

II-1-Généralité

De nombreuses espèces de Protéobactéries sont étroitement associées à des hôtes eucaryotes (Neil et Jane, 2007). La famille des *Rhizobiaceae* est constituée par un ensemble hétérogène des bactéries qui comprend des espèces les plus connues les *Rhizobia* (Dariel, 2002).

Les *Rhizobia* comprennent la forme bâtonnet, gram-négatives, aérobies du sol, non sporulantes et elles présentent la capacité de former une symbiose avec des plantes de la famille des Fabacées, Pois (*Pisum sativum ssp.*), Haricot (*Phaseolus*), Soja (*Glycine max L.*), Arachide (*Arachis hypogaea L.*) (Hopkins, 2003).

Les *Rhizobia* prélèvent dans la plante les glucides nécessaires à sa nutrition carbonée, tandis que la plante profite des substances azotées produites par la bactérie (George, 2008), elles peuvent infecter les racines et parfois les tiges des légumineuses pour y former des nodules (structures aussi désignées sous le terme de nodosités). À l'état libre, les *Rhizobia* vivent dans le sol et dans la rhizosphère avec quelques exceptions les *Azorhizobium* n'ont pas la possibilité de fixer l'azote atmosphérique (Émile et Michel, 2004).

II-2- Formes de bactéries fixatrices d'azote

Il existe essentiellement deux sortes de bactéries fixatrices d'azote, les formes libres comme les Azotobacters et les formes symbiotiques comme les *Rhizobia* qui associées aux légumineuses et aux certains arbres (Aulnes).

L'observation au microscope de ces bactéries montre trois aspects morphologiques différents :

- Des formes jeunes, allongées et très mobiles ;
- Des formes adultes, ramifiées en Y et qui fixent activement l'azote de l'air et produisent des sécrétions azotées utilisées par la plante ;
- Des formes vieilles, ovoïdes et progressivement digérées par la plante.

II-3-Quelques exemples de la diversité du *Rhizobia* dans la nouvelle classification

Pendant longtemps, les propriétés symbiotiques sont restées la seule base de la caractérisation et de la classification des *Rhizobia*, et ce n'est que depuis une dizaine d'années que les botanistes ont complété l'étude classique des caractères phénotypiques par celle de la structure génomique et ils ont fait appel notamment à l'amplification et au séquençage de régions plus ou moins grandes de l'ADN (notamment gènes ribosomiques ou gènes *nif*).

Les recherches récentes indiquent que la diversité des *Rhizobia*, comme celle de tous les autres microorganismes, est extrême. Les chercheurs ont appliqués à 97 souches de *Rhizobia*

isolées d'arbres, l'analyse numérique de 115 caractères phénotypiques, a trouvé que ces isolats constituaient 19 groupes différents. Un autre exemple de diversité concerne une série de souches de *Rhizobia* à croissance lente isolées de nodules de *Faidherbia albida* poussant dans différents sols du Sénégal, l'électrophorèse des protéines cellulaires totales a montré que ces isolats se répartissaient en cinq sous-groupes distincts.

Cette énorme diversité a été confirmée par l'analyse de la structure génomique. C'est ce qui explique qu'au cours des 10 dernières années (1984-1994) se découvrent 10 nouvelles espèces de *Rhizobia*.

Après la découverte de l'*Azorhizobium*, les Rhizobiacées sont classées sous cinq genres (tableau N^o 01) regroupées en trois groupes:

- Les *Rhizobia* à croissance rapide, désignés globalement sous le terme d'*Azo-rhizobium* ;
- Les *Rhizobia* à croissance lente, désignés globalement sous le terme de *Bradya-rhizobium* ;
- Les *Rhizobia*, les *Azorhizobium* à croissance rapide, associés à *Sesbania rostrata*.

Les *Rhizobia* sont scindés en deux genres : *Rhizobia* et *Sinorhizobium*. La branche phylogénétique comprenant *Rhizobia loti* et d'autres espèces nouvellement décrites comme *Rhizobia huakuii*, *Rhizobia ciceri* et *Rhizobia mediterraneum*, ensuite cette branche a été séparée du genre *Rhizobia* et rassemblé ces dernières espèces dans un nouveau genre appelé *Mesorhizobium* .

Dupuy et *al.*, (1992) ; Boivin et *al.*, (1997) proposent qu'il faut ajouter le genre *Photorhizobium* au genre *Bradyrhizobium*, car de nombreuses souches de *Bradyrhizobium* isolées des nodules aériens d'*Aeschynomene* sont photosynthétiques.

Le nombre des espèces et aussi probablement des genres de *Rhizobia*, s'accroître certainement en raison du développement de l'exploration des symbioses tropicales et subtropicales notamment en Chine, Afrique et Amérique du Sud.

Comme les auteurs de publications antérieures aux années 1990-1994 ont utilisé l'ancienne classification des *Rhizobiacées* en trois groupes rappelée ci-dessus (Hopkins, 2003).

Tableau N° 01 : Classification des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote de la famille des *Rhizobiaceae* (Philippe, 2009).

<i>Genres</i>	<i>Espèces</i>	<i>Plantes- hôtes</i>
<i>Rhizobia</i>	<i>Rhizobia leguminosarum</i> <i>Biovar viciae</i> <i>Biovar trifolii</i> <i>Biovar phaseoli</i> <i>Rhizobia galegae</i> <i>Rhizobia tropici</i> <i>Rhizobia elti</i> <i>Rhizobia hainanensis</i>	<i>Pisum, Vicia, Lathyrus, Lens</i> <i>Trifolium</i> <i>Phaseolus vulgaris L.</i> <i>Galega orientalis</i> <i>P. vulgaris L., Leucaena</i> <i>Phaseolus vulgaris L.</i> <i>Plus. esp. de regions arides</i>
<i>Mesorhizobia</i>	<i>Mesorhizobia loti</i> <i>Mesorhizobia huakuii</i> <i>Mesorhizobia ciceri</i> <i>Mesorhizobia tianshanense</i> <i>Mesorhizobia mediterraneum</i> <i>Cluster U (a, b, c)</i> <i>Mesorhizobia genosp. 3 & 4</i>	<i>Lotus</i> <i>Astragalus sinicus, Acacia</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>13 espèces tropicales.</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>Acacia, Prosopis</i> <i>Cicer arietinum</i>
<i>Sinorhizobia</i>	<i>Sinorhizobia meliloti</i> <i>Sinorhizobia fredii</i> <i>Sinorhizobia saheli</i> <i>Sinorhizobia teranga</i> <i>Sinorhizobia medicae</i> <i>Sinorhizobia sp.</i>	<i>Medicago, Melilotus, Trigonella</i> <i>Glycine max</i> <i>Sesbania sp.</i> <i>Sesbania, Acacia</i> <i>Medicago</i> <i>Acacia, Prosopis</i>
<i>Azorhizobia</i>	<i>Azorhizobia caulinodans</i> <i>Azorhizobia sp.</i>	<i>Sesbania rostrata</i> <i>(Sesbania rostrata</i>
<i>Bradyrhizobia</i>	<i>Bradyrhizobia Japonicum</i> <i>Bradyrhizobia sp.</i> <i>Bradyrhizobia elkanii</i> <i>Bradyrhizobia Liaoningensis</i>	<i>Glycine max</i> <i>Vigna, Lupinus, Mimosa</i> <i>Acacia</i> <i>Aeschynomene</i> <i>Glycine max</i> <i>Glycine max</i>

Le schéma suivant représente un arbre phylogénétique de différents *Rhizobia* avec leurs gènes nod et indication de leurs hôtes majeurs (Figure N° 01).

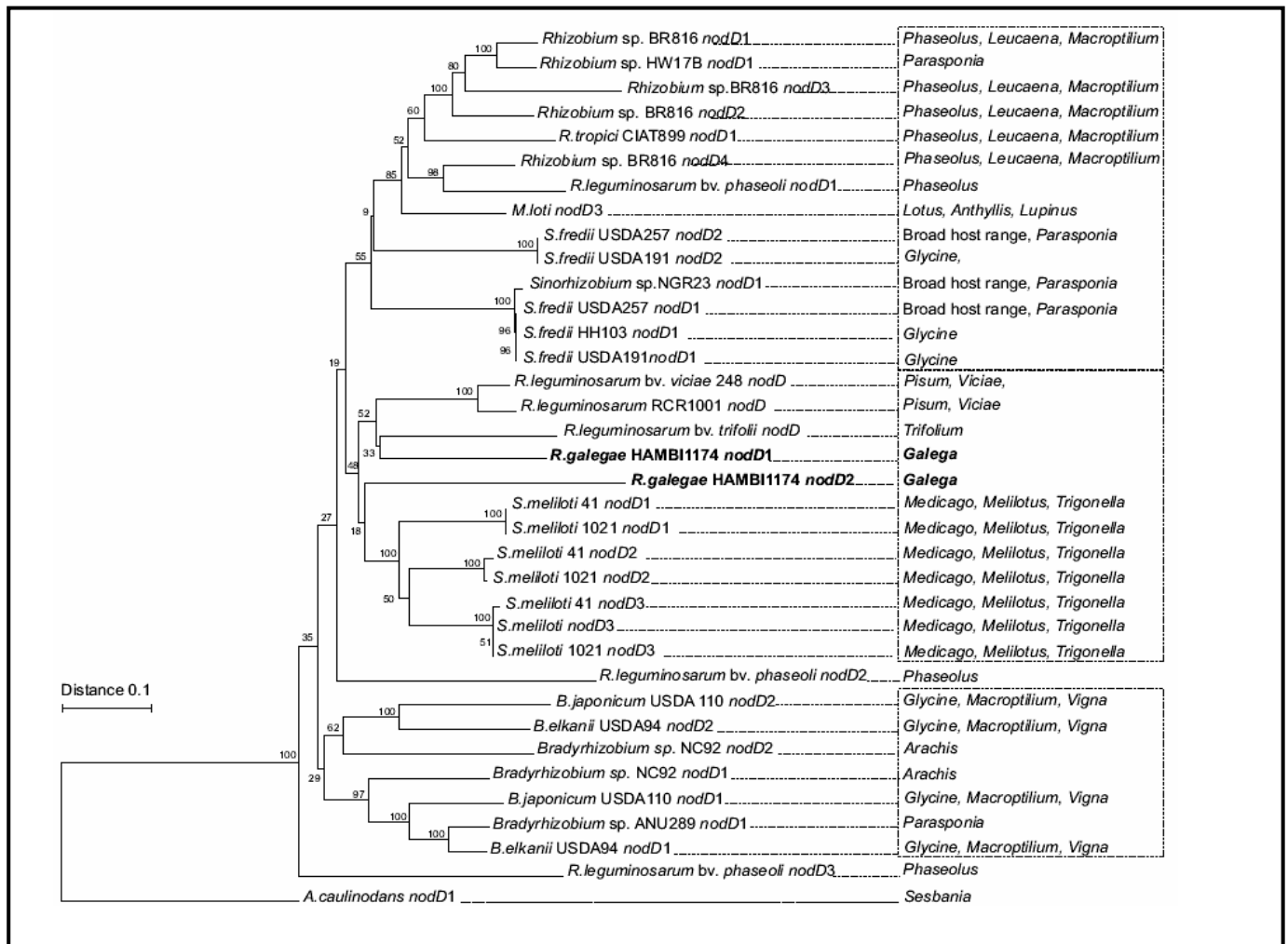


Figure N° 01 : Arbre phylogénétique de différents *Rhizobia* suivant les séquences de leurs gènes nod et indication de leurs hôtes majeurs (Bougreau, 2006).

II-4-Spécificité chez les *Rhizobia*

Les souches Rhizobienne peuvent être plus ou moins spécifiques (William et Hopkins, 2003). La spécificité *Rhizobia*-hôte est probablement déterminée lorsque chaque souche de *Rhizobia* s'attache aux poils absorbants de son légumineuse, elle doit nécessiter une sorte de reconnaissance entre le symbionte et l'hôte. Cette association noue un dialogue sous la forme de message chimique entre les deux partenaires, représenté dans la figure N° 02 (Hopkins, 2003).

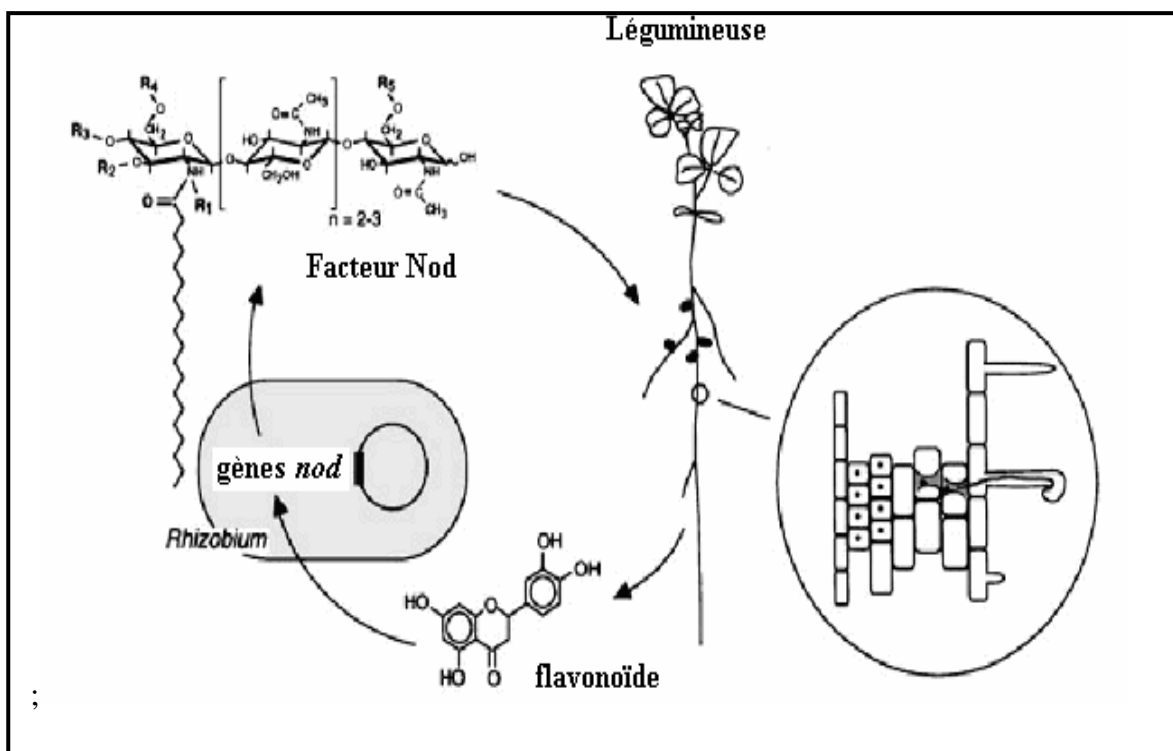


Figure N° 02: Communication entre *Rhizobia* et légumineuse (Vergnes, 2006)

II-5-Caractères phénotypiques des *Rhizobia*

Les souches de *Rhizobia* se distinguent par la nature des sources de carbone et de l'azote qu'elles utilisent (Hopkins, 2003). Les *Rhizobia* se présentent sous la forme de bâtonnets nets de $(0,5- 0,9) \times (1,2 - 3)\mu\text{m}$. Ils sont généralement mobiles quand ils sont jeunes grâce à un seul flagelle polaire ou deux à six flagelles péritriches.

Les *Rhizobia* âgés, possèdent un ou plusieurs granules réfringents de poly- β -hydroxybutyrate et forment des colonies incolores, blanches ou de couleur crème et sur le milieu de culture classique (mannitol et extrait de levure) (Émile et Michel, 2004).