

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : microbiologie appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**ZAGHEZ Fatima Ezzahra & TIBERMACINE Nihad**

Le: mercredi 18 juin 2025

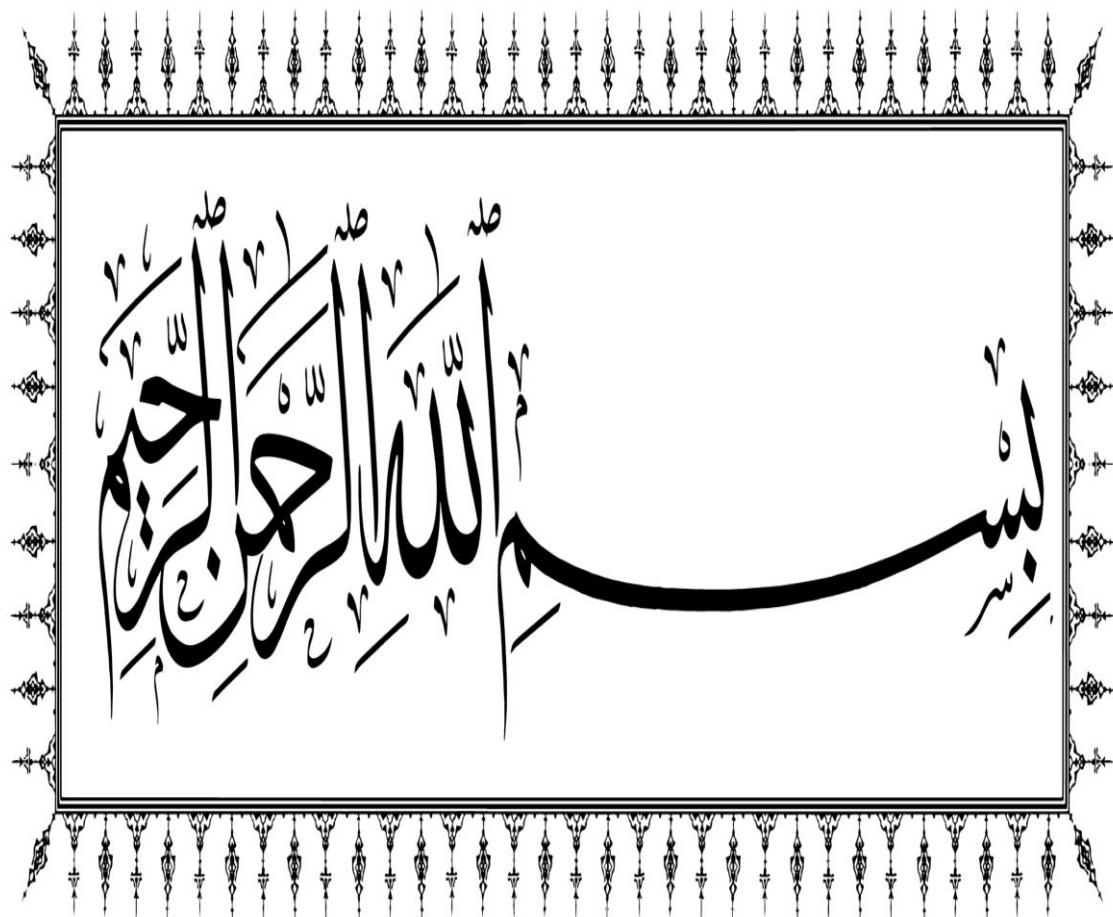
---

## Recherche des bactéries à Gram positif nodulant le genre *Genista* spp. dans les environs de Biskra et Ouled Djellal (étude de terrain).

---

### Jury:

Dr.	TRABSA Hayet	MCA	Université de Biskra	Président
Dr.	DJOUAMA Manel	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	CHEKARA BOUZIANI Mohammed	MAA	Université de Biskra	Examinateur



## *Remerciements*

Nous remercions tout d'abord Allah Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience, la santé et la volonté nécessaires à la réalisation de ce travail de recherche. L'homme propose, mais Dieu dispose. Nous Lui demandons de nous guider et de toujours orienter nos pas.

Nous adressons nos plus sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre encadrante, Madame Djouama Manel, qui a bien voulu accepter de nous encadrer, pour l'attention constante qu'elle nous a portée, sa rigueur dans le travail, son intégrité scientifique, ses précieux conseils, ses remarques pertinentes, ainsi que la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de ce travail.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury pour avoir accepté de juger notre mémoire.

Nos remerciements vont également à Madame **Trabsa Hayet** et Madame **Salemkour Noura** pour leur aide et leurs conseils.

Toute notre reconnaissance va aux membres des donneurs, grâce à qui ce travail a pu être réalisé.

Enfin, nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à la réussite de ce travail.

## *Dédicace*

*Avec l'aide et la grâce de Dieu Tout-Puissant,*

*J'ai pu accomplir ce travail, que je dédie :*

*À mon père, que Dieu ait son âme, et à ma chère mère, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite. Je prie Dieu d'accorder à ma mère bonheur et longue vie. J'espère pouvoir, un jour, leur rendre ne serait-ce qu'une petite partie de ce qu'ils m'ont offert.*

*À ma petite famille : mes sœurs **Rayane** et **Roumayssa**, ainsi que mes frères **Abderrahim** et **Oussama**.*

*À mes chères amies : **MaananeMariemBelkys**, **MessaouiOumaïma**, **SrijiHanaa**, **Zendagi Mariem** et **Salem Rayane**.*

*À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation et à mon apprentissage.*

*À mes camarades d'études et à toute la promotion de*  
***Microbiologie 2024/2025,***

*Avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.*

*Mes meilleurs vœux de succès et de réussite à nous tous pour l'avenir.*

**Nihad**

## *Dédicace*

À ceux qui ont enraciné en moi les valeurs les plus nobles,

À ceux qui m'ont offert le sens de la vie,

À ceux qui furent la lumière dans mes ténèbres et le soutien indéfectible dans chaque épreuve...

À ceux dont les mérites dépassent les mots, et dont le dévouement échappe à toute mesure :

À mon cher père, **djelloul**,

Mon modèle, ma force, mon repère...

Tu m'as appris que la fierté n'est pas arrogance, mais droiture,

Et que la sincérité est le fondement de toute réussite.

Tu es pour moi une fierté inestimable et un pilier irremplaçable.

À ma précieuse mère, Dalila,

Source inépuisable d'amour, refuge de mon âme, battement de mon cœur...

Dans la chaleur de tes prières, j'ai trouvé la paix ; dans ton sourire, j'ai puisé mon énergie ;

Et dans ta patience, j'ai compris le vrai sens du sacrifice.

Tu es ma plus grande bénédiction. Tes invocations sont ma plus sûre protection.

À mes chers frères : Abdou, Ninou et Mohamed,  
vous avez toujours été mon ombre bienveillante, mon soutien dans chaque instant...

Restez à jamais mes frères, mes amis, et mon havre de sécurité.

À ma tendre sœur, **Aya**,

Cœur sensible et lumière du foyer... ta présence est une joie, ton amour, une grâce inestimable.

À mes belles-sœurs : **Ikram et Lamis**,

Merci pour votre gentillesse et votre soutien. Vous avez su trouver votre place avec amour au sein de notre famille.

À mon fiancé bien-aimé, **Haitheme**,

Compagnon de route et partenaire de rêve...

Merci d'avoir été à mes côtés, de croire en moi, et d'alimenter ma persévérance par ta confiance.

À la famille de mon fiancé,

Recevez toute ma gratitude et mon respect. Vous avez su m'accueillir avec chaleur et bienveillance.

À mes tantes et oncles, du côté maternel comme paternel,

Vous êtes l'extension affective de ma famille, un véritable trésor de tendresse et de sagesse.

À mes grands-parents, présents et lumineux dans nos vies :

Mon grand-père Bachir, mon grand-père Saadan,

Ma grand-mère tounes et ma grand-mère Dida...

Que Dieu vous garde en bonne santé et vous bénisse encore longtemps.

Et enfin,

À mes amies chères à mon cœur, compagnes de route et miroirs de mon âme ( **Rayane**

**,Dounia ,nihad Meriem ,Hana**)

Vous avez su être la chaleur dans les moments d'effort et la joie dans les instants de fatigue.

Recevez tout mon amour et ma reconnaissance

**Fatima Ezzahra**



Liste des Tableaux .....	I
Liste des figures .....	II
Liste d'abréviation .....	III
Introduction .....	1

**Chapitre I :**  
**Partie Bibliographique**

1. Légumineuse .....	5
2. La tribu des <i>Genisteae</i> .....	5
2.1. <i>Genista saharae</i> .....	5
2.2. Description botanique .....	6
2.3. Classification de l'espèce <i>Genista saharae</i> .....	7
3. Genre <i>Rhizobia</i> .....	7
3.1. Description .....	7
3.2. Classification des <i>Rhizobia</i> .....	7
4. Symbiose légumineuse-bactérie .....	8
4.1. Fixation biologique de l'azote .....	8
4.2. Types de fixateurs .....	10
4.2.1. Fixateurs libres .....	10
4.2.2. Fixateurs en symbiose .....	10
5. Phénomène de la nodulation .....	11
5.1. Mécanismes .....	11
5.2. Types de nodules .....	12

**Chapitre II :**  
**Partie expérimentale**

1. Présentation des régions d'étude .....	16
2. Prospection des sites .....	17
3. Sélection de la plante .....	19
3.1. Port général de la plante (habitus) .....	19
3.2. Feuillage .....	20
3.3. Fleurs .....	20
3.4. Fruits .....	20
3.5. Graines .....	20
4. Méthode collecte des nodules racinaires .....	21

4.1. Nettoyage des racines .....	22
4.2. Collecte des nodules .....	22
4.3. Conservation des nodules .....	23
5. Collecte des graines de <i>Genista saharae</i> .....	24
5. Méthodologie de la recherche des bactéries nodulantes de <i>Genista saharae</i> .....	24
5.1. Observation microscopique des nodules et bactéroïdes .....	24
5.2. Isolement des rhizobiums à partir des nodules .....	25
5.3. Test présomptif des isolats .....	26
5.4. Conservation à court terme des isolats .....	26
5.5. Authentification des isolats (test de nodulation) .....	26
5.6. Conservation à long terme des isolats authentifiés .....	26
6. Les Etudes antérieures sur la recherche des bactéries symbiotiques .....	27
6.1. Méthodes de Nodulation et d'Isolement des Rhizobiums .....	27
6.1.1. Collecte des échantillons .....	27
6.1.2. Isolement des souches bactériennes .....	29
6.1.3. Test de nodulation .....	31

**Chapitre III :****Résultats et discussion**

1. Résultats des méthodes utilisées .....	33
1.1. Collecte des nodules .....	33
1.2. Isolement des bactéries .....	33
1.3. Test de nodulation .....	35

**Conclusion**

Conclusion .....	38
Références bibliographique .....	41
Résume	

**Liste des Tableaux**

<b>Tableau 1.</b> Classification de <i>Genista saharae</i> .....	7
<b>Tableau 2.</b> Caractéristiques des nodosités déterminées et indéterminées .....	14
<b>Tableau 3.</b> La différence entre l'espèce <i>Retama sphaerocarpa</i> et <i>Genista spp</i> .....	20
<b>Tableau 4.</b> Récapitulatif des régions, espèces végétales et périodes de collecte des échantillons dans les études de nodulation. ....	28
<b>Tableau 5.</b> Les résultats des bactéries isolés .....	33

**Liste des figures**

<b>Figure 1.</b> Genista saharae .....	6
<b>Figure 2.</b> Cycle de l'azote simplifié pour les écosystèmes terrestres .....	9
<b>Figure 3.</b> Formation d'un nodule .....	12
<b>Figure 4.</b> Types de nodules chez les Légumineuses.....	13
<b>Figure 5.</b> Localisation géographique de la zone étudiée dans la wilaya de Biskra (CRESTRA,2025) .	17
<b>Figure 6.</b> Localisation géographique du site d'échantillonnage : la région de Bouchagroune, wilaya de Biskra (C.R.S.T.R.A, 2025). .....	18
<b>Figure 7.</b> <i>Genista saharae</i> (originale).....	19
<b>Figure 8.</b> <i>Retama sphaerocarpa</i> .....	21
<b>Figure 9.</b> les racines nettoyées.....	22
<b>Figure 10.</b> Conservation des nodules sous CaCl2 (originale).....	23
<b>Figure 11.</b> Les graines collectées.....	24
<b>Figure 12.</b> L 'ensemencement des nodules sur YMA + Bleu de bromothymol (BTB) .....	25

**Liste d'abréviation**

<b>BTB :</b>	Bleu de bromothymol
<b>CaCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de calcium
<b>GPB :</b>	Glucose Peptone Broth (ou Glucose Peptone Base)
<b>HgCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure mercurique
<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharides.
<b>NaClO :</b>	Hypochlorite de sodium
<b>NodC :</b>	Gène nodulaire C
<b>Nod :</b>	Nod factors
<b>RC :</b>	Rouge Congo
<b>YM :</b>	Yeast Mannitol.
<b>YMA :</b>	Yeast Mannitol Agar
<b>YEM :</b>	Yeast Extract Mannitol
<b>YEMA :</b>	Yeast Extract Mannitol Agar

# Introduction

## Introduction

Les légumineuses (*Fabaceae*) représentent l'une des familles les plus diversifiées et les plus répandues de plantes dicotylédones. Elles sont connues pour leur aptitude remarquable à établir une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique, regroupées sous le nom de rhizobiums. Cette interaction mutualiste se traduit par la formation de nodules racinaires, structures spécialisées dans lesquelles les bactéries convertissent le diazote ( $N_2$ ) en ammoniac ( $NH_3$ ), une forme assimilable par la plante (Hopkins, 2003). Ce processus, appelé fixation biologique de l'azote, contribue de manière significative à la fertilité des sols et réduit le besoin en engrains azotés industriels, apportant ainsi une solution durable aux problématiques agricoles contemporaines (Vertès *et al.*, 2010 ; Thiebeau *et al.*, 2010).

La famille des légumineuses se distingue également par son rôle majeur dans l'alimentation humaine, notamment en raison de sa richesse en protéines végétales, (Bruning et Rozema, 2013). En agriculture, certaines espèces sont utilisées depuis des millénaires comme engrais verts, favorisant la régénération des sols appauvris.

Dans cette famille, la tribu des *Genisteae*, largement répandue dans les régions méditerranéennes, occupe une place particulière. Elle comprend plusieurs espèces adaptées aux milieux arides ou dégradés, jouant un rôle écologique dans la stabilisation des sols et la restauration des écosystèmes dégradés (Chaich, 2018). Parmi les espèces les plus répandues de ce genre *Genista saharae* qui est un arbuste épineux appartenant à la famille des Fabacées, tribu des *Genisteae*. Son nom vernaculaire est *El Marekh* (المراكب), bien que celui-ci puisse varier selon les régions et soit souvent peu documenté. Il atteint une hauteur de 1 à 2 mètres et se caractérise par des branches longues et flexibles ainsi que des feuilles étroites, unifoliées et très caduques. Les fleurs jaunes sont espacées le long des rameaux et portées par de nombreux rameaux florifères alternes, formant des grappes lâches. Le fruit est constitué de gousses longues, pendantes, aux parois minces et papyracées, qui s'ouvrent à maturité. Cette espèce pousse généralement dans les environnements sableux, en particulier dans les dépressions et les oueds. Elle est largement répandue dans le nord du Sahara algérien, notamment à Biskra, El Oued, dans le sud oranais, le Mzab et Touggourt, mais elle est absente du Sahara central. La floraison a lieu entre février et mars. *Genista saharae* est traditionnellement utilisée en médecine populaire pour traiter les troubles digestifs et les affections respiratoires. Elle est également considérée comme une plante fourragère précieuse, notamment pour les chameaux.

Cette description est basée sur les travaux de Quézel & Santa (1963) dans Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales et de Ozenda (1991) dans Flore et végétation du Sahara.

Les *rhizobiums* sont des bactéries Gram négatives, aérobies, connues pour leur capacité à fixer l'azote. On les retrouve soit à l'état libre, principalement dans les sols, soit en symbiose avec des plantes légumineuses. Elles appartiennent à la sous-classe des alpha-protéobactéries, au sein de la grande classe des Eubactéries (Maidak *et al.*, 1994).

La classification des *rhizobiums* est devenue de plus en plus complexe et continue d'évoluer à mesure que de nouvelles recherches permettent l'identification de genres et d'espèces supplémentaires. À ce jour, les *rhizobiums* sont répartis dans plus de 17 genres, notamment *Azorhizobium* , *Bradyrhizobium* , *Burkholderia* , *Cupriavidus* , *Devosia* , *Herbaspirillum* , *Mesorhizobium* , *Méthylobacterium* , *Microvirga* , *Ochrobactrum* , *Phyllobacterium* , *Pseudomonas* , *Ralstonia* , *Rhizobium* , *Shinella* et *Ensifer* (anciennement *Sinorhizobium* ). Cette classification est continuellement révisée à la lumière des avancées en phylogénie moléculaire.( Pongsilp,2012)

Étudier les mécanismes symbiotiques impliqués dans la relation entre *Genista* et ses partenaires microbiens constitue un enjeu scientifique majeur. Cela permet de mieux comprendre l'adaptation des symbioses azotées aux conditions édaphiques extrêmes du Sahara, et d'envisager leur valorisation dans les programmes de reboisement et d'agriculture durable en zones arides.

La problématique que nous soulevons est particulièrement intéressante, car elle aborde un aspect peu exploré dans les études sur les bactéries fixatrices d'azote. La majorité des bactéries capables de former des nodules racinaires avec les légumineuses, telles que *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*, appartiennent au groupe des bactéries à Gram négatif. À ce jour, aucun cas confirmé de bactéries à Gram positif capables de former des nodules racinaires avec les légumineuses par le même mécanisme que les bactéries à Gram négatif n'a été rapporté.

Les raisons possibles de l'absence de ce type d'association sont les suivantes : Différences dans la composition de la paroi cellulaire : les bactéries à Gram positif possèdent une paroi cellulaire épaisse, dépourvue de certains composants (comme les

lipopolysaccharides) qui pourraient être essentiels pour l'interaction avec les légumineuses. Absence de systèmes similaires au système de sécrétion Nod : ce système est responsable de la production des signaux chimiques reconnus par les légumineuses pour initier la formation des nodules racinaires. Différences écologiques et spécialisation fonctionnelle : les bactéries à Gram positif jouent généralement d'autres rôles dans l'environnement, comme la décomposition de la matière organique ou la fixation de l'azote de manière indépendante, sans interaction symbiotique avec les plantes. Il est possible que de nouvelles espèces de bactéries à Gram positif, dotées de capacités encore inconnues ou reposant sur des mécanismes alternatifs de fixation de l'azote, soient découvertes à l'avenir.

Au cours de ce mémoire de master, nous avons mené l'investigation suivante :

Tout d'abord, On a choisi trois régions de recherche des environs de la wilaya de Biskra : Le site Bouchagroune, Ain zatout et le site Chaiba pour chercher et identifier une plante légumineuse appartenant à la tribu des *Genisteae* en particulier *Genista spp*. Après avoir identifié la tribu des *Genisteae* parmi plusieurs espèces de légumineuses sur le site étudié, un représentant des *Genisteae* c'est *Genista saharae* a été sélectionné pour le site Bouchagroune. Les nodules prélevent sur les racines de *Genista saharae*. Plusieurs prélèvements ont été effectué pendant la période estivale. L'isolement des bactéries nodulant de *Genista saharae* et leur identification est malheureusement n'ont pas pu achever en raison du manque de moyens et des réactifs disponibles au laboratoire. Cependant, la majeure partie de l'effort et du temps a été investie dans les sorties de terrain.

# **Chapitre I :**

# **Partie Bibliographique**

## **1. Légumineuse**

Les légumineuses (*Fabaceae*) sont une famille de plantes dicotylédones, dont environ 88 % établissent une symbiose au niveau de leurs racines avec des micro-organismes fixateurs d'azote, appelés diazotrophes (regroupés sous le nom de *rhizobium*). Cette association se forme dans des organes spécialisés appelés nodosités.

Les légumineuses jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine à travers le monde, notamment grâce à leur teneur élevée en azote, qui résulte en grande partie de cette symbiose avec les *rhizobiums*. Elles sont également largement utilisées comme engrais vert depuis les débuts de l'agriculture. Toutefois, cet usage a diminué avec l'apparition des engrais industriels. (Bruning et Rozema, 2013)

## **2. La tribu des *Genisteae***

La tribu des *Genisteae* est principalement présente dans les régions méditerranéennes. Elle joue un rôle écologique majeur, non seulement en raison de la grande diversité de ses espèces, mais aussi par sa capacité à coloniser les forêts dégradées et les zones déboisées, où elle peut dominer de nombreuses communautés végétales (Chaich, 2018).

### **2.1. *Genista saharae***

Il s'agit d'un arbuste mesurant entre 1 et 2 mètres de hauteur, aux rameaux allongés. Ses feuilles sont simples, étroites et très caduques. Les fleurs, espacées, apparaissent le long des rameaux, tandis que les gousses sont longues, pendantes et possèdent des parois fines, de type parcheminé. Les ramules florifères, très nombreux et disposés de manière alterne, forment des grappes lâches. Cette plante est traditionnellement utilisée pour traiter certains troubles digestifs. Elle est répandue dans le nord du Sahara, notamment dans le sud oranais, le Mzab et la région de Touggourt, mais reste absente du Sahara central.(Chaich, 2018).



**Figure 1.***Genista saharae*

## **2.2. Description botanique**

Le calice de la fleur est formé de cinq segments : les deux supérieurs peuvent être séparés ou soudés, tandis que les trois inférieurs forment une lèvre trilobée. Il peut aussi prendre une forme campanulée avec cinq dents presque égales. La carène, ou quille, est oblongue, droite ou légèrement bombée sur les côtés.

La fleur possède 10 étamines soudées entre elles, dont 5 longues et 5 courtes. Le stigmate est incliné. La gousse, dont l'aspect est variable, s'ouvre à maturité pour libérer les graines.

Les arbustes peuvent être épineux, sans feuilles, ou munis de rameaux dressés. Les feuilles, généralement composées de 1 à 3 folioles, peuvent porter ou non des stipules. Les graines ne sont pas entourées d'un arille. (Quézel et Santa, 1963).

### 2.3. Classification de l'espèce *Genista saharae*

Le tableau suivant démontre la classification de notre espèce étudiée

**Tableau 1.**Classification de *Genista saharae*(<https://www.gbif.org/fr/species/5349871>,  
[https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000743469-2024-12?matched\\_id=wfo\\_0000211140&page=1](https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000743469-2024-12?matched_id=wfo_0000211140&page=1))

<i>Rang taxonomique</i>	<i>Nomenclature</i>
Règne	Plantae
Phylum	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	CallobotaEckl. & Zeyh
Espèce	<i>Genista saharae</i> Coss. & Durieu

## 3. Genre *Rhizobia*

### 3.1. Description

Les *rhizobiums* sont des bactéries Gram négatives, aérobies, connues pour leur capacité à fixer l'azote. On les retrouve soit à l'état libre, principalement dans les sols, soit en symbiose avec des plantes légumineuses. Elles appartiennent à la sous-classe des alpha protéobactéries, au sein de la grande classe des Eubactéries (Maidak *et al.*, 1994).

### 3.2. Classification des *Rhizobia*

La classification des *rhizobiums* est devenue de plus en plus complexe et continue d'évoluer à mesure que de nouvelles recherches permettent l'identification de genres et d'espèces supplémentaires. À ce jour, les *rhizobiums* sont répartis dans plus de 17 genres, notamment *Azorhizobium* , *Bradyrhizobium* , *Burkholderia* , *Cupriavidus* , *Devosia* , *Herbaspirillum* , *Mesorhizobium* , *Méthylobacterium* , *Microvirga* , *Ochrobactrum* , *Phyllobacterium* , *Pseudomonas* , *Ralstonia* , *Rhizobium* , *Shinella* et *Ensifer* (anciennement

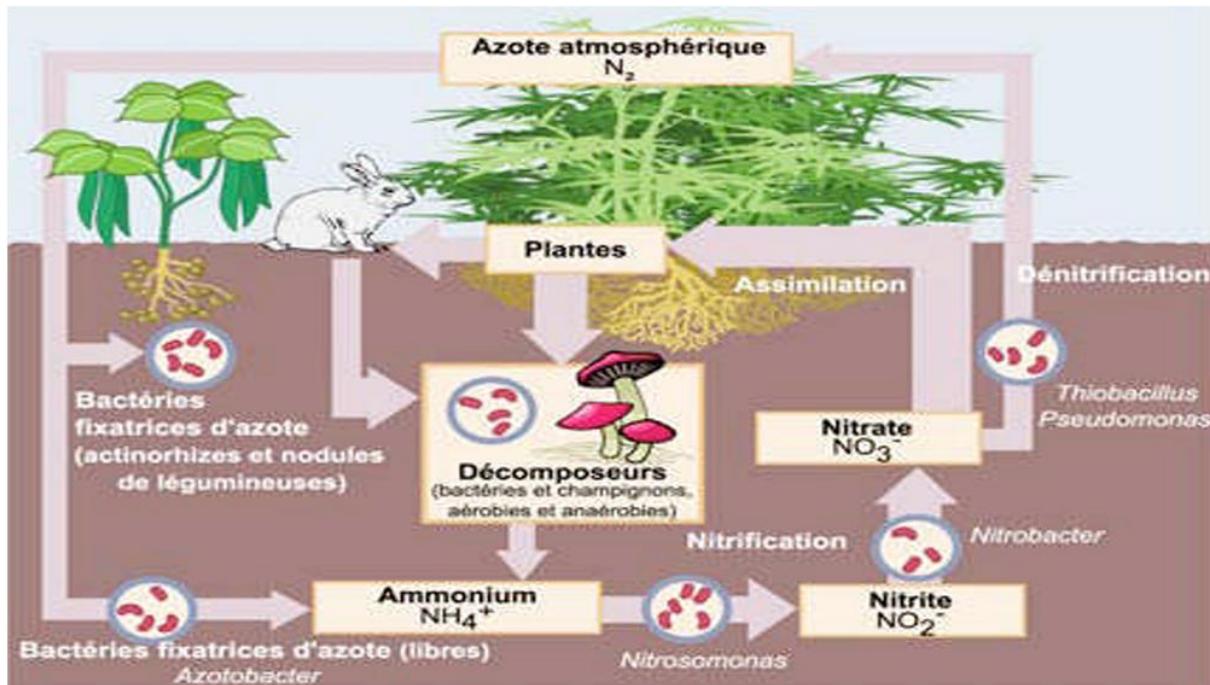
*Sinorhizobium* ). Cette classification est continuellement révisée à la lumière des avancées en phylogénie moléculaire.( Pongsilp,2012)

#### **4. Symbiose légumineuse-bactérie**

##### **4.1.Fixation biologique de l'azote**

Après l'eau, l'azote constitue l'un des éléments les plus essentiels de la matière vivante. Il représente un facteur limitant majeur de la production agricole, en raison de son rôle central dans la synthèse de molécules biologiques fondamentales telles que les protéines, les acides nucléiques et la chlorophylle (Hopkins, 2003).L'azote sous forme combinée, directement assimilable par les organismes vivants, ne représente qu'une infime fraction environ 0,001 % de l'azote total présent dans la biosphère. En revanche, l'atmosphère terrestre contient environ 79 % d'azote sous forme gazeuse ( $N_2$  ), qui constitue la principale réserve naturelle de cet élément. Toutefois, cette forme gazeuse est inaccessible à la majorité des organismes vivants, à l'exception de certains procaryotes appelés fixateurs d'azote ou diazotrophes, capables de le convertir en une forme assimilable (Newton, 1998). L'intérêt agronomique de la fixation biologique de l'azote, notamment par les légumineuses, est reconnu depuis longtemps. Elle constitue une source naturelle d'azote pour les systèmes agricoles et s'impose aujourd'hui comme une alternative stratégique dans le cadre de la transition vers des modes de production plus durables, économes en énergie et respectueux de l'environnement (Vertès et al., 2010 ; Thiebeau et al., 2010 )

La fixation biologique de l'azote est un processus par lequel ces micro-organismes produisent des composés azotés à partir de l'azote atmosphérique. Ce mécanisme repose sur l'action d'un complexe enzymatique appelé nitrogénase, qui catalyse la transformation de l'azote moléculaire ( $N_2$  ) en ammoniac ( $NH_3$  ). Ce composé représente la forme finale de la fixation de l'azote et le point de départ de son intégration dans les structures carbonées des organismes (Hopkins, 2003).



**Figure 2.**Cycle de l'azote simplifié pour les écosystèmes terrestres (Pujic, 2009)

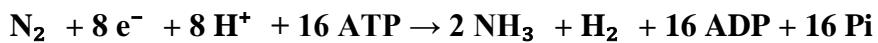
Selon Menendez *et al.*(2017), La nitrogénase est un complexe enzymatique clé impliqué dans le processus de fixation biologique de l'azote, permettant la réduction du diazote atmosphérique ( $N_2$ ) en ammoniac ( $NH_3$ ), une forme assimilable par les plantes. Cette réaction se déroule dans un environnement micro aérophile, tel que celui des nodules racinaires des plantes légumineuses, où la concentration en oxygène est suffisamment basse pour permettre le fonctionnement de l'enzyme, qui est extrêmement sensible à l'oxygène libre.

Parmi les différents types de nitrogénases connus, les bactéries du genre *Rhizobium* (*Rhizobia*) ne possèdent que la forme contenant du molybdène. Ce type de nitrogénase, dite à molybdène (Mo), est constitué de deux composants métalliques :

- La dinitrogénase, une protéine contenant du molybdène et du fer (MoFe),
- La dinitrogénase réductase, une protéine riche en fer (Fe).

. L'activité de la nitrogénase dépend principalement de la disponibilité en ATP (qui fournit l'énergie et les électrons nécessaires) et en ions magnésium ( $Mg^{2+}$ ).

La réaction globale catalysée par la nitrogénase est la suivante :



Après la fixation biologique de l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) par les bactéries du genre *Rhizobium*, l'azote est transformé en ammoniac ( $NH_3$ ), une forme assimilable par les plantes. Cependant, l'ammoniac peut être toxique à forte concentration. C'est là qu'interviennent les bactéries nitrifiantes, comme *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*. Ces bactéries transforment l'ammoniac en nitrites ( $NO_2^-$ ), puis en nitrates ( $NO_3^-$ ), une forme stable et facilement absorbable par les racines des plantes. Ce processus, appelé nitrification, joue un rôle essentiel dans le cycle de l'azote en permettant une meilleure disponibilité de l'azote pour les végétaux et en évitant l'accumulation de composés azotés toxiques dans le sol. (Sylvia *et al.*, 2005 ; Paul, 2015)

## **4.2. Types de fixateurs**

### **4.2.1. Fixateurs libres**

Les bactéries fixatrices d'azote libres appartiennent à des groupes taxonomiques variés, reflétant une grande diversité physiologique. On y retrouve des bactéries aérobies chimio-organotrophes telles que *Acetobacter*, *Azotobacter* et *Azospirillum*, des bactéries anaérobies strictes comme *Clostridium*, ainsi que des bactéries aérobies facultatives à l'image de *Bacillus*, *Klebsiella* et *Pseudomonas*. Ce groupe comprend également des bactéries phototrophes anoxygéniques, notamment *Rhodobacter* et *Rhodospirillum*, capables de réaliser la photosynthèse sans production d'oxygène, ainsi que des cyanobactéries fixatrices telles que *Synechococcus* (Renier, 2008).

### **4.2.2. Fixateurs en symbiose**

Selon Ganry et Domergues (1995), les microorganismes fixateurs d'azote associés aux plantes supérieures peuvent être classés en trois groupes principaux :

**- Les rhizobiums**, un groupe majeur de bactéries symbiotiques associés principalement aux légumineuses. Cette symbiose est plus couramment observée chez les espèces appartenant aux sous-familles *Papilionoideae* et *Mimosoideae*, tandis qu'elle est moins fréquente chez les *Caesalpinoideae*.

**- Les Frankias**, des actinomycètes filamentueux sporulants, établissant une symbiose avec des plantes dites actinorhiziennes. Ces hôtes sont, dans la majorité des cas, des arbres ou des arbustes, tels que les genres *Alnus*, *Casuarina* et *Elaeagnus*.

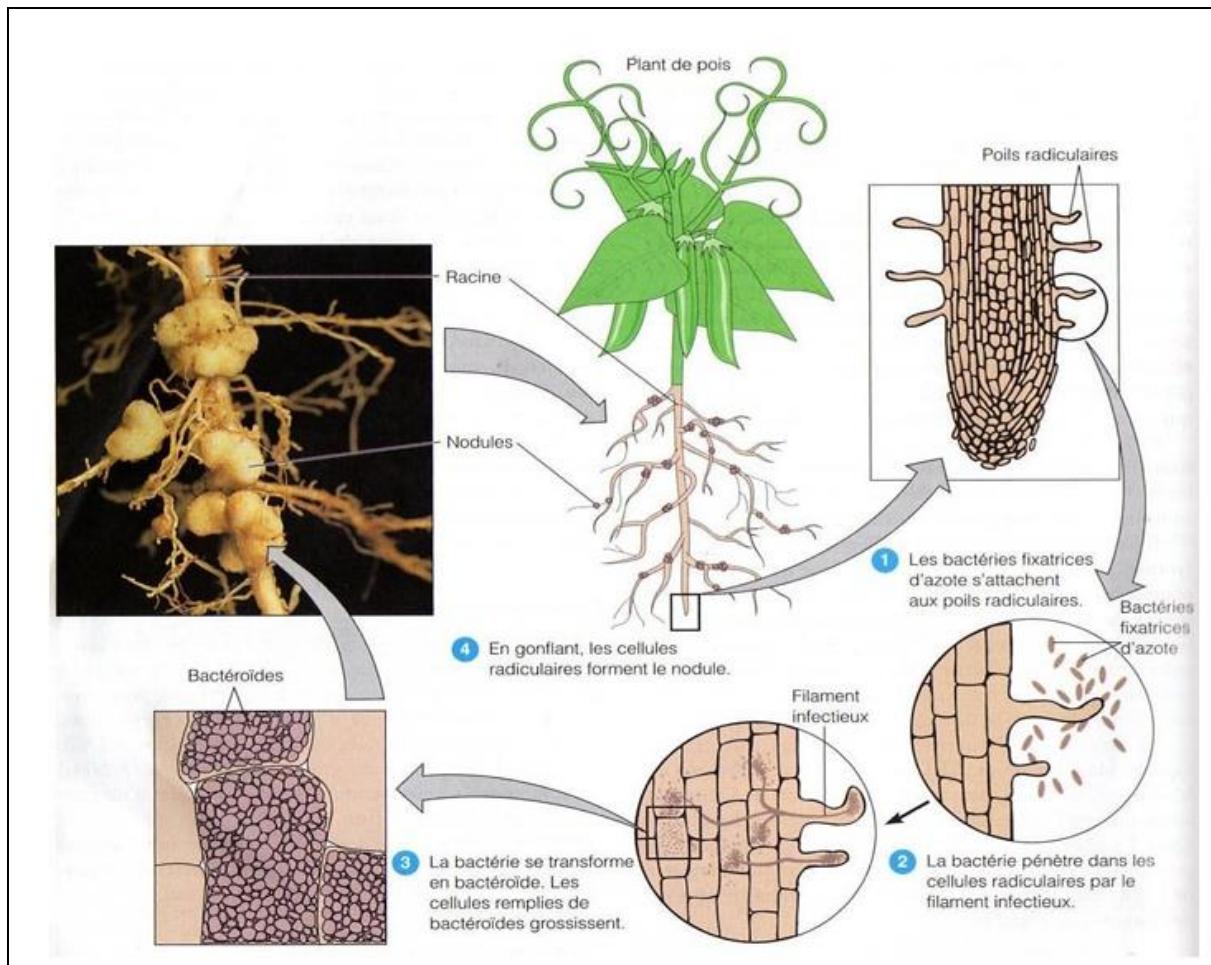
- **Les cyanobactéries**, qui forment des associations symbiotiques avec divers organismes, notamment des plantes non ligneuses, telles que les *cycades* ou *Azolla*, une petite fougère aquatique souvent rencontrée dans les rizières.

## 5. Phénomène de la nodulation

### 5.1. Mécanismes

Les légumineuses possèdent une capacité unique à établir une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote du sol, appelées *rhizobium*s. Cette association mutualiste aboutit à la formation de nodules racinaires, véritables organes spécialisés où les bactéries convertissent l'azote atmosphérique en ammoniac, une forme assimilable par la plante. Ce mécanisme contribue fortement à l'agriculture durable, en réduisant le recours aux engrains azotés et en favorisant la production d'aliments riches en protéines (Wang *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes sont des composés produits par les plantes, en particulier par les légumineuses, où ils jouent un rôle clé dans l'établissement de la symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Ces substances sont libérées dans le sol par les cellules racinaires sous forme d'exsudats, attirant ainsi les bactéries *rhizobien*nes. En réponse, les *Rhizobium* sécrètent des lipopolysaccharides (LPS) issus de leur membrane externe. Ces LPS possèdent une structure antigénique spécifique, reconnue par la plante hôte. Cette reconnaissance permet à la bactérie de traverser la paroi cellulaire végétale, donnant lieu à la formation d'un fil infectieux, qui progresse en se ramifiant au fur et à mesure de son passage dans d'autres cellules donc L'infection commence lorsque les poils racinaires se recourbent autour des bactéries, formant des foyers d'infection. Ensuite, les fils infectieux, sortes de structures végétales, permettent aux bactéries de traverser les cellules et d'atteindre le cortex racinaire. Des cellules corticales réagissent en formant une ligne d'infection et en organisant leur cytoplasme pour orienter la progression des bactéries. Simultanément, les cellules situées sous le point d'infection commencent à se diviser pour créer des méristèmes nodulaires, à l'origine des primordial nodulaires. Les *rhizobium*s sont ensuite libérés dans les cellules internes du nodule via un processus d'endocytose, encapsulés dans des membranes végétales. Ces structures évoluent en symbiosome, sortes d'organites spécialisés dans lesquels les bactéries différencieront assurent la fixation biologique de l'azote (oldroydet *et al.*, 2008)



**Figure 3.**Formation d'un nodule (Tortora et al., 2003)

## 5.2. Types de nodules

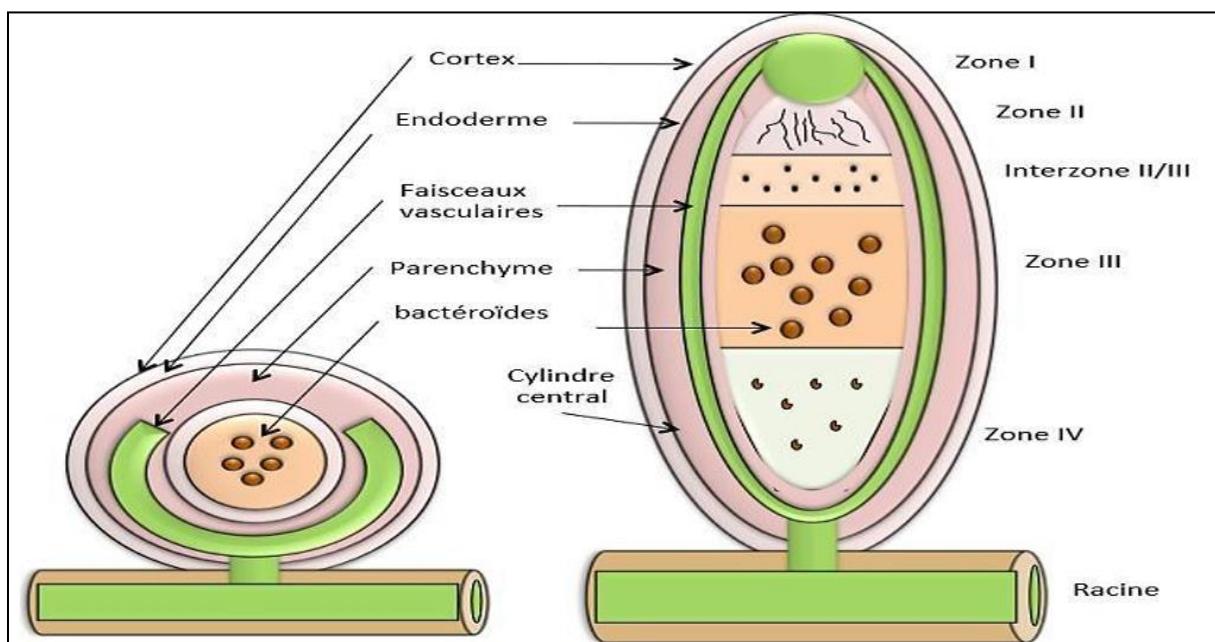
Les nodules se développent généralement le long des fines racines latérales. On les classe en deux grandes catégories selon leurs caractéristiques de développement, bien que leur maturation soit souvent hétérogène. Ces deux types sont dits déterminés et indéterminés (Figure 4) (Gage, 2004).

À l'instar du processus d'infection, la formation des nodules est influencée par l'espèce de la plante hôte (Tableau 2). Une même souche bactérienne peut ainsi induire l'un ou l'autre type de nodule, selon la légumineuse infectée.

- Les nodules déterminés prennent naissance dans le cortex externe. Leur méristème, de courte durée, cesse rapidement son activité, ce qui limite la croissance longitudinale du nodule. Ils présentent une forme sphérique et leurs cellules atteignent un même niveau de différenciation.

► Les nodules indéterminés, quant à eux, se forment à partir du cortex interne et possèdent un méristème apical persistant. Celui-ci génère continuellement de nouvelles cellules, ce qui permet au nodule de croître en longueur. Ils adoptent ainsi une forme allongée et sont structurés en différentes zones histologiques (Hirsch, 1992), généralement au nombre de quatre (Figure 4 ).

Enfin, la morphologie et la structure des nodules varient selon l'origine taxonomique de la plante hôte. De ce fait, la forme des bactéroïdes diffère également en fonction des légumineuses et du type de nodules formés (Sprent, 2007).



**Figure 4.** Types de nodules chez les Légumineuses. À droite nodule de type indéterminé ; et à gauche nodule de type déterminé (Hirsch, 1992).

La zone 1, dite zone méristématique, la zone 2, dite zone d'infection, la zone 3, dite zone de fixation, la zone 4, dite zone de sénescence.

**Tableau 2.**Caractéristiques des nodosités déterminées et indéterminées (Sprent, 2007).

	<b>Nodosité indéterminée</b>	<b>Nodosité déterminée</b>
Site des 1 <sup>er</sup> évènement de division cellulaire	Cortex racinaire interne	Cortex racinaire externe
Type du méristème	Méristème persistant	Pas de méristème persistant
Forme normal de la nodosité	Cylindrique	Sphérique
Cordon d'infection	Large	Étroit
Cellules infectées	Hautement vacuolé	Peu vacuolé
Forme du bactéroïde	Large, ramifié faible viabilité, un par symbiosome	Normal, haute viabilité, plusieurs par symbiosome

# **Chapitre II :**

# **Partie expérimentale**

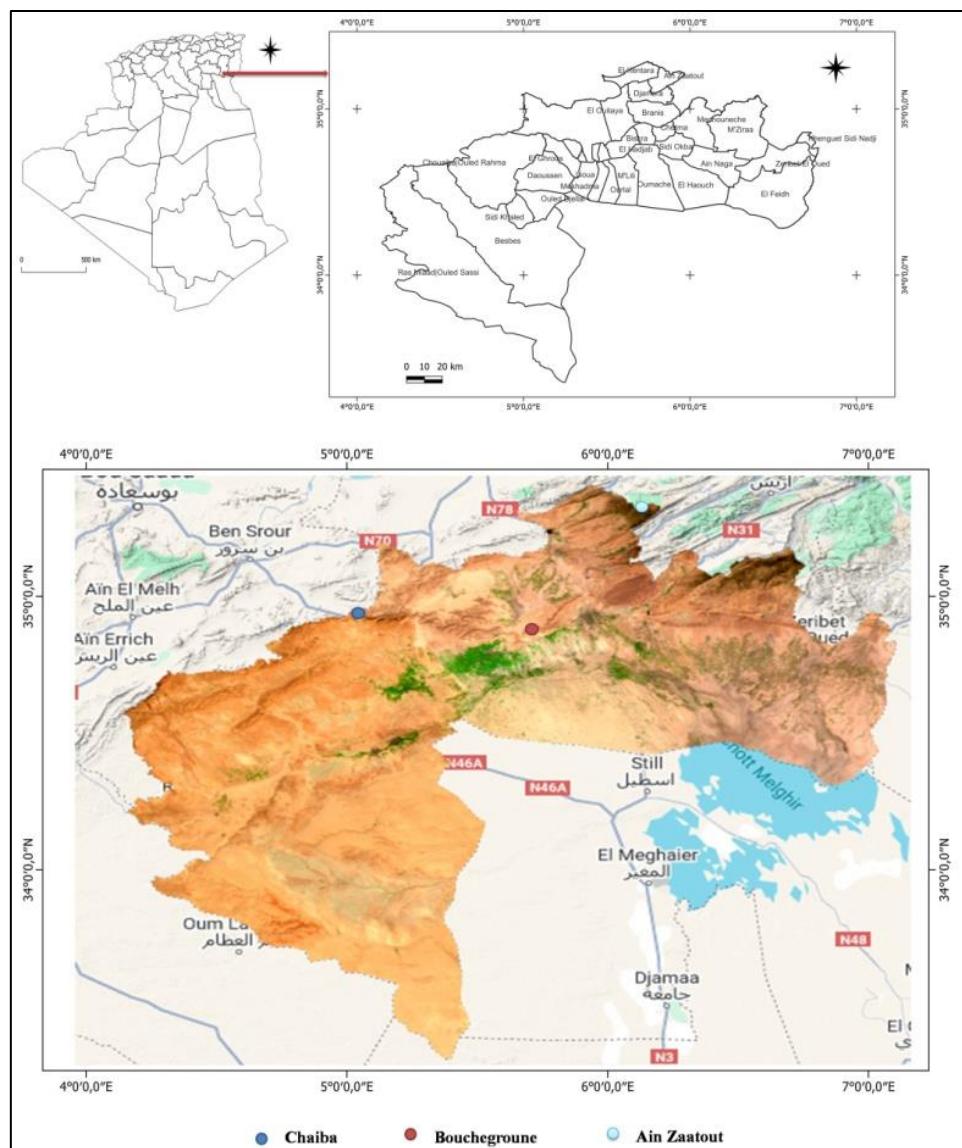
### 1. Présentation des régions d'étude

Dans le cadre de notre étude sur les nodosités racinaires des légumineuses, nous avons effectué un total de 23 sorties de terrain réparties dans trois communes situées principalement dans la wilaya de Biskra et ses environs. Ces sorties, réalisées entre fin du mois février et fin d'avril, ont permis de collecter des données précieuses dans des contextes géographiques et écologiques variés et la présence ou l'absence de ces nodosités racinaires, ce qui renforce l'aspect pratique de l'étude et contribue à l'enrichissement des résultats de la recherche.

Nous avons réalisé environ cinq sorties dans la commune de Ain Zaâtouf, située au nord de la wilaya de Biskra, à environ 50 kilomètres de la ville éponyme. Relevant administrativement de la daïra d'El Kantara, cette commune est implantée sur les pentes méridionales des monts de l'Aurès, à la frontière entre les wilayas de Biskra et Batna. Ce relief accidenté présente un intérêt particulier pour l'étude de la symbiose racinaire dans des conditions montagneuses. Ses coordonnées géographiques sont : 35.14638° N, 5.83737° E.

Dans la commune de Chaïba, également appelée Ouled Rahma, nous avons effectué environ trois sorties. Située au nord-ouest de la wilaya d'Ouled Djellal, à environ 90 kilomètres de Biskra, elle se distingue par un relief plat et un climat semi-désertique, propices à l'agriculture et au pastoralisme. Elle est entourée par plusieurs communes, dont Tolga, Doucen, Besbes et Sidi Khaled. Ces conditions environnementales permettent l'observation des légumineuses dans un contexte aride, avec une diversité de sols.

Enfin, la commune de Bouchagroune a été la plus explorée, avec environ 15 sorties. Localisée dans la partie occidentale de la wilaya de Biskra, à 26 kilomètres de la ville, elle dépend administrativement de la daïra de Tolga. Faisant partie de la région des Zibans occidentaux, Bouchagroune se situe à la jonction entre les monts de l'Aurès et le Sahara, un emplacement stratégique qui lui confère une grande diversité géopédologique. Elle est délimitée par les communes de Lichana, El Mokhadma, Tolga et Ourlal. Ses coordonnées géographiques sont : 34.7216° N, 5.4655° E.



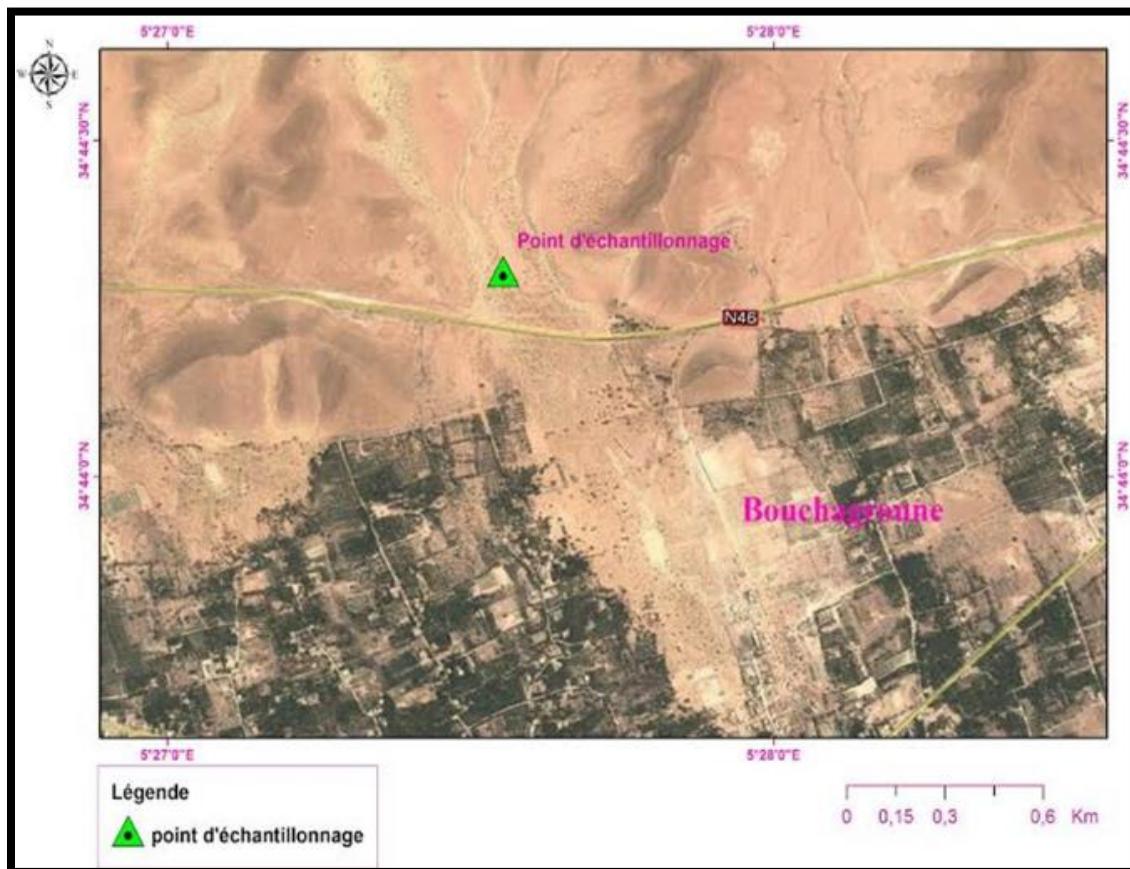
**Figure 5.**Localisation géographique de la zone étudiée dans la wilaya de Biskra (CRESTRA,2025)

## 2. Prospection dessites

Les graines objet de notre étude sont collectés à partir des racines de l'espèce *Genista saharae* Cosset Dur (Figure 07) qui pousse au niveau de la région de Bouchagroun, wilaya de Biskra. À l'inverse, on a constatée l'absence de la plante du Genre *Genista* dans les zones d'Aïn Zaatout et de Chaïba.

La zone d'étude est localisée dans la commune de Bouchagroun (latitude  $5^{\circ}27'27''E$  et longitude  $34^{\circ}44'14''N$ , altitude 160 m), située à 20 km du chef lieu de la wilaya de Biskra (Figure 06).La région de Bouchagroun, caractérisée par un climat désertique chaud appartenant a la l'étage bioclimatique saharien (classification selon Köppen-Geiger ,1936), présente des conditions abiotiques extrêmes, notamment des températures élevées quasi et

des précipitations très faibles, généralement inférieures à 200 mm par an. Ces conditions climatiques sévères, couplées à des sols pauvres en matière organique et éléments nutritifs essentiels en particulier l'azote, limitent fortement la fertilité naturelle des sols. Cette limitation est accentuée par une faible activité biologique et un taux réduit d'accumulation de matière organique, réduisant ainsi la disponibilité des nutriments pour la végétation locale.



**Figure 6.**Localisation géographique du site d'échantillonnage : la région de Bouchagroune, wilaya de Biskra (C.R.S.T.R.A, 2025).



**Figure 7.***Genista saharae* (originale)

### 3. Sélection de la plante

La sélection de la plante dans chaque zone d'étude a été effectuée sur la base de caractéristiques morphologiques typiques des légumineuses appartenant au genre *Genista*, relevant de la famille des *Fabaceae*. Ces critères botaniques ont guidé le choix des individus observés sur le terrain, en raison de leur pertinence écologique et taxonomique. Les principales caractéristiques retenues sont les suivantes :

#### 3.1. Port général de la plante (habitus)

Les espèces ciblées présentent un port arbustif, allant de petites à moyennes tailles, certaines d'entre elles étant de nature herbacée. Les tiges sont généralement érigées, bien que certaines espèces puissent présenter un port étalé ou prostré, selon les conditions de croissance.

### 3.2. Feuillage

Les feuilles sont soit simples, soit composées, le plus souvent trifoliées (à trois folioles), ce qui est typique des genres appartenant à cette famille. Leur petite taille reflète une adaptation morphologique aux environnements arides ou semi-arides, en réduisant la surface de transpiration.

### 3.3. Fleurs

Les fleurs sont papilionacées, morphologiquement caractéristiques de la famille des *Fabaceae*. Elles adoptent une forme ressemblant à celle d'un papillon, avec une structure florale composée de cinq pétales : un étandard (ou bannière) en position supérieure, deux ailes latérales, et deux pétales inférieurs fusionnés formant la carène (ou le « canot »). La couleur dominante observée est le jaune, fréquente chez les espèces du genre *Genista*.

### 3.4. Fruits

Les fruits sont des gousses simples, généralement linéaires, qui s'ouvrent spontanément à la maturité (déhiscentes). Chaque gousse contient plusieurs graines, disposées longitudinalement à l'intérieur.

### 3.5. Graines

Les graines sont en général de petite taille et possèdent une coque dure. Il faut signaler quand a trouvé l'espèce *Retama sphaerocarpa* appartenant à la famille *Fabaceae* et se différencie de *Genista* spp par les caractéristiques donné dans le tableau (03)

**Tableau 3.**La différence entre l'espèce *Retama sphaerocarpa* et *Genista* spp.

Caractéristique	<i>Retama sphaerocarpa</i>	<i>Genista</i> spp
Famille	<i>Fabaceae</i> (Légumineuses)	<i>Fabaceae</i> (Légumineuses)
Habitus	Arbuste buissonnant, très ramifié	Arbuste ou sous-arbrisseau, parfois herbacé
Taille	Jusqu'à 2 à 3 mètres	Variable selon l'espèce (0,3 à 2 m en général)
Feuilles	Très réduites, caduques, rapidement	Généralement petites,

	remplacées par des rameaux verts photosynthétiques	simples, parfois épineuses
Fleurs	Jaunes, papilionacées, regroupées en grappes	Jaunes, typiquement papilionacées
Floraison	Printemps (avril à juin)	Variable selon les espèces (souvent au printemps)
Fruits	Gousses presque sphériques	Gousses allongées ou linéaires selon l'espèce



**Figure 8.***Retama sphaerocarpa*

#### 4. Méthode collecte des nodules racinaires

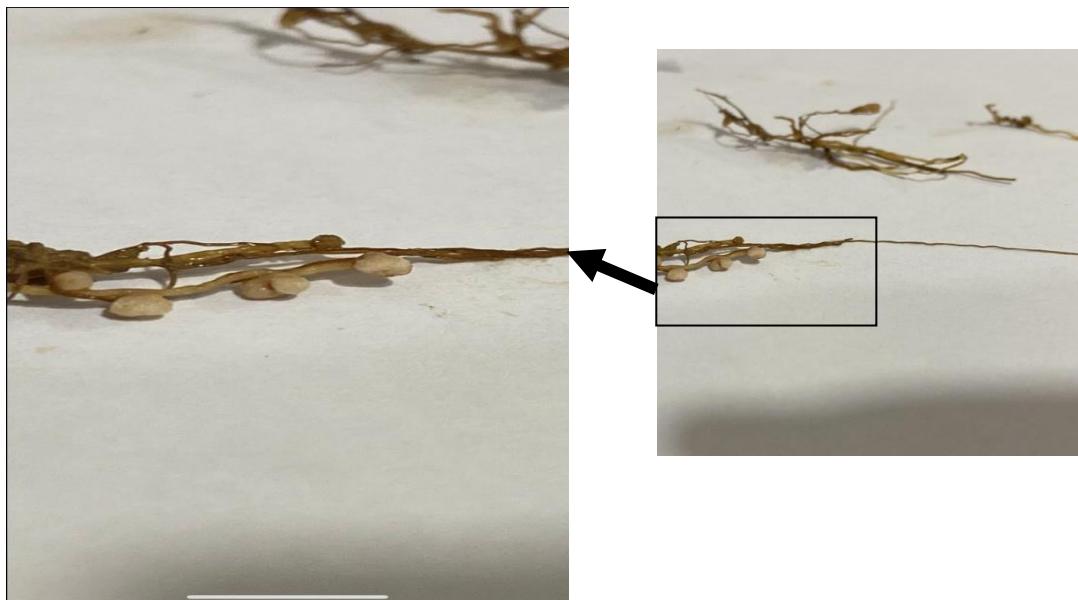
L'observation de nodules sur les racines de *Genista saharae* dans la région de Bouchagroune confirme la pertinence de cette stratégie adaptative dans des zones à ressources limitées. Cette capacité d'auto-fertilisation azotée favorise non seulement la survie des légumineuses mais aussi la structuration des communautés végétales et la dynamique écologique des sols arides.

La collecte des échantillons a été réalisée selon la méthode décrite par Vincent (1970) et Beck *et al.* (1993), qui comprend les étapes suivantes :

- Creuser environ 15 cm autour de la plante et à une profondeur de 20 cm jusqu'à 1 mètre afin d'extraire l'ensemble de l'appareil racinaire.
- Retirer manuellement la terre au niveau des racines en veillant à ne pas endommager les nodules .
- Afin de faciliter cette opération et de garantir l'intégrité des racines et des nodules, le sol autour des plantes a d'abord été légèrement humidifié. Ensuite, les plantes ont été retirées avec précaution, en conservant la motte de terre entourant les racines, afin d'éviter toute déchirure ou dommage aux nodosités durant l'extraction.

### 4.1. Nettoyage des racines

Après l'arrachage, les racines ont été lavées doucement avec de l'eau propre, puis passées sous un jet d'eau courante afin de retirer les particules de sol résiduelles sans altérer la structure fragile des racines et des nodosités.



**Figure 9.**les racines nettoyées

### 4.2. Collecte des nodules

Une fois les racines nettoyées, une observation minutieuse a été effectuée afin de repérer les nodosités, qui se présentent sous forme de petits renflement s'arrondis situés le

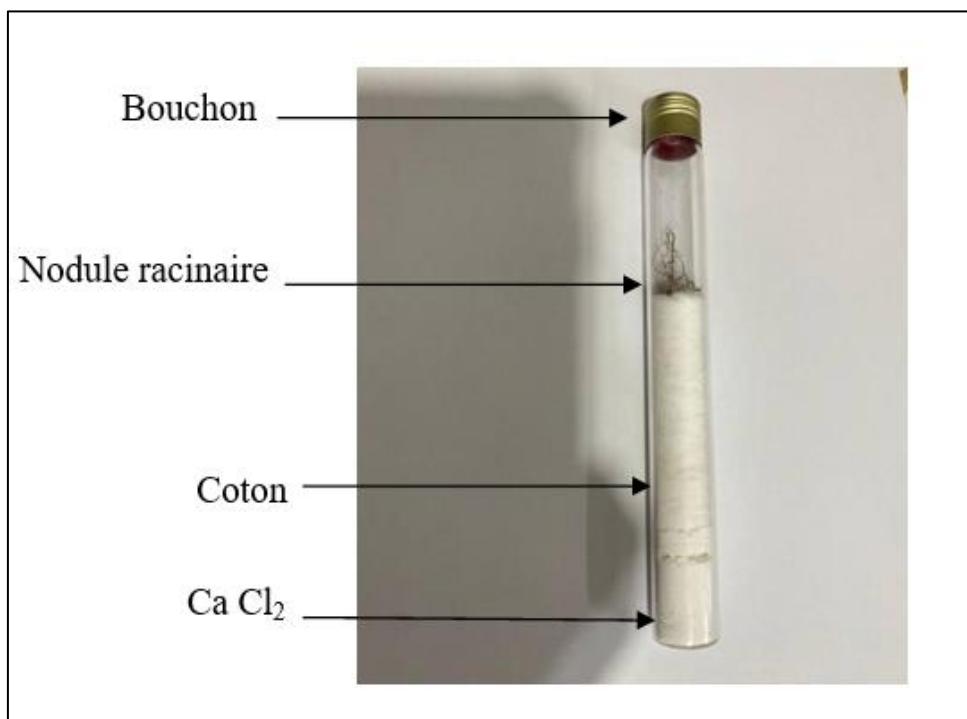
long des racines principales ou secondaires. Leur couleur varie généralement entre blanc, rose pâle ou brun, selon leur stade de développement.

La collecte des nodosités a été réalisée à l'aide d'une pince fin ou d'un scalpel. Chaque nodosité a été retirée délicatement, en veillant à ne pas la déchirer ni l'endommager, afin de conserver son intégrité pour les analyses ultérieures.

### 4.3. Conservation des nodules

Pour une courte conservation et pour une utilisation immédiate, les nodules frais sont conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à 48heures (ne jamais congeler afin d'éviter la destruction des nodules par les cristaux de glace).

Et pour une conservation de longue durée, Les nodules sélectionnés ont été placés dans des tubes à essai stériles contenant du gel de silice fin d'assurer leur dessiccation et leur conservation à température ambiante. Le gel de silice (conservation à long durée) permet de préserver les caractéristiques morphologiques et biologiques des nodules en évitant leur décomposition.



**Figure 10.**Conservation des nodules sous CaCl<sub>2</sub> (originale)

### 5. Collecte des graines de *Genista saharae*

La collecte des graines de *Genista saharae* été effectuée sur le terrain pendant le stade de maturité complète des gousses (mois de juin). Ces dernières ont été récoltées manuellement, directement à partir des plantes mères, dans des conditions climatiques sèches afin d'éviter toute exposition à l'humidité. Les gousses récoltées ont ensuite été conservées dans des sachets de congélation au congélateur.



**Figure 11.**Les graines collectées

### 5. Méthodologie de la recherche des bactéries nodulantes de *Genista saharae* (Selon Somasegaran et Hoben, 1994)

#### 5.1. Observation microscopique des nodules et bactéroïdes

- Couper des sections fines de nodules, les déposer dans une goutte d'eau sur lame, couvrir et observer en faible (10×) et fort grossissement (40×).
- Identifier la présence de léghémoglobine (rose à brun, ou noir dans certains cas rares).
- Réaliser un frottis en écrasant la face coupée du nodule sur une lame propre.
- Fixer à la flamme, refroidir, colorer avec de fuchsine carbolique diluée (10–20 s), rincer, sécher, observer à l'immersion (100×).
- Comparer les bactéroïdes à leur forme en culture pure (bacilles).

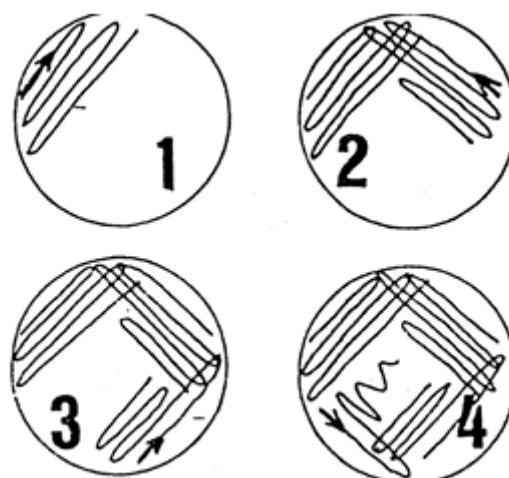
### 5.2. Isolement des rhizobiums à partir des nodules

- Prélever 10 nodules par plante.
- Tremper brièvement dans de l'alcool à 95%, puis dans une solution de NaOCl (2,5–3%) pendant 2–4 minutes.
- Rincer soigneusement avec de l'eau stérile (5–6 fois).
- Écraser les nodules stérilisés dans de l'eau stérile.
- Ensemencer sur YMA + Congo Red

À l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée par flambage à la flamme d'un bœuf Bunsen, une portion du jus obtenu à partir de chaque nodule écrasé est soigneusement étalée sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture spécifique : le milieu Yeats -Mannitol Agar (YMA), tel que décrit par Vincent (1970), enrichi en rouge Congo à une concentration de 0,025 % .

L'ensemencement est effectué en suivant la méthode des quatre quadrants (voir Figure 12), afin d'obtenir une répartition progressive de l'inoculum permettant l'apparition de colonies isolées, facilitant ainsi leur observation, sélection et caractérisation ultérieure.

Les boîtes ensemencées sont ensuite scellées avec du para film pour éviter toute contamination et placées en incubation à 28 °C, dans une étuve bactériologique, pour une durée de 48 à 72 heures, jusqu'à l'apparition des colonies bactériennes.



**Figure 12 :** L'ensemencement des nodules sur YMA + Bleu de bromothymol (BTB)

- ✓ Incuber à 25–30°C à l'obscurité.

### 5.3. Test présomptif des isolats

- Observer après 4–10 jours : sélectionner des colonies typiques (blanches, opaques, peu absorbantes de CR).
- Effectuer une coloration de Gram.
- Réensemencer chaque type de colonie sur :
  - YMA + CR
  - YMA + BTB
  - Milieu peptone-glucose
- Incuber à nouveau. Noter les changements de pH :
  - Bleu: alcalin → *Brady rhizobium* (croissance lente)
  - Jaune: acide → *Rhizobium* (croissance rapide)
- Si croissance sur peptone-glucose → suspect.

### 5.4. Conservation à court terme des isolats

- Transférer les colonies pures dans des tubes en pente de YMA (milieu incliné).
- Incuber, puis stocker à 4°C.

### 5.5. Authentification des isolats (test de nodulation)

- Préparer des unités de culture : tubes, sachets de croissance, ou pots Leonard.
- Stériliser et faire pré-germer les graines de la légumineuse d'origine (ou d'un substitut proche).
- Inoculer chaque plantule avec 1 ml de culture en bouillon.
- Utiliser des témoins non inoculés.
- Croissance 15–30 jours sous conditions contrôlées.
- Examiner la formation de nodules, leur position et coloration.
- Si les témoins ont des nodules → test invalide → recommencer.

### 5.6. Conservation à long terme des isolats authentifiés

- Stériliser les billes et les tubes de stockage (gel de silice + coton ou laine de verre).
- Imprégnier les billes avec le bouillon de culture (1–2 h).
- Égoutter l'excès et transférer les billes dans les tubes stériles.
- Fermer hermétiquement.
- Vérifier que le gel reste bleu (pas de reprise d'humidité).

### Régénération

- Repiquer 1–2 billes dans du bouillon YM.
- Incuber jusqu'à turbidité.
- Confirmer la pureté sur milieux CR, BTB, puis conserver sur YMA pente.

## 6. Les Etudes antérieures sur la recherche des bactéries symbiotiques

### 6.1. Méthodes de Nodulation et d'Isolement des *Rhizobium*s

#### 6.1.1. Collecte des échantillons

La collecte des nodules racinaires constitue une étape cruciale pour l'isolement des souches *rhizobiennes*. Selon les études analysées, cette collecte a été réalisée dans divers contextes écologiques : zones arides, semi-arides, régions montagneuses, bassins miniers contaminés, ou encore zones côtières (HAMLAOUI Serine,*et al* ,2024)

Les plantes hôtes appartiennent toutes à la famille des Fabacées (ou légumineuses), incluant des genres tels que *Genista*, *Retama*, *Hedysarum*, *Cytisus*, *Vicia*, *Lupinus*, ou encore *Argyrolobium*. Les nodules sélectionnés étaient majoritairement de couleur rouge rosé, signe d'une activité symbiotique active. Le tableau ci-joint (voir le tableau 4) résume les localisations géographiques, les espèces végétales, ainsi que les périodes de prélèvement pour chaque étude (Bouchelouche ,*et al*,2024) .

**Tableau 4.**Récapitulatif des régions, espèces végétales et périodes de collecte des échantillons dans les études de nodulation.

Article	Région / Lieu / Coordonnées / Date	Échantillons collectés
<b>Dekak <i>et al.</i>, 2018</b>	Bir El Ater, Negrine, Metlili (Algérie) – Février 2017	Nodules rosés sur <i>Argyrolobium uniflorum</i> et <i>Genista microcephala</i>
<b>CHAÏCH <i>et al.</i>, 2017</b>	Sahara septentrional (Ghardaïa, Ouargla) – 2018	Graines de <i>Genista saharae</i> ; nodosités de plantes cultivées
<b>Torche <i>et al.</i>, 2010</b>	Constantine, Sétif, Oum El Bouaghi, Biskra – 2007	Nodules sur <i>Hedysarum spinosissimum</i> , <i>H. pallidum</i> , <i>H. carnosum</i> , <i>H. naudinianum</i>
<b>Lamin <i>et al.</i>, 2021</b>	Touissit-Sidi Boubker (Maroc) – 1148 m d'altitude	Nodules sur <i>Retam amonosperma</i>
<b>Lamin <i>et al.</i>, 2019</b>	Touissit (Maroc) – Résidus miniers	Nodules sur <i>Retama monosperma</i> en sol contaminé
<b>Hannane <i>et al.</i>, 2016</b>	Oran (Algérie) – Cap Falcon, Bousfer, Mers El Hadjadj	Nodules sur <i>Retama monosperma</i>
<b>Mahdhi <i>et al.</i>, 2007</b>	Nafta (Tunisie) – Coordonnées : 34°49'59"N, 7°42'7"E	Nodules sur <i>Genista saharae</i>
<b>Ramdani <i>et al.</i>, 2020</b>	Bejaia (Algérie) – Adekar, Barbacha, Semaoun, Sidi Aïch	Nodules sur <i>Spartium junceum</i>
<b>Ouslim <i>et al.</i>, 2015</b>	Ouest algérien – Mostaganem, Oran, Relizane, Mascara, Tlemcen, AïnTémouchent – Saison des pluies (2015)	Nodules sur <i>Vicia faba</i>
<b>Dekak <i>et al.</i>, 2020</b>	Bekkaria (près de Tébessa, Algérie) – Février 2017	Nodules sur <i>Genista cinerea</i>
<b>Farida <i>et al.</i>, 2009</b>	Nord-est de l'Algérie – Sidi Abdelaziz, Souk El Tenine, Hammam El Biban, Amizour, Seddouk, Toudja	Nodules sur <i>Retama raetam</i> et <i>R. sphaerocarpa</i>
<b>Alami <i>et al.</i>, 2021</b>	Zaida (Maroc) – 32°53'41.8"N, 5°00'8.010"W	Graines de <i>Retama sphaerocarpa</i>

<b>Ahnia et al., 2014</b>	Bejaia (Algérie) – OuedDass, Saket	Nodules sur <i>Cytisus villosus</i>
<b>Chahboune et al., 2011</b>	Rif centro-occidental (Maroc) – Villages de Fifi et Aoudal (~1600 m alt.)	Nodules sur plantes locales (non spécifiées dans cet extrait)

### 6.1.2. Isolement des souches bactériennes

Les chercheurs ont utilisé deux méthodes principales pour isoler les bactéries symbiotiques à partir des nodules collectés : la méthode de Vincent (1970) et celle de Somasegaran et Hoben (1994). Ces méthodes présentent des protocoles similaires dans leurs grandes lignes, mais diffèrent sur certains points techniques, notamment la réhydratation préalable, la stérilisation, le type de milieu de culture et les conditions de conservation.

#### A. Méthode de Vincent (1970)

Cette méthode a été largement employée dans les études portant sur l'isolement de rhizobiums. Elle suit les étapes ci-dessous :

➤ **Prétraitement des nodules :**

- Lavage à l'eau courante.
- Stérilisation en surface à l'aide de différents agents désinfectants ( $HgCl_2$  à 0,1 %,  $NaClO$  2–4 %,  $CaCl_2$  à 3 %, éthanol à 95–96 %).
- Rincage multiple (jusqu'à 10 fois) à l'eau distillée stérile.

➤ **Écrasement et ensemencement :**

- Écrasement aseptique du nodule dans une goutte d'eau stérile.
- Ensemencement sur un milieu de culture solide : YEM (Yeast Extract Mannitol) **ou** YMA ( Yeast Mannitol Agar), parfois supplémenté en rouge Congo (0,0025 %) ou en indicateurs de pH tels que le BTB.

➤ **Incubation et purification :**

- Incubation à 28 °C pendant 7 à 14 jours.
- Repiquage des colonies distinctes pour obtenir des souches pures.

➤ **Conservation :**

- À court terme : sur gélose YEM ou TY à 4 °C.
- À long terme : dans du glycérol (20 à 50 %) à -80 °C.

### Exemples de variations :

- CHAÏCH *et al.* (2017) : Stérilisation avec 3 % de CaCl<sub>2</sub> .
- Torche *et al.* (2010) : Utilisation combinée de 95 % d'éthanol et 0,1 % de HgCl<sub>2</sub> , propagation sur YMA avec Congo Red, BTB et GPB.
- Farida *et al.* (2009) : Stérilisation avec 95 % d'éthanol (20 s) + 4 % NaClO (2–3 min).
- Bourebaba *et al.* (2016): NaClO à 12 % pendant 3 minutes.

### B. Méthode de Somasegaran et Hoben (1994)

Cette méthode plus récente inclut une étape supplémentaire de réhydratation des nodules, visant à améliorer la récupération de bactéries viables, en particulier après stockage.

#### ➤ Réhydratation :

- Immersion des nodules dans de l'eau distillée stérile à 4 °C pendant 24 heures, puis à température ambiante pendant 1 heure.

#### ➤ Stérilisation :

- Alcool éthylique à 95 % (5–30 secondes).
- Chlorure mercurique (HgCl<sub>2</sub> 0,1 %) ou hypochlorite de sodium (NaClO 2–5 %).
- Rinçage répété (jusqu'à 10 fois), puis trempage final dans de l'eau stérile.

#### ➤ Écrasement et ensemencement :

- Broyage dans une goutte d'eau stérile.
- Étalement sur YMA, CR-YMA ou YEMA, selon les études.

#### ➤ Incubation et purification :

- Incubation à 28 °C pendant 10 à 14 jours.
- Sélection et repiquage des colonies.

#### ➤ Conservation :

- Glycérol à 15–25 %, à -80 °C.

### Exemples :

- Dekaket *al.* (2018) : Conservation à -80 °C dans du glycérol à 25 %.
- Hannaneet *al.* (2016) : YMA avec rouge Congo, glycérol 15 %.
- Ramdaniet *al.* (2020) : Conservation dans YEMA à 4 °C ou dans YEM avec 20 % de glycérol à -80 °C.

### 6.1.3. Test de nodulation

Le test de nodulation consiste à inoculer les souches bactériennes isolées sur des plants stériles pour évaluer leur capacité à induire la formation de nodules racinaires. Les études ont utilisé plusieurs variantes expérimentales :

#### A. Méthode de Vincent (1970) – Système Leonard Jar

- Utilisation de pots en deux compartiments (nutriment et substrat).
- Inoculation de graines stérilisées avec une suspension bactérienne.
- Espèces utilisées : *Argyrolobium uniflorum*, *Genista microcephala*, *Hedysarum spp.*, etc.
- Évaluation de la nodulation après 6 à 14 semaines.

#### B. Méthode de Jensen (1942)

- Semis de graines dans un substrat stérile.
- Inoculation avec des souches bactériennes.
- Utilisée pour *Cytisusvillosum*, *R. monosperma*, *Lupinusspp.*, *Glycine max*, etc.

#### C. Méthodes hydroponiques (Vincent, 1970 modifiée)

- Utilisation de flacons en verre avec solution nutritive stérile.
- Substrats : attapulgite calcinée, agar nutritif.
- Évaluation après plusieurs semaines/mois.

#### D. Méthode de Somasegaran et Hoben (1994)

- Inoculation de graines dans des flacons stériles contenant solution nutritive.
- Utilisée pour *S. juncuum*, *Vicia faba*, *Retama spp.*, *Lupinusmicranthus*.
- Résultats évalués après 8 à 12 semaines.

# **Chapitre III :**

# **Résultats et discussion**

## 1. Résultats des méthodes utilisées

### 1.1. Collecte des nodules

La majorité des articles consultés ne fournissent pas de détails spécifiques sur les conditions ou les méthodes précises de collecte des nodules. C'est notamment le cas des études suivantes:

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

En revanche, certaines études, comme celles de Dekak *et al.* (2018), CHAÏCH *et al.* (2017) et Dekak *et al.* (2020), rapportent que les nodules prélevés présentaient une grande variabilité en termes de taille et de forme. Cette diversité phénotypique reflète probablement une diversité génétique importante parmi les bactéries symbiotiques présentes dans ces nodules.

### 1.2. Isolement des bactéries

Les résultats concernant l'isolement des souches bactériennes issues des nodules collectés sont synthétisés dans le tableau suivant, en mettant en évidence le nombre d'isolats obtenus et les particularités observées dans chaque étude.

**Tableau 5.** Les résultats des bactéries isolés

Article	Nombre de souches / isolats
Dekak <i>et al.</i> , 2018	13 isolats de <i>rhizobium</i> sélectionnés
CHAÏCH <i>et al.</i> , 2017	57 isolats de <i>rhizobia</i> obtenus à partir des nodules de <i>Genista saharae</i>
Torche <i>et al.</i> , 2010	11 isolats avec croissance rapide observée
Lamin <i>et al.</i> , 2019	44 isolats nodulants de <i>Retama monosperma</i>
Lamin <i>et al.</i> , 2021	4 souches isolées (RMB2, RMB4, RMB7, RM89)
Hannane <i>et al.</i> , 2016	53 isolats bactériens à partir des nodules de <i>R. monosperma</i>

### Chapitre III :Résultats et discussion

---

Dekak <i>et al.</i> , 2020	10 isolats bactériens endophytiques obtenus à partir des racines
Ramdani <i>et al.</i> , 2020	23 souches <i>rhizobien</i> nes isolées à partir des nodules de <i>Spartium junceum</i>
Mahdhi <i>et al.</i> , 2008	28 souches bactériennes isolées des nodules racinaires de <i>Genista saharae</i>
Ouslimi <i>et al.</i> , 2015	140 souches isolées à partir des nodules racinaires de <i>Vicia faba</i>
Ahnia, 2014	51 isolats symbiotiques efficaces de <i>Cytisus villosus</i> (37 isolats de CTO, 14 isolats de CTS)
Soufiane, 2021	51 isolats à partir des nodules de <i>Retama sphaerocarpa</i> (43 <i>rhizobia</i> , 8 endophytes non poursuivis)
Farida, 2009	125 isolats obtenus, 67 capables de re-noduler les plantes de <i>Retama</i>
Bourebaba, 2016	101 souches de <i>rhizobia</i> isolées de <i>Lupinus micranthus</i> (60 d'Algérie, 41 d'Espagne)
Chahboune, 2011	73 souches bactériennes isolées des nodosités racinaires de <i>Cytisus villosus</i>

Toutes les souches isolées dans les études de Dekak *et al.* (2018), Torche *et al.* (2010), Lamin *et al.* (2019), Hannane *et al.* (2016), Ouslim *et al.* (2015), Ramdani *et al.* (2020), Bourebaba(2016), Alami *et al.* (2020), Ahnia (2014), Chahboune *et al.* (2011), ainsi que Mahdhi *et al.* (2008) ont démontré une efficacité symbiotique ainsi qu'une bonne capacité de croissance.

On note particulièrement que :

- CHAÏCH *et al.* (2017) ont isolé 57 souches de *rhizobia* à partir des nodules de *Genista saharae*. La majorité des isolats ont montré une croissance rapide sur milieu YEM, sauf l'isolat Gs 663, qui a présenté une croissance très lente (apparition des colonies après 15 jours). Cinq isolats étaient de nature muqueuse, entraînant une croissance dense, tandis que les autres ne l'étaient pas.
- Lamin *et al.* (2021) ont identifié trois isolats (*RMB4*, *RMB7* et *RMB9*) à croissance lente, dont les colonies sont apparues après 7 jours d'incubation. En revanche, l'isolat *RMB2* a montré une croissance rapide avec formation de colonies de 24 heures à 28 °C.

### Chapitre III :Résultats et discussion

---

- Dans l'étude de Dekaket *al.* (2020), six isolats ont été classés comme à croissance rapide (colonies visibles en 1 jour), tandis que quatre autres étaient à croissance lente (colonies visibles entre 3 à 5 jours). Tous les isolats étaient capables d'infecter efficacement leurs hôtes végétaux.
- Selon Farida (2009), sur un total de 125 isolats, seuls 67 ont pu reformer des nodules sur leur plante hôte d'origine, ainsi que sur d'autres espèces de *Retama*, indiquant une certaine spécificité et efficacité dans la symbiose.

#### 1.3. Test de nodulation

Les tests de nodulation réalisés dans les différentes études ont permis de confirmer la capacité des isolats bactériens à former des nodules racinaires fonctionnels et à établir des symbioses efficaces avec leurs plantes hôtes respectives. Voici les principaux résultats observés :

- **Formation de nodules fonctionnels :**

Plusieurs études, notamment celles de Dekak *et al.* (2018) et CHAÏCH *et al.* (2017), ont confirmé que les isolats testés étaient capables de noduler leurs plantes hôtes natives (*Genista saharae*), démontrant ainsi leur appartenance aux bactéries nodulantes. Des nodules visibles et fonctionnels ont été observés, indiquant la présence des gènes nécessaires à la symbiose (ex. : *nodC*).

- **Évaluation de l'efficacité symbiotique :**

Les souches isolées ont montré des différences significatives en termes de nombre de nodules, de biomasse sèche des nodules et de croissance végétale. Par exemple, l'isolat *Gs6615* (*Ensifer* sp.) a produit le plus grand nombre de nodules ( $11,8 \pm 0,75$ ), tandis que *Gs675* (*Neorhizobium* sp.) a donné les nodules les plus gros. L'isolat *Gs656* a présenté la meilleure performance en biomasse aérienne (9,12 mg), hauteur de plante (22,92 cm) et biomasse des nodules (4,94 mg).

- **Capacité infectieuse et croissance racinaire :**

Les isolats testés dans l'étude de Torche *et al.* (2010) ont montré une capacité à infecter efficacement les plantes, sans que la présence de *R. sullae* n'entrave la nodulation.

### **Chapitre III :Résultats et discussion**

---

Lamin *et al.* (2019) ont cependant observé que 20 isolats issus de nodules étaient non nodulants, suggérant la présence de bactéries endophytes ou de contaminants.

- **Croissance lente vs rapide :**

Selon Hannaneet *al.* (2016), les souches à croissance lente étaient nodulantes, tandis que les isolats à croissance rapide, de morphologie muqueuse, ressemblaient à des agrobactéries non nodulantes.

- **Symbiose confirmée sur plusieurs espèces :**

Des isolats ont été capables de noduler différentes espèces du genre *Retama* (Farida, 2009) et *Lupinus* (Ahnia, 2014), bien que le soja (*Glycine max*) n'ait pas été nodulé. Cela met en évidence une certaine spécificité hôte-isolement.

- **Tests en conditions stériles :**

Bourebaba (2016) a confirmé que toutes les souches isolées pouvaient former des nodules sur *L. micranthus* dans des conditions bactériologiques contrôlées, prouvant leur efficacité en fixation d'azote.

- **Échec de nodulation chez certaines souches :**

Dans l'étude de Mahdhi *et al.* (2008), 4 isolats identifiés comme *Phylobacterium* (GN15, GN25, GN26, GN33) n'ont pas pu noduler leur hôte.

- **Évaluation quantitative :**

Ramdani *et al.* (2020) a montré que la souche *SjADI6* avait la plus forte capacité de fixation d'azote, avec 3,51 % d'azote total dans la biomasse aérienne. Toutes les souches inoculées ont présenté une biomasse significativement supérieure à celle des témoins non inoculés.

- **Tolérance aux métaux lourds :**

Certaines souches comme *Rs4*, *Rs9* et *Rs19* ont stimulé la croissance des plantes en présence de métaux lourds, notamment de l'acétate de plomb, ce qui suggère leur potentiel pour des applications en phytoremédiation (Soufiane, 2021).

### **Chapitre III :Résultats et discussion**

---

- **Symbiose interspécifique :**

Chahboune *et al.* (2011) a observé que des souches de *Bradyrhizobium* formaient des nodules sur *C. villosus*, mais pas sur le soja, ce qui confirme leur spécificité hôte.

Les résultats des différents tests de nodulation confirment la grande diversité et l'efficacité symbiotique des souches isolées, tant sur le plan de la formation des nodules que de la fixation d'azote. Cette diversité offre un fort potentiel d'application agricole, notamment pour améliorer la croissance des plantes dans des environnements contraignants, y compris les sols pauvres ou contaminés.

# Conclusion

### Conclusion

Cette étude menée sur la prospection de *Genista saharae* dans la région de Biskra a permis de confirmer la présence de nodules racinaires chez cette espèce dans des conditions édaphiques extrêmes. Les observations de terrain ont révélé la capacité de *Genista saharae* à développer des nodosités en milieux arides, soulignant l'importance écologique et agronomique de cette plante pour la fertilité des sols sahariens.

Bien que l'isolement et l'identification des bactéries symbiotiques n'aient pas pu être finalisés faute de moyens techniques et de réactifs, le travail de terrain a permis de poser les bases d'études futures visant à caractériser la diversité bactérienne associée aux nodules de *Genista saharae*. Ces recherches sont essentielles pour comprendre les mécanismes adaptatifs des symbioses en milieux contraignants et pour envisager leur valorisation dans des programmes de restauration écologique et de développement agricole durable en zones arides.

Sur le plan scientifique, cette investigation contribue à la connaissance de la distribution géographique et des caractéristiques morphologiques de *Genista saharae* et de ses nodosités. Sur le plan pratique, elle met en évidence le potentiel de ces symbioses pour améliorer la productivité des sols pauvres en azote, notamment dans le cadre de stratégies de lutte contre la désertification.

En conclusion, malgré les limitations rencontrées, ce travail souligne l'importance d'approfondir l'étude des bactéries nodulantes, en particulier la recherche éventuelle de bactéries Gram positives capables de noduler *Genista* spp., qui pourrait ouvrir de nouvelles perspectives en microbiologie des sols et en agriculture durable.

**Perspective**

Ces observations soulignent la nécessité d'études approfondies sur la diversité microbienne et la recherche des Gram+ est ce que capable de noduler la légumineuse *Genista saharae* et la qualité physico-chimique afin de mieux comprendre les limites écologiques de la nodulation.

# Références bibliographiques

### Références bibliographique

1. Ahnia, H., Boulila, F., Boulila, A., Boucheffa, K., Durán, D., Bourebaba, Y., ... & Rey, L. (2014). *Cytisus villosus* from Northern Algeria is nodulated by genetically diverse *Bradyrhizobium* strains. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105, 1121-1129.
2. Alami, S., Lamin, H., Bennis, M., Bouhnik, O., Lamrabet, M., El Hachimi, M. L., ... & El Idrissi, M. M. (2021). Characterization of *Retama sphaerocarpa* microsymbionts in Zaida lead mine tailings in the Moroccan middle Atlas. *Systematic and Applied Microbiology*, 44(3), 126207.
3. Bouchelouche, A. (2024). Inventaire floristique des légumineuses des hautes plaines Sétifiennes: Composition systématique, types biologiques, et importance socio-économique (Doctoral dissertation).
4. Bourebaba, Y., Durán, D., Boulila, F., Ahnia, H., Boulila, A., Temprano, F., ... & Rey, L. (2016). Diversity of *Bradyrhizobium* strains nodulating *Lupinus micranthus* on both sides of the Western Mediterranean: Algeria and Spain. *Systematic and applied microbiology*, 39(4), 266-274.
5. Bruning, B., & Rozema, J. (2013). Symbiotic nitrogen fixation in legumes: perspectives for saline agriculture. *Environmental and experimental botany*, 92, 134-143.
6. Chahboune, R., Barrijal, S., Moreno, S., & Bedmar, E. J. (2011). Characterization of *Bradyrhizobium* species isolated from root nodules of *Cytisus villosus* grown in Morocco. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(6), 440-445.
7. CHAÏCH, K. (2018). Diversité des associations Rhizobium-Légumineuses de quelques espèces spontanées du Sahara septentrional (Doctoral dissertation).
8. Chaïch, K., Bekki, A., Bouras, N., Holtz, M. D., Soussou, S., Mauré, L., ... & CleyetMarel, J. C. (2017). Rhizobial diversity associated with the spontaneous legume *Genista saharae* in the northeastern Algerian Sahara. *Symbiosis*, 71, 111-120. doi:10.1016/j.syapm.2009.09.003
9. Dekak, A., Chabi, R., Menasria, T., & Benhizia, Y. (2018). Phenotypic characterization of rhizobia nodulating legumes *Genista microcephala* and *Argyrolobium uniflorum* growing under arid conditions. *Journal of advanced research*, 14, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.06.001>

10. Dekak, A., Menasria, T., Benhizia, Y., & Chenchouni, H. (2020). Endophytic passenger bacteria associated with *Genistacinerea* nodules growing in North African drylands. *Rhizosphere*, 14, 100205.
11. Farida, B., Géraldine, D., Abdelghani, B., Djellali, B., Said, B., & Gisèle, L. (2009). Retama species growing in different ecological-climatic areas of northeastern Algeria have a narrow range of rhizobia that form a novel phylogenetic clade within the *Bradyrhizobium* genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(4), 245-255.
12. Gage, D. J. (2004). Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68(2), 280-300.
13. Ganry, F., & Dommergues, Y. R. (1995). Arbres fixateurs d'azote: champ ouvert pour la recherche.
14. HAMLAOUI Serine, K. A. F. I. (2024). Contribution à l'étude des facteurs affectant la nodulation.
15. Hannane, F. Z., Kacem, M., & Kaid-Harche, M. (2016). Preliminary characterization of slow growing rhizobial strains isolated from *Retamamonosperma* (L.) Boiss. root nodules from Northwest coast of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 15(20), 854-867. 10.5897/AJB2016.15226
16. Hirsch, A. M. (1992). Developmental biology of legume nodulation. *New Phytologist*, 122(2), 211-237.
17. Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
18. Lamin, H., Alami, S., Bouhnik, O., ElFaik, S., Abdelmoumen, H., Bedmar, E. J., & Missbah-El Idrissi, M. (2019). Nodulation of *Retamamonosperma* by *Ensiferaridi* in an abandonned lead mine soils in eastern Morocco. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1456.
19. Lamin, H., Alami, S., Lamrabet, M., Bouhnik, O., Bennis, M., Abdelmoumen, H., ... & Missbah-El Idrissi, M. (2021). *Bradyrhizobium* sp. sv. *Retama* enodulates *Retama monosperma* grown in a lead and zinc mine tailings in Eastern Morocco. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 639-649.
20. Mahdhi, M., Nzoué, A., Gueye, F., Merabet, C., De Lajudie, P., & Mars, M. (2007). Phenotypic and genotypic diversity of *Genistasaharae* microsymbionts from the infra- arid region of Tunisia. *Letters in applied microbiology*, 45(6), 604-609.

21. Maidak, B. L., Larsen, N., McCaughey, M. J., Overbeek, R., Olsen, G. J., Fogel, K.,... & Woese, C. R. (1994). The ribosomal database project. *Nucleic acids research*, 22(17), 3485-3487.
22. Menéndez, E., Martínez-Hidalgo, P., Silva, L. R., Velázquez, E., Mateos, P. F., & ;
23. Mouna, S. A. O. U. D. I. (2007). Les bactéries nodulant les légumineuses (BNLP): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*.
24. Newton, W. (1998). Nitrogénases: fonction et évolution. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*, 13(3), 238-241.
25. Oldroyd, G. E., & Downie, J. A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59(1), 519-546.
26. Ouslim, S., Merabet, C., Boukhatem, Z., Bouchentouf, L., & Bekki, A. (2015). Phenotypic and symbiotic diversity, of nodulating rhizobia associated with bean (*Vicia faba*) in West Algeria. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, 3(9), 130-138.
27. Paul, E. A. (Ed.). (2015). *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (4th ed.). AcademicPress.
28. Peix, A. (2017). Recent advances in the active biomolecules involved in rhizobia-legume symbiosis. *Microbes for Legume Improvement*, 45-74
29. Pongsilp, N. (2012). Variation symbiotique et caractères favorisant la croissance des plantes chez les rhizobiums. Diversité phénotypique et génotypique des rhizobiums , 73.
30. PUJIC, P., & NORMAND, P. (2009). La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhizien: Interactions plantes/micro-organismes. *Biofutur* (Puteaux), (298), 26-29.
31. Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Eds. du Centre Nat. de la Recherche Scientifique.
32. Ramdani, N., Belhadi, D., Kaci, Y., & Benallaoua, S. (2020). Symbiotic, phenotypic and genotypic characterization of *Bradyrhizobium* sp. nodulating *Spartium junceum* L. from Bejaia, northeastern .
33. Renier, A. (2008). Approche pluridisciplinaire de la symbiose *Methylobacterium nodulans/Crotalaria podocarpa* (Doctoral dissertation, Montpellier 2).
34. Somasegaran P, Hoben HG (1994) Methods in Legume Rhizobium Technology. United States Agency for International Development (USAID), pp 69–70

35. Sprent, J. I. (2007). Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. *New Phytologist*, 174(1).
36. Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G., & Zuberer, D. A. (2005). Principes et applications de la microbiologie des sols (Principles and Applications of Soil Microbiology, 2e éd.). Pearson Prentice Hal
37. Thiebeau, P., Lô-Pelzer, E., Klumpp, K., Corson, M. S., Hénault, C., Bloor, J., ... & Jeuffroy, M. H. (2010). Conduite des légumineuses pour améliorer l'efficience énergétique et réduire les émissions de gaz à effet de serre à l'échelle de la culture et de l'exploitation agricole. *Innovations agronomiques*, 11, 45-58.
38. Torche, A., Benhizia, Y., Benguedouar, A., Gharzouli, R., Benhizia, H., Khelifi, D., & Squartini, A. (2010). Caractérisation des bactéries isolées à partir des nodules des espèces délegumineuses du genre *Hedysarum*: *H. pallidum* Desf., *H. spinosissimum* subsp. *capitatum*, *H. carnosum* Desf. et *H. naudinianum* Coss. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 43-50.
39. Tortora, J., & Funk, B. F. Case Ch. 1. (2003). Introduction à la microbiologie.
40. Vertès, F., Jeuffroy, M. H., Justes, E., Thiebeau, P., & Corson, M. S. (2010). Connaître et maximiser les bénéfices environnementaux liés à l'azote chez les légumineuses, à l'échelle de la culture, de la rotation et de l'exploitation. *Innovations agronomiques*, 11, 25-44.
41. Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria.
42. Wang, D., Yang, S., Tang, F., & Zhu, H. (2012). Symbiosis specificity in the legume–rhizobial mutualism. *Cellular microbiology*, 14(3), 334-342.
43. <https://www.gbif.org/fr/species/5349871>
44. [https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000743469-2024-12?matched\\_id=wfo\\_0000211140&page=1](https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000743469-2024-12?matched_id=wfo_0000211140&page=1)



**Résumé :**

Les légumineuses, comme *Genista saharae*, possèdent la capacité de former une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote, enrichissant ainsi les sols et soutenant une agriculture durable. *Genista saharae*, endémique des régions arides du sud de l'Algérie, a été étudiée pour sa capacité à former des nodules racinaires en symbiose avec des *rhizobiums*. Des observations sur le terrain ont montré que cette symbiose ne se produit efficacement que dans la région de Bouchagroune, probablement en raison de conditions locales favorables. Ces résultats confirment le rôle écologique important de *Genista saharae* dans les zones désertiques, en particulier pour la restauration des sols et la lutte contre la désertification.

Mots clé : légumineuses, *Genista saharae*, *rhizobiums*, nodules racinaire.

**Summary:**

Leguminous plants, such as *Genista saharae*, have the ability to form symbiosis with nitrogen-fixing bacteria, enriching soils and supporting sustainable agriculture. *Genista saharae*, endemic to the arid regions of southern Algeria, has been studied for its ability to form root nodules in symbiosis with rhizobia. Field observations showed that this symbiosis only occurs effectively in the Bouchagroune region, probably due to favorable local conditions. These results confirm the important ecological role of *Genista saharae* in desert areas, particularly for soil restoration and combating desertification.

Keywords: legumes, *Genista saharae*, *rhizobiums*, root nodules.

**الملخص**

تتمتع النباتات البقولية، مثل نبات جينيستا صحاري بالقدرة على تكوين تكافل مع البكتيريا المثبتة للنيتروجين، مما يتيhi التربة ويدعم الزراعة المستدامة. تمت دراسة نبات جينيستا صحاري المستوطن في المناطق القاحلة في جنوب الجزائر من حيث قدرته على تكوين عقارات جذرية تكافل مع بكتيريا الريزوبيا. أظهرت الملاحظات الميدانية أن هذا التكافل لا يحدث بفعالية إلا في منطقتي بوشقرن، مما يسبب الظروف المحلية المواتية. توکد هذه النتائج الدور الإيكولوجي الهام لنبات الجينيستا الصحراوية في المناطق الصحراوية، خاصة في مجال لاستعادة التربة ومحاربة التصحر

الكلمات المفتاحية: البقوليات، جينيستا صحاري، الريزوبيا، العقارات الجذرية





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

université de biskra

جامعة بسكرة

## شهادة مدرسية

CHERIF lina malak

شرف لينة ملاك

الطالب (ة):

— بسكرة

2007/01/26

المولود (ة) في :

UN07012025242435244505

رقم التسجيل :

مسجل (ة) بالمؤسسة لمتابعة دراسته (ها) الجامعية في :

ليسانس سنة ثانية

السنة :

علوم الطبيعة و الحياة / Sciences de la Nature et de la Vie

الميدان:

بيو-تكنولوجيا / Biotechnologies

الشعبة:

خلال السنة الجامعية : 2026/2025

الإمضاء



يتعهد الطالب بالإلتزام بميثاق الأدب و الأخلاقيات الجامعية.

جامعة بسكرة

université de biskra

ص.ب 145 ق.ر بسكرة





2025 / 10/16  
卷之三

Acceptable	Ordinaire	Bien	Très bien	Excellent	Exceptionnel
Sur la base du contenu scientifique, de degré de conformité et de pourcentage des fautes linguistiques, <b>Je décide que</b> ce mémoire doit être classé sous la catégorie <b>Acceptable</b> .	Acceptable	Bien	Très bien	Excellent	Exceptionnel

La mention <u>mention</u>	Note ( /20) <u>12/20</u>	L'importance de la mémoire, <u>générale</u>	La technique de l'acte <u>littéraire</u> à l'heure <u>actuelle</u> <u>et contemporaine</u>	La technique de l'acte <u>littéraire</u> <u>et contemporaine</u> <u>et mondiale</u> <u>et mondiale</u>

LIBRAMACINE NIHAD/ZAG-HEZETIMA Nom et prénom (en majuscule) de l'étudiant (e) : : (e) نهاد زعيم

Référence du mémoire No: ..... / 2025 PV de soutenance No: ..... / 2025

2025 Déclaration de correction de mémoire de master

REPRÉSENTE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ MOHAMED KHIDER - BISKRA  
Faculté : Sciences de la nature et de la vie et Sciences de  
la Lettre et de l'université  
Département scientifique et de la nature et de la vie