Rhodopseudomonas sp KL9* (82.7g) est supérieur par rapport au témoin non inoculé. La teneur en lycopène dans la tomate mure a augmenté de 48.3% avec l'application de *Rhodopseudomonas sp KL9* (**Lee et al., 2008**). Les espèces efficaces de *Bacillus*, comme *OSU-142*, *RC07* et *M-13*, *Paenibacillus polymyxa RC05*, *P. Putida RC06* et *RC04* et *Rhodobacter capsulatus* peuvent être utilisées dans l'agriculture biologique et durable. Plusieurs études ont clairement démontré le potentiel de ces bactéries dans la croissance et le rendement des plantes (**De Freitas, 2000** ; **Herman et al., 2008**).

### 1.6. Rôle des PGPR dans la tolérance des plantes aux stress :

Certaines PGPR produisent des enzymes ACC désaminase (1-aminocyclopropane - 1-carboxylate), qui facilitent le développement des plantes en réduisant leur production d'éthylène (hydrocarbure gazeux incolore). Les PGPR produisant cet enzyme peuvent ainsi soulager la plante de plusieurs stress causés par des infections, l'absorption de métaux lourds, une salinité élevée et même la sécheresse (**Macking, 2007**).

L'ensemble de ces activités fait des PGPR une alternative biologique et écologique intéressante à considérer par rapport aux différents produits chimiques de synthèse existants. Comme l'acidité, les sols salins constituent un environnement défavorable pour la croissance de la plupart des plantes et de leurs bactéries endophytes. Contrairement à leurs plantes hôtes, les endophytes symbiotiques et associatives peuvent tolérer et vivre en présence d'une salinité élevée, soit en culture (**Rava et al., 2002**). L'osmotolérance des bactéries est variable d'une souche à une autre. En général, l'osmotolérance de *Azospirillum spp* augmente dans cet ordre : *A. amazonense*, *A. lipoferum*, *A. brasilense* et *A. halopraeferens* l'optimum de croissance intervient à 200-400mM NaCl (**Rivas et al., 2002**).

L'adaptation des bactéries aux fortes concentration en sel est due à leur faculté de synthèse et d'accumulation intracellulaire des solutés compatibles. Ces solutés ont pour rôles d'osmo-régulation et protection des bactéries contre les effets de stress salin .Les principaux solutés rencontrés chez les bactéries sont :les ions  $K^+$  ,glycine,betaine,proline ,glutamate,divers glucides et N-acetylglutaminy-glutamine amide(**Boncompagni et al.1999**)

**Peirera et al.(2006)**,ont montré que ,*Rhizobium-leguminosarum bv.viciae* était capable de résister à de fortes concertation en cadmium(cd) grâce à la synthèses intracellulaire de biomolécules(polysaccharides ,thiols et acides organique )capables de séquestrer le cd et ainsi de limiter sa toxicité et les dommages éventuels.De plus ,les auteurs ont aussi mis en évidence la production extracellulaire de Lipopolysaccarides de surface (LPS)pour immobiliser le cd sur la paroi cellulaire et limiter alors son entrée dans la cellule.

Il existe également de nombreux travaux justifiant l'utilisation de microorganisme bénéfique dans l'amélioration de la résistance des plantes aux stress environnementaux néfastes, par exemple, la sécheresse, les sels, la carence en éléments nutritifs, et les contamination par les métaux lourds(**Kloepper et al.,2007**).

## **2.Généralités sur l'azote**

### **2.1.L'azote :**

l'azote est le plus souvent limitant pour la croissance des plantes. ce nom est paradoxal, d'ailleurs :il vient du préfixe «a-» privatif et du radical grec «ζωτ» (zoot) vivant ;alors que l'azote est nécessaire à la vie (**pujic,2009**).

Est un constituant essentiel du protoplasme(**Madigan et al.,2007**).Tous les organismes vivants ont besoin de cet élément pour synthétiser les protéines et les acides aminés (**Tortora et al .,2003**) .

Il peut représenter jusqu'à 7% de la matière sèche et parfois beaucoup plus à certaines périodes du cycle végétatif (**Tourte et al .,2005**).La majeure partie de l'azote se trouve sous forme de diazote( $N_2$ ) atmosphérique (**Pèret, 2007**).Les carences azotées dans le sol sont souvent le principale facteur limitant la croissance des plantes(**Raven et al.,2007**).

L'azote joue un rôle déterminant sur le rendement des cultures et sur la qualité des productions.Les plantes puisent cet élément dans le sol sous forme minéral ou dans l'air pour le cas des légumineuses(**Comifer,2013**).

Son rôle est directement lié à la couleur de la plante ,le développement racinaire ,la présence foliaire et tout autre partie végétative de la plante ,La transformation de l'azote atmosphérique en ammoniac repose sur le pouvoir des bactéries à réduire le diazote (**Hopkin,2013**).

**2.2.La fixation de L'azote** :la fixation de l'azote joue un rôle majeur dans le cycle de l'azote.

Les plantes sont des organismes eucaryotes ,caractérisés par la présence d'un noyau limité par une enveloppe.Les organismes eucaryotes sont incapable de fixer le diazote parce qu'ils ne possèdent pas la machinerie biochimique appropriée.Est un processus qui permet de produire des substances protéiques à partir de l'azote gazeux présent dans l'atmosphère et l'environnement .

L'azote fixé par les rhizobactéries notamment le rhizobium peut être (**Tortora ,2003**) :

-Utilisé par la plante hôte, après avoir subi une nitrification de l'ammoniac en nitrites puis en nitrates ,assimilable par la plante.

-Excrété vers le sol à partir des nodules des racines.

-Libéré dans le sol quand les nodules meurent ou quand les résidus des plantes se décomposent après la récolte dans le sol.

Il existe trois conditions à la fixation d'azote par les bactéries (**Clément Delamotte,2018**)

-Il faut un faible taux d'oxygène car la nitrogénase est inactive .Ainsi ,ce sont les bactéries en condition d'anaérobie qui pourront permettre la fixation d'azote .Elle se situent dans les ports remplies d'eau ou dans les agrégats .Pour cela ,l'oxygène est capté via mécanisme :La respiration et la léghémoglobine qui permet de fixer l'oxygène pour qu'il ne circule par librement.

-La présence de ressource et énergie comme le carbone est indispensable.Les bactéries doivent en avoir en grand quantité pour que la fixation d'azote soit efficace. pour cela ,elles peuvent s'associer aux bactéries qui décomposent la paille.

-En présence d'azote minérale, la fixation est inhibée .Pour que la fixation ait lieu, il doit y avoir peu voire pas du tout de fertilisation .

l'azote atmosphérique est fixé par voie industrielle ,ou par voie biologique et naturelle

### **2.2.1.La fixation industrielle**

Pour briser la triple liaison du diazote et le convertir en ammoniac , l'industrie utilise le procédé Haber-Bosch ,ce qui nécessite une pression de 450 à 500 bars et il faut l'équivalent de 2 à 3tonnes de pétrole pour produire une tonne d'engrais azoté par ce processus .

Environ 10à40 millions de tonnes d'ammoniac sont fabriquées chaque année par ce procédé. C'est environ 1/5 de ce que puisent les bactéries fixatrices d'azote sur toute la planète. L'ammoniac produit peut être utilisé directement ou converti en nitrates tels que nitrate de sodium( $\text{NaNO}_3$ )ou nitrate d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

La moitié de l'engrais azoté utilisé en agriculture est absorbé par les plantes cultivées. Le reste est absorbé par d'autres plantes ou lessivé (**Peret,2007**).

### **2.2.2. La fixation biologique de l'azote :**

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est l'une des premières étapes du cycle de l'azote.

C'est un processus métabolique, réalisé exclusivement par des organismes procaryotes (azotobacter ou rhizobiums) possédant les enzymes nécessaires pour fixer l'azote atmosphérique ( $N_2$ ), notamment une enzyme appelée la nitrogénase. Cette enzyme permet de convertir le nitrogène ( $N_2$ ) en azote ammoniacal ( $NH_3$ ), qui lui est assimilable par la plante. Cette dernière en peut constituer les molécules nécessaires à sa croissance (notamment les protéines) (**Hopkin,2003 ;Schneider et al.,2015**)

L'intérêt de la fixation biologique de l'azote par la culture des légumineuses a été mis en avant de longue date comme support de la fourniture d'azote aux systèmes cultivés et demeure stratégique dans le contexte actuel de mise au point de modes de production agricoles plus économes énergétiquement et plus respectueux de l'environnement (**Thiébeau et al.,2010**).

En effet, l'azote de la fixation symbiotique a une contribution plus importante pour la croissance des plantes par rapport à celui des engrais azotés appliqués dans l'agriculture des pays en développement. L'azote fixé dans l'atmosphère contribue pour 50 à 60% du N des arbres fixateurs d'azote, 70 à 80% du N des légumineuses fourragères. Cette réserve d'azote, étant stockée dans les feuilles, les nodules ou bien les autres organes, reste plus longtemps disponible dans les sols comparativement à l'azote minéral fortement lessivé par les eaux (**Selami.,2017**)

### **2.3. les microorganismes qui fixent l'azote atmosphérique :**

Les microorganismes fixateurs d'azote ou diazotrophes appartiennent à deux des trois règnes primaires : les archaebactéries et les eubactéries.

Une bactérie fixatrice d'azote est un microorganisme capable de capter l'azote atmosphérique, le diazote et le restituer à la plante sous une forme assimilable : l'ammoniac. Elle résulte de l'activité d'un enzyme qui s'appelle la nitrogénase (**Davet,1996 ;Prescott et al.,2003**).

Les microorganismes qui fixent le nitrogène ( $N_2$ ) sont tous des microorganismes diazotrophes. Ils sont répartis en deux groupes :

**2.3.1.les fixateurs libres :** (appelées aussi bactéries fixatrices d'azote non symbiotiques). Vivant dans le sol, appartiennent à des genres très divers. se sont principalement :

→des bactéries aérobies :*Azotobacter, Azomonas.*

→des bactéries anaérobies :*Clostridium.*

La majorité des bactéries libres fixatrices d'azote sont capables de fixer de grandes quantités de cet élément en laboratoire. Le rôle de ces bactéries dans la fixation biologique de l'azote dans les prairies, les forêts et la toundra arctique est néanmoins considérable (**Tortora et al.,2003**).

**2.3.2.les fixateurs symbiotiques (non libre) :**

En 1995, Ganry et Domergues ont divisés les fixateurs d'azote en deux groupes majeurs de bactéries phylogénétiquement différents. Selon les propriétés symbiotiques de fixation d'azote dans les nodules des plantes vasculaires est rencontré chez les rhizobias (principalement *Alpha-Proteobacteria*) qui s'associent essentiellement avec des plantes légumineuses appartenant à la sous-famille des Angiospermes (*Fabaceae*), et les Frankia (des *Actinobacteria*) qui s'associent avec un spectre plus large de plantes (**Franche et al.,2009**).

**3.LE MACROSYMBIOTE :Les légumineuses**

**3.1.Généralités :**

Le terme «Légumineuse» est d'origine confuse. En latin «légumière» signifie gousse puis le sens du mot s'est élargi progressivement pour désigner tous les légumes ,en anglais «végétales » (**Gallais et Bannerot,1992**).

Les légumineuses fourragères sont des plantes de type dicotylédones appartenant à la famille botanique des Fabacées .Elles représentent la troisième famille botanique par leur nombre d'espèces (18000 référencées) devant les composées et les Astéracées. La plupart des légumineuses cultivées appartiennent aux sous familles des Faboideae ou Papilionoidea et ,de façon plus précise ,aux tribus des Fabeae, des Phaseolae et des Triflorieae. En France, on connaît environ 376 espèces de légumineuses naturelles ou subspontanées (y compris ,et seulement ,2% de la flore mondiale de légumineuses (**Schneider et Huyghe,2015**).

Les légumineuses (ou Fabaceae) représentent une large famille chez les angiospermes, comprenant plus de 650 genres et 18000 espèces.les fabaceae sont divisées en trois sous – familles :les Mimosoideae, les Caesalpinoideae et les Papilionoideae(**SELAMI ,2017**).

Elle sont présentes dans presque tous les milieux terrestres ,caractérisées par une large diversité et sont dominées par les espèces ligneuses et vivaces(**change.,2011**). Les légumineuses entretiennent une relation très privilégiée avec la rhizosphère qui entoure leurs racines.

Ainsi ,les légumineuses couvrent globalement 66%des besoins de subsistance des communautés rurales dans les pays en voie de développement, tout en assurant un maintien durable de la fertilité des sols et l'équilibre des écosystèmes(**Domergue,2006**).

Une des principales caractéristiques des légumineuses fourragères réside dans leur capacité à former un partenariat(association symbiotique ) avec une classe de bactéries (*Rhizobium* sp) capables de fixer l'azote atmosphérique inerte (N<sub>2</sub>) pour le transformer en azote biologiquement utile.Cet azote est ensuite mis à la disposition du reste de l'écosystème par une diversité de circuits de recyclage : rhizodéposition , décomposition des organes végétaux mort, recyclage par les déjections des animaux( pâturage ou épandage) (**vertes et al.,2010**) .Cette caractéristique essentielle permet d'apporter une diversité de services à l'échelle de la rotation et plus largement du système fourrager (**Patrice et al.,2016**).

Les légumineuses sont cultivées principalement comme source de protéines pour la consommation humaine (haricot, pois, fève...) ou l'alimentation animal (soja, luzerne, féverole...).elles constituent aussi une source important d'huiles végétales(arachide) et de bois de qualité(bois de rose, ébène).

### **3.2.Caractères communs des fabacée :**

D'après **Soltner (1988)** :

- Leur appareil végétatif herbacé comprend :
  1. Des feuilles composé des plusieurs folioles.
  2. Un système racinaire moins fasciculé et plus profond que celui des graminées.
- Leur appareil reproducteur composé d'inflorescences ,apparaît en général plus tardivement que les épis des graminées.
- Leur apport feuilles /tiges et leur teneur en matières azotées, plus élevées que ceux des graminées épiées, diminuent avec l'âge de la plante.
- Ce sont des plantes allogames, ou à fécondation croisée.

Si les graminées assurent surtout le rendement et la repousse rapide, les légumineuses assurent :

- La qualité du fourrage ,notamment en matières azotées ,en calcium et phosphore.
- Une partie de l'alimentation azotée, grâce à l'activité de leurs nodosités



**Figure 03 :**Illustration botanique de *Vicia sativa* (Zohary,D.,2000).

**3.3.Intérêt des légumineuses fourragères spontanées :** Les légumineuses sont importantes du point de vue économique ,agronomique et nutritionnel (Ouellet,2001).

Leur Intérêt agronomique c'est leur aptitude à la fixation symbiotique de l'azote ,qui leur permet de produire en abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azotée d'où leur intérêt dans le cadre d'une «agriculture durable» (Journet et al.,2001).

Source des éléments nutritionnels de base nécessaires à l'animal car il est capable de fournir aux vaches et aux moutons environ 75% de leurs besoins en protéines, que ce soit des aliments à base de légumineuses pouvant fournir 40-50%de l'énergie requise (Apaba., 2012).

Elles ne nécessitent aucune fertilisation azotée et contribuent naturellement à enrichir le sol en azote ce qui permet de réduire les coûts de production et de diminuer les pertes dues à l'érosion (Cavallès,2009)

Elles exercent ,un effet favorable sur les organismes présents dans les sols en contribuant à leur multiplication ,leur diversité ,leur activité et peuvent également perturber les cycles



des adventices ,des ravageurs et des agents pathogènes(**FAO ,2016**).

Elles jouent un rôle très important dans la lutte contre l'érosion, la désertification et la dégradation des sols( **Tohami et El Menzouri,2000**)

Malgré leur différents intérêts :agronomique, nutritionnels et économique et leurs fonctions bénéfiques pour des agro-écosystèmes durables et multifonctionnels ;l'introduction des légumineuses dans les systèmes de cultures est encore insuffisante (**Magrini et al.,2016**)

La production de fourrage vert conduit à la durabilité de la production animale, la présence de nourriture entraînant continuellement l'absence de production de lait et de viande et la production de protéines nécessaires à l'alimentation de la communauté et de l'agriculture et de la terrien bon état et pendant des générations(**Apaba.,2012**)

### **3.4.les espèces spontanées des légumineuses fourragère existent en Algérie(précisément dans la Mitidja) et leur intérêt agronomique et écologique :**

#### **3.4.1. *Vicia sativa L (Vesce commune) :***

C'est une plante spontanée ,elle s'est naturalisée en maintes régions du globe. très variable, elle compte plusieurs sous-espèces, dont certaines sont cultivées comme fourrage ,alors que d'autre sont de simples adventices(**Burnie et al.,2005**) .

De nos jours, la vesce commune est essentiellement cultivée comme plante fourragère, principalement comme fourrage vert .L'utilisation des graines est plus rare, en dépit de leur valeur nutritive liée en particulier à un taux élevé de protéines.Ils'avère qu'elles soient toxiques ,au moins chez les animaux monogastrique ,lorsqu' elles sont consommées régulièrement et en quantité notable (**Bouby et Léa,2006**).

Elle a la capacité de fixer l'azote, et peut être cultivée en association avec une céréale (seigle, avoine, triticale)qui lui sert de tuteur. Elle peut être utilisée comme couvert végétale car elle produit une important biomasse (20à30t/ha) qui étouffe les adventices et est ensuite restituée au sol.La vesce commune (*vicia sativa*) a été introduite par les colons la production de foin de vesce-avoine . Cependant (**Quezel et Santa 1962**) mentionnent près de 36 espèces et sous-espèces de vesces spontanées en Algérie.

#### **3.4.1.1.Intérêt agronomique de la vesce :**

Ces plante améliorent les légumineuses sont des bons precedents culturaux pour les céréales et la texture et la structure du sol .Elles envahissent le sol en matières organique et en azote.Les légumineuses peuvent concurrencer les mauvaises herbes grâce à leur développement accéléré.

La *vesce commune* est principalement utilisée pour l'alimentation des ruminants. En France cette légumineuse est peu utilisée pourtant elle présente de nombreux avantages principalement dans la plante entière et ses graines qui sont des aliments très riches en protéine pour l'alimentation animale.

### **3.4.2. *Medicago* :**

Le genre *Medicago* regroupe 84 espèces présentes majoritairement autour du bassin méditerranéen (**Béna et al.,2005**), il fait partie de la famille des Papilionacées, il comporte 21 espèces herbacées pérennes, 63 espèces annuelles (**Small et Jamphe,1989**). Comme beaucoup des espèces de cette famille, les espèces de *Medicago* fixent l'azote atmosphérique grâce à la symbiose. C'est le fourrage le plus important en Algérie. Il constitue le fourrage le plus utilisé dans l'alimentation du bétail (**Baameur.,1998**). La distribution des espèces du genre *Medicago* diffère selon l'espèce et selon les parties et les étages bioclimatiques.

L'espèce la plus connue est *Medicago sativa*, la luzerne cultivée, aussi appelée alfalfa, est une plante herbacée fourragère. Elle bénéficie d'une croissance rapide, et elle est à la fois très rustique et bien résistante à la sécheresse. Ses graines étant brillantes, elles sont à l'origine de son nom vernaculaire puisqu'en latin *Lucerna* signifie lampe, et en provençal *Luzerno* est employé pour évoquer le ver luisant.

#### **3.4.2.1. L'intérêt agronomique et écologique :**

Elle est très cultivée pour sa richesse en protéines (allant jusqu'à 55%) et ses qualités d'amélioration des sols. La luzerne est très utilisée pour l'alimentation du bétail car elle est une véritable source industrielle de protéine. Ses gousses et ses feuilles forment la base de l'alimentation des bétails en saison sèche. Sa capacité à préserver un stock de semence dans le sol grâce au taux important de graines dures (**Prosperi et al.,1995**).

En plus de cette importance fourragère et grâce à leur association avec les bactéries du sol du genre *Sinorhizobium meliloti*, un hectare de luzerne peut fixer jusqu'à 600 kg/an d'azote (**Denarie et Joly,1994**).

La majorité des espèces sont capables de produire l'acide indole acétique, l'ammonium, solubilisent le phosphate inorganique, produisent des sidérophores et des exopolysaccharides. Ce qui fait de ces bactéries des candidats potentiels pour la formulation et la production à l'échelle industrielle des bio-engrais (**Baha et Bekki.,2018**).

### **3.4.3. Hedysarum :**

Le genre *Hedysarum* appartient à la famille des papilionaceae qui est très répandue dans le monde ,pousse sur des sols variés et dans des conditions climatiques différentes ,et présente ainsi une grande diversité. Les espèces de ce genre sont rencontrées à l'état naturel dans tout le bassin méditerranéen ,en particulier en Afrique du nord. Ces espèces d'intérêt agronomique ,grâce à leur qualité fourragère et leur capacité à améliorer la fertilité des sols par fixation d'azote atmosphérique ,peuvent être exploitées dans la valorisation des terres dégradées , surtout dans les sols arides et semi-arides (**Hannachi et al.,2004**).

Selon **Quezel et Santa(1962)** ,le genre *Hedysarum* comporte neuf espèces (annuelles et vivaces) dont plusieurs sont des endémiques très localisées, comme *H.naudinianum Coss et H.perrauderianum Coss*, qui ne se développent qu'en Algérie.

#### **3.4.3.1. Hedysarum pallidum Desf :**

Très peu de données existent sur *H.pallidum Desf* ,espèce décrite pour la première fois par Desfontaines. C'est une légumineuse à vocation fourragère, pousse spontanément en Algérie, au Maroc et Tunisie ,elle a une écologie peu marquée, se rencontre dans des milieux assez divers (**Benhizia,2001**).

Le genre *Hedysarum* appartient à la sous famille des papilionaceae qui est très répandue dans le monde, pousse sur des sols variés et dans des conditions climatiques différentes ,et présente ainsi une grande diversité. Les espèces de ce genre sont rencontrées à l'état naturel dans tout le bassin méditerranéen, en particulier en Afrique du nord.

#### **3.4.3.2 L'intérêt agronomique et écologique :**

Ces espèces d'intérêt agronomique, constituent un patrimoine phylogénétique performant pour la production de fourrage et l'amélioration de la fertilité des sols par la fixation de l'azote atmosphérique, peuvent être exploitées dans la valorisation des régions dégradées, surtout dans les zones arides et semi-arides(**Hannachi et al.,2004**).

### **3.4.4. Lablab purpureus en Algérie :**

Est une plante herbacée vivace grimpante ou buissonnante ,souvent cultivée comme une annuelle de la famille des fabaceae (**Maletic et Jevdjovic, 2007**).L'origine de *Lablab purpureus* est l'Inde, l'aire de répartition géographique de ces espèces comprend la région méditerranéenne ,l'Asie et le continent américain (**Burnie.,2006**).

*Lablab purpureus* est adaptée aux sols sablonneux ou sablo-limoneux acides ou voisins de la neutralité(**Zhao,2008**).

Le climat méditerranéen de l'Algérie rend possible la culture de cette plante dans de vastes régions du nord algérien (Oran, Alger, Bejaia) allant des zones sublittorales aux hautes plaines (Bouira, Sétif, Kabylie) (Younes, 2010). Ces dernières années, la stratégie nationale élaborée par le ministère de l'agriculture prévoit l'amélioration qualitative et quantitative des parcours en utilisant des associations végétales fixatrices d'azote pour l'amélioration des sols (Younes, 2010).

Sur le plan génétique, la caractérisation des rhizobies *Lablab purpureus* a été initialement rapportée par de nombreux rhizobies indigènes caractérisés ont été attribués au genre *Bradyrhizobium* (Geo, 2011). D'autres études plus récentes ont montré que les bactéries appartenant aux genres, *R. leguminosarum*, *Rhizobium* sp, *Ensifer* (*Sinorhizobium*) sp et *Mesorhizobium* sp peuvent également noduler le *Lablab purpureus* (Li Chang et al., 2011).

En Algérie, le *lablab* est spontanément nodulé par des rhizobies dans son aire naturelle et dans les sols où il a été introduit. Aucun des études n'ont été consacrées à la caractérisation du microsymbiote par rapport à la plante hôte. Aucune étude n'a été jusqu'à lors établie pour étudier la diversité génétique des rhizobies indigènes. Les microsymbiotes de *Lablab* ont fait l'objet de plusieurs études dans le monde au cours des dernières années. Ces études ont permis de noter la présence de souches autochtones de rhizobies nodulant l'espèce *purpureus* en Chine (Gao et al., 2011).

Quelques études ont été réalisées pour déterminer la capacité des symbiotes de *lablab purpureus* à noduler d'autres plantes légumineuses et pour évaluer leur efficacité symbiotique. La sélection des souches performantes sous différentes conditions a été également abordée (Mohammed et al., 2009).

#### **3.4.4.1. Intérêt agronomique et écologique :**

*Lablab purpureus* se caractérise par son haut potentiel de production de fourrage (Talamucci et al., 2001). En plus de son haut potentiel de production fourragère, *lablab* offre la possibilité d'améliorer la teneur en matière organique et de maintenir une richesse en azote du sol (Douglas et al., 1985 ; Pinto et al., 1993 ; Stringi et al., 1998. Ben jeddi ; 2005).

Grâce à son système racinaire et pivotant, *lablab* offre l'avantage de protéger le sol contre l'érosion (Watson, 1982) d'où l'intérêt de son installation dans les terrains marneux et accidentés très vulnérables à l'érosion (Zouaghi, 2001 ; Slim, 2004, Slim et al., 2011).

Et aussi utiliser pour l'alimentation humaine grâce à ces graines qui sont riches en protéine et les lipides (Maletic et al., 2007), aussi utilise comme plante de couvert pour l'amélioration et la conservation de la stabilité du sol.

Elle est aussi utilisée comme plante ornementale (Gladstones, 1998) et comme plante de couvert pour l'amélioration et la conservation de la stabilité du sol (Williams, 1993).

### 3.4.5. *Lathyrus* :

Le genre *Lathyrus* appartient à la famille fabaceae (synonyme de viciaeae) avec *vicia*, *Lens*, *Pisum* et *vavilovia* (Patto et Rubiales, 2014). C'est le plus grand au sein de cette famille (Sammour et al., 2007) avec environ 187 espèces et sous espèces (McClutchan, 2003).

Son principale centre de diversité est dans les régions méditerranéennes (Patto et Rubiales, 2014) où il s'étend en Algérie, Syrie, Liban, Egypte, Libye, Maroc, France et en Espagne (Sammour et al., 2007). Les espèces de *Lathyrus* sont utilisées pour la couverture du sol, comme engrais vert, contrôle de l'érosion et la réhabilitation des incultes et brûlées (Drouin et al., 1996).

#### 3.4.5.1. Intérêt agronomique et écologique :

En Algérie, le genre *Lathyrus* est cultivé principalement pour la production de grains (aliments) et également utilisé comme fourrage par les agricultures marginaux (Boukecha et al., 2017). En raison de la résistance des espèces de *Lathyrus* à la sécheresse, la résistance des graines aux ravageurs, l'adaptabilité à presque tous les types de sol ainsi que les conditions climatiques défavorables (Sammour et al., 2007), le *Lathyrus* peut jouer un rôle important dans les immenses défis agricoles actuels.

Les membres du genre *Lathyrus* comprennent des cultures vivrières et fourragères, les plantes ornementales, les nitrifiants du sol, les stabilisateurs de dunes, les plantes agricoles importantes, les mauvaises herbes et les organismes modèles pour la recherche génétique et écologique (Patto et Rubiales, 2014), entre autres *Lathyrus sativus* est largement cultivée comme culture vivrière, tandis que d'autres espèces sont cultivées dans une moindre mesure pour la nourriture et le fourrage.

Ces espèces comprennent *L. ochrus*, *L. cicera* et *L. clymenum* pour la consommation de leur graines mais principalement pour la production de fourrage, *L. tingitanus*, *L. latifolius* et *L. sylvestris* en tant qu'espèces fourragères ; *L. odoratus* à des fins ornementales. Aussi l'espèce *Lathyrus amphicarpos*, se trouve actuellement au Moyen-Orient et a le potentiel de devenir important en tant qu'espèces fourragères auto-ensemencées (Campbell, 1997).

#### 3.4.6. *Loitier corniculé* :

Le *lotier corniculé* est une plante fourragère cultivée qui entre dans la composition des mélanges de semences pour prairies mixtes graminées-légumineuses. Non volante, elle a la capacité de se réensemencer sous certaines conditions favorables. Les tiges sont plus petites en diamètre et moins rigides que les tiges de luzerne. Les fleurs sont jaune vif et chaque fleur produit une gousse de graine. Les gousses de graines irradient du pédoncule des fleurs, ressemblant au pied d'un oiseau. Les feuilles sont composées de cinq folioles ovales. Le *lotier corniculé* a une racine tapissée bien développée de nombreuses branches latérales.

Le lotier *corniculé* devrait être inoculé avant la plantation pour assurer une nodulation suffisante du système racinaire pour la fixation de l'azote (**Therapeutes magazine.,2017**).Le lotier cornu était connu comme plante fourragère dans les prairies d'élevage .il n'avait pas d'usage médical reconnu.

#### **3.4.6.1.Intérêt agronomique et écologique :**

Tout le monde reconnaît par contre au lotier une très grande souplesse d'adaptation aux dure :acidité, terres superficielles ,défriches, sols battants, mauvaise fertilisation ,sécheresse...

La *lotier* possède en outre une très bonne qualité avec fourrage relativement facile à faner.Il ne subit aucun dégât important de maladies ou de parasites. Sa pérennité, insuffisante dans les association exploitées intensivement ,devient excellente dans les prairies plus extensives (**M.Rieuneau**).

Résiste très bien aux terrains séchant et superficiels, résiste au froid, bien adapté au pâturage (non météorisant),très bonne valeur alimentaire et riche en protéines, bonne pousse estivale ,sensible aux excès d'eau(sauf le lotier des marais qui supporte la submersion) ,facilement dominé en association (tardif) ,implantation délicate (**Ruisi et al.,2011**).

#### **4.LE MICROSymbiote :Les rhizobia.**

##### **4.1.Généralités :**

Rhizobia ou rhizobium est un terme qui a été donné aux bactéries du sol qui sont capables d'induire des nodules sur les racines des légumineuse et d'y fixer l'azote atmosphérique en symbiose. Récemment ce terme a été substitué par le terme de BNL (bactéries nodulant les légumineuses) (**Zakhia et deLajudie, 2006 ;Zakhia et al.,2004**).

Tous les rhizobia caractérisés sont des bactéries gram –négatives, en forme de bâtonnets à l'été libre, non sporulantes et généralement mobiles grâce à la présence d'un ou plusieurs flagelles, présentes dans le sol et appartenant aux sous-classes  $\alpha$  et  $\beta$  protéobactéries, quatre genres d'  $\alpha$  –protéobactéries :*Bradyrhizobium* , *Mesorhizobium* , *Rhizobium* , *Sinorhizobium* (**SELAMI.,2017**).

##### **4.2.Caractérisation des rhizobia :**

Plusieurs étude ont été réalisées par les microbiologiques pour évaluer la diversité des rhizobia ;ces études ont permis l'analyse de différents traits phénotypiques et génétiques qui sont devenus par la suite une base de définition du concept de l'espèce(**De lajudie et al.,1994,Faghire et al.,2012**).

**4.2.1.Caractères morphologiques :**Les rhizobiums sont des bactéries gram négatifs, non sporulant , on distingue deux formes :

#### **4.2.1.1.La forme végétative :**

Les rhizobiums sont mobiles par un seul flagelle polaire ou par deux à six flagelles péritriches et apparaissent sous forme de bâtonnets réguliers de 0.5 à 0.9 µm de largeur sur 1.2 à 3 µm de longueur (**somasegaran et hoben ,1994**). Pour les rhizobiums à croissance rapide, les cellules sont mobiles par 2-6 flagelles péritriches. Les rhizobiums à croissance lente sont mobiles par un seul flagelle polaire ou un flagelle subpolaire (**Somasegaran et Hoben, 1994**)

#### **4.2.1.2.La forme bactéroïdes :**

A l'intérieur des cellules du cortex racinaire, les rhizobiums se transforment en bactéroïdes de forme branchée ,sphérique ou en massue ( **Perry et al.,2004**). Il existe des bactéroïdes réguliers et des bactéroïdes irréguliers. Chez les groupes *rhizobium trifoli* ,*rhizobium meliloti* et *rhizobium leguminosarium*, les individus sont irréguliers et ont une taille à peu près dix fois plus grande que ceux de la forme végétative (**Somasegaran et Hoben,1994**).

#### **4.2.2.Caractères biochimiques :**

Les rhizobiums sont des bactéries chimioorganotrophes ; ils utilisent des carbohydrates relativement simples comme le glucose , le mannitol , le saccharose et des composés aminés. Certaines espèces exigent des vitamines pour leurs croissances .Les rhizobiums à croissance rapide peuvent croître dans une large gamme de carbohydrates ,mais ils ont une croissance meilleure en présence du glucose ,le mannitol ou le saccharose. La majorité des souches à croissance lent préfère le pentose (**Somasegaran et Hoben.,1994**).Les rhizobium n'assimilent pas l'azote en dehors de la plante et ont besoin d'une source d'azote ammonical ou aminé pour se développer à l'état libre (**Pelmont,1995**).

#### **4.2.3.Caractères physiologiques et cultureux :**

Les caractères physiologique et cultureux regroupent le taux de croissance de la bactéries sur le milieu YME(Yeast Extract Mannitol) (**vincent,1970**),la capacité d'utiliser différents carbohydrates et différents source d'acides aminées, la tolérance à différents concentration en sels et aux variations du ph, la croissance à différents températures, la résistance aux antibiotique ,aux métaux lourds ,ect

Rhizobium est un microorganisme aérobie ou micro-aérophile et peut se contenter d'une faible tension en oxygène (pression de 0.1 atm ). Le Ph optimum de la croissance se situe entre 6 et 7 , plus exactement 6.8, mais certaines souches tolèrent un milieu acide (PH =4) comme *Rhizobium japonicum* . La température idéal se situe entre 25-30°C (**Somasegaran et Hoben ,1994**).

Le yeast mannitol agar (YMA) est un des milieux solides les plus utilisés pour la culture des Rhizobia (**Vincent.,1970**). Sur ce milieu les colonies apparaissent sous forme circulaire, blanche, opaque ou laiteuses, humides, translucides, elles peuvent être brillantes. Les colonies jaunes sont pâles rencontrées surtout dans les cultures âgées (**Somasegaran et Hoben,1994**). Il est admis que seules les bactéries correspondant aux bactéries non différenciées en bactéroïdes sont capables de pousser sur boîte de pétri (**Boivin –Masson et al.,2006**).

#### **4.3.Classification et taxonomie de rhizobium**

Actuellement, les rhizobium comportent 13 genres et 117 espèces (**wier.,2016**). Elles appartiennent à la subdivision alpha des protéobactéries dans les genres de :Rhizobia, Mesorhizobium et Bradyrhizobium (**Zakhia et De Lajudie,2001**)

Les rhizobium isolés jusqu'à présent appartenaient tous au groupe des alpha-Proteobacteria. D'après **Somasegaran et Hoben (1994)**, on distingue trois groupes de rhizobia :

**-Les Rhizobia** à croissance rapide qui produisent une turbidité dans le milieu liquide en 2-3 jours.

**-Les Mesorhizobium** à croissance moyenne qui produisent une turbidité dans le milieu liquide dans 3-4 jours.

**-Les Bradyrhizobium** à croissance lente qui produisent un trouble dans le milieu dans 4-5 jours.



**Tableau 01 :taxonomie du Rhizobium (Frank,1889)**

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Alpha Proteobacteria
Ordre	Rhizobiales
Famille	Rhizobiaceae
Genre	Rhizobium

**4.4.Les espèces de Rhizobiums qui vivent en symbioses avec les légumineuses spontanées :** Il existe plusieurs espèces de Rhizobium qui vivent en association avec les légumineuses fourragères spontanées précisément dans la zones méditerranéen parmi lesquelles :

- *Rhizobium meliloti* :*Melilotus sp ;Medicago stiva.*
- *Rhizobium trifolii* :*trifolium sp*
- *Rhizobium leguminosarum* :*Lathyrus ,Vicia sativa*
- *Rhizobium sp* : *Lablab purpureus*
- *Rhizobium sullae* : *Hedysarum coronarium*

## **5.La symbiose légumineuses-rhizobia.**

### **5.1.Aperçu général sur la processus de la symbiose :**

La symbiose est la fusion plus ou moins intime de deux être vivants d'espèces différentes qui correspond à une association à caractère obligatoire et à avantages et inconvénients réciproques et partagés ,entre partenaires .Une exemple de symbiose est l'association entre une bactérie de la famille des Rhizobiaceae et une plante de la famille des légumineuses (**Broughton et al.,2003**).

La symbiose **BNL (Bactéries Nodulant Légumineuses)** –légumineuses ,décrite pour la première fois par **Frank (1889)**,présente un modèle d'étude d'association entre eucaryote et procaryote.

Elle présente un intérêt agronomique considérable ,la symbiose permet l'enrichissement naturel du sol en azote et la réduction des apports d'engrais . L'azote fixé par la symbiose est restitué au sol en azote et la réduction des apports d'engrais .

L'azote fixé par la symbiose est restitué au sol après la décomposition de la matière végétale (racines ,nodules ,parties aériennes) ,ou via les déjection des animaux ayant pâture (Selami Nawal.,2017).

Le concept sera développé et explicité par le botaniste allemand de Bary en 1879 selon lequel la symbiose est l'association de deux organismes spécifiquement distincts ,qui vivent ensemble (Lefevre, 2004).

### **5.2.Mécanisme et spécificité de la reconnaissance symbiotique :**

La symbiose rhizobium-légumineuses caractérisé par la spécificité d'hôte, les légumineuse vivent en association symbiotiques avec les bactéries du sol de la famille des Rhizobiaceae. Cette symbiose est très spécifique ce qui signifie que chaque espèce de rhizobium ne peut infecter qu'un spectre d'hôtes restreint. Ces bactéries pénètrent le système racinaire et y forment des nodules qui ont la capacité de fixer et de réduire l'azote atmosphérique en forme assimilable par la plante.

cette symbiose augment le rendement des légumineuses et des graminées en mélange ainsi que celle des espèces en rotation sans nécessiter d'apport de fertilisant azotés, réduisant ainsi les coûts de production à la ferme (Emmanuelle et al .,2019).

Cette spécificité symbiotique est en relation avec la composition des exsudats racinaires qui est intimement liée à l'espèce , rendant la rhizosphère plus spécifique et favorable à ses partenaires symbiotique(Sharma et al.,2004) .

### **5.3.L'infection et la nodulation.**

Les bactéries s'attachent aux racines par l'intermédiaire d'une molécule d'adhésion spécifique localisée à la surface des cellules ,la rhicadhésine .Des lectines sont également impliquées dans l'adhésion mais elles participent à un degré moindre que la rhicadhésine (Perry et al.,2004).Les bactéries migrent vers l'extrémité des poils absorbants, s'y fixent et libèrent à leur tour des hormones (acides gibbéréllique et indole-acétique) qui assouplissent la paroi cellulaire (Dupuy et Nougier ,2005) .Le rhizobium s'apprête alors à entrer dans la plante .Le facteur de nodulation induira une dépolarisation de la membrane ,une fuite d'électrolytes et une oscillation de la concentration du calcium (Bélangier ,1998).

Cette interaction induit une déformation du poil absorbant à 360°appelée « crosse de berger ».Seuls les jeunes poils absorbants peuvent être courbés pour entourer les cellules bactériennes(Macharfi,2001).En réponse le poil absorbant sécrète une enzyme, la polygalacturonase ,qui fragilise la paroi ;la pénétration des bactéries est ainsi facilité(Dupuy et Nougier ,2005).

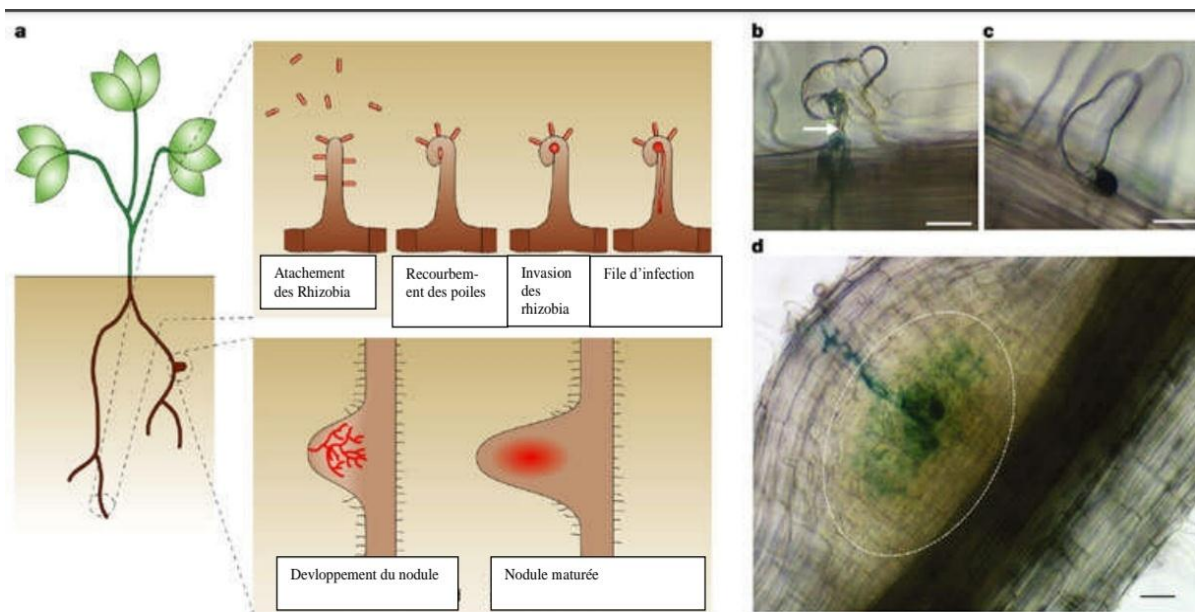
Cette pénétration se fait par un mécanisme d'invagination (**Perry et al.,2004**). Les cellules bactériennes entrent par un poil absorbant, perdent leur membrane externe et changent de forme ,tout en produisant une cytokinine (sorte d'hormone de croissance) (**Pelmont,2005**).

Dans le poil absorbant ,des vésicules golgiennes convergent vers le point de contact ,forment un cordon amorphe contenant des mucilages limités par des fibrilles celluloseuses d'origine végétale ;c'est le filament d'infection (**Dupuy et Nougier,2005**).

Ce cordon relie les cellules épidermique aux cellules corticales .De la , l'organogenèse se poursuivra jusqu'à l'obtention d'un nodule (**Bélangier,1998**). Arrivé dans la zone corticale, le cordon se ramifie et envahit la presque totalité de la racine .

La zone corticale réagit par l'augmentation de taille mais aussi par la multiplication cellulaire activée par la libération de cytokinines bactériennes ; un méristème se forme ou différencie une excroissance appelée nodule (**Dupuyt Nougier,2005**).

La dernière étape de la formation du nodule consiste à un relâchement des rhizobia à partir des cordons d'infection à l'intérieur des cellules corticales suivi de la division et la différenciation des rhizobia en cellules fixatrices d'azote reconnues sous le nom de bactéroïdes (**Macharfi,2001**).Une membrane pér bactéroidienne enveloppe ces bactéroïdes (**Perry et al.,2004**).(figure 4)



**Figure04** :Processus de la nodulation (**Giles et al.,2004**)

**a.**Plante avec attachement des rhizobia **.b.**Recourbement des poiles.**c.** Invasion des rhizobia.**d.**File d'infection.

Pour permettre une activité optimale de la nitrogénase, enzyme irréversiblement inactivé par l'oxygène, la plante maintient les nodules en condition de micro-oxygène grâce au parenchyme nodulaire pendant que la leghémoglobine transporte et régule la concentration d'oxygène indispensable à la respiration, **(Selami, 2017)**.

Une fois que les nodules sont matures et que le processus de fixation d'azote est fonctionnel, les nodules sont généralement de couleur rosée du fait de la présence de cette leghémoglobine. En revanche, la présence de nodules blancs indique que la symbiose n'est pas fonctionnelle **(Valverde et al., 2005)**.

## **6. facteurs influençant la fixation d'azote :**

Les facteurs édaphiques ou pédologiques sont des facteurs écologiques liés aux caractéristiques physiques et chimiques du sol. Il s'agit de la texture du sol, de sa structure, sa porosité, les Ph extrêmes, le taux de nitrate dans le sol, de la teneur en eau, du degré d'acidité et de la teneur en éléments minéraux du sol et les souches Rhizobienne y sont très sensibles. Ce sont des contraintes environnementales importantes qui peuvent perturber la croissance des Rhizobiums et donc diminuent la fixation du  $N_2$  et la productivité des légumineuses **(Abolhasani et al., 2010)**.

### **6.1. Ph de sol:**

La majorité des légumineuses nécessitent des PH neutres ou légèrement acides pour établir une symbiose efficace dans le sol **(Bordeleau et Prévost, 1994)** l'acidité élevée du sol, influence la solubilité des éléments minéraux et provoque des troubles dans la nutrition minérale ce qui affecte d'une part le développement de la plante hôte, et d'autre part l'efficacité des rhizobies et engendre par conséquent une diminution de la nodulation **(Munns, 1977)** alors que le PH alcalin du sol a un effet négatif sur la disponibilité de certains minéraux tels que le fer et le manganèse autant pour le rhizobies que pour la plante hôte **(Bordeleau et Prévost, 1994)**.

L'acidité affecte la croissance et la survie des rhizobies à l'état libre dans le sol de même, leur multiplication dans la rhizosphère, l'infection de la racine, la formation des nodules ainsi que la croissance de la plante sont très touchées par l'acidité par les facteurs qui lui sont associés **(Zerhari., 2000)**.

### **6.2. La température :**

Les températures élevées engendrent la déshydratation et la dégradation des enzymes de la voie métabolique des bactéries, par contre, les basses températures entraînent la gélification de l'eau cellulaire et l'inactivation, parfois irréversible des enzymes **(Cloutier et al., 1992)**.

**Kulkarni et Nautiyal (1999)**, ont rapporté que la température optimale pour la plupart des rhizobium est entre 25 et 30 °C.

### **6.3. Stress Salin :**

La salinité affecte l'initiation, le développement et le fonctionnement des nodules, de même que la capacité photosynthétique des feuilles. Il s'avère que la FSN (fixation symbiotique de l'azote) est plus affectée par le sel que la croissance des plantes (**Roi et al., 2002, Faghire et al., 2011**).

Généralement l'activité des nodules est plus touchée par le sel que la nodulation, mais l'étape la plus sensible à la présence du sel est le processus infectieux (**Payakapong et al., 2006**).

Concernant le type de sel, il a été rapporté que les chlorures sont plus toxiques que les sulfates (**EL-Hilali, 2006**).

La plupart des rhizobiums sont inhibés par des concentrations de 100 mM en NaCl, mais il existe des souches dont la croissance est inhibée par 300 mM en NaCl et d'autres qui supportent 500 mM en NaCl (**Jenkins, 2003**).

### **6.4. Stress hydrique :**

Le stress hydrique affecte la fixation symbiotique de l'azote à différents niveaux, tels que la formation et la croissance nodulaire; le métabolisme du carbone et de l'azote; l'activité de la nitrogénase et la perméabilité nodulaire à l'oxygène (**Zahran., 2005**).

La sécheresse influence le mouvement des bactéries mobiles comme les rhizobiums et la distribution de la microflore du sol, ce facteur affecte également la diversité des populations rhizobiales (**Hussain et al.; 2010**).

La modification des cellules rhizobiennes par le stress hydrique mène à une réduction dans l'infection et la nodulation (**Zahran, 1999**).

### 6.5.Exemples d'association entre rhizobia et légumineuses :

Rhizobia	Plantes hôtes	Les effets bénéfiques	références
<i>Rhizobium meliloti</i>	<i>Luzerne (medicago sp)</i>	Solubilisent le phosphate inorganique et produisent des sidérophores et exopolysaccharides. en plus de cette importance fourragère et grâce à leur association avec les bactéries du sol du genre <i>Sinorhizobium meliloti</i> ,un hectare de luzerne peut fixer jusqu'à 600 kg/an d'azote ( <b>Denarie et Joly, 1994</b> ).	<b>Baha et Bekki.,2018</b>
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	<i>Vicia,Lens, Lathyrus, Pisum</i>	La résistance aux métaux lourds . comprennent des cultures vivrières et fourragères, les plantes ornementales, les nitrifiants du sol ,les stabilisateur de dunes, les plantes agricoles importantes , les mauvaises herbes et les organismes modèles pour la recherche génétique et écologique ( <b>Patto et Rubiales,2014</b> ), Elle a la capacité de fixer l'azote, et peut être cultivée en association avec une céréale (seigle, avoine, triticale)qui lui sert de tuteur.	<b>Patto et Rubiales., 2014</b>
<i>Ralstonia</i>	<i>Hedysarum pallidum</i>	Améliorer la fertilité des sols par la fixation de l'azote atmosphérique, peuvent être exploitées dans la valorisation des régions dégradées, surtout dans les zones arides et semi-arides( <b>Hannachi et al.,2004</b> ).	<b>Torche et al.,2010</b>
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Lablab purpureus</i>	La résistance aux métaux lourds. protéger le sol contre l'érosion ( <b>Watson ,1982</b> ) d'où l'intérêt de son installation dans les terrains marneux et accidentés très vulnérables à l'érosion ( <b>Zouaghi,2001 ;Slim,2004,slim et al.,2011</b> ). Elle est aussi utilisée comme plante ornementale ( <b>Gladstones .,1998</b> ) et comme plante de couvert pour l'amélioration et la conservation de la stabilité du sol ( <b>Williams.,1993</b> ). La fixation symbiotique de l'azote atmosphérique	<b>Geo .,2011</b>

<i>Rhizobium trifolli</i>	<i>Trifolium</i>	<p>Ces manifestation sont accompagnées d'une chute de l'activité photosynthèse »tique et de la fixation symbiotique de l'azote . l'action favorable du potassium est également observée lors de la réhydratation des plantes soumises au déficit .</p> <p>le rétablissement du potentiel hydrique et de la fixation symbiotique d'azote est plus important en présence de potassium (Shamsun –noor*,C Robin,A Guckert.,1989)</p>	<b>Neyra .,1992</b>
<i>Mesorhizobium loti</i>	<i>Lotier(lotus)</i>	<p>il ne subit aucun dégât important de maladies ou de parasites.</p> <p>le lotier corniculé est utilisé ,comme sédatif et antispasmodique pour lutter contre l'angoisse, l'insomnie et les états dépressifs .son absorption permet de ralentir le rythme cardiaque. elle a la capacité de fixer l'azote atmosphérique.</p>	<b>Sawada et al.,2003</b>
<i>Rhizobium sullae</i>	<i>Hedysarum coronarium</i>	<p>Est un fourrage très appétissant ,nutritif et productif pour la production de ruminants (Koning et al.,2010 ;Foster,2010) l'espèce joue un rôle clé dans les systèmes à base de céréales des régions semi-arides, et couramment utilisée pour améliorer la productivité et la durabilité des systèmes agricoles (Ruisi et al.,2011) .</p> <p>elle nécessite une bactérie spécifique du nodule racinaire (<i>Rhizobium sullae</i>) pour une nodulaion optimale et une fixation maximale de l'azote (Koning et al.,2010 ;ramirez-Ramirez-Restrepo et al .,2005)</p>	<b>Koning et al.,2010 ; Foster,2010</b>
<i>Bradyrhizobium sp</i>	<i>Acacia</i>	<p>Fixation d'azote (grâce à un travail de symbiose avec des bactéries)et en enrichissant le sol d'autre nutriments grâce aux racines qui vont aller les chercher plus en profondeur et les remonter à la surface (Midgley,j et Bond.,2001)</p>	<b>Midgley,j et Bond.,2001</b>

**Tableau 02:**Quelques exemples d'association entre rhizobia et légumineuses.

## **7. Les méthodes d'analyses utilisées pour caractériser ses espèces du rhizobium :**

### **7.1. Isolement des bactéries à partir des nodules :**

#### **7.1.1. collecte des nodules :**

Après avoir récolté les nodules à partir des plantes vertes et saines assurant ainsi une activité élevée de fixation d'azote. Il est important de noter que le type des nodules récoltés sur les racines des quelques des légumineuses spontanées sont distincts selon la position qu'ils occupent sur les racines, des nodules indéterminés situés sur la partie supérieure et d'autres qui reliées entre eux par un cordons apparentent à une racine latérale modifiée localisées sur la partie inférieure des racine de la plante. En effet ce type de nodule est appelé nodule actinorhizien, organe tout à fait original par rapport au nodule des légumineuses (**Santi, 2008**)

La collecte a été réalisée selon la méthode de **Vincent (1970) ; Beck et al., (1993) :**

- Creuser environ 150 cm autour de la plante et à 20cm de profondeur.
- Soulever lentement le bloc sol et racines .
- Enlever soigneusement le sol et casser les blocs de sol avec précaution pour ne pas endommager les racines et les racines secondaires (site de nodulation)
- Placer délicatement tout la plante dans un sachet en plastique
- Au laboratoire ,enlever la partie supérieure de la plante et laver délicatement les racines sous l'eau courante.
- Pour les nodules à stoker ,les racines doivent être coupées 1 à 2mm de site d'attachement de nodule, ce qui assure une bonne conservation des nodules et l'obtention de cultures viables et propres de bactéries lors de l'isolement.
- Sécher les nodules avec du papier filtre avant le stockage.



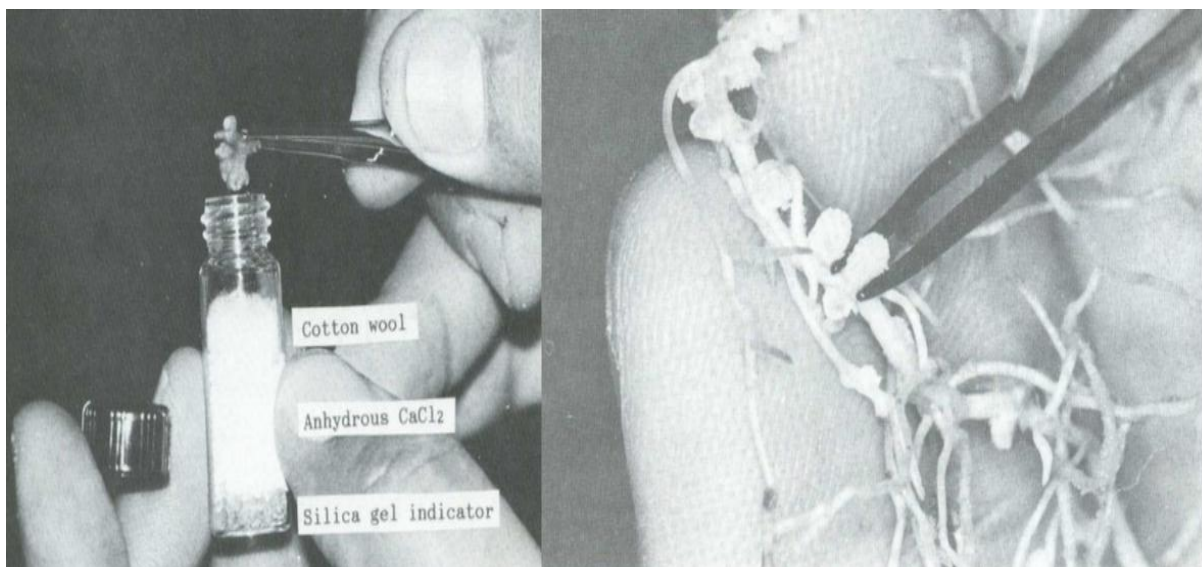
**Figure 05:**collecte des nodules(photo **D.P.Beck,1993**)



### 7.1.2.conservation des nodules :

Les nodules frais peuvent être stockés dans le réfrigérateur à 4°C jusqu'à 48 heures pour un usage immédiat, pour une longue période de stockage la dessiccation des nodules est recommandée .La dessiccation est réalisée dans des flacons contenant un déshydratant tel que le Ca Cl<sub>2</sub>anhydre et une chaque flacon être étiqueté par les informations suivantes :

- Nom de la plante hôte
- Date de conservation
- Date et lieu de prélèvement.



**Figure06** :conservation des nodules (photo **D.B.Beck,1993**)

**7.1.3.Isolement des bactéries à partir des nodules :**La méthode utilisées est celle de Vincent (1970) et Somasegaran et Hoben (1994).Les nodules conservés par dessiccation sont réhydratés dans l'eau distillée pendant 24 heures à 4 °C puis une heure à la température ambiante.

#### 7.1.3.1.Stérilisation des nodules :

Les nodules réhydratés sont immergés dans l'éthanol 95%pendant 5à10 secondes en suite transférés rapidement dans le chlorure de mercure acidifié 0.1%(1g Hg Cl<sub>2</sub>+5ml HCL+11 D'eau distillée) .En fin les nodules sont rincés 10fois à l'eau distillée stérile, puis on les laisse dans l'eau distillée stérile pendant une heure après le dernier rinçage.

### 7.1.3.2. Isolement des bactéries selon la méthode des nodules écrasés :

Les nodules stériles sont écrasés individuellement dans une goutte d'eau distillée stérile dans une boîte de Pétri. Les nodules sont écrasés avec une pince stérilisée par émergence dans l'éthanol et flambé au bec bunsen. L'opération est réalisée dans des conditions d'asepsie totale sous une hotte à flux laminaire.

A l'aide d'une anse de platine, une suspension de chaque nodule écrasé est étalée selon la technique des quatre cadrans sur les milieux YMA +rouge congo, GPA+bromocrésol pourpre de manière à isoler des simples colonies, puis les boîtes ensemencées sont incubées à 30 C° pendant 24 à 48 heures.

### 7.2. Caractères culturels :

Les milieux utilisés pour l'étude des caractères culturels sont :

- Milieu liquide : YMB (Yeast Mannitol Broth)
- Milieux solides : YMA (Yeast Mannitol Agar)  
YMA+RC (Yeast Mannitol Agar +Bromothymol Blue)  
GPA+BTB (Glucose Peptone Agar +Bromocresol Pourpre)

**7.2.1. Observation des colonies et conservation des isolats :** Les colonies ayant absorbé peu de rouge congo et n'ayant pas acidifié le milieu GPA (virage du BCP au jaune) sont prises en compte comme isolats candidats à étudier. Ces colonies qui sont considérées comme bactéries nodulantes légumineuses de notre étude (**Benhizia et al., 2004**).

La croissance sur YMA –rouge Congo les colonies montrant des différences dans leurs absorbances du rouge congo on trouve celles qui ne l'absorbent pas et garde leur couleur blanchâtre, ou l'absorbent faiblement, ceci qui corrobore avec les résultats obtenus sur les souches Gammaprotéobactéria (**Benhizia , 2006**).

#### 7.2.1.1 .Examen microscopique par la coloration de Gram :

Une observation microscopique est réalisée sur des lames dont une préparation de culture en YMB est étalée en couche mince, séchée et fixée. La préparation des lames est réalisée sous la hotte à flux laminaire, puis les lames sont colorées par la coloration Gram. L'examen microscopique des cellules bactériennes donne des bactéries de forme de bacille gram négatif et de différentes tailles (**Jordan, 1984**).

#### 7.2.1.2. Conservation des souches :

La conservation se fait sur le milieu YMA additionné de 3 g/l de CaCO<sub>3</sub> comme agent neutralisant de l'acidité. Le milieu est réparti dans des tubes à essai formant des géloses

inclinées . A partir d'une culture bactérienne en phase de croissance exponentielle,des stries régulières sont effectuées sur la surface de la gélose ,et après incubation à 30°C pendant trois jours les tubes sont conservés à 4°C au réfrigérateur .Cette méthode permet une conservation de 06 à12 mois(Vincent,1970).

### 7.3.Caractérisation des bactéries :

#### 7.3.1.Source de carbone :

Les souches sont cultivées sur le milieu YMB ou le mannitol est remplacé par l'un des sucres suivants :glucose ,maltose ,fructose ,sorbitol et sucrose.

- Incuber à 28 °C agitation pendant 24 heures
- Mesurer la DO à 600nm

#### 7.3.2.Test de bleu de bromothymol :

Ce test permet de vérifier la capacité d'acidification ou d'alcalinisation des souches.il se fait sur le milieu YMA additionné de l'indicateur coloré bleu de bromothymol (BTB) à une concentration de 0.0025%(W/V).Après incubation à 28°C pendant 6jours ,le virage du milieu au jaune indique l'acidification du milieu et le virage au bleu indique l'alcalinisation du milieu.

#### 7.3.3Caractères cultureux :

Les colonies apparaissent sur milieu YMA au bout de 24 heures et se distinguent par une production de poly  $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB). Elles ont une couleur blanche ou crème ,forme homogène et un aspect lisse brillant avec une texture translucide(Jordan.,1984).

Selon Jordan (1984) et Beck et al (1993),les souches à croissance rapide sont considérées généralement comme des bactéries acidifiantes.par conséquent ,elles devraient changer la coloration du BTB vers le jaune contrairement aux souches à croissance lente qui sont considérées comme des bactéries qui alcalinisent le milieu de culture.

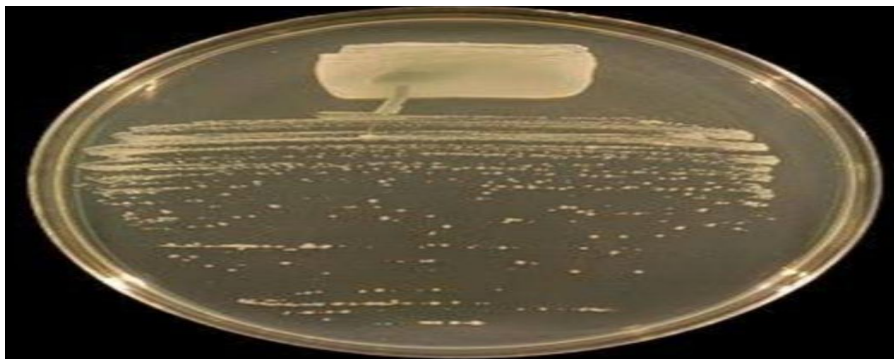


Figure07 :Rhizobactérie sur milieu de culture (Marc,2017)

**CONCLUSION**

## **Conclusion :**

Les recherches sur la diversité des rhizobia peuvent non seulement améliorer la productivité des récoltes et augmenter la fertilité du sol, mais elles sont également importantes pour la consommation de l'énergie et pour la protection de l'environnement.

Une rhizobactérie (*Bradyrhizobium* sp(Lotus) a été isolée des nodosités de Lotus, identifiée et caractérisée par les travaux de Degaichia 2010,2012 , 2015, cités dans notre recherche bibliographique. Cette bactérie est utilisée comme modèle biologique sur plusieurs espèces végétales pour contourner les stress abiotiques ; Elle a donné des résultats intéressants satisfaisants.

Pour cela ce travail vient en complément aux travaux antérieurs réalisés sur les espèces végétales . Il a pour but d'enrichir la collection de rhizobactéries isolées à partir de nodosités d'autres espèces de légumineuses, les caractériser et les tester sur les espèces de cultures maraichères cultivées en conditions salines. Nous n'avons pas pu réaliser ces travaux ,ils se sont résumés uniquement à une recherche bibliographique.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Liste des références :

- A.Boulanger.,(2009).**Analyse d'un nouveau système CUT impliqué dans l'acquisition et l'utilisation du N-acétylglucosamine par *Xanthomonas compestris pathovar campestris* .Université de Toulouse ,2-4p.
- Abdelguerfi -Louar, M.(2005).**diversité éco-génétique chez les fabacées et leurs symbiotes ;cas de la section des Intertextae du genre Medicago L.these Doctorat .INR ?Alger 186.p et annexs.
- Abolhasani M,Lakizian A,Tajabadipour A,et Haghnia G.(2010).**the study salt and drought tolerance of sinorhizobium bacteria to the adaptation to alkaline condition.Asutralian journal of basic and Applied Sciences .4.suppl5.Pp :882-886.
- Ahmed ,M,Olaniran .(2012).**mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria :current perspective.J.King Saud.univ.sci.26,1-20.
- Ahmed et Kibret;Lines-Killy,(2013).**Mechanisms and applications of plant pro moting rhizobacteria :current perspective.J king saud univer-sci 26(01) :1-20.
- Ahmed F., ahmed I .,Khan,M,S.,(2008).**screening of free living rhizobacteria for multiple plant growth promoting activities .Microbial Research 163,173-181.
- Alabouvette Claud et Christelle Cordier(2018).**Fertilité biologique des sols :des microorganismes utiles à la croissance des plantes. Innovation agronomique 69(2018) 61-70.
- Antonio Bispo ,Nolwenn Bougon,thomas Eglin,Chantal Gascuel.,(2018).**Article de la connaissance de la biologie des sols et de ses fonction, à son pilotage(CC BY –NC-ND3.0) .
- Apaba,(2012).**fiche autonomie.fourragères les bois de midi.pyorénnées FRAB.
- Araujo F.F(2008).**Inoculaco de sementes com bacillus subtilis,formulado com farinha d'ostradesenvolvimento de milho ,soja e algoda.o.cienc Agrotec.32 :456-462.
- Baath ,Giller (1998).**effects of heavy metals in soil on microbial processes and population (a reveiw).Water,air and soil pollution47.3-4 :335-379.
- Baha Nassima,Bekki Abdelkader,(2018).**Production de bio-engrais vue de l'optimisation de la productivité végétale de la luzerne en condition de stress salin.18ème congrès de l'AABNF,Oran,Algérie.
- Bardgett R.D., et van der Putten W.H.,(2014).**Belowground biodiversity and Functioning. Nature 515 (7528) :505-11.

**Barriuso J ,Romos Solano B (2005).**plant bacteria interactions :Ecology,Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Wiley-VCH Verlag Gmbh and co.KgaA ,Weinheim.

**Basavaraju ,O,A.R.M.Rao et T.H.Shankarappa(2002).**Effect of Azotobacter inoculation and nitrogen levels on growth and yield of radish (*Raphanus sativus* L) . In proceedings of microbial technology for sustainable development and productivity ,(ed.Rajak.D.C), Jabalpur,Biotechnology of microbes and sustainable utilization ,pp155-160

**Basile Giroud,Julien Crovadore,Bastien Cochard ,Romain Chablais et Francois Lefort (2018).**Isolement de microorganisme endophyte de racines de tomates ,sélection et évaluation in vivo et in vitro de souches bio-stimulantes.

**Battacharyya P .N et Jha D.K (2012).**plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) :emergence in Agriculture ,world J Microbiol Biotech ,pp.1327-1350.

**Bélangier E,(1998).**purification et caractérisation des facteur de nodulation de rhizobium sp (*Oxotropis Arctobla*) souche N33.mémoire pour l'obtention du grade de maitre des sciences .université de laval.

**Béna G ,Lyet A ,Huguet T,olivier I.(2005).**Medicago-sinorhizobium symbiotic specificity evolution and the géographique expansion of Medicago .journal of Evolutionary biology18.1547-1559.

**Begum ,M,vr.Rai et S.Lokesh (2003).**effect of plant growth promoting rhizobacteria on seedborne fungal pathogens in okra.Indian Phytopathol.56 :156-158.

**Benhizia Y., Benhizia H., Benguedouar A .,Muresu R., Giacomini A.,Squartini A.,(2004).**Gammaproteobacteria can nodulate legume of thegenus *Hedysarum*.System appl.Microbial.27 :462-468.

**Benhizia ,(2006).**caractérisation phénotypique et phylogénétique des bactéries associées aux nodules de la légumineuse du genre *Hedysarum* :*H.carnosum* Desf .,*H.spinossissimum*subsp *Capitatum* DESF.,et *H .Pallidum* Desf .these de doctorate d'été en microbiologie appliquée .université Mentouri Constantine,Algerie.

**Benhizia,(2001).**Etude caryologique d'une espèce endémique Nord-Afrique ,*Hedysarum pallidum* Desf ,provenant contaminé par l'antimoine.these de Magister en Biologie vegetale .Université de Constantine,Algérie.

**Bharti P.k,Tyagi P.k et Singh V,(2014).**Assessment of heavy metals in the water of Saharastradhara Hill strem at Dehradun, India, International Journal of Environment,3(3) :2091-2854

**Bianucci ,E, Furlan ,A, Rivadeneira, j,sobrino-plata ,J, Carpeno-Ruiz, R.O, Tordable Mdel,C.etal.(2013) .**Influence of cadmium on the symbiotic interaction established between peanut (*Arachis hypogaea* L.)and sensitive or tolerance bradyrhizobial strains.J.environ Manage130 :126-134.



**Boivin –Masson C.,Boutemps C.,Golfier G .,Gris-Liebe C .and Talini L.(2006).** détection et typage du gene nod C à l'aide de biopuces à ADN :perspectives pour l'étude de la l'écologie moléculaire des rhizobia .les Actes du BRG 6 :97-110

**Boncompagni E.Ostreras M,Poggi M,and Rudulier D,(1999).**occurrence of choline and glycine betaine uptake metabolism in rhizobia.appl.environ Microbiol.65 :2072-2077

**Bordeleau L M, et Prévost,(1994).**Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments.Plant and soil 161 :115-125.

**Bouby L., Léa,(2006).**exploitation de la vesce commune (vicia sativa L)au néolithique moyen dans le sud de la France .Données cartographique du site claparouse(lagnes,vaucluse)C.R palevol 5 :973-980.

**Boukecha D,Laour-Hanifi et Harek D(2017).**Drought tolerance in some populations of grass pea (Lathyrus sativus L.)Legume Research,Agricultural Communication centre ,DOI/10.18805/LR-346,pp :1-8.

**Boukhalfa H.and CrumblissAL.(2002).**Chemical aspects of siderophore mediated irontransport .bioMetals.15 :325-339.

**Broughton,W .j.(2000).**Bean (Phaseolus spp)-model food legumes.plante soil 252 :55-128

**Burnie.,(2006).** Botanica .Encyclopédie de botanique and d'horticulture . Editions Place des victoire.

**Burnie ,G.,Gresshoff,B.,Bassam,P.(2005).**DNA amplification fingerprintin using very short arbitrary oligonucleotides primers .biotechnol.9 :553-559.

**Campbell,(1997).** Anatomy and community structure of the rhizosphere in the Rhizosphere (ed J.M.Lynch),John Wiley and sons,Ltd ,Essex ,pp.11-34.

**Cavaillès E ,(2009).**LA relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protiens :quels bénéfices environnementaux ?www.Developpement –durable .gouv.fr,42p.

**Change,Y., Catt ,P.C ,Jenjareontham ,R.,et Mann,K (2011).**Fast –growing root nodule bacteria form Australian Acacia spp .,in new Horizons in Nitrogen fixation ,Palacios,R et al.,Eds.,Kluwer Academic Publishers,Dordrecht,the Netherlands

**Clément Delamotte,(2018).**les bactéries fixatrices d'azote libres du sol.Ecol d'Horticulture de la Mouillère-orléans.

**Cloutier J,Prevost D,Nadeau P et Antoun H.(1992).**Heat nd cold shock protein synthesis in arctic and temperate strains of rhizobia.applied and environmental microbiology.58Pp :2846-2853.

**Comifer,(2013).**calcul de la fertilisation azotée-Guide méthodologique pour l'établissement des prescriptions locales-cultures annuelles et prairies.

**Copping ,Chebotar ;Lugtenberg et Kamilova,(2004).** The manuel of biocontrol agents ,3rd edn.British Crop Protection council puplication,alton,hampshire,uk ,702p.

**Corbaz R.(1990).**principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies .

**D.P.Beck, ;Materon L.A ;Afandi F.(1993).**pratical rhizobium –legume technology manual .thechnicalmanual N° 19.

**Davet,1996 ;Prescott. , (2003).**vie microbienne du sol et production végétale .institut National de la Recherche Agronomique .Edition INRA , Paris.des plantes presse polytechnique et universitaire romandes.

**De freitas,JR(2008) .**Yield and N assimilation of winter wheat (triticum aestivum L.var norstar ) inoculated with rhizobacteria pedobiologia44 :97-104.

**De lajudie ,P.willems ,A ,Pot ,B ;Faghire (1994).**polyphadic taxonomy of rhizobia :emendation of genus sinorhizobium and description of sinorhizobium meliloti comb.nov.sinorhizobium sacheli sp.nov,and sinorhizobium teranga sp.nov

**Degaichia H,(2010).**contribution à l'identification des nodosités et caractérisation des bactéries nodulantes de trois espèces spontanées (Lotus edulis ,lotus ornithopodioides et de viscia sativa ssp).memoire d'ingéniorat.memoire de master 2.université de blida1.

**Degaichia H,(2012).**caractérisation de bradyrhizobium sp isolées Lotus ornithopodioides .Détermination de suil, de résistance maximale vis-à-vis d'élément de traces métallique(cas de cuivre et du ccadium) en vue d'introduction à la phytoremediation .mémoire de master 2 université de blida 1

**Degaichia H,(2015).**Essai de rhizodégradation des éléments de traces métallique-cas du cuivre et du camium) par bradyrhizobium sp.Prélevé sur lotus ornithopodioides et analyse de son activité antifongique ;mémoire de majister phytopathologie.université de blida1.

**Denarie ,J.,Joly,P,B.,(1994).**la fixation de l'azote, les enjeux de la recherche. Biofuture,94-34.

**Domergue,O (2006).**Diversité des rhizobia associés à Ononis repens ,une légumineuses adaptée aux milieux méditerranéens. Diplôme de l'école pratique des Hautes études .école pratique des hautes études, Sciences de la vie et de la terre –France,33p

**Dommergues et Mangenot; Shameeret Prasad,(2017).** les arbres fixateurs d'azote caractéristique fondamentales et role dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux 475.

**Douglas ,Pinto Stringi .Ben jeddi.(1985).**comparative lipid peroxidation ,abtioxidant systemsand proline content in roots of rice cultivars differing differing insalt tolerance ,environ exp.bot .53 :247-257.

**Dupuyt Y , Nougier P,(2005).**les microorganisme .Du gène à la biosphère. edition Ellipses.paris.

**Moula EL Hachemi, (2015).**étude de l'effet de la salinité et de l'inoculation de Bradyrhizobium sp .(Lotus) sur le comportement écophysio­logique du haricot (Phaseolus vulgaris) la mémoire d'ingénierat ; production et amélioration végétale. université de Blida 1.

**Elaine, (2015).**investigating the role of pseudomonas sp .And bacillus sp .biofilms as plant growth promoting inoculants. McGill university ,montreal. Quebec .Canada.

**EL-Hilali I .(2006).**la symbiose rhizobium –lupin :biodiversité des microsymbiotes et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez Lupinus Luteus. these de doctorat de microbiologie et biologie moléculaire . université V-Agdal ,Robot, P157.

**Emmanuelle D'amours ,Jean cloutier ,Annick Bertrand, Annie Claessens, Solen rocher PATRICE Audy. (2019).**Identification de souche de rhizobium tolérantes aux basses températures pour le tréfle ,le saifoin et le lotier. Bovins laitiers et plantes fourragères, CRAAQ .

**Esitken ,T,A,S,Ercisli,H ;Karlidaget F.Sahim (2005).**potential use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPG) in organic apricot production .in :libek.A,Kaufmane E,Sansnuks A.(eds) international conference on environmentally fruit growing Tartu, Estonia, pp90-97.

**FAO ,(2016).**Food and Agriculture Organisation of United Nations. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications).

**FAO,(2004).**Food and Agriculture Organization. Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable .Bulletin FAO Et Nutrition Végétale N°13, Rome, Italie.

**FAO,(2017).**Soils and pulses :symbiosis for life. les sols et les légumineuses promouvoir la symbiose par la rotation de culture.

**Figueiredo M.V.B.,Martinez C.R.,Burity H.A.and Chanway C.P.2008 b.**Plant growth promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (Phaseolus vulgaris L.). Microbiol.biotechnol.24 :1187-1193. fixation .Mol.Biol.Evol.21,541-554

**Filearchive.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom\_f3ce1.pg**

**Foster,K.(2010).**Sulla (Hedysarum coronarium). Department of Agriculture and Food Western Australia, Bulletin 4690, Perth.

**Franche ,C ,Lindstrom ,K.,and Elmerich,C.(2009).**Nitrogen –fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants .plants soil 321,35-59.

**Frank,.(1889).**Ueber die Pilzsymbiotique der leguminosen. Berichtet der Deutsch Botanischen Gesellschaft 7 :332-346.

**Gallais,A,and Bannerot,H (1992).**amélioration des espèces végétales cultivées :objectifs et critères de sélection .Pris INRA,768pp.

**Garrity,2005 GUPTA et al .,(2015) ;SHAMEER et PRASAD.,(2017)** .Bergey's manual of systematic bacteriology,2<sup>nd</sup> edn,vol .2,spinger-verlag ,berlin,Heidelberg,new york ,pp.1-1085.

**Geo ,C,Fellay ,R,Bairoch A,Broughton ,W.J,Rosenthal A.perret ,X(2011)**. molecular basis of symbiosis between rhizobium and legumes .nature,387,394-40.

**Gholami M,khakvar R,Aliasgarzad N.(2012)**.introduction of some new endophytic bacteria from bacillus and streptomyces genera as successful biocontrol agents against sclerotium rolfsii.Archives of phytopathology and plant protection vol.47.

**Giles et Atherly(2004)**.biology of the rhizobiaceae.Academic Press ,New York.

**Giller, K,E, witter ,E,and McGrath,S,P.(2009)**,heavy and soil microbes .soil biology and biochemistry 41.10 :2031-2037.

**Gladstones,F. (1998)**.assignment of symbiotic development phenotypes to common and specific nodulation(nod)genetic loci of rhizobium meliloti.J.bacteriol,168,1075-1086.

**Gray et Smith,(2005)**.intracellular and extracellular PGPR :commonalities and distinction in the plant-bacterium signaling processes.soil biol.biochem.37 :395-412

**Gupta G,Singh parihaar S,Kumar Ahirwar N ,Snehi S et Singh V.(2015)**.plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) ;current and future prospects for Development of sustainable agriculture .J Microb Technol.volum 7(2),96-102.

**Haas D,et Defago,G(2005)**.biological control of soil-borne pathogene by fluorescent pseudomonas.Natra.rev.microb.1129.

**Hamada ,A .(2000)**.Guide sur les grands cultures .les cultures fourragères pluviale. partie 3.première édition Wad Al-samar.

**HAN ;BACA et ELMERICH ;KLOEPPER ,MARTINEZ-VIVEROS 1 ,(2010)**. association among rhizobial chromosomal background,nod genes ,and host plants based on the analysis of symbiosis of indigenous rhizobia and wild legumes native to Xinjiang .Microb ecol59 :311 :323.

**Hannachi –Sali A .,Combes D .,Baatout H.,Figier J.,Boussaid M.,Marrakchi M.,Trififarrah N.(2004)**.Evaluation des ressource génétique des espèces du genre Hedysarum dans le bassin méditerranéen. IPGRI –FAO.,130 :65-72.

**Harman,mab ,BA , Shoresh.(2007)**.affects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in new york.Crop Prot.27 :996-1002.

**Hiltner ,L(1904)**.Uber neuere erfahrungen und problem auf gebiet der bodenbakteriologie unter besonderer berucksichtigung der grundung und brache .arb DLG 98,59-7

**Hinsinger P,Bengough A.G.Vetterlein D.et Young I.M.,(2009)**. Rhizosphere :biophysics, biogeochemistry and ecological relevance.Plant and soil,321 :117-152.

**Hopkin,(2003);Schneider et al.,(2015).**physiologie végétal .université des sciences et Technologie de Lille. Edition de boeck

**Hugenholtz P,(2002).**Exploring prokaryotic in the genomic era genome biol .3,reviews0003.

**Hussain M,Asharaf M,Saleem M,Hafeez FY(2010)** .Isolement and characterization of rhizobial strains alfalfa (Medicago sp).Pak .J.Agri.Sci 39 :32-34.  
**Jacques Balandreau(2000).**La diversité microbienne .Ecologie Microbienne, UMR 5557CNRS-UNIVERSITY Lyon1.Aménagement et nature-N°136.

**J.M.Gobat,M.Aragno,W.Matthez,(2003).**Rhizosphere carbon flow in trees,in comparison with annual plants :the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability.Applied soil ecology5,29-56p.

**Jenkins MB. (2003).**Rhizobial and bradyrhizobial symbionts of mesquite from the sonoran desert :salt tolerance facultative halophily and nitrate respiration .soil biology ,biochemistry .35Pp :1675-1682.

**Jordan D.C.,(1984).**family 3 .Rhizobiaceae Conn 1938.p.234-254.In N.R.Krieg and J.G.Holt (ed) .bergey's manual of systematic bacteriology .vol.1.the Wilkins co.Baltimore.234-256p.

**jordan et Beck (1993),**rhizobacteria .IN.R.KriegandJ. G.Holt(ed) ,bergey'sManualof systematic bacteriology.vol1.the williams and wilkins,co,Baltimore.pp234-245.

**Jossi.(2008).**Rhizosphère bacterial communities associated with lolium perenne structuration and plant-mediated influences. thèse d'état de la faculté de Neuchatel de suisse.Paris.768p.

**Journet ,E .P El-Gachtouli ,N,Vernoud,V de Billy,F ,Pichon,M,Dedieu ,A, Arnoud, C,Morandi,D,Barker ,D and Gianinazzi-Pearson,V(2001).**Medicago truncatula ENOD11 :a novel RPRP-encoding early gene expressed mycorrhization in arbuscule – containing cells.Mol Plant Microbe Interact 14 :737-748.

**Kang ,H-F.,Zong ,X-X.,Guang ,J-P.,Youg,T.,sun,X-L ,Ma,Y.,Redden,R.(2012).** Genetic diversity and relationship of global fababeau (vicia faba L.) germ plasmreveled by .ISSR markers .theor APPL Genet .124 :789-797.

**Kaymak ,HC,I,Guvenc ,F.Yarali et MF.Donmez (2009),**the effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (Raphanussativus L)seeds under saline conditions Turk J A gric Forest,33 :173-179.

**Kerbab Souhila.(2010).**les actinomycètes d'un sol salé :rôle des osmoprotecteurs naturels. université Ferhat Abbas de Sétif.14p

**Kim J et D.C,(1994).**rees nitrogenase and biological nitrogen fixation biochemistry ,33(),pp.389-397.

**Kloepper et a ,.,1980 ;Lifshitz et al.,1987 ;kloepper et Beauchamp, 1992 ; Lugtenberg et al.,2001 ;Glick et al.,2007).**photoperiod regulates elicitation of growth promoting but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobactéria .can.j.microbiol.53 :159-167.

**Koning ,C,Yates ,R, Wurst, M, (2010) .sulla (Hedysarum coronarium)Management Package.SARDI avec un financement de Pastures Australia.**

**Kulkarni S , Nautiyal CS.(1999).Effects of salt and ph stress on températeur –tolerante rhizobium sp.NBR 1330.nodulating prosopis juliflora.current microbiology.40.pp :221.226.**

**Kumar ,P,Dubey,R.C.(2012).Plant growth promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogenes and Yield Enhancement of Phaseolus vulgaris L.J.Curr.perspect .appl.Microbiol.1,6-38.**

**L Shamsun – Noor\*,C Robin,A Guckert.,(1989).Effet d'un déficit hydrique sur le trèfle blanc (Trifolium repens L).Rôle d'un apport de potassium.Importance du cultivar.Agronomie9,251-257.**

**Lekhal Riadh et Aziez Salah eddine (2016).Bradyrhizobium sp (Lotus) et son effet sur l'activité amylolytique et mobilisation des réserve des grainnes de l'orge(Hordeum vulgare.L) sous contraintes thermique Mémoire de master université Blida1.**

**Lamanceau ,P.,1992.effets bénéfique de rhizobactéries sur les plantes :Exemples des pseudomonas fluorescens.Agronomie12,413-437.**

**Ledin M (2000).Bioaccumulation of metal by microorganismes-ptocesses and importance for soil systems,Earth Sci Rev,51 :1-31.**

**Lee ,KJ,S, Kamala-Kannan, HS,sub ,CK.SEOGET gw.Lee (2008).biological control of phytophthora blight in red ^peppr (capsicum anuum L) using bacillus subtilis world J.Microb.biot.24 :1139-1145**

**Leffevre,(2004).La fixation de l'azote atmosphérique dans le sol :une affaire de métal.**

**Li chang ,A.,Zurkowski,Jshine,G,Rolfe,k(2011).sym plasmid transfer to various symbiotic mutants of rhizobium trifolii ,R leguminosarum,and R .meliloti .J. Bacteriol .156,1035-1045.**

**Lugtenberg ,Rawat et Mushtaq,(2015).plant –growth promoting rhizobactria.annu rev microbiol 63 :541-556.**

**Maalem ahlem,Sansri Dalal (2014).activité anti-phytopathogènes de quelques souches rhizosphérique appartenant aux groupes des actinomycètes filamenteux et des pseudomonas spp fluorescents.université 8 mai 1945 Guelma.22p.**

**Macharfi Y,(2001).inhibition de la symbiose rhizobium-légumineuse par les acides phénoliques provenant des écorces de résineux .mémoire pour l'obtention du garde de maitre des sciences .université Laval.**

**Macking H.(2007). Phytoremediation of contaminated soil on plant efficiency ,rhizospher bacteria and the ^physical effects of chemical agents .Korea society for applied microbiology and biotechnology 35 :26-271.**

**Madigan M.,Martink J.,2007.Brock biologie des microorganismes 11<sup>e</sup> edition .Edition Person Education .P599-681**

**Magrin,M-B,Anton,M,Cholez,C,Corre-Hellou,G,Jeuffroy,M-H,Meynard,J-M,Pelzer,E, Voisin, A-S, and Walrand,S.(2016).**why are grain-legumineuses rarely presebt in cropping systems despite their environment and nutritional benefits ?Analying lock-in the frech agrifood system ,Ecol.Econ.126,152162

**Maletic ,B,Garcia,M.Gillis,A(2007).**characterization of azorhizobium caulinodans gen .Nov,sp.nov.a stem-nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from sesbania rostrata.int.j.syst.bacteriol.38,89-98.

**Malusa B et Vassilev N.,A (2014).**Contribution to set a legal framemork,Appl Microbiol Biotechnol,98 :6599-6607.

**Marc-André Selosse(2017).**Jamais seul.Ces microbes qui construisent les plantes ,les animaux et les cvilisations,Editions actes sud ;p141

**Mayak ,S.T.Tirosh et B.R.Glick (2004).**plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato ^plants to salt stress.plant physiol.biochem ,42 :565-572.

**Mclutchan J .S,(2003).**A brief of histiry of grass pea and use in crop improvement,Lathyrus Lathyrism New Letter ,(3) :18-23.

**Meliani A et Bensoltane A ,(2016).**Biofilm-mediated heavy metals bioremediation in PGPR pseudomonas .journal of bioremediation and biodegradation ,7(5) :1-9.

**Michel Rieuneau.**La production des semences de Lotier corniculé. Union régionale de coopératives Agricoles « Pyrénées-Gascogne ».

**Midgley,J.J et Bond,w.j.(2001).**Asynthesis of the demography of African ,Journal of tropical Ecology ,vo 17,n°6 :871-886.

**Mohamed BEDRANE ,(2019).**Article sur la rhizosphère ;une bibliothèque de l'agriculture et de la diffusion de la culture agricole.

**Mohammed,N,Willems,B ,Pot,D,Dewettinck,I,Vandenbruaene,G,Maestrojuan,B,dreyfus ,K,Kerstens,M,collins,M,Gillis,S.(2009).**phenotypic and genotypic characterization of bradyrhizobium nodulating the leguminous tree acacia albida .Int.J.syst.Bacteriol.44,461-473

**Mouas Bourbia ,sophia.(2012).**biodisponibilité du potassium dans la rhizosphère de *Olea europea* L. université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou.19-20p.

**Moula EL Hachemi, (2015).**étude de l'effet de la salinité et de l'inoculation de Bradyrhizobium sp .(Lotus)sur le comportement écophysiolgique du haricot(*Phaseolus vulgaris* la mémoire d'ingénieur ;production et amélioration végétale.université de Blida 1.

**Munnees Ahmed ,Mulugeta kibret,(2013).**mechanisme and application of plant growth promoting rhizobacteria :current perspective .journal of king saud university-science,january volume 26,Issue 1,page 1-20.

**Munns D.N.(1977).**brock biologie des microorganismes. Edition :person education France .PP,599-601.cidity and related factors.bose(ed).pp,211-236.

**N.Belaid, M.cherifi, L.tebani.(2013)** .Etude de la production de l'acide-3-indoleacétique et de la l'activité antifongique d'une souche de *Pseudomonas Fluorescens* isolée à partir de la rhizosphère du blé de la wilaya de Guelma,1p

**Naees M, Ali Q ,Shahbaz M et Ali F(2011)** .Rol of rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals :An overview ,International Research Journal of Plant Science ,2(8) :220-232.

**Neyra M.,(1992).**fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote légumineuses /rhizobium.190

**Olaniran A O ,Balgobind A et Pillay B (2013).**Bioavailability of heavy metals in soil :impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies,Int J Mol Sci ,14(5) :10197-10228.

**PAL K.K.and Gardener B.M.(2006).**Biological of pathogens.the plant Health Instructor :1-25

**Parmar ,P,Sindhu,S.S.,(2013).**potassium solubilization by rhizosphere Bacteria : influence of nutritional and Environmental Condition,j.Microbiol.Res.3.25-31.

**patrice pierre,pierre Bourdon ,Remy Delagarde,Alain Besnard(2016).**la diversité des légumineuses fourragère. intérêt et perspectives d'utilisation des légumineuse actuelles nouvelles ou oubliées.

**Patto M.C.V.et Rubiales D (2014).** Resistance to rust and powdery Mildew in Lathyrus Corps,Czech J.Genet.plant Breed,50(2) :116-122.

**Paul et Nair,(2008).**stress adaptatiois in a plant growth promoting rgizobacterium (PGPR) with increasing in the coastal agricultural soils.j.Basic.Microbiol.48(5) :378-384

**Payakapong W,Tittabutr P,Teaumrourng N,Boonkerd N,Singleton PW, Borthakur D.(2006).**Identification of two clusters of genes involved in salt tolerance in sinorhizobium sp .strain BL3.Symbiosis 41 :47-51.

**Peirera ,M.B.,Lima ,A.I.,and Figueira ,E.M.(2006).**Screening posible mechanisms mediating cadmium resistance in Rhizobium leguminosarum bv.vicia isolated form contaminated Portuguese soils.Microbial and molecular biology reviews 64.1 :180-21.

**Pelmont,(2005).**biodégradation et métabolismes :les bactéries pour les technologies de l'environnement .ED.EDP science.

**Pelmont,J.(1995).**Bacteries et environnement .Adaptation physiologiques. Pycins deduced form chimeric uoleculesJ.BACTERIOL.175/6179-6185.

**Pèret Benjamin.,2007.**Transport de l'auxine et développement du nodule actinorhizien chez l'arabe tropical *Casuarina glauca* .thèse de doctorat de l'université Montpellier2.France

**Perry j .j.,Staley J.T.,Lory S.,(2004).**Microbiologie .Edition Dunod,Pris



**Piano S, Neyrotti V, migheli o ; Guillno, M.L. (1997).** biocontrol capability of *metschnikowia pulcherrima* against *botrytis* postharvest *biol Technol.* 11(3) :131-140.

**Prashar P, Kapoor N et Sachdeva S (2013).** Rhizosphère :its structure, bacterial diversity and significance ,*Rev Environ Sci Biotechnol*

**Prosperi JM, Guy P, Genier G, Angervian M (1995).** Ressources génétiques des plantes fourragères et gazon ,éd INRA. Paris.

**pujic, Normand P. 2009.** La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofeta* 298 :26-29.

**Quezel et Santa S. (1962).** nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .CNRS, Ed. Paris ,France.

**Qureshi M.A., Ahmed Z.A., Akhtar N, Iqbal A. Mujeeb F. and Shakir M.A. (2012) .** rôle of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth .*the journal of animal and plant sciences* ,22(1) :204-210.

**Raven P .H ., Evert R .F ., Eichhorn S.E ., Bouharmont J .L., 2007.** Biologie végétale. 2<sup>e</sup> édition .Edition De Boeck. Paris France. p968.

**Reyes I, L. Alvarez , H. El-Ayoubiet A. Valery (2008).** sélection and evaluation of growth promoting rhizobacteria on pepper and maize .*bioagro.* 20 :37-48.

**Rivas R, Velazquez E, Willems A, Vizcaino N, Subba-rao N, S, Mateos P. F. Gillis M. Dazzo F. B. and martinez-molina E (2002).** A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen – fixing root nodule symbiosis with the aquatic legume, *Neptunia natans* (L.F) Druce. *appl. environ microbiol.* 68 :5217-5222.

**Rodriguer RJ, Henson J, Van Volkenburgh E, Hoy M, Wright L, Beck with F, Kimo YO, Redman RS (2008).** stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis *ISME J* .2 :404-416

**Ruisi, P, Siragusa, M, Di, Giorgio, G , Graziano, D, Amato, G, carimi, F, Giambalvo, D (2011).** Diversité phénotypologique, agronomique et génétique des populations naturelles de *Sulla* (*Hedysarum coronarium*) collectées en Sicile ,Italie. *Gen. Res. Crop Evol.*, 58(2) :245-257.

**Saif et Khan M.S. (2017).** Assessment of heavy metals toxicity on plant growth promoting rhizobacteria and seedling characteristics of *Pseudomonas putida* SFB3 inoculated green gram *Acta scientific agricultur*, 1(2) :47-56.

**Sammour R.H, Mustafa A.E. Badr S et Tahar W (2007).** Genetic variability of quality traits in *Lathyrus* spp. Germplasm, *Acta agriculturae Slovenica*, 90(1) :33-43.

**Sawada , I ., Lloret , K., Martinez-Romero, E. (2003).** *Sinorhizobium americanum* sp. nov. a new *Sinorhizobium* species nodulative *Acacia* spp. in Mexico. *Syst, Appl. Microbiol.* 26 :54-64.

**Schneider A et Huyghe D,(2015).**les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables,(Eds)Quae RD 10,70826 Versailles ,pp.1-473

**Selami Nawal,(2017).**cours de l'association symbiotique

**Sharma ,K,G.A.Agrawal ,M.Bhatnagar et R.Sharma.(2004).**effect of phosphate solubilization bacteria on the germination of Cicer arietinum seed sand seedling growth .J.Herb.Med.Toxicaol.,1 :61-63

**Shinwari K .I ,Slah A ,Afridi M.I,Zeeshan M,Hussain H,Hussain j ,Ahmed O et Jamil M (2015).**Application of plant growth promoting rhizobacteria in bioremediation of heavy metal polluted soil.Asian Journal of multidisciplinary studies ,3(4) :179-185.

**Silini a ,(2012).**Effets des molecules osmoprotectrices sur la survie et l'activite d'azotobacter et sur la croissance du ble dur en milieu salin.These de doctorat.Micrpbologie ;université ferhat abbas stéf.

**Small E ,Jampe M ,(1989) .**A synopsisofthe genus Medicago (Leguminosae). can .J.Bot.67 :3260-3294.

**Soltner D.(1988).**Les bases da la production végétale. le sol –le climat-la plante –tome 1 :le sol.16eme édition .Collection Sciences et Technique Agricoles .France.453p

**Somasegaran P et Hoben H.J.(1994).**Handbook for Rhizobia .Springer verlage New York .Inc p.450.

**Somers ,E .,Vanderleyden,j.,Srinivasan,M.,(2004).**Rhizosphere bacterial signalling :a love parade beneath our feet.Critical Reviews in Microbiology 30.205-240

**stan ,V Gament ,E Coreia, C .,voaides ,C.,Dusa,,and Plopeau,G.(2011).**effects of heavy metal from polluted soils on the *rhizobium* diversity.*Notulae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*39.1 :88-95

**Sturz ,AV et BR.Christie(2003).**beneficial microbial allelopathies in the root zone ;the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria .soil till.Res.,72 :107-123.

**Tak H .I,Ahmed F et Babalole O.O,(2013).**Advance in the application of Plant growth Promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of heavy metals ,D.M.Whitacre (ed),reviews of Environmental Contamination and Toxicology,33Reviews of Environmental

**Talamucci ,A,Valazquez,E, Fernandez-santos,F, Vizcaino,N,rivas, R,Mateos ,F, Martinez -molina,E, Igual,M, Willems, A, (2001).** phyllobacterium trifoli sp nov nodulating trifolium and lupinus in spanish soils int j evol Microbiol.55 :1985-1989.

**Tejera ,NA.,E.Ortega ,J,Gonzalez-Lopez et C.LIuch(2003).**Effect of some abiotic factors on the biological activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus*.J.appl. Microbiol .,95 :528-535.

**Thiébeau P ;lo-Pelzer,E.Klumpp,k.(2010).**Conduite des légumineuses pour améliorer l'efficacité énergétique et réduire les émissions de gaz à effet de serre à l'échelle de la culture et de l'exploitation agricole. *Innovations agronomique* ,pp11-45-58.

**Torche A ,(2010).** isolement et caractérisation des bactéries nodulant les légumineuse du genre Hedysarum. Mémoire de magister en biochimie et microbiologie appliquée.

**Torche A,(2006).**isolement et caractérisation des bactéries nodulant les légumineuse du genre Hedysarum .thèse de magister .département de biologie .université de Constantine.

**Tortora G .J. ,Funk B.R .,Case C.L.,2003.**introduction à la microbiologie .édition du renouveau Pédagogique Inc .p826-830.

**Tourte Y.,Bordonean M.,Henry M.,2005.**le monde des végétaux organisation physiologie et génomique .Edition DUNOD .paris .France.

**Valverde A, Velazquez E, Fernandez –santos F, Vizcaino N, Rivas R, Mateos PF ,Martinez-Molina E ,Iguar Jm, Willems A,(2005).**Phyllobacterium trifolii sp nov, nodulating trifolium and Lupinus in spanish soils .International journal of systematic and Evolutionary Microbiology 55 :1985-1989.

**Van Loon L,C ;Ramamoorthy (1998).**systemic resistance induced by rhizosphere bacteria annual review of phytopathology 36,453-483.

**Vargas ,DP,R.Ferrera-Cerrato,JJ.Almaraz-Suarez,AG. Gonzalez(2001).** inoculation of plant growth –promoting bacteria in lettuce.Terra19 :327-335.

**Vejan P ,ABDULLAH R.A , Khadiram T ,Islam S et Boyce A.N ,(2016).**Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability a review ,Molecules,21(573) :1-17.

**vertes F .,Jeuffroy M-H .,justes E.,Thiebeau P.,Corson.M(2010).**connaitre et maximiser les bénéfices environnementaux liées à l'azote chez les légumineuses ,à l'échelle de la culture ,de rotation et de l'exploitation ,Innovation Agronomique 11,25-44.

**Vincent,Beck ,(1970).**amanual for the practical study of root-nodule bacteria .Blackwell scientific publication ,Oxford.

**Virginie RIOU ,(2018 ).**les bactéries du sol .Bulletin sol et agronomie des chambres d'agriculture des pays de la Loire.

**Watson ,SF ,Gish,w,Miller ,w ,myers,ew,lipman,DJ.(1982).**basic local alignment search tool.j.mol.biol.215 :403-40.

**Weiwei w.Zhenghi H,Guilan G,Yang Yusuo Y.(2002).**studies on the characteristics related to symbiotic nitrogen fixation of legumes in Xinjiang region .12 ISCO conference ,Beijing .pp428-434.

**wier.BS,(2016).**The current taxonomy of rhyzobia .New Zealand rhizobia website. [Http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizonia.html](http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizonia.html).

**Williams J (1993).**rhizobium lipochitooligosaccharide nodulation factors :signaling molecules mediating recognition and morphologies is .*annu. rev.biochem.*65,503-535.

[Www.Semence](http://www.Semence) ag .2008.

**Younes,Z.(2010).**the activity of peroxidase in various celle fraction of wheat plants infected with septoria norotum berk.*Russ.j.plant physiol.*53 :807-813.

**Younis M ,(2007) .**response of lablab perpureus-rhizobium symbioses to heavy metas in pot field experiments.*j.Agro.Sci.*3,111-112.

**Zahra H.H.(2001).**rhizobia from wild legume :diversity,taxonomy ,ecologie ,nitrogen fixation and biotechnology .*journal of biotechnology* .91(2-3) :143-153.

**Zahran et Sprent ;Aguirreolea et Sanchez-Dyaz ,Sadowsky,Farissi (2017) .** plasmids impact on rhizobia –légumineuses symbiotique in divers environments .*symbiosis*.

**Zahran HH ,(1999).**Rhizobium –legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate .*Microbiologie and Molecular Biology Reviews*63 :968-989.

**Zakhia et De Lajudie,(2001).**Taxonomy of rhizobia *Agronomie* 21 :569-576.

**Zakhia ,F , Geder,H, Domergue,O , Willems,A, Cleyet-Marel, Gillis ,M, Dreyfus,B and de lajudie P, (2004).**Characterisation of wild legumes nodulation baceria (LNB) .In the infrared zone of Tunisia .*Syst.Appl.Microbiol.*27 :143-153.

**Zerhari K. (2000).**diversité phénotypique et génotypique des rhizobia isolé de region arides et sahariennes du maroc nodulant quatre espèces d'acacia : A.cyanophylla.A.gummifera ,A.horrida trotilis sub-espèces raddianan. these des doctorate.université mohamed V-AGDAL.PP/104.

**Zhao J.(2008).**régulation of ion homeostasis under salt stress .*cur.opin.in plant biology* 6 :441-445.

**Zohary,Daniel.,(2000).**Domestication of plants in the old world :the origin and spread of cultivated plants in West Asia ,Europe,abd the Nile Valley ,Oxford university Press.

**Zouaghi,J.slim (2001).** Salt and drought stress signal transduction in plants.*Annu .Rev .Plant Biol*53 :247-273.