

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

KHALDI Halima Keltoume

Thème

**Evaluation de l'activité rhizobiale des Fabaceae
en cas de stress abiotique**

Soutenu le 22/11/2020

Jury:

Président: **M. ACHIR H.**
Encadrant: **M. SOUANA K.**
Examineur 1: **M. RAHMOUNE B.**
Invité:

Grade :

M.C.B
M.A.A
M.C.B

Année universitaire 2019-2020

Dédicace

- *A chère maman ABDIA.*
- *A mon très cher mari*
- *A mes ma grand-mère KHADIDJA et mon grand –père MAMMER*
- *A ma belle mère KHADIDJA et à mon beau père SI MENAOUAR*
- *A ma chère sœur et ma compagne de vie ATHER, mes chères sœurs et mes chers frères.*
- *A toute ma famille et à tous mes proches.*
- *A mon don de destin HABIBA.*
- *A ma chère amie SAFIA.*
- *A mes deux chers enseignants de l'école primaire, Monsieur ASNOUN MOHAMED et Madame JAMILA.*
- *A tous mes enseignants.....*

Je dédie ce mémoire.....



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant pour mon succès dans mes études.

Mes remerciements sont adressés principalement à mon estimé professeur, Monsieur l'encadreur SOUANA K., qui a eu le grand mérite d'accomplir ce travail, et j'apprécie ses efforts, sa patience et son dévouement malgré les pressions et les difficultés auxquelles il est confronté au travail. Merci beaucoup pour les merveilleux moments que nous avons passés avec vous.

Je me trouve très obligée à remercier Le Chef de Spécialité de Biologie Moléculaire et cellulaire, Monsieur TAIBI K., qui nous a accompagnés tout au long des années de formation. Il était stricte, certes, mais juste et très dévoué dans son travail. Il ne nous était pas seulement un enseignant, mais un fidèle parent ou frère aîné.

Je tiens à remercier infiniment les membres de jury, M. ACHIR H. et M. RAHMOUNE B., qui, malgré leurs occupations, ont accepté à m'honorer d'examiner et évaluer ce modeste travail

J'adresse mes remerciements aux professeurs Monsieur BOUSSAID, Madame AIT ABDERAHIM, et tous les enseignants de la faculté S.N.V et l'équipe de formation de la spécialité de Biologie moléculaire et cellulaire en particulier.

Je tiens également à remercier toutes mes amies, pour les années inoubliables que nous avons passées ensemble ainsi que tous mes collègues pour le respect et comportement fraternel qu'ils éprouvaient envers nous.

Un grand merci à ma chère maman qui a eu un grand rôle dans ma vie et qui s'est battue et a lutté pour cette journée pendant si longtemps. Merci beaucoup encore.

Un merci éternel à mon cher mari qui était toujours mon soutien dans les moments difficiles et qui me donne la force à chaque fois où je pense à l'échec. Un grand merci à toute sa famille aussi, qui m'a beaucoup encouragée pendant mes études, surtout HABIBA, TATA FAIZA et HANOUNA.

موجز

لكون البقوليات معروفة بقدرته L على تثبيت الأزوت المتواجد في الغلاف الجوي فإن ضرورة الإهتمام بها والإكثار من استغلاله L تتأكد يوماً بعد يوم وذلك بهدف الحد من الاستخدام المفرط للأسمدة الكيميائية وتخفيف تأثيره L السيئ على البيئة. ولكن ظروف زراعته L لا تكون دوم L مواتية مما يجعل بلوغ الأهداف المرجوة غير مضمونة وذلك تحت تأثير الظروف البيئية المحيطة و المختلفة ومن بينه L مشكل الملوحة ، والتي يمكن أن تؤثر على فسيولوجي L النبات أو البكتيري L التكافلية، الشيء الذي جعل جهود الباحثين تتزايد باستمرار من أجل إضافة المزيد من التوضيح حول الموضوع وإيجاد الحلول.

في هذا السياق ، قمن L بالقيام بهذا البحث الذي نود من خلال ه التحقق من التأثير السلبي المحتمل للملوحة على أنواع البقوليات وعلى العقد البكتيرية، وانعكاس ذلك على مردود تثبيت الأزوت من الغلاف الجوي. فقمنا بزراعة نباتات الفول (*Vicia faba L.*) في أوساط مالحة ذات تركيزات تدرجية : 50 ، 100 ، 150 و 200 ملي مول من كلوريد الصوديوم (NaCl) ، بعد التلقيح المسبق لـ : 50 ٪ من هذه النباتات بسلاطات بكتيرية من نوع *Rhizobium* .

تشير النتائج التي تم الحصول عليها من قبل العديد من المؤلفين إلى أن الملح بشكل عام له تأثيرات سلبية على النبات وعلى العقد البكتيرية و على كفاءة العقد.

الكلمات المفتاحية : البقوليات ، العقد البكتيرية من نوع *Rhizobium* ، تثبيت أزوت الغلاف الجوي ، إجهاد النباتات تحت تأثير الظروف الخارجية ، الملوحة

RESUME

Le recours à l'exploitation des Fabaceae, connues par la capacité de fixer l'azote atmosphérique, s'avère de jour en jour de grande importance pour limiter l'utilisation abusive d'intrants chimiques et modérer ainsi leur impact sur l'environnement. Cependant, les conditions de culture ne sont pas souvent favorables et les avantages attendus sont exposés à l'influence des contraintes environnementales, entre autres la salinité, pouvant affecter la physiologie de la plante ou des bactéries symbiotiques. A cet effet, les efforts des chercheurs ne cessent de se multiplier afin d'ajouter beaucoup plus d'éclaircissement sur le sujet et aboutir à des solutions.

Dans ce contexte est mené le présent travail qui sert à vérifier l'effet inhibiteur probable de la contrainte saline sur la nodulation et, par conséquent, sur la fixation d'azote atmosphérique chez les légumineuses. Des plants de fève (*Vicia faba* L.) sont cultivées dans des milieux salins de concentrations progressives : 50 , 100 , 150 et 200 mM de NaCl, après avoir, préalablement, inoculé 50 % de ces plants avec des souches de Rhizobium.

Les résultats obtenus par différents auteurs indiquent qu'en général le sel exerce des effets négatifs sur la plante et sur les nodules et, par conséquent, sur l'efficacité nodulaire.

Mots clés: Fabaceae, nodulation, fixation atmosphérique d'azote, stress abiotiques, salinité

ABSTRACT

The recourse to the exploitation of Fabaceae, known for the capacity to fix atmospheric nitrogen, is proving every day of great importance to limit the excessive use of chemical inputs and thus moderate their impact on the environment. However, growing conditions are not often favorable and the expected benefits are exposed to the influence of environmental constraints, including salinity, which can affect the physiology of the plant or the symbiotic bacteria. So, the efforts of researchers are constantly increasing in order to add much more clarification on the subject and to find solutions.

In this context, the present work is carried out which serves to verify the probable inhibitory effect of the salt stress on nodulation and, consequently, on atmospheric nitrogen fixation in legumes. Bean plants (*Vicia faba* L.) are cultivated in saline media of progressive concentrations: 50, 100, 150 and 200 mM of NaCl, after having previously inoculated 50% of these plants with strains of Rhizobium.

The results obtained by different authors indicate that in general salt has negative effects on the plant and on the nodules and, consequently, on the nodular efficiency.

Key words: Fabaceae, nodulation, atmospheric nitrogen fixation, abiotic stress, salinity

Liste des abréviations

%	: Pour cent
°C	: Degré Celsius
µg	: Microgramme
Ca ⁺⁺	: Cation de calcium
CaCl ₂	: Chlorures de calcium
Cl ⁻	: Anion de chlore
FAO	: Food and Agricultural organization
Fig.	: Figure
g	: Gramme
g.l ⁻¹	: Gramme par litre
h	: Heure
ITGC	: Institut National des Grandes Cultures
j	: Jour
K ⁺	: Cation de potassium
L	: Litre
mg.g ⁻¹	: Milligramme par gramme
mM	: Millimole
Na ⁺	: Cation du sodium
NaCl	: Chlorure de sodium
pH	: Potentiel hydrogène

LISTE DES FIGURES

Figure (1) : Différentes étapes de l'établissement de la symbiose	21
Figure (2) : Substrat de culture mis en sacs.....	35
Figure (3) : Nodules conservés au glycérol.....	37
Figure (4) : Repiquage des plants de <i>Vicia faba</i> L.....	38
Figure (5) : Dispositif expérimental.....	39
Figure (6) : Variations du poids sec de la plante entière d'haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	46
Figure (7) : Effet du sel sur la sèche de la plante entière chez 10 populations de <i>Médicago truncatula</i>	46
Figure (8) : Taux de réduction du poids sec de la plante entière sous l'effet de salinité chez six espèces d'acacia.....	47
Figure (9) : Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne chez quatre variétés de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	48
Figure (10) : Taux de réduction relative (%) de la longueur de la tige sous l'effet de la contrainte saline chez six espèces d'Acacia.....	48
Figure (11) : Taux de réduction du nombre de feuilles par plant sous l'effet de la salinité chez six espèces d'acacia.....	49
Figure (12) : Variation du volume de la partie aérienne chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums	50
Figure (13) : Effet du NaCl sur le poids frais de la partie aérienne du trèfle (<i>Trifolium alexandrinum</i> L.) inoculé par le <i>Rhizobium</i>	50
Figure (14) : Effet du NaCl sur le poids sec de la partie aérienne du trèfle (<i>Trifolium alexandrinum</i> L.) inoculé par le <i>Rhizobium</i>	51
Figure (15) : Effet du NaCl sur le poids sec de la partie aérienne chez quatre variétés de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	52
Figure (16) : Effet du NaCl sur la longueur des tiges chez 10 populations naturelles du <i>Médicago truncatula</i>	52
Figure (17) : Variation du poids sec de la partie aérienne chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	53

Figure (18) : Variation de la longueur de la racine chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums....	54
Figure (19) : Effet du NaCl sur le volume racinaire chez quatre variétés de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	54
Figure (20) : Variation du volume de la partie racinaire chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	55
Figure (21) : Effet du NaCl sur le poids frais de la partie racinaire du trèfle inoculé par le <i>Rhizobium</i>	55
Figure (22) : Variation du poids frais de la partie racinaire chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	56
Figure (23) : Effet du NaCl sur le poids sec de la partie racinaire chez <i>Trifolium alexandrinum</i> L. inoculé par le <i>Rhizobium</i>	56
Figure (24) : Effet du NaCl sur le poids sec racinaire chez quatre variétés de lentille (<i>lens culinaris</i>).....	57
Figure (25) : Variation du poids sec de la partie racinaire chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	57
.	
Figure (26) : Effet de la salinité sur le nombre de nodules par plant d'haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	58
Figure (27) : Effet de la salinité sur le nombre de nodule par plant chez quatre variétés de lentille (<i>Lens culinaris</i>).....	58
Figure (28) : Variation du nombre de nodules chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	59
Figure (29) : Variation du volume nodulaire chez les plantes de fève (<i>Vicia faba</i> L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums.....	59
Figure (30) : Effet du NaCl sur la matière sèche nodulaire, g/plant.....	60
Figure (31) : Effet du NaCl sur la variation du taux d'azote en % de matière sèche des feuilles chez quatre variétés de <i>Lens culinaris</i>	61

Figure (32) : Effet de la salinité sur la fixation symbiotique d'azote (FSA) chez 4 géotypes de <i>Phaseolus vulgaris</i> combinés avec 2 souches de Rhizobium.....	61
Figure (32) : Effet du NaCl sur l'efficacité nodulaire, estimée par les quantités d'azote fixé pendant la période du traitement chez 4 géotypes de <i>Phaseolus vulgaris</i> combinés avec 2 souches de Rhizobium.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau (1) : Composition du milieu YEM (Vincent, 1970).....	37
Tableau (2) : Concentrations de NaCl utilisées.....	39
Tableau (3) : Composition minérale de la solution nutritive Hoagland.....	40

TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Remerciements	
Liste d'abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION.....	7
Partie (I) - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
LES FABACEAE (ou Légumineuses).....	9
Généralités sur les Fabaceae.....	9
Intérêts économiques	9
Intérêts agronomiques et écologiques.....	11
Intérêts alimentaires	11
Aperçu sur l'espèce cultivée, la fève (<i>Vicia faba</i> L.).....	11
LA SYMBIOSE	
1.Les Rhizobia	14
Classification.....	14
Propriétés morphologiques	18
Propriétés physiologiques.....	19
Propriétés biochimiques.....	19
La nodulation.....	19
Les étapes de formation du nodule.....	20
Physiologie de la symbiose.....	22
Biochimie de la fixation d'azote atmosphérique.....	25
LA SALINITE ET SON EFFET SUR LA PLANTE ET LA RHIZOSPHERE	

Généralités sur la salinité

Définition de la salinité.....	27
Processus de salinisation.....	27
Effets de la salinité sur les propriétés du sol.....	29
Effets sur les propriétés physiques.....	29
Effets sur les propriétés chimiques.....	29
Effets sur les propriétés biologiques.....	30
Effets de la salinité sur la plante.....	30
Notion de « stress salin »..30	30
Effet du stress salin sur la germination.....	30
Effet du stress salin sur la croissance de la plante.....	31
Effet du stress salin sur le métabolisme azoté.....	31
Mécanismes d'adaptation de la plante à la salinité.....	32
Régulation de la croissance.....	32
Homéostasie cellulaire.....	33
Séquestration du Na ⁺ dans les vacuoles et prélèvement du K ⁺	33
Biosynthèse d'osmoprotectants "34.....	34
Biosynthèse d'antioxydants...34.....	34

Partie (II) – MATÉRIELS ET MÉTHODES

Étapes expérimentales réalisées avant la pandémie du Covid 19	35
2.1. Préparation du substrat de culture.....	35
2.2. Désinfection des graines de fève (<i>Vicia faba</i> L.).....	36
2.3. Test de germination.....	36
2.4. Prégermination des graines de <i>Vicia faba</i> L.....	36
2.5 Récolte et conservation des nodules de <i>Vicia faba</i> L.....	36

2.6. Isolement et purification des souches bactériennes.....	37
2.7 Identification des souches bactériennes.....	37
2.8. Repiquage des plants de <i>Vicia faba</i> L.....	38
2.9. Préparation des solutions salines.....	39
2.10. Dispositif expérimental.....	39
Etapes prévues et non réalisées à cause du Covid19.....	39
1.1. Arrosage à la solution nutritive « Hogland » pendant une semaine.....	40
1.2. Application de la salinité pendant trois semaines.....	40
1.3. Mesures biométriques.....	40
1.3.1. Mesures biométriques de la partie aérienne.....	40
1.3.2. Mesures biométriques de la partie souterraine.....	41
1.3.3.seruseM biométriques nodulaires.....	41
1.4..Mesure de la teneur relative en eau (TRE).....	42
1.5. Dosages biochimiques.....	42

Partie (III) – RESULTATS ET DISCUSSION

Partie (IV) – CONCLUSION ET PERSPECTIVES

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La salinisation est le processus majeur de la dégradation des sols qui constitue une contrainte pesante sur la productivité agricole à l'échelle mondiale et dans les zones arides et semi-arides en particulier (CHERIFI et *al.*, 2017). Sur 1.5 milliard d'hectares de terres cultivées, il y'a environ 77 millions d'hectares, soit 5%, qui sont affectés par le problème de salinisation (SHENG et *al.*, 2004). L'Algérie, de sa part, n'échappe pas à ce phénomène et la sécheresse prolongée a conduit à une salinisation de 3.2 millions d'hectares de terres agricoles (BOUDA et HADDIOUI, 2011). Ces chiffres ne cessent d'augmenter d'une année à l'autre à cause de l'irrigation irrationnelle ou pratiquée, parfois, à l'eau de mauvaise qualité (DOUAOUI et HARTANI, 2003) et à l'agriculture intensive basée principalement sur une fertilisation chimique abusive (GIRAUD et *al.*, 2000). Cette dernière aboutit souvent à mettre à la hausse les coûts de production pour le producteur et les risques de pollution pesant sur le milieu et la biodiversité.

Il est devenu, donc, nécessaire d'adopter une stratégie agricole capable d'assurer la sécurité alimentaire et promouvoir l'économie des pays, qui devra être basée essentiellement sur le développement des productions agricoles sans risques de nuire aux propriétés des sols et à l'environnement. Cela se réalisera par l'introduction d'espèces végétales tolérantes aux contraintes abiotiques et de haute valeur nutritionnelle et socio-économique.

Le recours à l'exploitation des *Fabaceae*, pour des raisons agronomiques, économiques et écologiques est devenu de haute nécessité afin de bénéficier de leur capacité de fixer l'azote atmosphérique et de limiter, ainsi, les apports d'engrais azotés (PELMONT, 1995). Les espèces appartenant à cette famille botanique sont considérées depuis longtemps comme pionnières des sols pauvres en minéraux notamment en azote, grâce à leur symbiose avec des bactéries du sol fixatrices d'azote appelées rhizobiums ou bactéries nodulant les *Légumineuses* « BNL » (PATRIARCA et *al.*, 2004). Cette symbiose se traduit par la formation d'un organe ou nodule à l'intérieur duquel des rhizobiums réduisent l'azote atmosphérique en ammoniac assimilable par plante.

L'azote est le premier élément minéral limitant la croissance des plantes car les seules formes assimilables sont présentes en faible quantité dans les sols, mais il est le quatrième constituant utilisé par la plante dans l'élaboration des molécules organiques comme les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques et la chlorophylle (SAADALLAH et *al.*, 2001). Les plantes absorbent l'azote sous forme de nitrates (NO_3^-) ou d'ammonium (NH_4^+) et l'importance relative de chacune de ces formes dépend de l'espèce végétale et des conditions du milieu (PELMONT, 1995).

Cependant, les avantages attendus de l'exploitation des *Fabaceae* sont exposés à être influencés par les contraintes biotiques ou abiotiques pouvant affecter l'état physiologique de la plante ou nuire aux souches de rhizobiums, se répercutant ainsi sur l'activité fixatrice de l'azote attendue de l'association symbiotique (ZHRAN, 1999 et PATRIARCA et *al.*, 2004).

Le choix du thème du présent travail a pour but de vérifier l'effet inhibiteur probable de la contrainte saline sur la nodulation et, par conséquent, sur la fixation d'azote atmosphérique chez les *Légumineuses*. La rédaction du mémoire est répartie en trois grandes parties : un premier chapitre où sont résumées les informations bibliographiques recueillies ; un second qui présente la méthodologie expérimentale adoptée et un troisième où sont exposés et interprétés, pour des raisons de force majeure relatives à la pandémie du Covid19, des résultats d'autres auteurs ayant travaillé, avant, sur des sujets similaires.

Partie (I)

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES FABACEAE

1.1. Généralités sur les *Fabaceae*

La famille des *Fabaceae*, plus traditionnellement appelée légumineuses ou papilionacées, représente une très vaste famille comprenant des arbres, les plantes herbacées annuelles ou vivaces, des lianes et même des plantes aquatiques (DUC et *al.*, 2010). C'est la troisième plus grande famille de plantes à fleurs (après les orchidées et les astéracées), avec environ 650 genres et près de 20 000 espèces (Gepts et *al.*, 2005) ; beaucoup de plantes ornementales s'inscrivent également dans cette famille (Judd et *al.*, 2001). Elles revêtent une grande importance dans la vie humaine, car elles sont une source alimentaire de premier ordre, cultivées depuis la préhistoire. Très cosmopolites, les Fabacées sont distribuées partout dans le monde sauf dans les climats arctiques. Cette large extension et leur évolution leur ont permis de se diversifier grandement (Chaudhary et *al.*, 2004 ; DUC et *al.*, 2010).

1.2. Classification des *Fabaceae*

Les *Fabaceae*, selon Doyle et Luckow (2003), regroupent 19500 espèces réparties en 765 genres, elles sont actuellement très scientifiquement classées en 6 nouvelles sous-familles : Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae, Faboideae. Mais du point de vue « visuel », qui est celui du jardinier et du naturaliste observateur, l'ancienne classification en trois grandes sous-familles est toujours utilisée :

- sous famille des Mimosaceae ;
- sous-familles des Caesalpinioideae ;
- sous-famille des Papilionaceae.

☒ Les Mimosoideae

Judd et *al.* (2001) rapportent que les Mimosaceae ont des fleurs régulières à 5 pétales égaux, plus ou moins soudés et généralement petits. Les feuilles sont souvent bipennées. Cette sous-famille ou famille comprend surtout des arbres ou des arbustes, le plus souvent tropicaux. Les Mimosacées regroupent environ 56 genres et entre 500 et 3000 espèces. Rien que le genre *Mimosa* atteint les 500 espèces. Ils sont divisés en 5 tribus :

- *Acacieae* (ex *Acacia*) ;

- *Ingeae* (ex *Albizia*) ;
- *Mimoseae* (ex *Mimosa*) ;
- *Mimozygantheae* (ex *Mimozyganthus*) ;
- *Parkieae* (ex *Parkia*)

☒ Les Caesalpinoideae

Cette sous famille regroupe 2500 à 3000 espèces, réparties en 180 genres environ. Ce sont surtout des arbres ou des arbustes tropicaux ou subtropicaux, sauf *Cercis*, *Gleditsia* et *Gymnocladus* qui sont cultivés en climat tempéré (Judd et al., 2001). Ils ont une corolle irrégulière : parfois presque régulière comme chez les *Cassia* ou au contraire clairement zygomorphe, presque une papilionacée, comme chez l'arbre de Judée (*Cercis siliquastrum*). Il y a 10 étamines parfois très longues et proéminentes ou moins, car certaines sont réduites). Les Caesalpinoideae comprennent 4 tribus, à savoir :

- *Caesalpinieae* : ex *Caesalpinia*, aux sépales libres et pétales bien différenciés ;
- *Cassieae* : ex *Cassia*, *Senna*, aux pétales bien différenciés et fleurs presque régulières ;
- *Cercideae* : ex *Cercis* (l'arbre de Judée) ;
- *Detarieae* : ex *Amherstia*, une essence d'arbre rare et tropical, mais cultivée pour ses extraordinaires inflorescences.

☒ Les Papilionoideae

Les Papilionoideae représentent la majorité des Fabaceae que l'on connaît, et c'est pourquoi l'appellation de cette sous-famille est parfois utilisée pour les Fabaceae en général (Sprent, 1995). Elles représentent plus de 10 000 espèces réparties en 400 ou 500 genres. Bon nombre de ces Papilionacées sont cultivées, hybridées, sélectionnées depuis si longtemps qu'elles existent sous forme d'une multitude de cultivars et variétés, sans que l'on connaisse vraiment leur parente sauvage (Judd et al., 2001).

Parmi les genres connus, il y a :

- *Phaseolus*, les haricots verts et blancs ;
- *Vicia*, la fève et la fèveole ;
- *Dolichos* ou *Lablab*, les doliques, ornementaux ou parfois consommés ;
- *Trifolium*, les trèfles, utile en fourrage et engrais vert ;
- *Pisum*, comme *Pisum sativum*, le petit pois ;

- *Wisteria*, les glycines ;
- *Laburnum* et *Robinia*, des arbres sauvages et/ou ornementaux ;
- *Arachis* qui donne la cacahuète ;
- *Ulex*, les ajoncs ;
- *Lupinus*, les lupins ;
- *Lathyrus*, les gesses et le pois de senteur ;
- *Cytisus*, les genets.

1.3. Intérêts agronomiques et écologiques

L'intérêt agronomique des Fabaceae provient en premier lieu de 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 également dans le cadre d'une agriculture "durable" (réduction des intrants, préservation et enrichissement des sols en azote) (CHAUX *et al.*, 1994). Elles exercent une influence très favorable sur la fertilité des sols grâce à la symbiose fixatrice d'azote avec les souches de *Rhizobium*. Elles jouent par conséquent un rôle primordial dans la rotation des cultures (BREWIN, 2004).

Dans les pays développés, l'utilisation excessive des engrais azotés conduit à la pollution des sols, des nappes phréatiques et des cours d'eau. Aujourd'hui, la pollution par les nitrates est un problème réellement inquiétant, et la réintroduction des légumineuses dans l'agriculture s'avère être bon moyen pour limiter la pollution. En effet, la décomposition de la plante ou de ses résidus se fait progressivement, et est mieux adaptée à l'utilisation de l'azote par d'autres plantes. Les pertes azotées par lessivage sont donc limitées, et l'apport d'engrais chimique diminue (CHAUX *et al.*, 1994).

1.4. Intérêts alimentaires

De nombreuses espèces cultivées appartiennent à la famille des Fabaceae. Elles constituent une source très importante de protéines et de lipides dans l'alimentation humaine et animale (LADHA *et al.*, 1990). Leur apport en protéines est important et peu coûteux (18% à 30% de la graine sèche) (JARVIS *et al.*, 1992).

1.5. Aperçu sur l'espèce cultivée, la fève (*Vicia faba* L.)

La fève est une plante herbacée robuste de la famille des papilionacés, pouvant dépasser un mètre, à feuilles pennées par une pointe, de folioles larges de couleur glauque. L'inflorescence est en racème de deux à cinq fleurs parfois solitaire, à corolle blanche ou rosée, avec des taches noires sur les ailes (DUC et *al.*, 2010). Le fruit est une gousse contenant des graines de formes ovale et aplatie avec une peau épaisse, les fèves, a chromosomes grands et moins nombreux que chez la plupart des espèces dans le genre $2n=2x=12$. Cette espèce diffère des autres espèces de *Vicia* par l'absence de vrilles et par son aspect du hile qui est à l'angle droit de la longueur de la graine (BELKHODJA, 1996). Cette plante est exigeante, la température optimale pour sa croissance est autour de 20°C.

1.5.1. Taxonomie de la fève (*Vicia faba* L.)

D'après DAJOZ (2006), la fève a été classée comme suit :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Dialypétales
Série :	Caliciflores
Ordre :	Rosales
Famille :	Fabacées(Légumineuses)
Sous-famille :	Papilionacées
Genre :	<i>Vicia</i>
Espèce :	<i>Vicia faba</i> L.

1.5.2. Description

La fève a un système racinaire formé d'une racine principale pivotante et des racines secondaires. Ce système radicaire qui peut s'enfoncer jusqu'à 80 cm de profondeur, porte d'une manière plus abondante dans les 30 premiers centimètres des nodosités contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium leguminisarum*) (DUC et

al., 2010). La tige est simple, dressée, creuse, de section quadrangulaire et de hauteur généralement comprise entre 0,80 à 1,20 m. Elle est pourvue d'un ou plusieurs rameaux à la base et présentant un type de croissance indéterminé (BELKHODJA, 1996). Selon DUC et *al.* (2010), les fleurs sont de type papilionacé, de 2 à 3 cm de long, de couleur blanche, marron ou violette et portent sur chaque aile une macule noir ou marron. Les fruits sont des gousses qui peuvent atteindre selon la variété les 20 cm de long et contenir un nombre variable de graines (4 à 9). A l'état jeune, les gousses verte puis noircissent à maturité ((DUC et *al.*, 2010 ; BRINK et MELESE-BELAY, 2006). Les graines sont de couleur vert tendre à l'état immature. A maturité complète développent un tégument épais et coriace de couleur brun rouge à blanc verdâtre et prennent une forme aplatie à contour presque circulaire ou réniforme (CHAUX et FOURY, 1994).

1.5.3. Origine

La fève *Vicia faba* est une plante potagère cultivée depuis la plus haute antiquité par les Egyptiens, les Grecs et les Romains. Originaires de Perse, elle tenait dans certaines contrées le rôle du haricot, avant que ce dernier ne soit importé d'Amérique du Sud. Son introduction fut assez récente en Chine, où elle a pris une extension considérable (CUBERO, 1974).

1.5.4. Répartition géographique

A partir de son centre d'origine, la fève s'est propagée vers l'Europe, le long du Nil jusqu'en Ethiopie et de la Mésopotamie vers l'Inde. L'Afghanistan et l'Ethiopie deviennent par la suite les centres secondaires de dispersion PERON (2006).

1.5.5. Productions dans le monde et en Algérie

La fève (*Vicia faba* L.) est aujourd'hui parmi les plantes légumières les plus cultivées dans le monde, la récolte mondiale s'élève, en 2002, à 75 millions de tonnes dont 1.02 millions de fèves vertes et 3.73 millions de fèves sèches (FAOSTAT, 2016). Sa culture dans les pays du bassin méditerranéen est environ de 25% de la surface totale cultivée et de la production mondiale de la fève, avec un rendement très proche de la moyenne mondiale, 38qx/ha (Saxena, 1991).

En Algérie, bien que le rendement a clairement diminué ces deux dernières décennies 4.71 qx/ha (ITGC, 2016), La fève occupe toujours la première place parmi les

légumes secs (BENACHOUR et al, 2007). On la cultive sur la plaines côtières et les zones sublittorales (ZAGHOUANE, 1991) avec une surface cultivée d'environ 9 ha, soit 46% de la superficie consacrée aux légumineuses, et productions qui dépassent les 200000qx/ha (ITGC, 2016).

II. LA SYMBIOSE

2.1. Les Rhizobia

Les rhizobia sont des bactéries du sol, appartenant à la famille des Rhizobia, ils sont des Gram négatif, strictement aérobies, possédant une forme de bâtonnets de 0,6 à 0,9 µm de largeur et de 1,2 à 3 µm de longueur et non sporulants (JORDAN, 1984). Ce sont des bactéries mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (VINUESA et al., 2005). Leur croissance est optimale à une température de 28 °C et un pH entre 6 et 7. Ces bactéries infectent les racines des légumineuses et donnent naissance à des excroissances de type tumoral appelées nodosités. Le centre de chaque nodosité mature contient des milliards de bactéries qui fixent l'azote (VAN et al., 1998).

Quelques auteurs considèrent les rhizobia comme des bactéries qui sont capables de noduler. D'autres distinguent entre les vrais rhizobia appartenant à la classe des Alphaproteobacteria et qui inclut actuellement 5 genres: Rhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium, Bradyrhizobium et Azorhizobium, et les bactéries non-rhizobia mais qui sont capables aussi de noduler et elles sont constituées des souches de quelques espèces appartenant aux classes Beta et Gammaproteobacteria et qui incluent les genres Methylobacterium, Blastobacter, Devosia, Phyllobacterium, Ochrobactrum, Cupriavidus et Burkholderia (HOPKINS, 2003).

2.1.1. Classification

Les différentes espèces reconnues des rhizobiums sont réparties sur les genres décrits ci-dessous.

- **Allorhizobium** : La souche type de ce groupe est *Allorhizobium undicola* a été isolée à partir d'une légumineuse tropicale endémique du Sénégal, *Neptunia natans*. La souche montre un linéage distinct dans le cluster formé par Rhizobium et Agrobacterium dans l'arbre phylogénétique avec un fort rapprochement d'*Agrobacterium vitis* (YOUNG et al., 2001 ; KUYKENDALL et DAZZO, 2003).

- **Azorhizobium** : *Azorhizobium caulinodans* est la seule espèce reconnue de ce genre. Elle se distingue par une croissance rapide et la présence d'un seul flagelle latéral. De plus, elle nodule non seulement les parties racinaires mais aussi les parties aériennes de *Sesbania rostrata* (DREYFUS et al., 1988). Une seconde espèce, *Azorhizobium johannae* a été proposée (RINAUDO et al., 1991). Cette souche est caractérisée par un faible taux d'hybridation ADN / ADN par rapport à la souche type du genre. L'analyse des séquences de l'ADNr 16S a montré que la souche type se trouve mélangée avec des souches du genre *Xanthobacter* et *Aquabacter*. Le regroupement de ces deux derniers genres avec *Azorhizobium* a été examiné sans être cependant proposé en raison de la grande dissimilitude des caractères phénotypiques (TRINICK, 1980 ; YOUNG et al., 2004a).
- **Bradyrhizobium** : L'identification de souches à croissance lente revient à FRANK B. (1972) mais leur classification en un seul genre *Bradyrhizobium* a été établie par JORDAN D.C. (1984). Plusieurs espèces sont à nos jours reconnues, *Bradyrhizobium japonicum* (JORDAN, 1982), *Bradyrhizobium elkanii* (Kuykendall et al., 1992) et *Bradyrhizobium liaoningense* (XU et al., 1995). Ces trois espèces nodulent le soja. Elles ont été ainsi classées sur la base des hybridations ADN / ADN et sur d'autres critères génétiques et phénotypiques. La dernière espèce a été décrite pour les souches à croissance très lente.

Par ailleurs d'autres souches nodulant des légumineuses autres que le soja, telles que *Lupinus* (BARRERA et al., 1997), *Arachis hypogea* (URTZ et ELKAN, 1996), *Astragalus*, *Oxytropis* et *Onobrychis* (AMARGER et al., 1997), *Amphicarpea* (STERNER et PARKER, 1999) et autres sont encore non classées. Aussi sont-elles désignées par *Bradyrhizobium* sp., suivi du genre de la plante hôte entre parenthèses.

Plusieurs auteurs ont rapporté l'existence de souches photosynthétiques appartenant au genre *Bradyrhizobium*. Ces souches ont été isolées à partir des tiges de l'espèce *Aeschynomene indica*. Dès lors, plusieurs souches ont été isolées à partir d'autres espèces d'*Aeschynomene* (WONG et al., 1990 ; LORQUIN, 1997b ; GIRAUD et al., 2000). Toutes ces souches forment un groupe monophylétique au sein des bradyrhizobia (YOUNG et al., 1991 ; MOLOUBA et al., 1999).

Les bradyrhizobia sont groupés dans une branche bien individualisée dans l'arbre phylogénétique des bactéries symbiotiques (SAWADA et al., 2003). Toutefois,

d'autres genres de bactéries non symbiotiques présentent des séquences de l'ADNr 16S qui les positionnent dans la même branche, c'est le cas de *Nitrobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Brucella*, *Afipia* et *Blastobacter* (MARTINEZ-ROMERO et CABARELLO-MELLADO, 1996). Certains de ces genres présentent des caractéristiques bien particulières telles que le pouvoir pathogène (cas d'*Afipia*) (WONG et al., 1994). La caractérisation de différentes souches de *Bradyrhizobium* par la comparaison de plusieurs techniques moléculaires a révélé l'existence de 11 génotypes différents dont trois correspondent aux souches reconnues, alors que les 8 génotypes restants sont très distincts (WILLEMS et al., 2001a, b, c). Une nouvelle espèce *Bradyrhizobium yuanmingense* a été récemment isolée du genre *Lespedeza* (YAO et al., 2002 ; EUZEBY et FINDALL, 2004). Dans la même année, une souche de *Bradyrhizobium* nodulant une plante sauvage du genre *Phaseolus* a été signalée par PARKER (2002). Les autres espèces reconnues de ce groupe sont *Bradyrhizobium betae* (RIVAS et al., 2004) et *Bradyrhizobium canariense* (VINUESA et al., 2005).

- **Mesorhizobium** : Ce groupe se distingue des autres rhizobiums par une flagellation polaire ou sub-polaire, par des souches à croissance intermédiaire entre celles à croissance rapide et celles à croissance lente, et par la séquence de l'ADNr 16S. Plusieurs espèces ont été proposées, à savoir :

- ✓ *Mesorhizobium loti* a été isolée par JARVIS et al. (1982) d'une large gamme d'hôtes, *Lotus*, *Lupinus*, *Anthyllis*, *Astragalus*, *Caragena*, *Ononis*, *Genista*, *Cicer*, *Leucaena* et *Ornithopus* (SAHGAL et JOHRI, 2003).
- ✓ *Mesorhizobium huakuii* a été isolée par CHEN et al. (1991) à partir d'*Astragalus* mais elle peut aussi noduler d'autres légumes.
- ✓ *Mesorhizobium ciceri* nodule strictement le pois chiche (NOUR et al., 1994a).
- ✓ *Mesorhizobium mediterraneum* (NOUR et al., 1995) nodule également le pois chiche, mais présente des caractéristiques différentes par rapport à *Mesorhizobium ciceri*.
- ✓ *Mesorhizobium amorphae* (WANG et al., 1999a) a été isolée d'*Amorpha fruticosa*.
- ✓ *Mesorhizobium chacoense* a été isolée de *Prosopis alba* (VELASQUEZ et al., 2001).
- ✓ *Mesorhizobium septentrionale* a été isolée d'*Astragalus adsurgens* (GAO et al., 2004).

- ✓ *Mesorhizobium temperatum* a été isolée également d'*Astragalus adsurgens* (GAO et al., 2004)..

Les espèces du genre *Mesorhizobium* forment avec d'autres espèces des genres *Aminobacter* et *Pseudoaminobacter* un seul groupe monophylétique (SAWADA et al., 2003 ; CHEN et al., 2004).

- **Rhizobium** : qui regroupent les espèces suivantes :

- ✓ *Rhizobium leguminosarum* a été la première espèce reconnue du groupe (FRANK, 1889) avec trois biovars (JORDAN, 1984) : *Rhizobium leguminosarum Biovar viciae* qui nodule les genres *Pisum*, *Viciae*, *Lathyrus* et *Lens* ; *Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli* qui nodule le genre *Phaseolus* et *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii* qui nodule le genre *Trifolium*. Chez cette espèce, il est important de signaler que les gènes de fixation, de nodulation ainsi que ceux de la spécificité de l'hôte sont localisés au niveau du plasmide, par conséquent la désignation biovar reflète des caractéristiques plasmidiques et non chromosomiques.
- ✓ *Rhizobium tropici* a été décrite par MARTINEZ-ROMERO et al. (1991) sous deux types : type I et type II. Les souches du type II forme des nodosités sur les racines de *Phaseolus vulgaris*, *Leucaena esculenta* et *Leuceana leucocephala*. Les souches du type I ont été reclassées par SEGOVIA et al. (1993) sous le nom de *Rhizobium etli*. Les souches de ce nouveau genre ont été reconnues pour noduler exclusivement l'espèce *Phaseolus vulgaris*. Cependant un nouveau biovar a été isolé à partir de *Mimosa* sp. et a été nommé par conséquent *Rhizobium etli biovar mimosae* (WANG et al., 1999b).
- ✓ *Rhizobium galegae biovar orientalis* et *biovar officinalis* ont été isolées respectivement de *Galega orientalis* et *Galega officinalis* (DE LAJUDIE et al., 1989). Cette espèce présente un ADNr 16S qui est très différent de ceux des autres rhizobia mais rapproché de celui d'*Agrobacterium vitis* (GAO et al., 2001).
- ✓ *Rhizobium gallicum biovar phaseoli* et *biovar gallicum* et *Rhizobium giardinii biovar phaseoli* et *biovar giardinii* ont été proposées par AMARGER et al.

(1997) sur la base de la séquence du gène de la SSU et des caractéristiques phénotypiques pour quelques souches isolées à partir de *Phaseolus vulgaris* et qui présentent deux groupes distincts par rapport à *Rhizobium leguminosarum* *bv. Phaseoli* (LAGUERRE et al., 1993).

- ✓ *Rhizobium huautlense* qui a été isolée de *Sesbania rostrata* (WANG et MARTINEZ-ROMERO, 2000).

Les quatre dernières espèces pourraient être classées dans un groupe distinct, mais sont toujours groupées avec le genre *Rhizobium* en raison de leur croissance rapide. Toutefois, leur emplacement phylogénétique reste vague (KUYKENDALL et al., 2004b). Plusieurs nouvelles espèces appartenant à ce genre ont été identifiées, *R. mongolense* (VAN BERKUM et al., 1998), *R. yanglingense* (TAN et al., 2001), *R. Larrymoorei* (BOUZAR et JONES, 2001 ; YOUNG, 2004), *R. indigoferae* (WEI et al., 2002), *R. sullae* (SQUARTINI et al., 2002) et *R. loessense* (WEI et al., 2003).

- **Sinorhizobium** : qui comprend les espèces suivantes :

- ✓ *Sinorhizobium meliloti* isolée de *Melilotus* et identifiée initialement par DANGEARD (1926) a été la première espèce reconnue de ce groupe sous le nom de *R. meliloti* (SKERMAN et al., 1980 ; JORDAN, 1984). Des données moléculaires ont indiqué que *S. fredii* et *S. meliloti* sont très similaires (JARVIS et al., 1992).
- ✓ *Sinorhizobium meliloti*, proposée initialement par DANGEARD (1926) et isolée à partir des espèces *Melilotus*, *Medicago* et *Trigonella*.
- ✓ *Sinorhizobium Saheli* et *Sinorhizobium teranga*, isolées respectivement à partir d'*Acacia* et de *Sesbania*.
- ✓ *Sinorhizobium fredii*, isolée initialement de *Glycine max*, *Vigna unguiculata* et *Cajanus cajan*, mais aussi d'autres légumineuses. SCHOLLA et ELKAN (1984) ont pu distinguer à partir de tests de sérologie et d'hybridation ADN / ADN, deux chémovars : *fredii* et *siensis*. CHEN et al. (1995) ont même proposé l'existence de deux espèces différentes : *Sinorhizobium fredii* et *Sinorhizobium xinjiangensis*.

2.1.2. Propriétés morphologiques

Les critères morphologiques regroupent les caractéristiques de la cellule bactérienne (forme, nombre et type de flagelles, coloration Gram, présence d'endospores) et les caractéristiques de la colonie (couleur, dimension, forme). Parmi les critères phénotypiques les plus importants dans la caractérisation des rhizobia, figurent la croissance dans le milieu YEM (VINCENT, 1970), ce critère est sur lequel a été basée la première classification des bactéries symbiotiques fixatrices de l'azote en deux genres qui sont Rhizobia et Bradyrhizobium (JORDAN, 1984).

2.1.3. Propriétés physiologiques

Les critères physiologiques regroupent le taux de croissance de la bactérie sur le milieu YEM (Yeast Extract Mannitol), la capacité d'utiliser différents carbohydrates et différentes sources d'acides aminés, la tolérance à différentes concentrations en sels et aux variations du pH, la croissance à différentes températures, la résistance aux antibiotiques, aux métaux lourds, etc. (VINCENT, 1970).

2.1.4. Propriétés biochimiques

Les Rhizobia sont des bactéries chimioorganotrophes, elles utilisent des carbohydrates relativement simples comme le glucose, le mannitol, le saccharose et des composés aminés. Certaines espèces exigent des vitamines pour leurs croissances (SOMASEGARAN et HOBEN, 1994). Les rhizobia n'assimilent pas l'azote en dehors de la plante et ont besoin d'une source d'azote ammoniacale ou aminé pour se développer à l'état libre (PELMONT, 1995).

2.2. La nodulation

La nodulation est considérée comme la première caractéristique de l'association symbiotique qui est strictement contrôlée par des mécanismes d'autorégulation interne de la plante hôte (FIGUEIREDO et *al.*, 2008). En présence des rhizobia, la plante émet des signaux par la production de flavonoïdes qui stimulent la sécrétion des facteurs Nod par les rhizobia (D'HAEZE et HOLSTERS, 2002). Chez les légumineuses deux types de nodules peuvent être distingués suivant la persistance ou non du méristème. Les nodules à croissance indéterminée ont généralement un mode de croissance continue et les étapes de développement du nodule sont séparées dans l'espace et non dans le temps (NAP et BISSELING 1990). Ce type de nodules est caractéristiques des espèces des

climats tempérés tels que *Medicago*, *Pisum*, *Vicia* et *Trifolium*. Par contre, les nodules à croissance déterminée sont observés chez les espèces tropicales (*Lotus*, *Glycine*, *Vigna* et *Phaseolus*). Ces nodules sont originaires d'un méristème qui détermine sa croissance durant une période de temps limitée. Cependant, les étapes de développement nodulaire sont séparées dans le temps (NAP et BISSELING, 1990).

2.2.1. Les étapes de formation du nodule

La formation des nodules passe par les étapes suivantes :

- **La pré infection :** Le processus de nodulation commence par un échange de signaux entre la plante hôte et la bactérie. En conditions de carence en ions d'ammonium (NH_4^+), les plantes produisent des flavonoïdes au niveau des racines (PATRIARCA et *al*, 2004). Une fois perçu par le *Rhizobium*, ce signal induit l'expression de gènes nod codant pour les enzymes de synthèse de facteurs Nod (lipochitinoooligosaccharides ou LCO). Ceux-ci sont des signaux de nodulation ciblant le programme organogénétique de la plante (PATRIARCA et *al*, 2004). Les *Rhizobiums* diffèrent dans la structure de leurs facteurs de nodulation, ce qui constitue un deuxième niveau de contrôle de la spécificité d'hôte (MOSCHETTI et *al*, 2005).
- **L'infection :** Les bactéries migrent vers l'extrémité des poils absorbants, s'y fixent et libèrent à leur tour des hormones (acides gibbérellique et indole-acétique) qui assouplissent la paroi cellulaire (DUPUY et NOUGIER, 2005). Au cours de l'infection, la pénétration de la bactérie est facilitée par la courbure du poil racinaire et, par conséquent, la bactérie est entourée par la paroi végétale dans une zone confinée. La croissance des nodosités se poursuit dans les régions infectées de l'écorce et du péricycle jusqu'à ce que ces deux masses de cellules fusionnent et forment la nodosité (RASANEN, 2002).
- **Le développement du nodule :** Dans le poil absorbant, des vésicules golgiennes convergent vers le point de contact, formant un cordon amorphe (DUPUY et NOUGIER, 2005). Ce dernier relie les cellules épidermiques aux cellules corticales. De là, l'organogenèse se poursuivra jusqu'à l'obtention d'un nodule. 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 (DUPUY et NOUGIER, 2005).

- **La formation des bactéroïdes** : Elle consiste en un relâchement des rhizobiums à partir des cordons d'infection à l'intérieur des cellules corticales suivie de la division et la différenciation des rhizobiums en cellules fixatrices d'azote reconnues sous le nom de bactéroïdes.
- **La maturation des nodosités** : A la fin, chaque cellule bactérienne est entourée par un compartiment membranaire provenant du tube d'infection. L'ensemble de cette unité, constituée d'une bactérie individuelle et la membrane qui l'entoure, est nommé symbiosome (BREWIN, 2004). Parallèlement à cette différenciation, les cellules racinaires de l'hôte augmentent considérablement de taille et forment ainsi le tissu central du nodule qui est bien alimenté en sève et contient de la leghémoglobine dans le cytoplasme, ce qui donne à la région centrale de la nodosité une coloration rose (BREWIN, 2004).

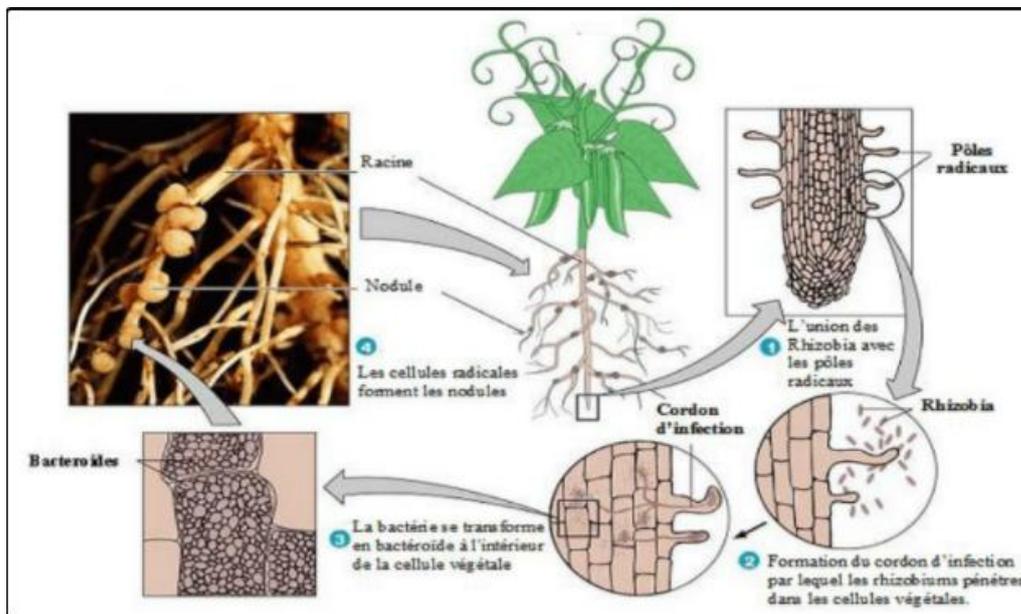


Figure (1) : Différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia –légumineuse (FAGHIRE M., 2012)

- **La dégénérescence** : Chez les nodosités âgées, les cellules végétales dégèrent, les membranes des symbiosomes se désagrègent, les bactéroïdes se transforment en bactéries, ces dernières sont libérées dans le sol et la plante résorbe les produits (MERGAERT et al, 2006).

Le fonctionnement du nodule

Chacun des deux symbiontes (rhizobia-légumineuse) constitue pour l'autre une source d'un des éléments clés de son métabolisme : l'azote moléculaire réduit par la nitrogénase des bactéroïdes (DOMMERGUES *et al.*, 1999) est assimilé dans les cellules infectées de la plante hôte et exporté aux autres organes de la plante par le flux xylémien en échange de photosynthétats acheminés sous forme de saccharose par le flux phloémien jusqu'aux nodosités (DIXON et WHEELER, 1986). Les nodosités sont des composantes nécessaires au fonctionnement de la nitrogénase (DOMMERGUES *et al.*, 1999).

Les deux composants de cette enzyme sont la protéine Mo-Fe et la protéine-Fe. La dinitrogénase (protéine Mo-Fe) est un hétéro-tétramère composé de deux sous-unités non identiques $\alpha_2\beta_2$ codées par *nifD* et *nifK*. Les protéines α (*NifD*) et β (*NifK*) ont des poids moléculaires respectifs de 59 et 54 kDa (DOMMERGUES *et al.*, 1999). La dinitrogénase est composée du cofacteur MoFe contenant du fer, du molybdène et du soufre (BISHOP *et al.*, 1977), qui est le site d'attachement et de réduction du substrat, ainsi qu'un centre composé de fer et de soufre qui reçoit l'électron transféré directement de la dinitrogénase réductase (*NifH* ou protéine-Fe) (PETERS *et al.*, 1997). La dinitrogénase réductase (protéine-Fe) est un homo-dimère de 64 kDa (HAUSINGER *et al.*, 1983 ; GEORGIADIS *et al.*, 1992). Codée par le gène *nifH*, elle contient un centre d'oxydoréduction (4Fe-4S) (YAMAMOTO *et al.*, 2008). La protéine-Fe joue un rôle dans le transfert d'électrons à la dinitrogénase, nécessaire à la réduction du substrat (N_2) (YAMAMOTO *et al.*, 2008). L'activité de la nitrogénase se fait selon un cycle précis qui comporte quatre étapes essentielles. En premier lieu, on a la formation du complexe entre la protéine-Fe, deux molécules d'ATP et la protéine-MoFe, suivie du transfert d'électrons entre les deux protéines avec hydrolyse de l'ATP (GEORGIADIS *et al.*, 1992). Ensuite, une dissociation de la protéine-Fe du complexe aura lieu avec une réduction du centre (4Fe-4S) et une transformation de l'ATP en ADP. Ce cycle se répète plusieurs fois jusqu'à l'accumulation d'un nombre suffisant d'électrons apte à réduire le substrat, ce processus de réduction nécessite un environnement anaérobie vu la sensibilité de la nitrogénase à l'oxygène (PUPPO *et al.*, 1988).

2.3. Physiologie de la symbiose

L'azote est l'élément nutritif dont les plantes ont besoin en grande quantité. La disponibilité de cet élément est fortement limitant aussi bien dans les écosystèmes naturels que cultivés et il a une grande influence à la fois sur le rendement et la qualité du produit. Les plantes acquièrent l'azote par l'assimilation de l'azote minéral (nitrate, ammonium) et pour certaines d'entre elles en mobilisant l'azote atmosphérique par le biais de leur association avec des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote. Les plantes capables d'utiliser l'azote atmosphérique sont des Fabaceae qui s'associent à des bactéries classiquement et collectivement dénommées rhizobium ou des plantes à actinorhizes qui s'associent avec des bactéries appartenant au genre Frankia (RASANEN, 2002). La nutrition azotée des légumineuses et des plantes à actinorhizes est donc assurée par deux voies : la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique et l'absorption de l'azote minéral du sol (STOUGAARD, 2000). Les légumineuses sont responsables à elles seules de près de 30% de la fixation d'azote annuelle qui comprend la fixation industrielle de N₂ par le procédé de Haber-Bosh, la fixation atmosphérique de N₂ par conversion photochimique et la fixation biologique de N₂ par les procaryotes (CHENG, 2008 ; ERTL, 2012). Le mutualisme entre les Fabacées et les rhizobium ou les plantes à actinorhizes et les Frankia, aboutit à la formation d'un organe particulier sur les racines ou les tiges, appelée nodosité. Ces nodosités représentent de véritables organes d'échanges métaboliques entre les bactéries et la plante (GALLOWAY *et al.*, 2003). A l'intérieur de cet organe, les microsymbiotes transforment l'azote atmosphérique en ammonium, une forme biologique qu'elles échangent avec la plante contre des photosynthétats (substrats carbonés) (WANG *et al.*, 2012a). Ce processus biologique joue un rôle essentiel dans l'agriculture durable, car il réduit l'apport en engrais azoté exogène tout en fournissant un moyen efficace de produire des aliments riches en protéines (HIRSCH *et al.*, 2001). Les interactions légumineuses-rhizobiums se produisent dans la rhizosphère suite à la libération de molécules carbonées (sucres, acides organiques, hormones, vitamines et substances phénoliques) par exsudation, sécrétion, ou autolyse des vieilles cellules de la racine (SENEVIRATNE *et JAYASINGHEARACHCHI*, 2003). Beaucoup de substances organiques libérées par les racines ont, selon WANG *et al.*(2012a) un faible poids moléculaire et sont donc facilement décomposables par les micro-organismes, cela conduit à l'existence d'une grande communauté microbienne autour de la racine. D'autres composés trouvés dans les exsudats racinaires exercent des pressions sélectives sur la communauté microbienne, les (iso) flavonoïdes, les stachydrines et les acides aldoniques sont les plus

importants du point de vue symbiotique et ils peuvent diffuser passivement à travers la membrane bactérienne pour constituer les premiers signaux de l'hôte qui déclenchent chez la bactérie l'expression du gène de régulation de la nodulation (PETERS et VERMA, 1990). Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés chez les plantes vasculaires et un sous-ensemble particulier est impliqué dans la médiation de la spécificité de l'hôte dans les légumineuses (PERRET et *al.*, 2000). Les flavonoïdes attirent les rhizobium par chimiotactisme et induisent chez les bactéries l'expression des gènes nod qui permettent à leur tour la production de Facteurs Nod (FNs) (BEGUM et *al.*, 2001). Les Bradyrhizobium photosynthétiques associés à Aeschynomene constituent cependant une exception car ces bactéries ne possèdent pas de gènes de nodulation (MASSON-BOIVIN et *al.*, 2009). Quand les FNs sont produits, ils induisent chez la plante des modifications morphologiques, physiologiques et moléculaires complexes qui permettent la pénétration de la bactérie au sein de la plante hôte (OLDROYD et *al.*, 2011).

D'après WANG et *al.*(2012), l'infection par la bactérie symbiotique et le développement des nodosités suivent un programme morphologique bien défini. Les deux partenaires entrent tout d'abord en contact au niveau de la surface du poil racinaire. Ensuite, le poil racinaire se transforme en « crosse de berger » formant ainsi une micro-niche favorable à la prolifération des bactéries. Une croissance apicale inverse se met alors en place, formant un passage long et étroit appelé le cordon d'infection, dans lequel les bactéries se divisent. Parallèlement à la progression de l'infection, l'organogenèse nodulaire se met en place. Les cellules végétales du cortex et du péricycle entrent en division et forme un primordium nodulaire, lieu de libération des bactéries, et qui se différencie ensuite en nodosité mature. A l'intérieur de la nodosité, la bactérie se différencie en bactéroïdes, forme sous laquelle elle est capable de réduire l'azote atmosphérique (N_2) en ammonium (NH_4^+). Arrivée à maturité, la nodosité peut être de type déterminé ou indéterminé. Lors de la formation des nodosités de type déterminé, l'activité mitotique du cortex externe est éphémère ce qui donne au nodule sa forme sphérique (cas du haricot, soja, lotier, anthyllide). La zone centrale est globalement constituée d'une zone de fixation d'azote c'est-à-dire de cellules au même stade de différenciation, plus ou moins infectées et d'une zone de sénescence (FERGUSON et *al.*, 2010).

Les nodosités de type indéterminé sont formées à partir du cortex interne, généralement par les plantes utilisant la voie formant des cordons d'infection intracellulaires. Leur activité mitotique est persistante, ce qui se traduit par des nodosités de forme allongée (cas de la luzerne, trèfle, pois, sulla). Elles possèdent une structure plus complexe que les nodosités de type déterminé (SCHUMPP et DEAKIN, 2010).

Les flavonoïdes produits par la plante hôte induisent l'expression des gènes nod de rhizobium. Cela conduit à la production des facteurs Nod qui vont, eux-mêmes en retour, induire la réponse de la plante et l'initiation de la colonisation par la bactérie. Le zoom montre un cordon d'infection passant par le cortex racinaire vers un groupe de cellules en division, qui deviendra le primordium nodulaire (FERGUSON et *al.*, 2010 ; OLDROYD et *al.*, 2011).

Les rhizobium survivent pendant de longues périodes dans le sol et peuvent se développer rapidement s'ils infectent une légumineuse compatible. La présence d'une seule bactérie peut conduire à la formation d'une nodosité fixatrice d'azote contenant plus de 108 cellules bactériennes sur les racines des légumineuses (CHEN et *al.*, 2008). Toutefois, des facteurs du milieu peuvent limiter la nodulation d'espèces de légumineuses (ZAHARAN, 1999). C'est le cas de fortes concentrations de Zn et Cd (CHAUDHARY et *al.*, 2004) qui affectent la nodulation ou bien inactivent la fixation biologique de l'azote symbiotique en formant des nodosités racinaires inefficaces avec le rhizobium (MCGRATH et *al.*, 1988). Par conséquent, les exemples montrant les associations symbiotiques capables de conserver leur capacité à fixer l' N_2 sur les sols fortement contaminés, sont rares (GILLER et *al.*, 2009). Ces dernières années, l'identification et la sélection des bactéries symbiotiques résistantes aux métaux (ABD-ALLA et *al.*, 2012; RUIZ-DIEZ et *al.*, 2012; VIDAL et *al.*, 2009) ont connu un grand développement pour promouvoir la croissance des légumineuses par l'intermédiaire d'une meilleure fixation biologique.

2.4. Biochimie de la fixation d'azote atmosphérique

Dans l'industrie, la fixation de l'azote se fait en présence de fer agissant comme catalyseur, à 500°C et une pression de 300 atm. Par conséquent, le processus biologique

de fixation de l'azote nécessite une enzyme complexe appelée "complexe nitrogénase" qui réalise cette transformation fondamentale, elle est composée de deux protéines :

- Une dénitrégénase réductase : (nitrogénase I) qui fournit des électrons de haut pouvoir réducteur à deux sous unités identiques (HOPKINS, 2003).
- Une nitrogénase ou molybdoprotéine (MoFe protéine) : c'est la composante principale du système enzymatique formée de quatre sous unités (tétramérique), chaque monomère contient un centre (4 Fe - 4 S) reliés entre eux deux par deux, ce tétramère est associé à un cofacteur protéique qui contient 8 Fe et 2 atomes de molybdène (Mo) et utilise ces électrons pour réduire N₂ en NH₃. Le transfert des électrons de la réductase à la nitrogénase est couplé à l'hydrolyse de l'ATP par réduction (LECLERC, 1995 et HOPKINS, 2003).

Le complexe nitrogénase est très sensible à l'inactivation par O₂. La leghémoglobine abaisse fortement la concentration d'O₂ libre dans les nodules de la plante en le fixant et il ne peut donc plus interagir avec la nitrogénase pour l'inhiber. Le site actif contenant le molybdène du complexe nitrogénase est spécifiquement conçu pour réduire l'azote moléculaire (N₂), mais peut être empoisonné par l'oxygène moléculaire libre (O₂ libre). Néanmoins, les bactéroïdes ont également besoin, comme la plante hôte, d'un ravitaillement régulier en oxygène pour leur métabolisme. La plante hôte, répond à ces exigences en synthétisant de grandes quantités de leghémoglobine, qui va porter l'oxygène libre à un niveau suffisamment faible pour ne pas endommager la nitrogénase. Bien que la plante synthétise le polypeptide de la leghémoglobine, le cofacteur constitué par l'Hème est fourni par les bactéries elles-mêmes (la leghémoglobine est constitué de deux parties : un polypeptide et un hème). . (LECLERC, 1995 et HOPKINS, 2003).

Le NH₄⁺ est pris en charge, à l'intérieur de la plante, par un système enzymatique, GS-GOGAT, soit deux enzymes travaillant à la chaîne. La 1^{ère} (GS pour Glutamine Synthase) rajoute un NH₃ à une molécule de glutamate pour former la glutamine qui transfère un de ses groupements azotés à un acide céto-glutamate grâce à la seconde enzyme GOGAT (pour Glutamine OxoGlutamate Amino Transférase). On obtient alors deux molécules de glutamate, les réactions peuvent alors s'enchaîner en boucle. Les plantes symbiotiques fixent ainsi de 300 à 400 kg de diazote par hectare et par an (BREWIN et COL, 2003).

III. LA SALINITE ET SON EFFET SUR LA PLANTE ET LA HIZOSPHERE

3.1. Généralités sur la salinité

3.1.1. Définition de la salinité

La présence de fortes doses de sels dans le sol surtout avec un mauvais drainage constitue un immense danger pour l'agriculture, car elle conduit généralement à une dégradation des sols, une baisse de leur fertilité et elle occasionne une toxicité aux végétaux ce qui réduit le nombre d'espèces dont la culture est possible sur ces terres (OMAMI, 2005).

La salinité peut être définie comme étant un processus pédologique suivant lequel le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acéquant ainsi le caractère salin (EILERS *et al*, 1995; GREGORY, 2005). Un sol salé est caractérisé par un surplus de sels, en particulier l'ion Na^+ , dans le profil (CHARTZOULAKIS et KLAPAKI, 2000.). La formation d'un sol salin résulte généralement de l'accumulation de sels dans les horizons de surface (LEVY, 2000). Ce processus dépend essentiellement du régime hydrique du sol et des sources de sel. Lorsque le climat est chaud et sec, les sels sont entraînés par les eaux capillaires suivant le flux d'évaporation, et accumulés en surface. Les sels les plus communs présents dans la solution du sol correspondent aux cations Ca^+ , Mg^{+2} , Na^+ , K^+ , et aux anions Cl^- , SO_3^{-2} , CO_3^{-2} , NO_3^- (BRADY et WEIL, 2002; ESSINGTON, 2004).

D'autres sels moins courants et plus toxiques à faibles concentrations sont également à considérer. Ces éléments traces sont le bore, le sélénium, l'arsenic et le molybdène (ESSINGTON 2004 ; GREGORY, 2005).

Généralement la salinité d'un sol est mesurée par la conductivité électrique de l'extrait de la pâte saturée à 25°C (HALFAOUI, 1988). En effet, un sol est considéré salé quand sa conductivité électrique devient supérieure à 4 millimhos/cm (HALITIM, 1986).

3.1.2. Processus de salinisation,

Les sols salés sont formés à partir de trois processus physico-chimiques qui sont la salinisation, la sodisation et l'alcalinisation (MONTOROI, 2005). Ces mécanismes

peuvent s'associer différemment suivant les caractéristiques du milieu d'accumulation (ILOU, 1995). Selon PHELIPPE (2001), il y'a trois processus responsables :

- **La salinisation** : Le mécanisme de la salinisation des sols se produit lorsque la minéralisation de la solution du sol dépasse un certain seuil sous l'influence d'un mécanisme physique (évaporation, drainage insuffisant, altération des minéraux et accumulation...). Au-delà de ce seuil, les végétaux subissent une sécheresse physiologique due à une pression osmotique très forte et à une toxicité en certains éléments (MONTOROI, 2005).

La teneur d'une solution de sol en sels solubles est déterminée par sa conductivité électrique (CE), rapportée à une température standard (en général 25°C) et exprimée en $S.m^{-1}$. Celle-ci est d'autant plus élevée que la concentration ionique de l'électrolyte l'est aussi (MONTOROI, 2005). On définit en général deux types de salinisation, la salinisation primaire et la salinisation secondaire.

- ✓ **La salinisation primaire** : Elle résulte de la présence initiale de sels dans le sol ou dans la nappe phréatique et peut affecter des milieux naturels sans qu'il y ait intervention directe de l'homme. L'altération des roches contenant des minéraux sodiques, potassiques ou magnésiques conduit à des sels souvent solubles, en particulier les chlorures, les sulfates, les carbonates, les bicarbonates et parfois les silicates de ces métaux (ZAHOW *et* AMRHEIN, 1992). Selon AUBERT (1975) et de façon générale, les sols sodiques en Afrique du Nord proviennent principalement d'une action de la mer ou de la présence de dépôts lagunaires salés et gypseux répartis dans l'échelle stratigraphique depuis le Trias jusqu'au Quaternaire.
- ✓ **La salinisation secondaire** : C'est un processus d'enrichissement d'un sol en sels solubles causé par l'approvisionnement en eau pour l'irrigation et qui aboutit à la formation d'un sol salin. L'irrigation altère le bilan hydrique du sol en générant un apport d'eau supplémentaire ; cet apport est toujours associé à un apport de sels (FAO, 2006). Un excès d'eau entraîne la remontée d'une nappe phréatique salée, tandis qu'un manque d'eau provoque une lixiviation insuffisante des sels (BOIVIN *et al*, 2002). Les sols affectés par salinisation secondaire est de 20% à 50% des terres irriguées en Algérie (DOUAOUI *et* HARTANI, 2007).

- **La sodisation** : Le processus de sodisation se produit lorsque le complexe organo-minéral d'échange est progressivement saturé par l'ion Na^+ (horizon sodique). Les agrégats deviennent instables à partir d'un certain seuil et la dégradation des propriétés physiques du sol est potentielle (Servant, 1978). On détermine la sodisation par le pourcentage de sodium échangeable ESP (Exchangeable Sodium Percentage) par rapport à la capacité d'échange des cations (CEC). Si cette valeur est supérieure à 15%, on parle d'un sol sodique (ILOU, 1995).

$$\text{ESP} = 100 * \text{Na échangeable (mécq/l)} / \text{CEC (mécq/l)}$$

- **L'alcalisation** : Le processus d'alcalisation intervient lorsqu'un sol à complexe saturé en sodium se transforme physiquement suite aux réactions d'échange entre l'ion Na^+ et les protons au moment d'une humectation (MONTOROI, 2005). L'alcalinisation se traduit par une augmentation du pH du sol suite à l'accumulation de bases faibles. Elle peut être d'origine naturelle ou due à une irrigation mal contrôlée. Les eaux d'irrigation faiblement minéralisées présentent une alcalinité résiduelle calcite positive, c'est à dire un excès de carbonates (bases faibles) par rapport au calcium. La concentration de ces eaux par évaporation au cours de l'irrigation entraîne la précipitation de la calcite. Au fur et à mesure que les processus de concentration et de précipitation de la calcite se poursuivent, la teneur en calcium décroît alors que les carbonates s'accumulent. C'est la libération de l'ion Na^+ dans la solution du sol, ce qui élève le pH et disperse les feuillets d'argile (PHILIPPE, 2001; MICHEL, 2005).

3.2. Effets de la salinité sur les propriétés du sol

3.2.1. Effets sur les propriétés physiques

Selon DUCHAUFOR (1983), les sels solubles affectent les propriétés physiques du sol par leurs cations, notamment l'ion Na^+ . L'action défavorable de cet ion à l'état échangeable se traduit par la dispersion des colloïdes du sol et la structure devient complètement dégradée lorsque la teneur de sodium échangeable est de 12 à 15 % dans les sols salés. L'influence du sodium sur la perméabilité du sol dépend de plusieurs facteurs, parmi lesquelles le pourcentage d'argile et la nature minéralogique du sol, la concentration de la solution de celle-ci.

3.2.2. Effets sur les propriétés chimiques

L'excès de sels présente un effet sur les propriétés chimiques, notamment sur le pH et l'ESP. Alors que certains sels sont acidifiants (CaSO_4 , KCl , MgSO_4), d'autres sont alcalinisant (NaHCO_3 , CaCO_3 , NaCO_3). Le taux de sodium échangeable à une grande importance dans les sols alcalins, vu que ces derniers retiennent de faibles concentrations en sels solubles et la grande quantité de sodium se trouve sous la forme échangeable. Tandis que dans le cas des sols salés, la grande partie du sodium se trouve dans la solution du sol (OUSTANI, 2006).

3.2.3. Effets sur les propriétés biologiques

Les sels forment une couche imperméable en surface empêchant toute activité biologique (HALFAOUI, 1988). Ainsi selon (AUBERT, 1988), la pression osmotique de la solution des sols salés s'élève, ce qui rend difficile l'alimentation des plantes et micro-organismes en eau.

3.3. Effets de la salinité sur la plante

3.3.1. Notion de « stress salin »

Claude Bernard fut le premier à dégager une notion physiologique du stress en 1868. Selon lui, les réactions déclenchées par le stress visaient à maintenir l'équilibre de notre organisme. L'ensemble de ces réactions internes a été nommé homéostasie par le physiologiste américain C.W. Bradford (1915). Le lien stress-homéostasie-adaptation va perdurer jusqu'à nos jours et les recherches menées concernant ces processus sont à la base d'une littérature abondante. L'association de ces trois notions constitue l'approche biologique du stress et permet notamment d'expliquer l'influence du stress qui est de permettre, lorsqu'il est appliqué dans certaines limites, l'adaptation à l'environnement, et donc au maintien de la vie.

D'une façon plus générale, on peut dire qu'au niveau cellulaire, un stress est causé par la variation d'un paramètre environnemental qui entraîne la mise en place des mécanismes de régulation de l'homéostasie. Les organismes sont généralement soumis à deux types de stress : les stress biotiques (dus à une agression par un autre organisme) et les stress abiotiques (qui sont dus principalement à des facteurs environnementaux) (LEVITT, 1980).

3.3.2. Effet du stress salin sur la germination

Le stade germination est souvent limité par la salinité du sol et se montre le plus sensible que les autres stades (BOUDA et HADDIOUI, 2011). Cet effet dépend de la nature de l'espèce et de l'intensité du stress salin. La réduction du pouvoir germinatif est due à l'augmentation de la pression osmotique de la solution du sol, qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination (HAJLAOUI et al., 2007). Bien que les halophytes possèdent une teneur très élevée en sel dans leurs tissus au stade adulte, leurs graines ne sont pas aussi tolérantes au sel au stade germination (BELKHODJA et BIDAI, 2004).

3.3.3. Effet du stress salin sur la croissance de la plante

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes (BOUAOUINA et al., 2000). L'effet immédiat du stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire, ce qui conduit à l'arrêt de l'expansion si la concentration du sel augmente. La contrainte saline aboutit aussi à la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, des tiges et des racines (CHARTZOULAKIS et KLAPAKI, 2000). Le nombre des feuilles et la surface foliaire le sont aussi (BEN KHALED et al., 2007).

La salinité diminue la croissance des glycophytes en modifiant l'équilibre hydrique et ionique des tissus, Au niveau des feuilles, ce phénomène est associé à une baisse de turgescence, suite à une diminution du gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu. La compartimentation des ions entre les organes (racines/parties aériennes), les tissus (épiderme/mésophylle) ou encore les compartiments cellulaires (vacuole/cytoplasme) est l'un des mécanismes d'adaptation à la contrainte saline (OUERGHI et al., 2000). La salinité accrue est accompagnée par une réduction dans la biomasse racinaire, la hauteur de la plante, le nombre de feuilles par plante, la longueur des racines et la surface racinaire (MOHAMMAD et al., 1998). Les effets de la salinité sur la croissance des plantes varient en fonction du type de salinité, de la concentration du sel, de l'espèce, de la variété, de l'organe de la plante, ainsi que du stade végétatif (LEVIGNERON et al., 1995).

3.3.4. Effet du stress salin sur le métabolisme azoté

La nitrification est aussi touchée par la salinité. En effet, la vitesse d'oxydation biologique de l'ammonium est ralentie en fonction du degré de salinité dans le sol ; il est de même de la vitesse d'apparition des nitrates NO₃⁻, l'oxydation de l'ammonium est totalement inhibée en présence de salinité excessive, et il n'y a pas apparition de nitrate NO₃⁻. (SALAM., 2004).

3.4.Mécanismes d'adaptation de la plante à la salinité

La tolérance de la salinité est l'habilité des plantes à croître et compléter leur cycle de vie sur un substrat contenant la forte concentration de sel soluble. Les plantes qui peuvent survivre sur des concentrations élevées de sel dans la rhizosphère et croître normalement sont appelées halophytes (PARIDA et DAS, 2005). Quand les plantes sont exposées à la concentration élevée de sel, elles peuvent développer divers mécanismes pour leur survie. Cette réponse au stress dépend de l'espèce, de la variété, de la concentration en sel, des conditions de culture et du stade de développement de la plante (MAALEJ et al., 1998).

Il existe deux principales stratégies que les plantes utilisent pour faire face à la salinité, la compartimentation des ions toxiques au sein de la vacuole et leur exclusion hors de la cellule (OUERGHI et *al.*, 2000). D'autre part, les plantes modifient la composition de leur sève; elles peuvent accumuler les ions [Na⁺] et [Cl⁻] pour ajuster le potentiel hydrique des tissus, nécessaire pour maintenir la croissance (HANANA et al., 2011).

Une plante cultivée sur sol riche en sel doit faire face à sa pénétration dans ses tissus. Celui-là est rejeté ou accumulé par les différents organes, tissus, cellules et compartiments cellulaires. Les ions chlorure (Cl⁻) et sodium (Na⁺) pénètrent via les racines, transportés par la sève xylémique jusqu'aux tiges et feuilles. Là ils se trouvent soit stockés (plantes de type incluser), les feuilles sont riche en (Na⁺) que les tiges et les racines et le mécanisme de tolérance au sel est dû à la compartimentation des ions toxiques en particulier l'ion sodium dans la vacuole ; soit au contraire ils sont très peu retenus dans leurs feuilles (plantes de type excluser) et ces ions sont alors revéhiculés par la sève phloèmeique jusqu'aux racines (LEVIGNEON et *al.*, 1995).

3.4.1. Régulation de la croissance

MUNNS et TERMAAT (1986) soulignent que la croissance racinaire est moins affectée par la salinité que celle de la partie aérienne. En effet, le maintien d'une croissance racinaire constitue un caractère adaptatif dans un environnement salin, soit de faible disponibilité en eau. L'allongement racinaire peut être dû à une augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans la construction du cytosquelette telle que la xyloglucan endotransglycosylase (WU et *al.*, 1994). L'autre cause peut être l'accumulation de la proline (OBER et SHARP, 1994). Ces deux actions sont régulées par l'acide abscissique (ABA), induit par le stress salin (JIA et *al.*, 2002). Ainsi chez le maïs, il a été montré que l'élongation racinaire est inhibée par la présence d'un inhibiteur de la biosynthèse d'ABA. Mais elle peut être restaurée par un traitement des racines avec un inhibiteur de synthèse d'éthylène. Ces données suggèrent que l'élongation racinaire par l'intermédiaire de l'ABA doit être causée par une inhibition de la biosynthèse d'éthylène (SPOLLEN et *al.*, 2000).

3.4.2. Homéostasie cellulaire

Selon ZHU (2002), l'homéostasie ionique consiste au suivant:

- L'exclusion des ions Na^+ des cellules par les canaux ioniques: anti-port Na^+/H^+ , ou bien par la limitation d'entrée des ions Na^+ .
- La compartimentation de Na^+ dans des vacuoles intracellulaire.
- La sécrétion de Na^+ et la régulation du transport ionique.

3.4.3. Séquestration du Na^+ dans les vacuoles et prélèvement du K^+

La compartimentation de Na^+ dans des vacuoles est une stratégie très importante chez les plantes permettant de maintenir ces ions à une faible concentration dans le cytoplasme et conserver un faible potentiel osmotique cellulaire. L'exclusion de l'excès de sodium du cytoplasme nécessite la synthèse d'osmolytes compatibles avec la réduction du potentiel osmotique ; ce dernier est essentiel pour pouvoir prélever de l'eau dans des conditions de stress salin. Ce processus est coûteux en énergie pour la plante. Des plantes transgéniques de tomate, accumulent du sodium dans leur feuilles mais pas dans les fruits ou les graines. Ces plantes se sont montrées extrêmement tolérantes au stress salin et conservent dans ces conditions de bonnes qualités de fruit chez la tomate et d'huile chez *Brassica napus* (ZHANG et *al.*, 2001).

Dans les conditions optimales, les plantes maintiennent un haut ratio cytosolique K^+/Na^+ . Le stress salin entraîne la diminution de ce ratio, du fait que les ions Na^+ sont en concurrence avec les ions K^+ , ce qui est défavorable pour les processus biochimiques cellulaires, (CLAUSSEN et *al.*, 1997). Le prélèvement de K^+ est essentiel pour la turgescence cellulaire et le déroulement des processus biochimiques sous stress salin.

3.4.4. Biosynthèse d'osmoprotectants

Sous stress salin, la concentration des sucres solubles augmente dans les nodules des légumineuses. Parmi ces sucres on trouve le tréhalose comme substrats osmoprotecteurs (LOPEZ et *al.*, 2008b ; LOPEZ et LLUCK, 2012). En plus, la salinité provoque l'augmentation des aminoacides dans les nodules du haricot qui peut être expliquée par l'ajustement osmotique ou la dégradation des protéines (TEJERA et *al.*, 2005). Chez *M. truncatula* transgénique, la salinité a provoqué l'accumulation de proline dans les nodules qui a amélioré la croissance et la fixation symbiotique d'azote (VERDOY et *al.*, 2006).

3.4.5. Biosynthèse d'antioxydants

Le stress salin induit la production et la formation des formes réactives de l'oxygène (FRO, les radicaux superoxydes (O_2^-), les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles (OH^-). Ces formes causent des dommages oxydatifs à différentes composantes cellulaires tels que les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 1989). En effet, l'oxygène est un facteur critique pour la nitrogénase, qui est très sensible à sa présence et irréversiblement inhibée dans un temps très court (HILL, 1988 ; BURRIS, 1991). En outre, des études ont montré que l'inhibition de la nitrogénase par l' O_2 est le résultat de la formation du radical hydroxyle au niveau du site actif de l'enzyme et que les FRO peuvent résulter de l'oxydation de la nitrogénase et de la ferrédoxine, mais surtout de l'auto-oxydation de la leghémoglobine (PUPPO et HALLIWELL, 1988). Pour atténuer et réparer les dommages causés par la production de ces FRO, les nodules ont un système complexe des antioxydants (RUBIO et *al.*, 2007 et 2008). Parmi les composantes de ce système on trouve les caroténoïdes, ascorbates, tréhaloses, glutathions, tocophérols et les enzymes comme les peroxydases (PO), polyphénoloxydases (PPO), superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT).

Partie (II)

MATERIELS ET METHODES

I. Objectifs de l'étude

La présente étude est menée afin de mieux comprendre l'effet probable de la salinité sur l'activité symbiotique chez les Fabaceae. A cet effet, des plants de fève (*Vicia faba* L.) sont élevés dans des milieux de culture enrichis en concentrations salines progressives : 50 ; 100 ; 150 et 200 mM de NaCl. Il était prévu de vérifier l'effet des degrés de salinité cités sur différents paramètres, à savoir l'état hydrique de la plante, la croissance végétale, la croissance nodulaire la synthèse des métabolites primaires et secondaires. Mais, à cause de la pandémie du Covid 19 qui n'a épargné aucun pays, nos travaux expérimentaux sont arrêtés juste après le repiquage des plants et leur inoculation par des souches de rhizobiums, sans pouvoir mener l'expérimentation jusqu'aux fins ciblées. On s'est suffi, alors, de compléter notre travail de fin de cycle par l'élaboration d'une synthèse des résultats obtenus par d'autres auteurs ayant travaillé sur des thèmes similaires ou proches du nôtre.

II. Etapes expérimentales réalisées avant la pandémie du Covid 19 :

2.1. Préparation du substrat de culture

Le substrat utilisé correspond à un mélange (V/V) de terreau et de sable fin tamisé et nettoyé des impuretés, des cailloux et des débris végétaux. Le substrat obtenu est mis en sacs en plastiques destinés à la plantation, sur une couche mince de gravier assurant le drainage des excès d'arrosage.



Figure (2) : Substrat de culture mis en sacs

2.2. Désinfection des graines de fève (*Vicia faba* L.)

Des graines de *Vicia faba* L. (Variété : Aguadulce) ont été sélectionnées rigoureusement en fonction de leur morphologie (taille, couleur et état sanitaire apparent), passées à la désinfection durant 05 mn à l'eau de javel puis rincées pendant 1 mn à l'eau distillée.

Les semences ont été sélectionnées, traitées et commercialisées par la firme « Fito Semillas » à Barcelone, en Espagne et importée par la SNC CASAP d'Alger. Il s'agit d'une variété précoce, vigoureuse et très productive. Sa faculté germinative est estimée à 90 % avec un taux de pureté de 98 %. Les gousses contiennent de 6 à 7 grains et atteignent 23 à 24 cm de long. Les grains ont une taille moyenne et une couleur violette à l'état sec.

2.3. Test de germination

Afin de vérifier la faculté germinative des semences à utiliser, un test de germination a été effectué *in vitro* dans des boîtes de Pétri mises à l'étuve réglée à 25°C.

2.4. Prégermination des graines de *Vicia faba* L.

Afin d'assurer une culture homogène et saine, on a commencé par une phase de pré-germination, où les graines de *Vicia faba* L. sélectionnées et nettoyées sont mises dans de petits alvéoles ne contenant que du terreau, à raison d'une graine par alvéole, puis passées à une pulvérisation saturante. Les alvéoles de prégermination sont mis sous abri, à une température ambiante de 22°C et arrosés à l'eau courante tous les deux jours jusqu'à germination totale des semences au bout de 10 jours.

2.5. Récolte et conservation des nodules de *Vicia faba* L.

Les nodules sont prélevés des racines de plants adultes de *Vicia faba* L. ramenés d'un champs de fève, puis lavés à l'eau courante et conservés dans des tubes à essai contenant du glycérol 60% à 4°C (Weaver et Frederick, 1982).



Figure (3) : Nodules conservés au glycérol

2.6. Isolement et purification des souches bactériennes

L'isolement des souches de *Rhizobium* est effectué en conditions stériles selon la technique de Weaver et Frederick (1982). Les nodules conservés au glycérol lavés à l'eau, trempés dans de l'alcool 70% pendant 5 min, rincés plusieurs fois avec l'eau distillée, puis trempés dans une solution de chlorure mercurique à 0.1% pendant 3 min. Après plusieurs rinçages à l'eau distillée, chaque nodule est sectionné transversalement. Une portion de la zone centrale rouge indiquant la présence de leghémoglobine est soigneusement prélevée et déposée dans une boîte de Pétri contenant du milieu YEM gélosé.

A partir de chaque dépôt, des stries d'épuisement sont effectuées de façon à avoir des colonies bien isolées au bout de 3 à 5 jours d'incubation à 28°C°. Chaque isolat obtenu est purifié par des repiquages successifs à partir d'une colonie bien isolée.

Tableau (1) : Composition du milieu YEM (Vincent, 1970).

Composants	Concentration (g par litre d'eau distillée)
K ₂ HPO ₄	0.59
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.29
NaCl	0.19
Mannitol	109
Extrait de levure	1
Eau distillée	1000 ml

2.7. Identification des souches bactériennes

Pour distinguer les différentes formes de bactéries isolées, on procède l'observation au microscope des Gram colorés après avoir réalisé un frottis.

Pour cela, on dépose sur une lame propre une goutte d'eau stérile, à laquelle on incorpore, à l'aide d'une anse stérile, une colonie et on dilacère soigneusement. Pour réaliser le frottis, on effectue un mouvement circulaire, à l'aide de l'anse stérile, en partant du centre de la lame. La lame est mise au-dessus du bec bunsen pour sécher le frottis. La lame est, ensuite, recouverte de violet de gentiane durant une (01) minute, lavée à l'eau distillée, puis recouverte de lugol pendant 30 secondes. Après rinçage à l'eau distillée, la lame est recouverte d'éthanol 10 secondes, lavée rapidement, recouverte en fushine durant 10 secondes et enfin lavée à l'eau distillée.

Sous microscope optique, les bactéries Gram positif apparaissent de couleur violette et les bactéries Gram négatif sont roses.

2.8. Repiquage des plants de *Vicia faba* L.

Les plants germés, les plus vigoureux et homogènes, ont été soigneusement sortis des alvéoles en mottes et repiqués dans les sacs en plastiques contenant le substrat de culture préparé (terreau + sable). Après un léger tassement autour des collets, l'inoculum des souches rhizobiennes est injecté à raison de 3 ml/plant après dilution à l'eau distillée stérile.



Figure (4) : Repiquage des plants de *Vicia faba* L.

2.9. Préparation des solutions salines

Pour appliquer la salinité aux concentrations prédestinées, les quantités à dissoudre ont été préalablement calculées et conservées. Elles sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Concentrations de NaCl utilisées.

50 mM	100 mM	150 mM	200 mM
2,92 g.l ⁻¹	5,85 g.l ⁻¹	8,77 g.l ⁻¹	11,7 g.l ⁻¹

2.10. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental comprend 05 traitements aux concentrations salines (0 ; 50 ; 100 ; 150 et 200 mM), appliqués sur 02 blocs de plants : le premier inoculé et le second non. Chaque traitement est répété 05 fois, ce qui augmente le nombre total des échantillons à 50.

Blocs	Na Cl (mM)				
	0	50	100	150	200
Bloc Non Inoculé					
					
					
					
					
Bloc Inoculé					
					
					
					
					

Figure (5) : Dispositif expérimental

III. Etapes prévues et non réalisées à cause du Covid19

1.1. Arrosage à la solution nutritive « Hogland » pendant une semaine

Afin de permettre une bonne reprise des plants de fève repiqués, des arrosages en solution nutritive « Hogland » sont à appliquer de deux à trois fois pendant les deux premières semaines après repiquage.

Tableau (2) : Composition minérale de la solution nutritive Hoagland.

Produit	Composition	Poids en g/l
Nitrate de potassium	KNO ₃	191,90
Nitrate de calcium	(K ₂ O) ₂ Ca ₄ H ₂ O	129,80
Nitrate d'ammonium	NO ₃ NH ₄	210
Sulfate de magnésium	SO ₄ Mg ₇ H ₂ O	61,5
Phosphate monopotassique	PO ₄ H ₂ K	54,40
Di-potassiumhydrogénophosphate	PO ₄ K ₂ H ₃ H ₂ O	34,23
Chlorure de manganèse	Cl ₂ Mn ₄ H ₂ O	1,80
Sulfate de cuivre	CuSO ₄ 5H ₂ O	0,176
Sulfate de zinc	ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,219
Acide borique	H ₃ BO ₃	2,861
Molybdate d'ammonium	MO ₇ O ₂₄ (NH ₄) ₇ H ₂ O	0,285
Complexe ferrique	(C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈	0,050

1.2. Application de la salinité

L'arrosage aux solutions salines est à appliquer à partir de la troisième semaine en alternance avec l'arrosage à l'eau courante, à raison d'un apport d'eau contre deux en sel.

1.3. Mesures biométriques

1.3.1. Mesures biométriques de la partie aérienne

- Longueur de la partie aérienne

Elle consiste à détacher soigneusement les plantes de leurs mottes, les rincer, les sécher à l'air puis séparer la partie aérienne de la partie souterraine au niveau du collet. Ensuite, on procède à la mesure, en centimètres, de la partie aérienne à l'aide d'une règle graduée.

- Longueur d'entre-nœuds

La Longueur est mesuré à l'aide d'une règle graduée.

- Surface foliaire

la surface foliaire (Sf) est estimée selon la méthode de PAUL et al .,(1979) qui consiste à placer la feuille du papier calque, à découper les contours de la feuille puis peser la partie du calque représentant la feuille (Pf), à déterminer par pesée le poids (Pq) correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré de même papier calque et à déduire la surface de la feuille (Sf) par la formule :

$$Sf(\text{cm}^2) = (Sq \times Pf) / Pq$$

- Volume de la partie aérienne

Il est mesuré par immersion du système aérienne dans une éprouvette graduée (en ml) remplie d'eau, selon le principe de la poussée d'Archimède, soit : «Le volume d'un corps immergé est égal au volume du liquide déplacé (dénivellation).

- Poids frais de la partie aérienne

On pèse la partie racinaire à l'aide d'une balance de précision .

1.3.2. Mesures biométriques de la partie souterraine**- Longueur de la partie racinaire**

La longueur des racines est mesurée après déterrement et exprimée en centimètres (cm).

- Volume de la partie racinaire

Il est mesuré par immersion du système racinaire dans une éprouvette graduée (en ml) remplie d'eau, selon le principe de la poussée d'Archimède, soit : «Le volume d'un corps immergé est égal au volume du liquide déplacé (dénivellation).

- Poids frais de la partie racinaire

Le poids, frais ou sec, est mesuré à l'aide d'une balance de précision et exprimé en gramme (g).

1.3.3. Mesures biométriques nodulaires**- Nombre de nodule par plant**

Les racines après être séparées de la partie aérienne, sont soigneusement lavées puis déposées dans un récipient en verre rempli d'eau, qui nous facilite le comptage manuel des nodules.

- Volume des nodules par plant

Le volume des nodules détachés de chaque échantillon est mesuré par immersion de ces derniers dans une éprouvette graduée (en ml) et lecture du volume de liquide déplacé.

- Poids frais des nodules par plant

Le poids frais des nodules est déterminé par pesée sur une balance de précision (g).

1.4. Mesure hydrique : Teneur Relative en Eau (TRE)

Selon la méthode de Barrs et Weatherley (1962), l'avant dernière feuille est excisée à sa base et immédiatement pesée pour déterminer le poids frais initial (Pfi). La partie excisée est trempée dans un gobelet contenant de l'eau distillée, qu'on place à l'obscurité à une température de 4 °C pendant 24 heures. La feuille est à nouveau pesée pour porter le poids de pleine turgescence (Ppt). Le poids sec (Ps) de la feuille est obtenu par passage à l'étuve pendant 48 heures à une température de 80°C. La teneur relative en eau des feuilles est estimée par l'équation suivante :

$$\text{TRE (\%)} = \frac{\text{Pfi} - \text{Ps}}{\text{Ppt} - \text{Ps}}$$

1.5. Dosages biochimiques**- Chlorophylle**

Les teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b et caroténoïdes sont déterminées selon la méthode utilisée par de SHABALA et al., (1998) au niveau de l'avant dernière feuille.

Un échantillon de 100 mg de la partie médiane de l'avant dernière feuille est mis dans un tube à essai en présence de 10ml d'acétone à 95% à 4°C dans l'obscurité pendant 48 heures. La lecture de la densité optique (DO en nm) est faite à l'aide d'un spectrophotomètre (type UV 1200) à des longueurs d'onde respectives de 663, 645 et 470 nm qui correspondent aux pics d'absorption de la chlorophylle "a", de la chlorophylle b et des pigments caroténoïdes. Ensuite le calcul des quantités de chlorophylles a et b (exprimée en mg/ml) se fait à l'aide des formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9.78 \text{ DO}_{663} - 0.99 \text{ DO}_{645}$$

$$\text{Chl b} = 21.42 \text{ DO}_{645} - 4.65 \text{ DO}_{663}$$

Caroténoïdes = $[1000 \cdot \text{DO}(470) - 1,90 \cdot \text{Chl.a} - 63,14 \cdot \text{Chl.b}] / 214$

La quantité des pigments chlorophylliens est exprimée en mg/L

- **Sures solubles**

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (Dubois et al., 1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matériel végétal, dans des tubes à essai, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres, puis on laisse à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans des tubes en verre propres, on met 2 ml de la solution à analyser, on ajoute 1 ml de phénol à 5% ; on ajoute rapidement 5 ml d'acide sulfurique concentré 96% ($d = 1,86$) tout en évitant de verser de l'acide contre les parois de tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10 min et on les place au bain-marie pour 10 à 20 min à une température de 30°C. A ce moment là l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 485 nm.

- **Protéines totales**

La méthode retenue pour le dosage des protéines totales est celle de Brad Ford (1976) qui Utilisé la BSA (Sérum d'Albumine de Bovin) comme standard. Elle consiste à prendre 10 mg Du matériel végétal, chaque échantillon est broyé avec 5ml d'eau distillée puis filtré et versé dans un tube à essai contenant 5ml d'eau distillée. Pour le dosage on prend 0.2ml de réactif Brad Ford avec 0.2 ml de la solution à analyser et 1.6ml d'eau distillée (bien agiter au vortex). Parallèlement, il est préparé un essai de contrôle en utilisant 0.2ml d'eau distillée; après 5min à une heure on procède à la lecture de l'absorbance à 595nm.

- **Proline**

La méthode utilisée pour doser la proline est celle de Troll et Lindsley (1955), modifiée par Dreier et Goring (1974) et ensuite par Monneveux et Nemmar (1983), qui consiste à prendre 100 mg du matériel végétal (1/3) médian de la feuille étandard. Puis à ajouter 2 ml de méthanol à 40% le tout est chauffé à 85°C dans un bain-marie pendant 60 min.

Après refroidissement, on prélève 1 ml d'extrait auquel on ajoute : 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH), 25 mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) et 1 ml de mélange contenant : 120 ml d'eau distillée ; 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique (H_3PO_4 , $d=1,7$). Le mélange est porté à ébullition durant 30 min, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de Toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure et une phase inférieure). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée et déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de sodium Na_2SO_4 anhydre. L'absorbance est lue au Spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 528 nm.

- Polyphénols

A 100 μL de l'extrait méthanolique 500 μL est additionné de Folin Ciocalteu dilué 10 fois avec de l'eau distillée. Le mélange est soumis à une agitation au vortex puis on le laisse reposer 5 minutes à température ambiante. 400 μl de Na_2CO_3 à 7.5% est ensuite ajoutée. L'ensemble est soumis à l'obscurité à température ambiante pendant 60 minutes.

La densité optique (DO) de chaque échantillon est lue à une longueur d'onde 735 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. La teneur en polyphénols est exprimée en mg d'acide gallique équivalent (GALLET et LIBRETON, 1995).

- Flavonoïdes

1500 μl d'eau distillée sont mélangés à 500 μl d'extrait méthanolique et 150 μl de nitrate de sodium à 5%. Le mélange est laissé 5 minutes à température ambiante à l'obscurité. 150 μl de trichlorure d'aluminium à 10% sont ensuite ajoutés au mélange. Après 11 minutes de repos à l'obscurité, 500 μl de soude à 1M est ajouté. Le mélange est soumis à une agitation au vortex.

La densité optique est lue à une longueur d'onde de 510 nm. Une courbe d'étalonnage qui servira à la quantification des flavonoïdes est réalisée par le catéchine à différentes concentrations (0-200 $\mu\text{g/mL}$) et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. La teneur en flavonoïdes est exprimée en μg catéchine équivalent par g de matière fraîche (KIM et *al.*, 2003) in (HAMSAS, 2013).

Partie (III)

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats antérieurs, obtenus par d'autres auteurs, que nous avons consultés pour en faire une synthèse se croisent tous dans l'étude de l'effet de la salinité sur les *Fabaceae*, mais le matériel végétal support ainsi que les concentrations salines appliquées n'étaient pas, dans tous les cas, identiques.

Ainsi, en 2001, SAADALLAH *et al.* ont étudié la croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline progressive (0 ; 25 et 50 mM de NaCl). BEN KHALED *et al.* (2003) évoquent l'effet du stress salin sur le trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) inoculé par le Rhizobium. LAZREK-BEN FREHA (2008) nous parle de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* sous stress salin. FAGHIRE, en 2012, a travaillé sur le rôle des rhizobia symbiotiques dans l'amélioration de la production agricole du haricot sous stress salin. En 2015, TEGGAR discute l'effet du stress salin sur la nodulation chez la lentille (*Lens culinaris* L.). Quant à CHERIFI *et al.*, en 2017, ils ont choisi de travailler sur l'effet du chlorure de sodium (NaCl) sur la croissance de six espèces d'acacia. Concernant BAHOUS NIA *et al.*, leur travail de fin d'étude, en 2019, portait sur l'effet de la salinité en présence de l'acide salicylique sur la nodulation chez la fève (*Vicia faba* L.).

1.1. Mesures biométriques

1.1.1. Mesures biométriques de la plante

1.1.1.1. Biomasse de la plante entière

Le travail de SAADALLAH *et al.* (2001) a été mené pour vérifier l'effet de la salinité sur deux variétés d'haricot (BAT477 et BRB17) inoculées avec une souche rhizobiale (CIAT899). Sept (07) jours après le semis, les plantules sont réparties en 4 lots : le premier irrigué avec une solution témoin, le second et le troisième irrigués avec la même solution additionnée respectivement de 25 et de 50 mM NaCl. Le dernier lot est cultivé préalablement sur milieu témoin et 28 jours après semis, il est soumis à 25 mM NaCl.

Chez les deux variétés d'haricot, les résultats obtenus indiquent que le poids sec de la plante entière est nettement réduit sous l'effet de la contrainte saline. Cette réduction progresse avec l'augmentation de la concentration saline de 25 à 50 mM NaCl. Néanmoins, cet effet négatif est moins prononcé chez les plants exposés tardivement à la salinité, 28 jours après le semis (Fig.6).

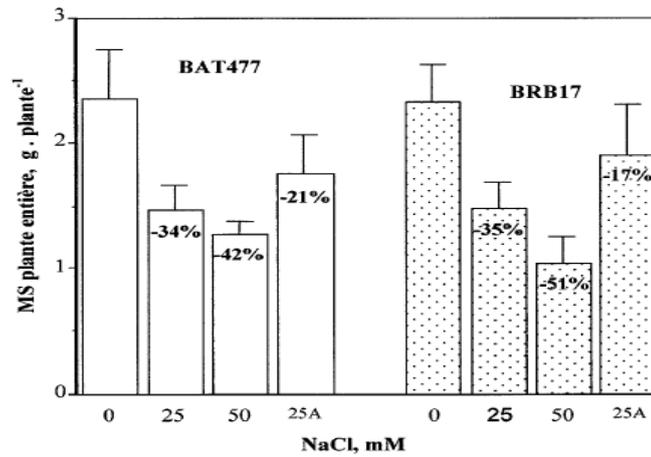


Figure (6) : Variations du poids sec de la plante entière d'haricot (*Phaseolus vulgaris*) en fonction de la salinité et la durée des traitements salins (SAADALAH et al., 2001)

Les chiffres portés dans les histogrammes correspondent aux indices de sensibilité au sel, IS : $IS = 100 \cdot (MS\ NaCl - MS\ témoin) / MS\ témoin$; 0, 25 et 50 : plantes irriguées depuis la germination avec solution nutritive contenant respectivement, 0, 25 et 50 mM NaCl ; 25 A : plantes soumises à 25 mM NaCl 28 jours après le semis]

Dans sa thèse de doctorat en 2008, LAZREK BEN-FRIHA a étudié le comportement de 10 populations naturelles, en Tunisie, de *Médicago truncatula* vis-à-vis de la salinité appliquée à 60 mM de NaCl. Ainsi, la figure (7) révèle que le poids sec de la plante entière a diminué chez les 10 populations de *Médicago*, mais avec des différences entre les populations.

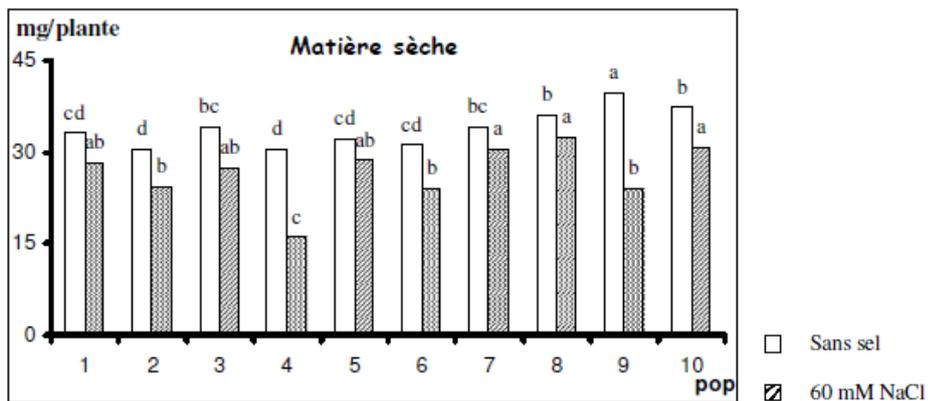


Figure (7) : Effet du sel sur la sèche de la plante entière chez 10 populations naturelles de *Médicago truncatula* (LAZREK BEN-FRIHA, 2008)

Dans un travail où 04 concentrations salines (100 ; 200 ; 300 et 400 mM NaCl) ont été appliquées sur 06 espèces d'acacia, CHERIFI et al. (2017) rapportent que des réductions relatives du poids sec de la plante entière ont été observées chez les 06 espèces.

Cependant, il est clair de la figure (8) que les acacias cultivés manifestent une variabilité spécifique.

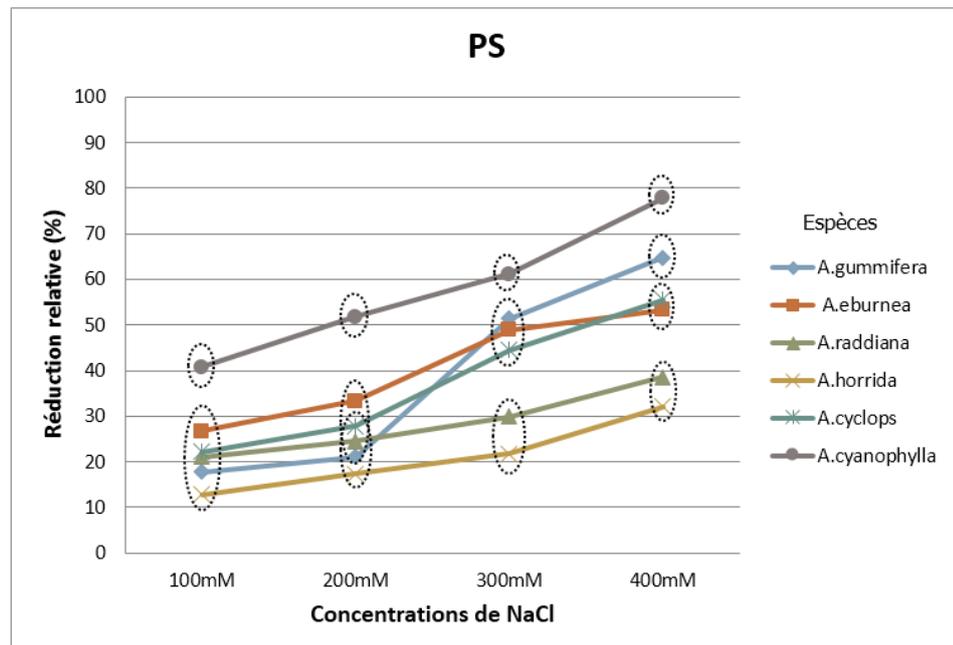


Figure (8) : Taux de réduction du poids sec de la plante entière sous l'effet de salinité chez six espèces d'acacia (CHERIFI et *al.*, 2017)

Les résultats cités ci-dessus permettent d'en déduire que la biomasse sèche totale des *Fabaceae* est affectée par la salinité et que cet effet s'aggrave lorsque la concentration saline est augmentée. D'autre part, la tolérance à la salinité varie selon l'espèce et la variété.

1.1.1.2. Mesures biométriques de la partie aérienne

- Longueur de la partie aérienne

Dans une étude effectuée en 2015, TEGGAR a soumis 04 variétés de lentille (*Lens culinaris*) à des concentrations salines progressives, 50 mM, 75 mM et 100 mM de NaCl. Les résultats obtenus montrent des diminutions progressives, chez l'ensemble des génotypes utilisés mais de façons différentes, en réponse aux contraintes salines indiquées ci-dessus (Figure 9).

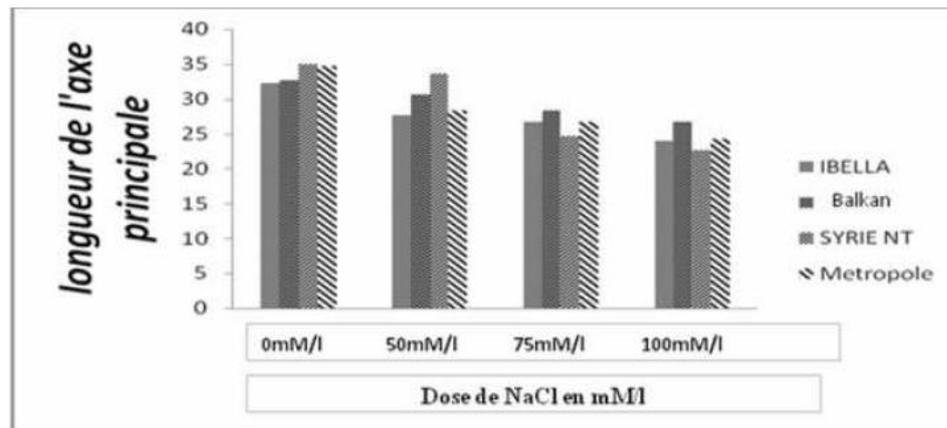


Figure (9) : Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne chez quatre variétés Lentille (*Lens culinaris*) (TEGGAR, 2015)

CHERIFI *et al.* (2017) soulignent que des réductions relatives de la longueur de la tige ont été enregistrées chez les plants de 06 espèces d'acacias soumis à la salinité et que ces réductions croissent à chaque fois où la concentration saline du milieu augmente (Figure 10).

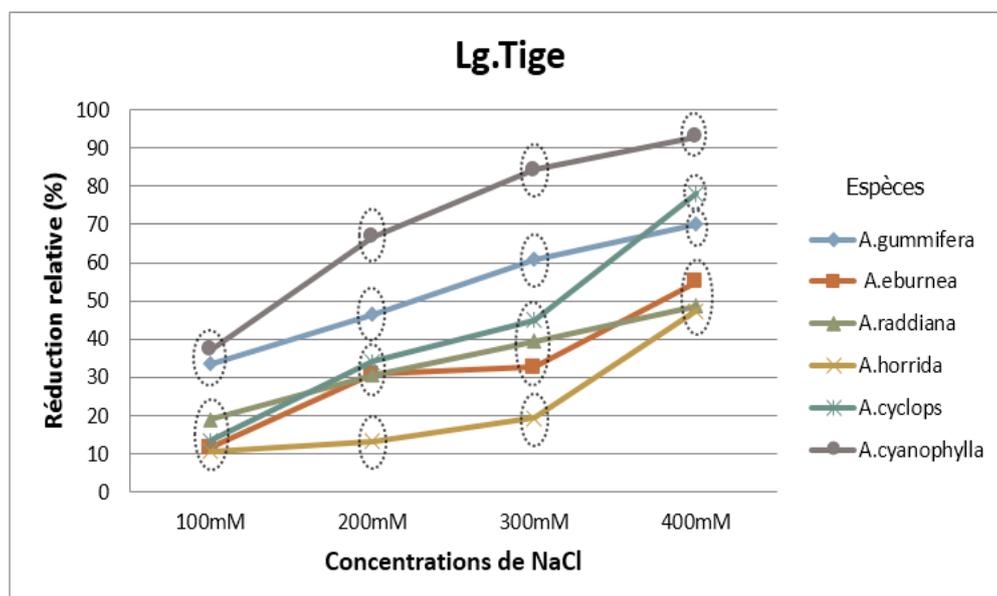


Figure (10) : Taux de réduction relative (%) de la longueur de la tige sous l'effet de la contrainte saline chez six espèces d'Acacia (CHERIFI *et al.*, 2017)

Cela dit, il nous soit permis de conclure que la longueur de la partie aérienne est l'un des paramètres affectés par la salinité et que son atteinte est en rapport avec le degré de salinité du milieu de culture des *Fabaceae*.

- Nombre de feuilles par plant

Les travaux de CHERIFI *et al.* (2017) indiquent aussi que le nombre de feuilles par plant est affecté par la salinité. Ainsi, des réductions relatives (%) ont été enregistrées chez les espèces d'acacia cultivées, elles oscillent entre 20 % et 90 % et ce relativement aux concentrations salines appliquées (Figure 11).

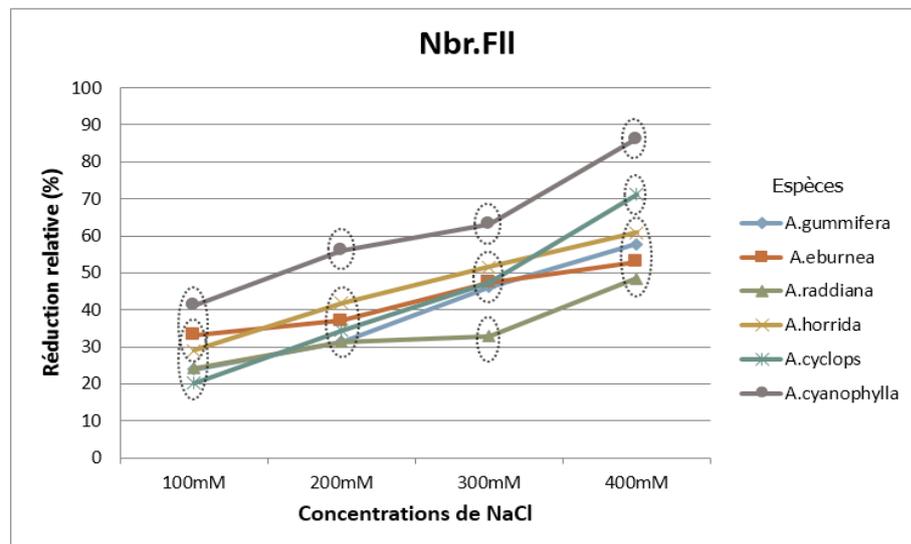


Figure (11) : Taux de réduction du nombre de feuilles par plant sous l'effet de la salinité chez six espèces d'acacia (CHERIFI *et al.*, 2017)

- Volume de la partie aérienne

BAHAUS NIA *et al.* (2019) ont appliqué 02 concentrations de NaCl (100 et 200 mM) combinées à 0,5 et 1 mM d'acide salicylique sur des plants de fève (*Vicia faba* L.) dont la moitié a été inoculée avec des souches de Rhizobium. Les résultats figurant dans la figure (12) indiquent que lorsque la salinité est appliquée à seule à 100 mM de NaCl, le volume de la partie aérienne a légèrement diminué chez les plants de fève non inoculés en comparaison au témoin contre une augmentation nette chez les plants inoculés. Lorsque la concentration saline est levée à 200 mM de NaCl, le volume de la partie aérienne a considérablement chuté dans les deux milieux où les plants sont inoculés et ou non inoculés.

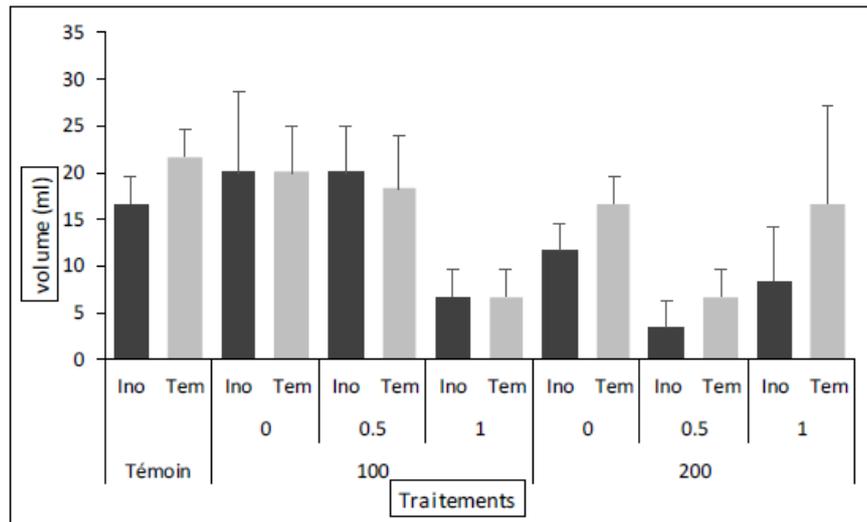


Figure (12) : Variation du volume de la partie aérienne chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et al., 2019)

- Poids frais de la partie aérienne

BEN KHALED et al.(2003) ont mis en culture des plants de trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) dans des milieux arrosés respectivement à 0 , 2 , 4 , 6 et 8 g/L de NaCl. Les résultats enregistrés montrent que la solution saline concentrée à 2 g/L a entraîné une augmentation du poids frais de la partie aérienne et sa teneur en eau, tandis que les concentrations salines 4 , 6 et 8 g/L ont abouti à des baisses respectives en poids frais et en teneur en eau de la partie aérienne (Figure 13).

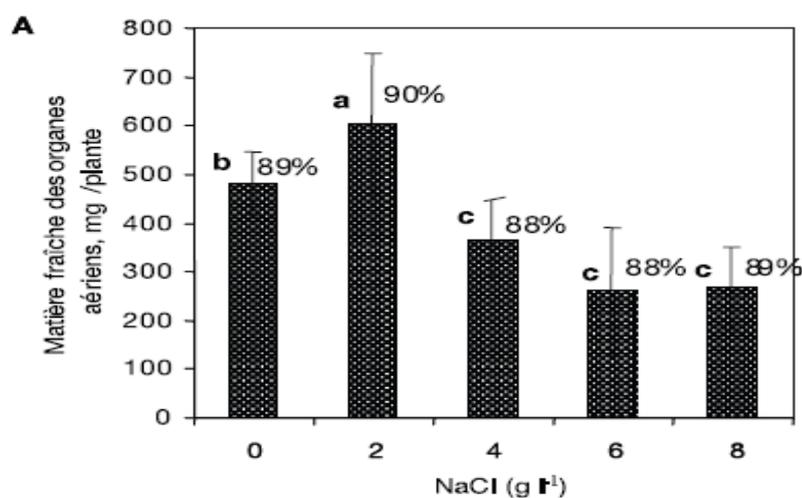


Figure (13) : Effet de la contrainte saline (NaCl) sur le poids frais de la partie aérienne du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) inoculé par le *Rhizobium*. Les valeurs sur les histogrammes correspondent aux teneurs en eau, exprimées en % de la matière fraîche (BEN KHALED, et al., 2003)

- Poids sec de la partie aérienne

Concernant le poids sec de la partie aérienne, des résultats identiques aux précédents ont été signalés par BEN KHALED, et *al.* (2003), indiquant, ainsi, que seulement dans le milieu de culture concentré à 2 g/L NaCl, les poids sec de la partie aérienne a augmenté. Quant aux autres conditions salines (4 , 6 et 8 g/L), elles ont provoqué des diminutions progressives (Figure 14).

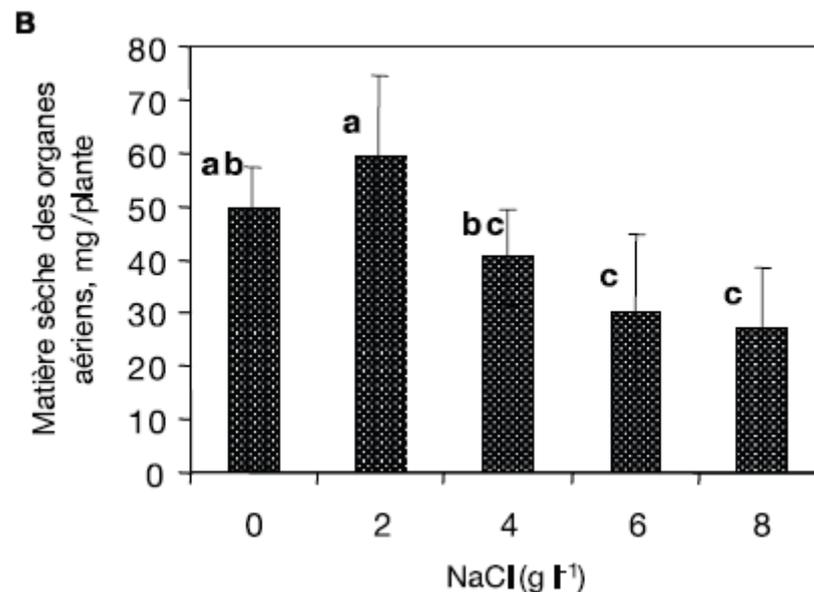


Figure (14) : Effet de la contrainte saline (NaCl) sur le poids sec de la partie aérienne du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) inoculé par le *Rhizobium* et cultivé sur milieu hydroponique. (BEN KHALED, et *al.*, 2003)

L'expérimentation de TEGGAR, en 2015, a conduit à des résultats confirmant ce qui précède et indiquant que chez les 04 variétés de lentille, les plantes ont manifesté des baisses en poids sec de la partie aérienne, qui progressent avec l'augmentation de la salinité. Toutefois, les diminutions sont beaucoup plus prononcées chez les deux variétés « Balkan » et « Métropole » que chez « Ibella » et « Syrie NT » (Figure 15).

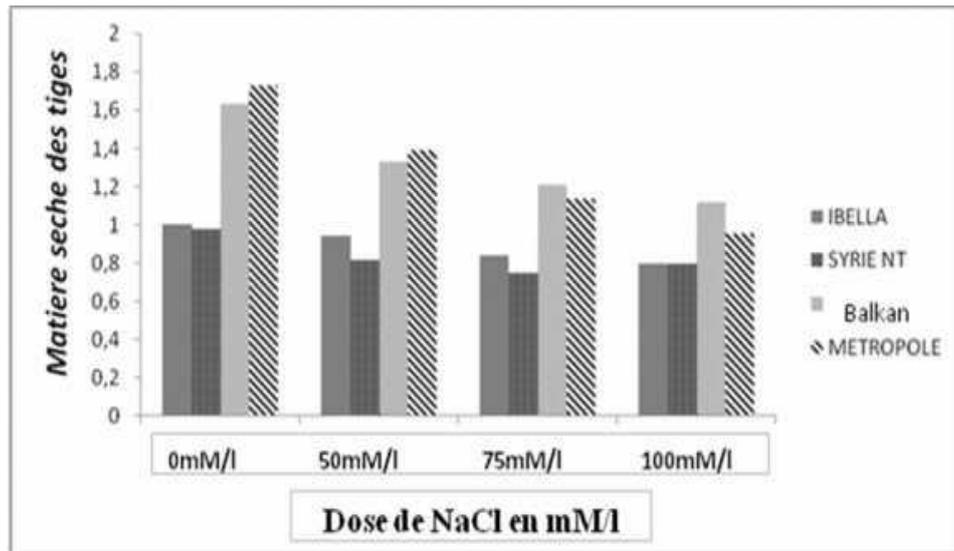


Figure (15) : Effet de la salinité sur le poids sec de la partie aérienne chez quatre variétés de lentille (*Lens culinaris*) (TEGGAR, 2015)

Le travail de LAZREK BEN-FRIHA (2008) a conduit à des résultats similaires à ceux cités ci-avant et qui indiquent que la concentration saline (60 mM de NaCl) a entraîné, d'une façon considérable et différente, des diminutions du PS de la partie aérienne chez les 10 populations de *Médicago* (Figure 16).

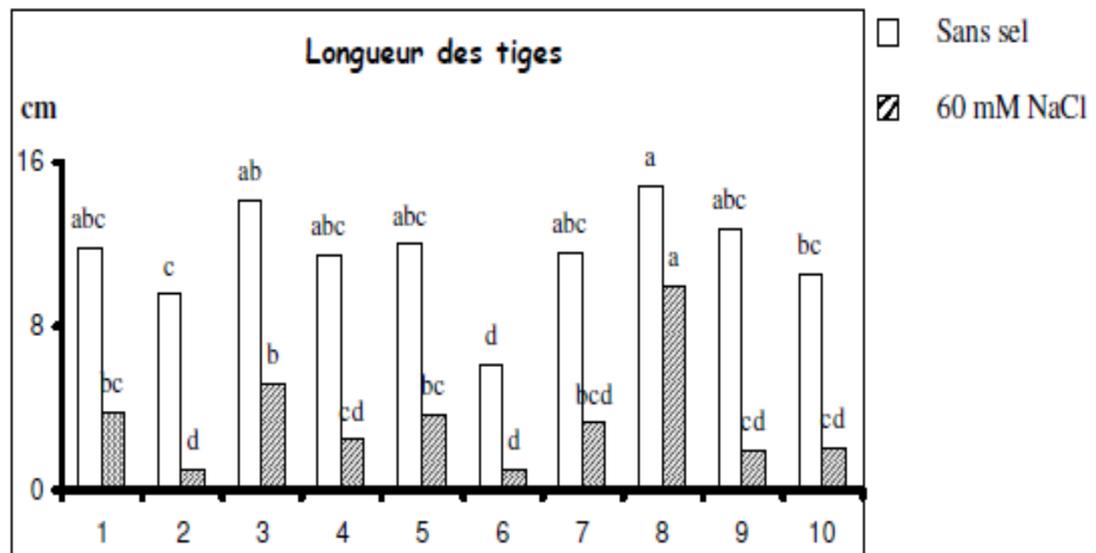


Figure (16) : Effet du sel sur la longueur des tiges chez 10 populations naturelles du *Médicago truncatula* (LAZREK BEN-FRIHA, 2008)

BAHAUS NIA et *al.* (2019) révèlent que lorsque les plants de *Vicia faba* L. sont stressés à 100 mM de NaCl, aucun changement n'a été remarqué chez les plants préalablement inoculés par des souches de Rhizobium, tandis que chez ceux non inoculés une légère diminution du PS de la partie aérienne. En levant la concentration saline à 200 mM, les résultats indiquent une diminution remarquable chez les plants inoculés et à un degré moindre chez ceux non inoculés (Figure 17).

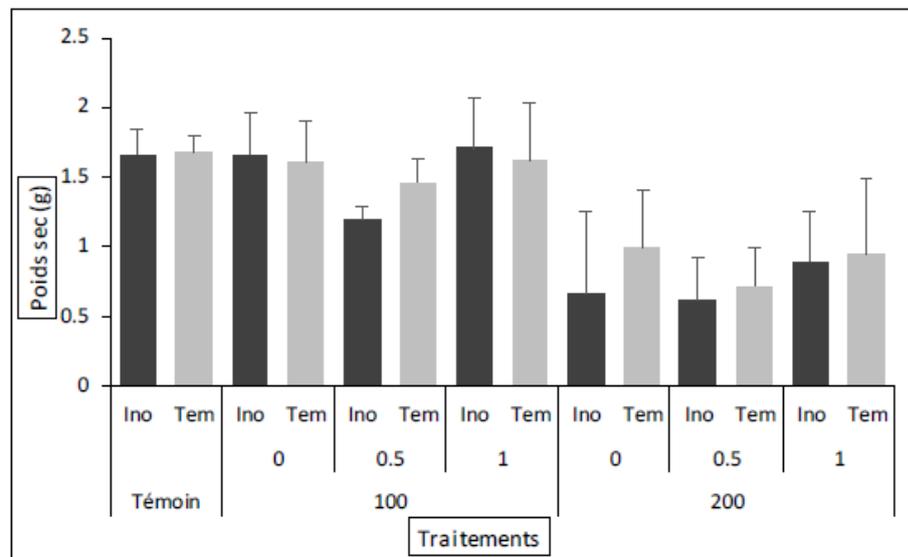


Figure (17) : Variation du poids sec de la partie aérienne chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et *al.*, 2019)

1.1.1.3. Mesures biométriques de la partie souterraine

- Longueur de la partie racinaire

La consultation des résultats obtenus par BAHAUS NIA et *al.*(2019) renseigne que globalement les concentrations salines (100 et 200 mM de NaCl) n'affectent pas la longueur de la partie racinaire des plants de fève, qu'ils soient inoculés ou non (Figure 18). Il est observé, au contraire, qu'il y'a de légères augmentations.

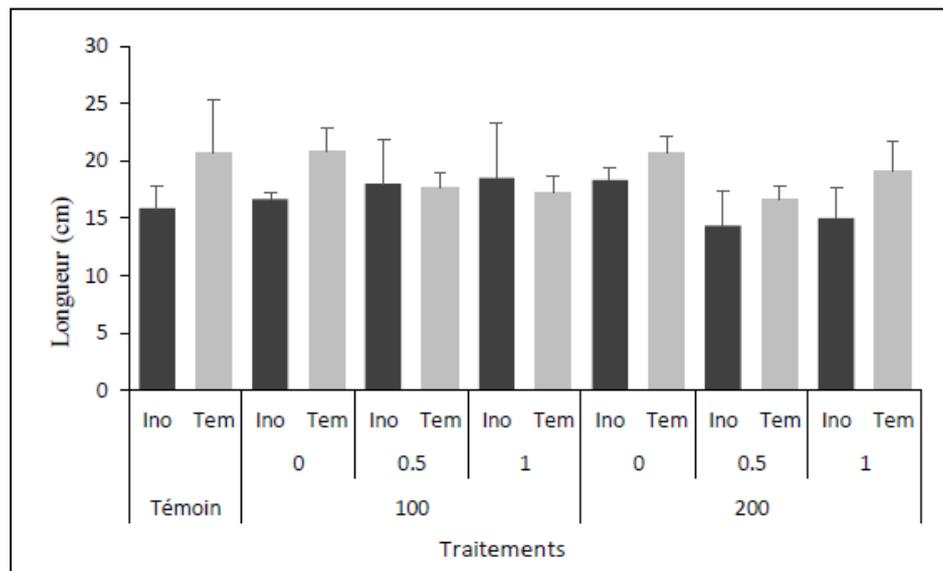


Figure (18) : Variation de la longueur de la racine chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et al., 2019)

- Volume de la partie racinaire

TEGGAR (2015) est arrivé à ce que, sous 50 mM de NaCl, les 04 variétés de *Lens culinaris* ne manifestent aucun changement au plan du volume racinaire. Ce n'est qu'à partir de 75 mM qu'on commence à observer de très légères diminutions (Figure 19).

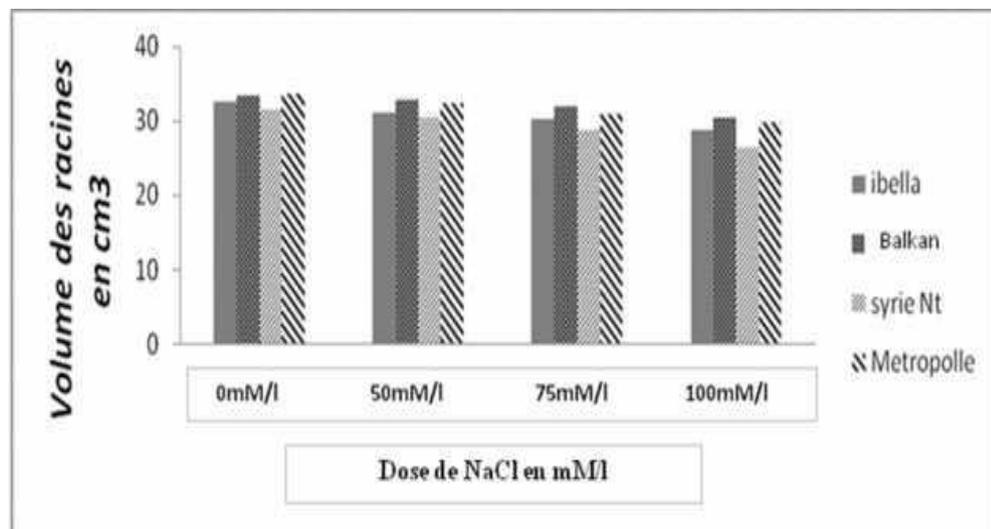


Figure (19) : Effet de la salinité sur le volume racinaire chez quatre variétés de lentille (*Lens culinaris*) (TEGGAR, 2015)

S'agissant des plants de *Vicia faba* L., la concentration saline (100 mM de NaCl) utilisée par BAHAUS NIA et al.(2019) n'a pas affecté le volume de la partie souterraine,

mais à 200 mM, un abaissement considérable est remarqué chez les plants inoculés aussi bien que chez les non inoculés (Figure 20).

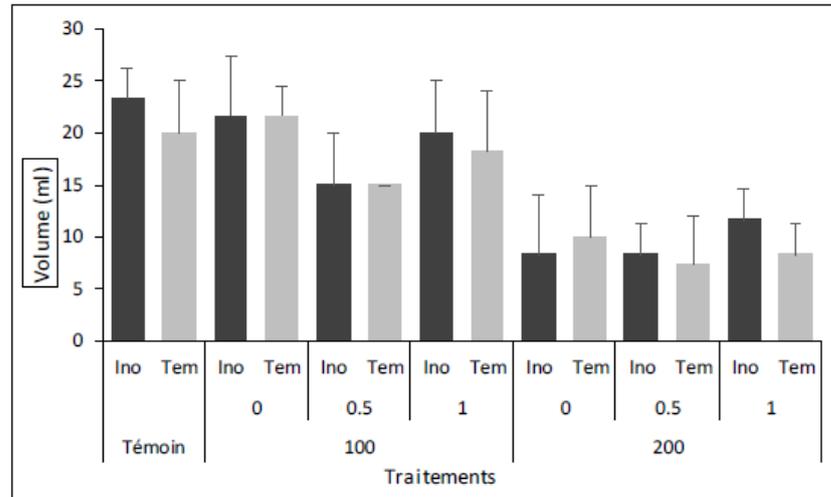


Figure (20) : Variation du volume de la partie racinaire chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et al., 2019)

- Poids frais de la partie racinaire

BEN KHALED, et al. (2003) ont révélé que le PF racinaire s'est considérablement amélioré sous 2 g/L de NaCl et à des degrés moindres sous 4 et 6 mM, alors que dans le milieu arrosé à 8 mM, un net abaissement a été enregistré (Figure 21).

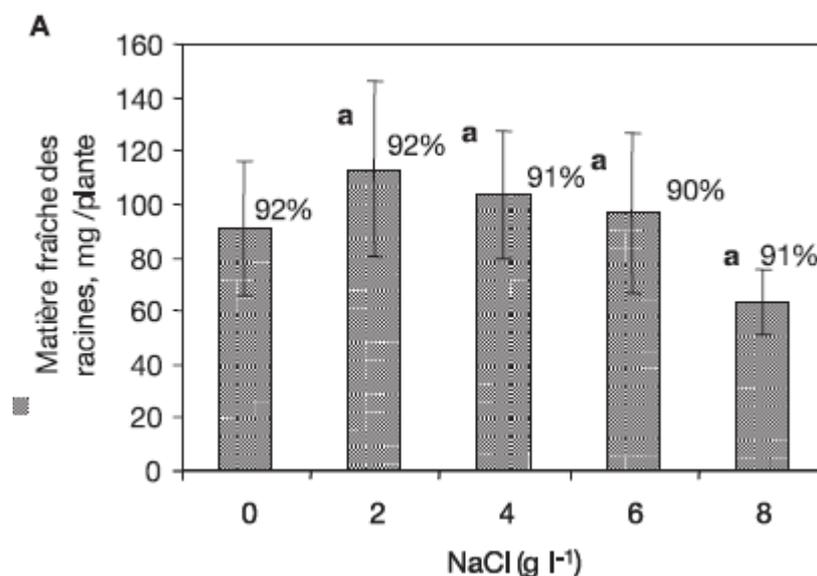


Figure (21) : Effet de la contrainte saline (NaCl) sur le poids frais de la partie racinaire du trèfle inoculé par le *Rhizobium*. Les valeurs sur les histogrammes correspondent aux teneurs en eau, exprimées en % de la matière fraîche (BEN KHALED, et al., 2003)

Les résultats illustrés dans la figure suivante indiquent une diminution du PF racinaire chez tous les plants de fève, inoculés ou non, lorsqu'ils sont stressés à 100 mM de NaCl. Dans les conditions plus stressantes (200 mM), le PF des racines a considérablement baissé en présence et en l'absence d'inoculation.

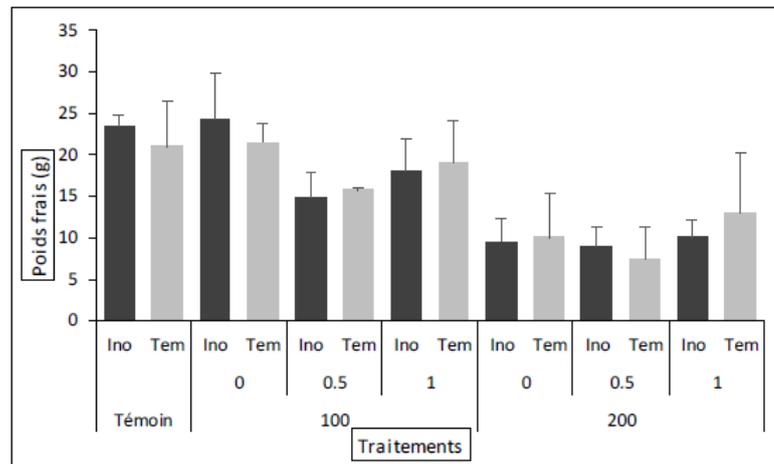


Figure (22) : Variation du poids frais de la partie racinaire chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et al., 2019)

- Poids sec de la partie racinaire

Chez les plants de *Trifolium alexandrinum* L. alimentés en 2, 4 ou 6 g/L de NaCl, le PS racinaire a progressivement augmenté en comparaison au témoin, mais en levant la concentration saline à 8 g/L, il a clairement diminué (Figure 23).

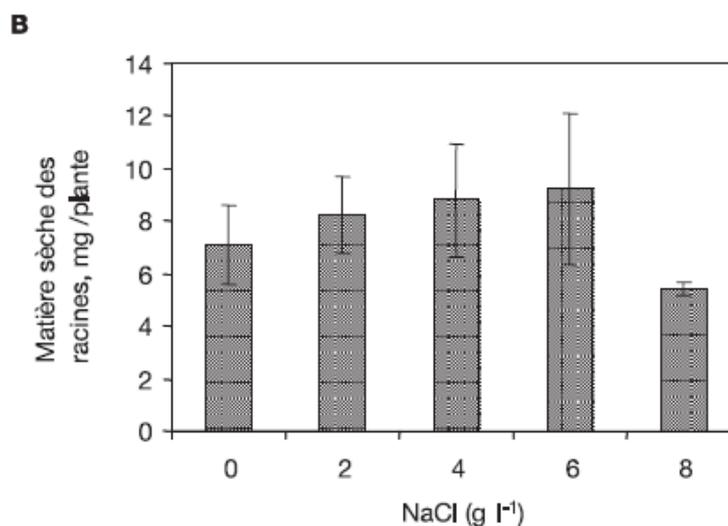


Figure (23) : Effet de la contrainte saline (NaCl) sur le poids sec de la partie racinaire chez *Trifolium alexandrinum* L. inoculé par le Rhizobium (BEN KHALED, et al., 2003)

Dans des conditions de culture stressantes (50 ; 75 et 100 mM de NaCl), il s'est induit une diminution progressive du PS racinaire chez les plants appartenant aux 4 variétés de *lentille* (*Lens culinaris*) (Figure 24).

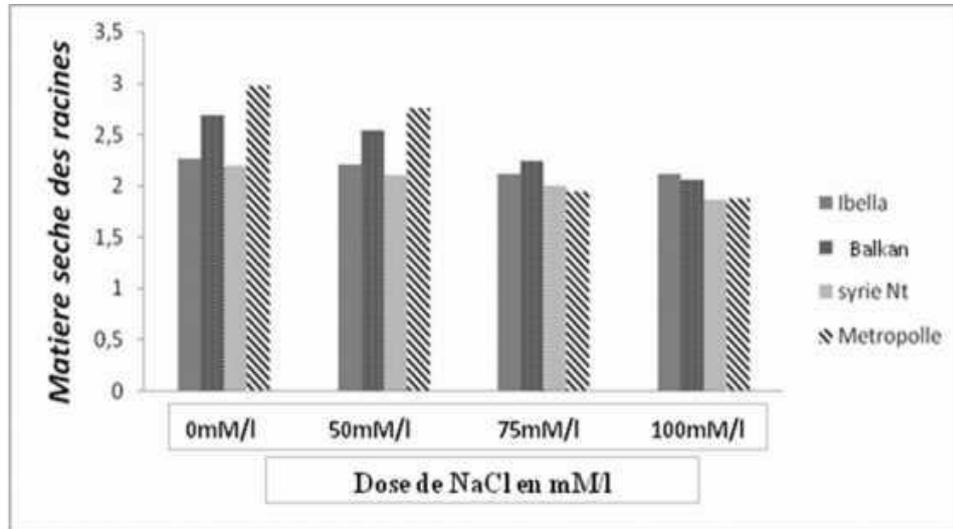


Figure (24) : Effet de la salinité sur le poids sec racinaire chez quatre variétés de lentille (*lens culinaris*) (TEGGAR, 2015)

L'ensemble des plants de *Vicia faba* L. (inoculés et non inoculés) ayant subi 100 mM de NaCl n'ont pas manifesté de variation considérable sur le PS racinaire. Mais lorsque la concentration saline est doublée, le PS de la partie souterraine a considérablement chuté chez les échantillons inoculés et ceux non inoculés (Figure 25).

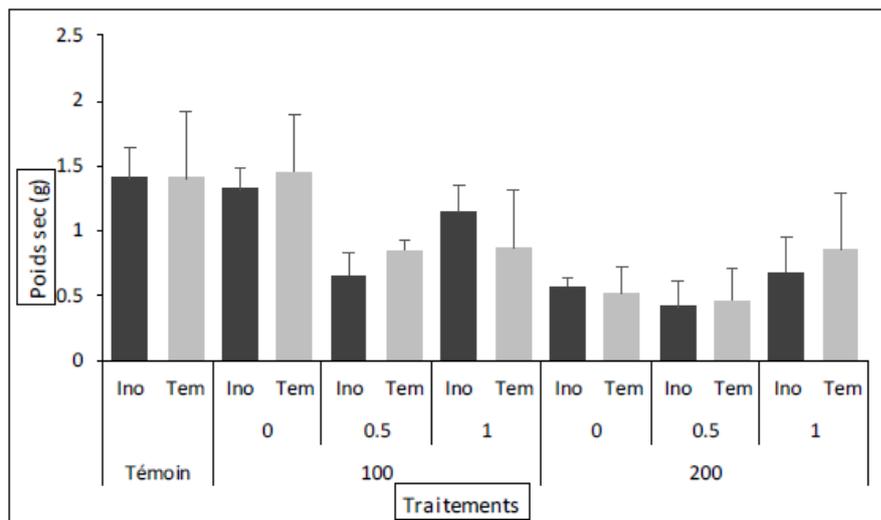


Figure (25) : Variation du poids sec de la partie racinaire chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et al., 2019)

1.1.2. Mesures biométriques nodulaires

- Nombre de nodules par plant

Chez les plants de *Phaseolus vulgaris*, le nombre de nodules est affecté par la salinité lorsque cette dernière est appliquée précocement, notamment à 50 mM de NaCl. Toutefois, l'application tardive de 25 mM entraîne une augmentation du nombre de nodules. L'effet négatif est plus prononcé chez la variété « BAT477 », alors que celui améliorant est plus marqué chez « BRB17 ».

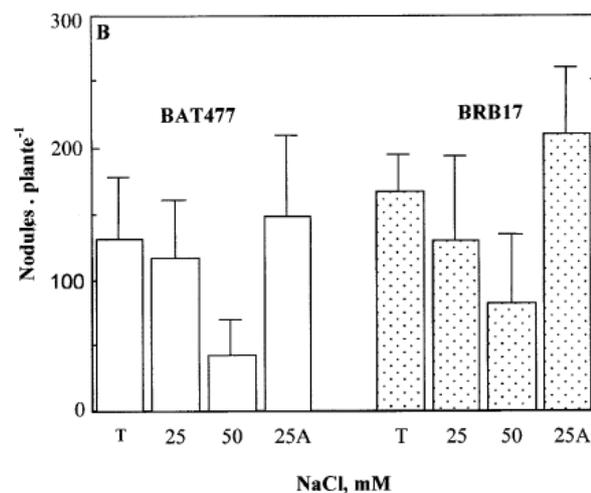


Figure (26) : Effet de la salinité sur le nombre de nodules par plant d'haricot (*Phaseolus vulgaris*) (SAADALLAH, 2001)

Des réductions du nombre de nodules sont enregistrées chez les plants des 4 variétés de *Lens culinaris* stressés à la salinité. Ces diminutions augmentent au fur et à mesure que les concentrations salines sont revues en hausse.

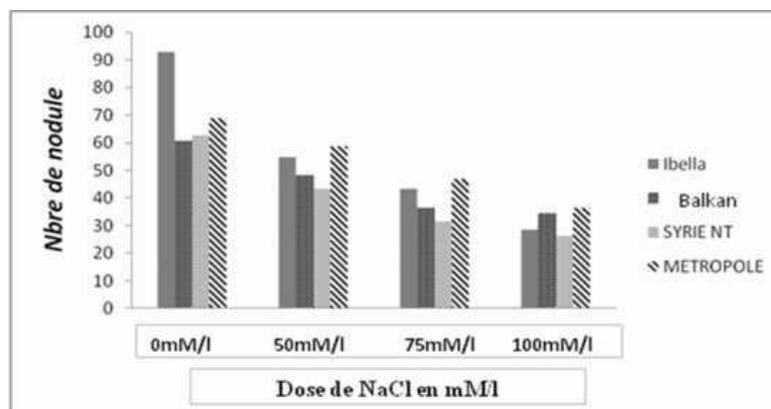


Figure (27) : Effet de la salinité sur le nombre de nodule par plant chez quatre variétés de lentille (*Lens culinaris*) (TEGGAR, 2015)

Selon les résultats obtenus par BAH AUS NIA et *al.* (2019), de légères augmentations en nombre de nodules ont été enregistrées chez les plants de *Vicia faba* L. ayant subi 100 mM de NaCl. Là où la salinité est levée à 200 mM, aucun nodule n'a été observé chez les plants inoculés, tandis que chez les plants non inoculés le nombre de nodules a été identique à celui du témoin.

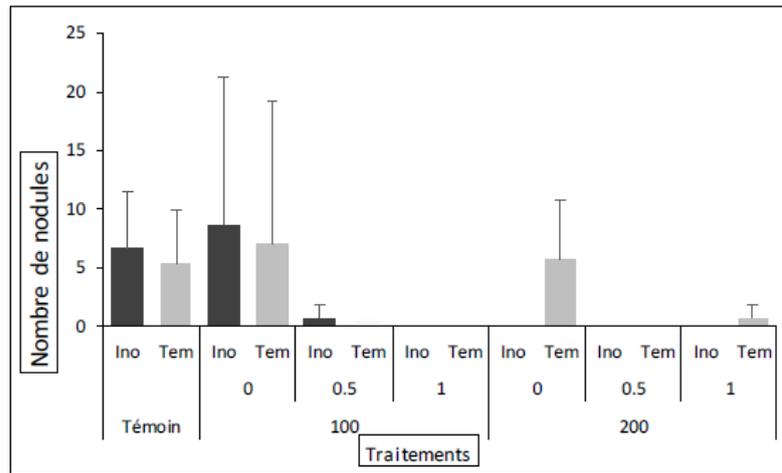


Figure (28) : Variation du nombre de nodules chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums (BAHAUS NIA et *al.*, 2019)

- Volume nodulaire

Le traitement à 100 mM de NaCl a entraîné une diminution remarquable du volume nodulaire chez les plants de *Vicia faba* L. préalablement inoculés et aucun effet n'a été enregistré chez les plants non inoculés. Cependant, le volume des nodules est devenu presque nul sous traitement à 200 mM.

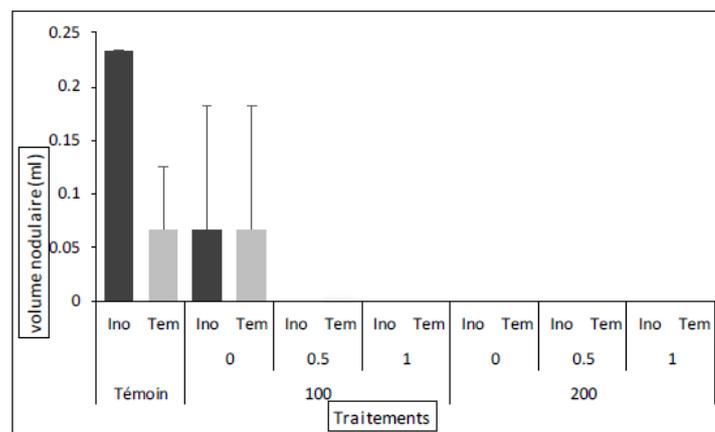


Figure (29) : Variation du volume nodulaire chez les plantes de fève (*Vicia faba* L.) selon la concentration saline et l'inoculation ou non par les Rhizobiums

(BAHAUS NIA et al., 2019)

- Poids sec nodulaire

Chez les plants de *Phaseolus vulgaris*, le poids sec nodulaire est affecté par la salinité lorsque cette dernière est appliquée précocement, notamment à 50 mM de NaCl. Toutefois, l'application tardive de 25 mM entraîne une augmentation du nombre de nodules. L'effet négatif est plus prononcé chez la variété « BAT477 », alors que celui améliorant est plus marqué chez « BRB17 ».

Les résultats obtenus par SAADALLAH et al.(2001) montrent que la salinité affecte aussi le poids sec nodulaire chez les plants de *Phaseolus vulgaris* traités à 25 et 50 mM de NaCl, notamment lorsque l'application de la salinité est précoce, au repiquage. Cette influence de la salinité est plus marquée chez la variété «BRB17».

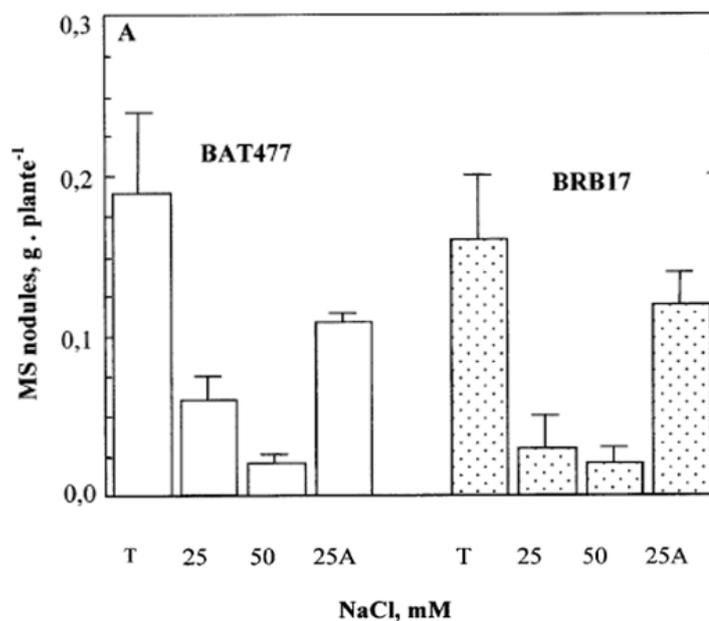


Figure (30) : Effet du sel sur la matière sèche nodulaire, g.plante⁻¹ (SAADALLAH, 2001)

1.2. Dosages biochimiques

- Azote total

TEGGAR (2015) a procédé au dosage de l'azote total chez des plants appartenant à 4 variétés de lentille (*Lens culinaris*) stressés à différentes concentrations salines, à savoir 0 ; 50 ; 75 et 100 mM de NaCl. Les résultats obtenus révèlent qu'on assiste à une diminution de la teneur en azote total, qui croît avec l'augmentation des concentrations salines (Figure 32).

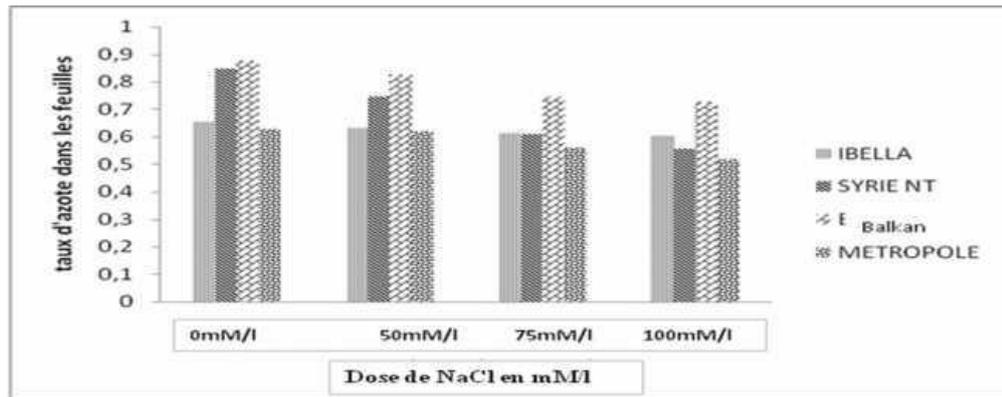


Figure (32) : Effet du NaCl sur la variation du taux d'azote en % de matière sèche des feuilles chez quatre variétés de *Lens culinaris* (TEGGAR, 2015)

- Fixation symbiotique d'azote (FSA)

Après avoir appliqué 25 mM de NaCl sur 4 génotypes de *Phaseolus vulgaris* préalablement inoculés par 2 souches de Rhizobium, FAGHIRE (2012) affirme que la fixation symbiotique d'azote (FSA) s'est avérée, sous tous les traitements, inférieure au témoin (Figure 31). La FSA a été estimée comme étant la différence entre la quantité finale d'azote (% d'N) dosée à la récolte et celle d'azote fourni au début sous forme d'urée (3 mM/plant, correspondant à 84 mg N) (VADEZ et DREVON, 2001 ; AYDI et al., 2008 ; BARGAZ et al., 2011a) in (FAGHIRE, 2012).

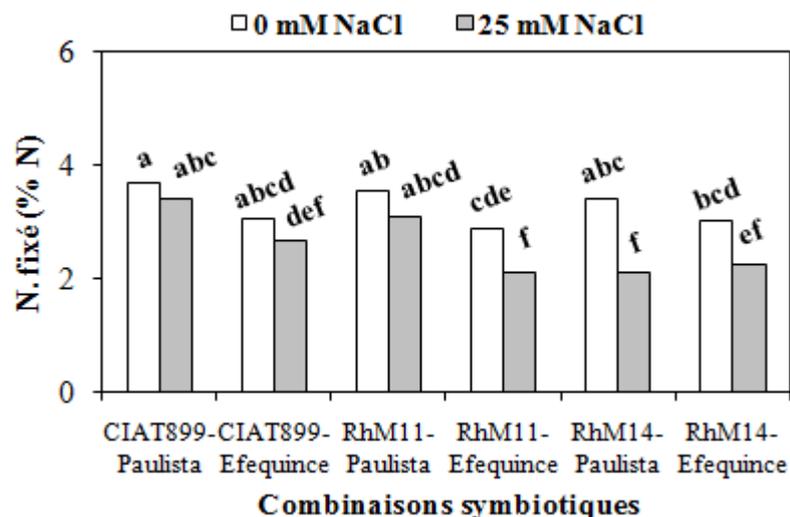


Figure (31) : Effet de la salinité sur la fixation symbiotique d'azote (FSA) chez 4 génotypes de *Phaseolus vulgaris* combinés avec 2 souches de Rhizobium. (FAGHIRE, 2012)

- Efficacité nodulaire

Les résultats obtenus par (FAGHIRE, 2012) montrent que chez toutes les combinaisons testées, le traitement salin a négativement affecté l'efficacité nodulaire avec quelques variations entre les combinaisons symbiotiques testées (Figure 32).

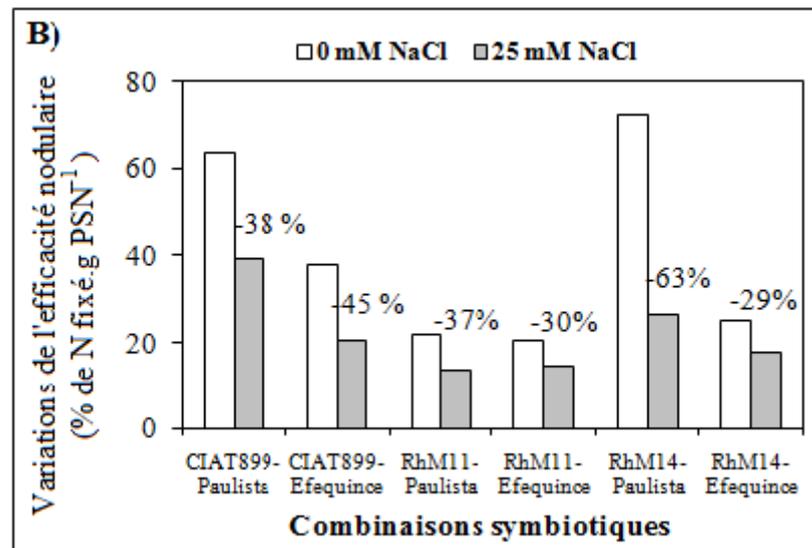


Figure (32) : Effet de la salinité sur l'efficacité nodulaire, estimée par les quantités d'azote fixé pendant la période du traitement chez 4 génotypes de *Phaseolus vulgaris* combinés avec 2 souches de Rhizobium. (FAGHIRE, 2012)

Partie (IV)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation de plus en plus abusive des engrais chimiques aboutit souvent à mettre à la hausse les coûts de production et les risques d'affecter le milieu. Le recours à l'exploitation des *Fabaceae*, pour des raisons agronomiques, économiques et écologiques est devenu de haute nécessité afin de bénéficier de leur capacité de fixer l'azote atmosphérique et de limiter, ainsi, les apports d'engrais azotés (ALKAMA et *al.*, 2002; JEDER et *al.*, 2003). Cependant, ces avantages attendus sont exposés à être influencés par les contraintes biotiques ou abiotiques pouvant affecter l'état physiologique de la plante tel que les maladies, la déficience nutritionnelle, la toxicité, la salinité, etc. Ce qui se répercute directement sur l'activité fixatrice de l'azote attendue de l'association symbiotique (BROCKWEL et *al.*, 1995). Le présent travail est mené dans le but de vérifier l'effet inhibiteur probable de la contrainte saline sur la nodulation et, par conséquent, sur la fixation d'azote atmosphérique chez les légumineuses.

Malgré la diversité des espèces végétales et des concentrations salines utilisées, les travaux de recherche que nous avons consultés ont abouti à des résultats convergeant, dans leur globalité, vers des points qui se résument au suivant:

La biomasse sèche de la plante entière des *Fabaceae* est affectée par la salinité et cet effet est de plus en plus aggravé tant que la concentration saline augmente. D'autre part, la tolérance à la salinité varie selon l'espèce et la variété (SAADALLAH et *al.*, 2001 ; LAZREK BEN-FRIHA, 2008 ; CHERIFI et *al.*, 2017).

A l'exception de la concentration saline 2 g NaCl/L, où il est observé un léger accroissement du poids frais de la partie aérienne chez les plants du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) (BEN KHALED, et *al.*, 2003), l'ensemble des paramètres biométriques mesurés au niveau de la partie supérieure, chez les différentes espèces de *Fabaceae* étudiées, ont subi un effet dépressif, qui ne cesse d'augmenter au fur et à mesure que la concentration du sel augmente (SAADALLAH et *al.*, 2001 ; LAZREK BEN-FRIHA, 2008 ; TEGGAR, 2015 ; CHERIFI et *al.*, 2017 ainsi que BAHAUS NIA et *al.*, 2019). Cet effet concerne la longueur de la tige, le nombre de feuilles, le volume, le poids frais et le poids sec de la partie aérienne chez l'Acacia, la lentille (*Lens*

CONCLUSION GENERALE

culinaris), fève (*Vicia faba* L.), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le *Médicago truncatula* et le trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.). Au niveau racinaire, ces paramètres sont moins affectés par la contrainte saline. Chez le trèfle inoculé par les *Rhizobiums*, le traitement avec 2 ; 4 et même 6 g NaCl par litre a entraîné une augmentation du poids frais et du poids sec aussi (BEN KHALED, et *al.*, 2003).

Concernant les nodules, leur nombre, le volume et le poids sec ont tous diminué sous traitement à la salinité et les diminutions enregistrées ont été relatives aux concentrations salines (SAADALLAH et *al.*, 2001 ; FAGHIRE, 2012 ; BAHANUS NIA et *al.*, 2019). Cet effet diminuant s'est répercuté, par conséquent, sur la fixation symbiotique d'azote et l'efficacité nodulaire (FAGHIRE, 2012). Ces résultats sont en accord avec des travaux similaires menés par GARG et SINGLA (2004), AYDI et *al.*, (2008) et ELFRIHA S. (2011).

Vu l'importance des Fabaceae en général et de la fixation d'azote atmosphérique par voie symbiotique en particulier, il est à allouer à ce sujet beaucoup plus de considération et que la recherche en question soit multipliée en vue d'ajouter des éclaircissements sur l'interaction « Salinité – Légumineuses – Rhizobiums ».

Partie (V)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abd-Allah M.H., Morsy F.M., El-Enany A.W.E., Ohyama, T., 2012.** Isolation and characterization of a heavy-metal-resistant isolate of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* potentially applicable for biosorption of Cd²⁺ and Co²⁺. *International Biodeterioration and Biodegradation* 67 : 48-55.
- **Aubert., 1988.** Le greening une maladie infectieuse des agrumes, d'origine bactérienne, transmise par des Homoptères psyllidés. Stratégie de lutte développée 11 l'Ile de la Réunion. Circonstances épidémiologiques en Afrique/Asie et modalités d'intervention. Doc. CIRADIIRFA. 185 pp.
- **Aydi S.S., Aydi S., Gonzalez E. et Abdely C., 2008.** Osmotic stress affects water relations, growth and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* plant. *Acta Physiol Plant.* 30(4):441- 449
- **Bahous NIA H. K., Benabdelkrim S.A., Labeche D., 2019.** Effet de l'interaction «acide salicylique-salinité » sur la nodulation des fabacées. Mémoire de master. Université Ibn-Khaldoun, Tiaret. 51 p.
- **Belkhdja M. et Bidai Y., 2004.** Réponse des grains d'*Atriplex halimus* L à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse.* Vol 15. N°4.PP 331-335.
- **Ben Khaled L., Gómez A., Honrubia M., Oihabi A., 2003.** Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle
- **Ben khaled L., Ouarraqi E. M., Ezzedine Z., 2007.** Impact du NaCl sur la croissance et la nutrition de la variété de blé dur Massa cultivée en milieu hydroponique. *Acta Botanica Gallica.* PP 101-116.
- **Benacheur, K., Louadik B. et Terzo M., 2007.** Rôle des abeilles sauvages et domestiques (Hymenoptera apoidea) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba* L.) en région de Constantine (Algerie). *J.PlantPhysiol* ,152 ,213- 219 .
- **Bouaouina S., ZID E., HAJJI M., 2000.** Tolérance a la salinité, transports ionique et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L). *CIHEAM - Options Méditerranéennes.* PP 239-243.
- **Bouda S., Haddioui A., 2011.** Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Revue «Nature et Technologie».* N°5. PP 72-79.
- **Bouzar, H. D., and J. B. Jones. 2001.** *Agrobacterium Larrymoorei* sp. nov., a pathogen isolated from aerial tumors of *Ficus benjamina*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 1023-1026.
- **Brady N.C and Weil R.R., 2002** - The nature and properties of soils. 13th edn. Prentice Hall, Upper saddle river.USA.
- **Brewin NJ. 2004.** Plant cell wall remodelling in the *Rhizobium*-legume symbiosis, *Critical Reviews. Plant Sciences.*23: 293- 316.
- **Brink M. et Melese-Belay G., 2006.** Céréales et légumes secs : ressources végétales de l'Afrique tropicale 1.Ed. Prota .wagenengen, Pays-Bas, 328 p.
- **Broughton W.J., Hernandez G., Blair M., Beebe S., Gepts P. & Vanderleyden J. 2003.** Bean (*Phaseolus* spp.)-model food legumes. *Plant Soil* 252: 55–128.
- **Burris R.H., 1991.** Nitrogenases. *Journal of Biological Chemistry* 266: 9339-9342.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Chartzoulakis K., KLAPAKI., 2000.** Reponse of tow greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulture*, 86. PP 247-260.
- **Chaudhary, P., Dudeja, S.S., Kapoor, K.K., 2004.** Effectivity of host-Rhizobium leguminosarum symbiosis in soils receiving sewage water containing heavy metals. *Microbiological Research* 159 : 121-127.
- **Chaux C. et Foury C., 1994.** Production légumière. Légumineuses potagères, légumes, fruits. Technique et documentation Lavoisier, Paris Cedex 08, 484p.
- **Chen, H., A. E. Richardson, E. Cartner, M. A. Diordjevic, R. J. Roughley, and B. G. Rolfe. 1991.** Construction of an acid-tolerant Rhizobium leguminosarum biovar trifolii strain with enhanced capacity for nitrogen fixation. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2005-2011.
- **Chen, W. X., E. T. Wang, and L. D. Kuykendall. 2004.** Genus Mesorhizobium, Family Photobacteriaceae. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, 2nd Volume.
- **Chérifi K., Anagri A., Boufous H., El Mousadik A., 2017.** Effet du chlorure de sodium (nacl) sur la croissance de six especes d'acacia. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. ISSN 2429-5396. 4(4): 105-113.
- **Cholla, M. H., and G. H. Elkan. 1984.** Rhizobium fredii sp. nov., a fast growing species that effectively nodulates soybean. *Int. J. System. Bact.* 34, 484-486.
- **Claussen. K., Luthen. H., Blatt. M., Bottger M., 1997 :** Auxin induces growth and its linkage to potassium channels. *Planta* 201 : 227-234.
- **Dajoz R., 2006.** Précis d'écologie. Ed. Dunod. Paris, 8ème édition. 631p.
- **Dixon ROD, Wheeler CT, 1986.** Nitrogen fixation in plants. Blackie. Glasgow. 152p.
- **Dommergues Y, Duhaux E, Hoang GD, 1999.** Les arbres fixateurs d'azote: Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Y. Dommergues (ed.). Édition espaces 34. Paris. 475 p.
- **Douaoui. A., et Hartani. T. 2007.** Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chélibf. Actes de l'atelier régional SIRMA. 4-7 juin 2007, Nabeul, Tunisie.
- **Doyle J.J. & Luckow M.A., 2003.** The rest of the iceberg: legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol* 131: 900–910.
- **Dreyfus, B., J. L. Garcia, and M. Gillis. 1988.** 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.
- **DUC G., SHIYING-BAO B., BAUMC M., REDDENB B., SADIKI M.E., SUSO M.J., VISHNIAKOVA M. et ZONG X., 2010.** Diversity maintenance and use of Vicia faba L. genetic resources. *Field CropsResearch* 115, pp 270–278.
- **Duchauffour.P., 1983-** Pédologie 1 : .pédogénèse et classification. Ed Masson. pp.468-470. Estimating data quality, *Near Surface Geophysics*, 2005, 3, 187 -194.
- **Dupuy Y., Nougier P. 2005.** Les microorganismes. Du gène à la biosphère. Edition Ellipses. Paris.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Elfriha Sihem, 2010.** Influence de la salinité sur la formation des nodosités chez la fève (*Vicia faba* L.). Mémoire de magister, 119 p. Université Es-Sénia, Oran
- **Faghire Mustapha, 2012.** Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin. Université KADI Ayyad, Marrakech. 96 p.
- **FAOSTAT, 2016.** Les Légumineuses, des graines nutritives pour un avenir durable. Année internationale des Légumineuses, 2016.
- **Ferguson, B.J., Indrasumunar, A., Hayashi, S., Lin, M.H., Lin, Y.H., Reid, D.E. 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.). Worl.foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Ann. amélio. Plants*, 29, 479-492.
- **Frank B. 1990.** Root nodule bacteria and leguminous plants. 523-640. University of Wisconsin Press, Madisson, 1990.
- **Gao J.-L., S. L. Turner, F. L. Kan, E. T. Wang, Z. Y. Tan, Y. H. Qiu, J. Gu, Z. Terefework, J. P. W. Young, K. Lindström, and W. X. Chen. 2004.** Mesorhizobium septentrionale sp. nov. and Mesorhizobium temperatum sp. nov., isolated from Astragalus adsurgens growing in the northern regions of China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 20032012.
- **GARG N. et SINGLA R., 2004.** Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology.* 16(3):137-146
- **Gepts P., Beavis W.D., Brummer E.C., Shoemaker R.C., Stalker H.T., Weeden N.F & Young N.D., 2005.** Legumes as a model plant family: genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiol* 137: 1228–1235.
- **Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P., 2009.** Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology and Biochemistry* 41 : 2031-2037.
- **Giraud, E., L. Hanibal, J. Fardoux, A. Vermeglio, and B. Dreyfus. 2000.** Effect of Bradyrhizobium photosynthesis on stem nodulation of Aeschynomene sensitive. *Proceedings of National Academy of Science USA.* 97, 14795-14800.
- **Gregory B., 2005 -** Écophysiologie de semis de conifères ectomycorhizés en milieu salin et
- **Guignard J.L., Dupont F., 2005.** Botanique. 13ème Edition Masson.Sprent: 164-179.
- **Hajlaoui H., Denden M., Bouslama M., 2007.** Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination. *Tropicultura.* PP 168-173.
- **Halfaoui J., 1988.** La fertilisation en Algérie, en particulier la fertilisation phosphaté par le phosphate nature de Chélif 20 à 22 mars.
- **Halitim A., 1986.** Projet du programme de recherche sur l'utilisation du rejet de l'industrie phosphatière en agriculture. Polycopies 35p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Hill S, 1988.** How is nitrogenase regulated by oxygen? FEMS Microbiology Letters, 54:111-129.
- **Hopkins. W.G., 2003 :** Physiologie végétale. Traduction de la 2^{ème} édition américaine par SERGE R. Ed. De Boeck, p 66-81
- **Jarvis, B. D. W., C. E. Pankhurst, and J. J. Pastel. 1982.** Rhizobium loti, a new species of legume root nodule bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol. 32, 378-380.
- **Jarvis, B. D. W., H. L. Downer, and J. P. W. Young. 1992.** Phylogeny of fast-growing soybean nodulating rhizobia supports synonymy of Sinorhizobium and Rhizobium and assignment to Rhizobium fredii. Int. J. Syst. Bacteriol. 42, 93-96.
- **Jordan DC, 1984.** Family III. Rhizobiaceae, p. 234-242. In N. R. Krieg, and J. G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins Co, Baltimore, Md.
- **Judd W.S., Campbell C.S., Jules Bouharmont., Kellogg E.A. & Stevens P., 2001.** Botanique systématique: une perspective phylogénétique. Edition de boeck
- **Keyser, H. H., B. B. Bohlool, T. S. Hu, and D. F. Weber. 1982.** Fast-growing rhizobia isolated from roots of soybean. Science 215, 1631-1632.
- **Laguerre, G., M. P. Fernandez, V. Edel, P. Normand, and N. Amarger. 1993.** Genomic heterogeneity among French Rhizobium strains isolated from Phaseolus vulgaris L. Int. J. Syst. Bacteriol. 43, 761-767.
- **Lazrek - Ben Friha Fatma, 2008.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de Medicago truncatula et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier. 254 p.
- **Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Casse Delbar T., 1995.** Les plantes face au stress salin. Cahier d'agriculture.4. PP 263273.
- **Levitt, 1980 in Haouala et al., 2007-** Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na⁺, K⁺ et Ca²⁺) et du chlore (Cl⁻) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent, p. 235-244. Disponible sur : <http://www.pressesagro.be/base/text/v11n3/235.pdf>.
- **López-Gómez M, Lluch C, 2012.** Trehalose and Abiotic Stress Tolerance. Abiotic stress responses in plants. 253-265, DOI: 10.1007/978-1-4614-0634-1_14.
- **Martinez-Romero, E., and J. Caballero-Mellado. 1996.** Rhizobium phylogenies and bacterial genetic diversity. Crit. Rev. Plant Sci. 15, 113-140.
- **Masson-Boivin, C., Giraud, E., Perret, X., Batut, J., 2009.** Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? Trends Microbiol 17 : 458-466.
- **Molouba, F., J. Lorquin, A. Willems, B. Hoste, E. Giraud, B. Dreyfus, M. Gillis, P. de Lajudie, and C. Masson-Boivin. 1999.** Photosynthetic bradyrhizobia from Aeschynomene spp. are specific to stem-nodulated species and form a separate 16S ribosomal DNA restriction fragment length polymorphism group. Appl. Environ. Microbiol. 65, 3084-3094.
- **Montoroi. J. P., 2005.** Sols salés et environnement. Chapitre 27, 608-627p. Dunod, Paris. 816p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Moschetii G., Peluso AL., Protopapa A., Anastasio M., Pepe O., Defez R. 2005.** Use of nodulation pattern, stress tolerance, nod C gene amplification, RAPD-PCR and RFLP-16S rDNA analysis to discriminate genotypes of *Rhizobium leguminosarium* biovar viciae. *Systematic and applied Microbiology*. 28: 619-631.
- **Munns R, Termaat A, 1986.** Whole plant responses to salinity. *Aust J Plant Physiol* 13:143-160.
- **Nour, S. M., Cleyet-Marel, J. C., Normand, P., and Fernandez, M. P. 1995.** Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 640-648.
- **Oldroyd, G.E., Murray, J.D., Poole, P.S., Downie, J.A., 2011.** The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annual Review of Genetics* 45 : 119-144.
- **Parida A. K., Das A. B., 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 60. PP 324-349.
- **Patriarca EJ., Tate R., Ferraioli S., Iaccarino M. 2004.** Organogenesis of legume root nodules. *Int Rev Cytol.* 234: 201-62.
- **Pelmont J., 1995.** Bactérie et environnement : adaptation physiologique. Vol 2. Office.
- **Rasanen L. 2002.** Biotic and abiotic factors influencing the development of N₂fixing symbioses between rhizobia and the woody legumes *Acacia* and *Prosopis*. Thèse de doctorat. Université de Hilsinki, Finland.
- **Rinaudo, G., S. Orenga, M. P. Fernandez, H. Meugnier, and R. Bardin. 1991.** DNA homologies among members of the genus *Azorhizobium* and other stem- and root-nodulating bacteria isolated from the tropical legume *Sesbania rostrata*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41, 114120.
- **Ruiz-Diez, B., Quinones, M.A., Fajardo, S., Lopez, M.A., Higuera, P., FernandezPascual, M., 2012.** Mercury-resistant rhizobial bacteria isolated from nodules of leguminous plants growing in high Hg-contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96 : 543-554.
- **Saadallah K., Drevon JJ., Abdely C., 2001.** Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. *Agronomie, EDP Sciences*, 2001, 21 (6-7), pp.627-634.
- **Sahgal M. and B. N. Johri. 2003.** The changing face of rhizobial systematics. *Current Science* (84) No. 1, 43-47.
- **Saldana G., and V. Martinez-Alcantara. 2003.** Genetic diversity of fast growing rhizobia that nodulate soybean (*Glycine max* L. Merr). *Arch. Microbiol.* 180, 45-52.
- **Sawada H., L. D. Kuykendall, and J. M. Young. 2003.** Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *J. Gen. Appl. Microbiol.* (49) 3, 155-179.
- **Saxena.M.C, 1991:** Status and scope for production of *Faba bean* in Mediterranean ancountries. *OptionsMéditerranées .Série Séminaires* 10:15-20.
- **Scholla, M. H., and G. H. Elkan. 1984.** *Rhizobium fredii* sp. nov., a fast growing species that effectively nodulates soybean. *Int. J. System. Bact.* 34, 484-486.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Schumpp, O., Deakin, W.J.**, 2010. How inefficient rhizobia prolong their existence within nodules. *Trends Plant Science* 15 : 189-195.
- **Spollen WG, LeNoble ME, Timmy DS, Bernstein N, Sharp RE**, 2000. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production. *Plant Physiol* 122: 967-976.
- **Sprent J.I.** (1995) Legume trees and shrubs in the tropics: N₂ fixation in perspective. *Soil Biol. Biochem* 27: 401-407.
- **Stougaard, J.**, 2000. Regulators and Regulation of Legume Root Nodule Development. *Plant Physiology* 124 : 531–540.
- **Tan Z. Y., F. L. Kan, G. X. Peng, E. T. Wang, B. Reinhold-Hurek, and W. X. Chen.** 2001. *Rhizobium yanglingense* sp. nov., isolated from arid and semi-arid regions in China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 909-914.
- **Teggar Naima**, 2015. Etude de l'effet du stress salin sur la nodulation et sur quelques paramètres biochimiques et morphologiques de la Lentille (*Lens culinaris* L.). Mémoire de magister. Université d'Oran Es Senia. 68 p.
- **Tejera NA, Campos R, Sanjuan J, Lluch C**, 2005. Effect of sodium chloride on growth, nutrient accumulation, and nitrogen fixation of common bean plants in symbiosis with isogenic strains. *Journal of Plant Nutrition* 28: 1907-1921.
- **Terefework, Z., S. Kaijalainen, and K. Lindström.** 2001. AFLP fingerprinting as a tool to study the genetic diversity of *Rhizobium galegae*. *J. Biotech.* 91, 169-180.
- **Toledo I., L. Lloret, and E. Martinez-Romero.** 2003. *Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp. in Mexico. *Syst. Appl. Microbiol.* 26, 54-64.
- **Van Berkum, P., D. Beyene, G. Bao, T. A. Campbell, and B. D. Eardly.** 1998. *Rhizobium mongolense* sp. nov. in one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen – fixing symbioses with *Medicago ruthenica* [(L.) Ledebour]. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 48, 13-22.
- **Vidal, C., Chantreuil, C., Berge, O., Maure, L., Escarre, J., Bena, G., Brunel, B., CleyetMarel, J.C.**, 2009. *Mesorhizobium metallidurans* sp. nov., a metal-resistant symbiont of *Anthyllis vulneraria* growing on metalcolous soil in Languedoc, France. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59 : 850-855.
- **Vincent JM**, 1970. The cultivation, isolation and maintenance of rhizobia. In: Vincent, J.M. (Ed.). *A manual for the practical study of root-nodule*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 1-13.
- **Vinuesa P., M. Leon-Barrios, C. Silva, A. Willems, A. Jarabo-Lorenzo, R. PerezGaldona, D. Werner and E. Martinez-Romero.** 2005. *Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae: Genisteeae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. *genistearum*, *Bradyrhizobium* genospecies alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 569-575.
- **Wang, D., Yang, S., Tang, F., Zhu, H.**, 2012. Symbiosis specificity in the legume: rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology* 14 : 334-342.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Wang, E. T., and E. Martinez-Romero.** 2000. *Sesbania herbacea*-Rhizobium huautlense nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea*-nodulating rhizobia in different environments. *Microb. Ecol.* 40, 25-32.
- **Wang, E. T., P. Van Berkum, X. H. Sui, D. Beyene, W. X. Chen, and E. MartinezRomero.** 1999a. Diversity of rhizobia associated with *Amorpha fruticosa* isolated from Chinese soils and description of *Mesorhizobium amorpha* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 49, 51-65.
- **Wang, L. X., M. Antonio Rogel, A. G. los Santos, J. Martnez-Romero, M. A. Cevallos, and E. Martinez-Romero.** 1999b. *Rhizobium etli* bv. *mimosae*, a novel biovar isolated from *Mimosa affinis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 49, 1475-1491.
- **Wang, L. X., Z. Y. Ta, A. Willems, M. Fernandez-lópez, B. Reinhold-Hurek, and Martinez-Romero. E.,** 2002. *Sinorhizobium morolense* sp. nov., a leucaena leucocephala – associated bacterium that is highly resistant to multiple antibiotics. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 1687-1693.
- **Wei, G. H., Z. Y. Tan, M. E. Zhu, E. T. Wang, S. Z. Han, and W. X. Chen.,** 2003. Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium Loessense* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1575-1583.
- **Willems, A., M. Fernández-Lopez, E. Minos-Adelantado, P. De Vos, E. MartinezRomero, N. Y. Toro, and M. Gillis.** 2003. Description of new Ensifer strains from nodules and proposal to transfer *adhaerens* Cassida 1982 to *Sinorhizobium* as *Sinorhizobium adhaerens* com.nov. Request for an Opinion. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1207-1217.
- **Wong, F. Y., K. E. Stackebrandt, J. K. Ladha, D. E. Fleischman, R. A. Date, and J. A. Fuerst.** 1994. Phylogenetic analysis of *Bradyrhizobium japonicum* and photosynthetic stemnodulating bacteria from *Aeschynomene* species grown in separated geographical regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 940-512.
- **Wu Y, Spollen WG, Sharp RE, Hetherington PR, Fry SC,** 1994. Root growth maintenance at low water potentials increased activity of xyloglucan endotransglycosylase and it's possible regulation by abscisic acid. *Plant Physiol* 106: 607-615.
- **Xu, L. M., C. Ge, Z. Cui, J. Li, and H. Fan.** 1995. *Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov. isolated from the root nodules of soybeans. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 706-711.
- **Yamamoto H, J Nomata, Y Fuita,** 2008. Functional expression of nitrogenase-like protochlorophyllide reductase from *Rhodobacter capsulatus* in *Escherichia coli*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7:12381242.
- **Zaghouane O.,** 1991. The situation of faba bean (*Vicia faba* L.) in Algeria. *Options Méditerranéennes ; Série Séminaires* 10: 123-125.
- **Zahran H.H.,** 1999. *Rhizobium*-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63 : 968-989.
- **Zhu. J.K.,** 2002 : Salt and drought strees signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Bio* 53 : 247-273.