

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Khider Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Réf: ... / ...

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

**L'effet de l'inoculation et du sol sur la
nodulation de la plante *Astragalus gombo***

Présenté par : DJEBNOUN Hanane

Devant le jury:

Président: GUEMMAZ Fateh

Promoteur: MOKRANI Djamila

Examineur : AGGOUNI Madjed

Année Universitaire 2013/ 2014

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant, de nous avoir accordé la force, le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail. Au terme du présent travail, Je tiens avant tout, à remercier vivement M^{me} MOKRANI Djamila pour m'avoir accepté de m'encadrer, et pour la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port.

Mes remerciement s'adressent également aux membres du jury à Mr GUEMMAZ Fateh pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury et à Mr AGGOUNI Madjed d'avoir accepté de juger ce travail.

Et on remercie tous les ingénieurs du laboratoire du département A tous les responsables du laboratoire du département d'agronomie: Mr Kamel, M^{lle} Chahineze , Khadidja, Naima et Soumia.

je remerciements pour cela à tous mes amis qui m'ont aidé En fin, nos remerciements vont à tout (es) qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Les sols.....	03
I.1 Origine et formation du sol.....	03
I.2 Caractéristique générale des phases du sol.....	04
I.3 Constituants du sol.....	05
I.3.1 Constituants minéraux.....	05
I.3.2 Constituants organiques.....	06
II. Fixation biologique d’azote.....	07
II.1 Etapes d’infection et de nodulation.....	07
III. Les macrosymbiotes (légumineuses).....	09
III.1 Généralité sur la légumineuse.....	09
III.2 Classification.....	09
III.3 Genre <i>Astragalus</i>	11
III.4 L’espèce <i>Astragalus gombo</i>	11
IV. Les microsymbiotes	12
IV.1 Généralité.....	12
IV.2 Les rhizobia.....	12
IV.3 Classification de rhizobia	13
V. Structure et morphologie de la nodule.....	14
VI. L’inoculation.....	16

VII. Les types d'inoculum	17
--	-----------

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

I. Présentation de la région d'étude.....	19
I.1 Situation géographique des régions du Batna, Biskra et El-Oued.....	19
II. L'échantillonnage.....	20
II.1 Le sol.....	20
II.2 Matériel végétal (Semences).....	20
III. Les analyses physico-chimique du sol.....	21
III.1 pH.....	21
III.2 Conductivité électrique.....	22
III.3 Dosage du Na et K.....	22
III.4 Dosage du calcaire totale	23
III.5 Dosage du calcaire actif.....	24
III.6 Dosage du phosphore assimilable	26
IV. Germination des graines	26
V. Source des souches.....	27
VI. Préparation de l'inoculum.....	28
VII. L'inoculation des graines	28

Chapitre 3 : Résultats et discussions

I. Résultats des plantes.....	30
II. Résultats des analyses physico-chimiques de sol.....	33

Conclusion

Références bibliographique

Annexe

Liste des abréviations

BNL : Bactéries Nodulant les Légumineuses

CaCo₃: Carbonate de Calcium

CE : Conductivité électrique

H₂ SO: Acide sulfurique

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

ISO : International Organisation of Standarization

P₂ O₅ : Phosphore assimilable

S1 : Souche numéro 01

S2 : Souche numéro 02

TY : Tryptone-Yeast

YMB : Yeast Mannitol Broth

Liste des figures

Figure 1. 1 : Etapes de la formation d'un sol(MERMOUD,2006).....	3
Figure 1. 2 : Les différent phases du sol(MERMOUD,2006).....	4
Figure 1. 3: Formation d'un nodule(TORTORA et <i>al.</i> ,2003).....	9
Figure 1. 4: Photo personnel <i>Astragalus gombo</i>	11
Figure 1. 5: Représentation des deux types de nodules matures(VERNIE,2003).....	15
Figure 2. 6 : Les willayas des Batna, Biskra et EL-Oued dans la carte de l'Algérie.....	20
Figure 2. 7: Les étapes du prélèvement des échantillons.....	20
Figure 2. 8 : Les gousses et les graines des <i>Astragalus gombo</i>	21
Figure 2. 9 : Le PH mètre et La conductimètre.....	22
Figure 2. 10 : Dosage de Na est réalisé à l'aide d'un photomètre à flamme.....	22
Figure 2. 11 : Dosage de K est réalisé à l'aide d'un photomètre à flamme.....	23
Figure 2. 12 : Méthode de manipulation du dosage de calcaire totale.....	23
Figure 2. 13: Méthode de manipulation du dosage de calcaire actif.....	24
Figure 2. 14 : Méthode du calcules de la concentration du phosphore.....	25
Figure 2. 15 : Les étapes de germination respectivement.....	27
Figure 2. 16 : Les souches de rhizobium utilisée dans cette étude.....	27
Figure 2. 17 : Les étape de l'inoculation des graines.....	28
Figure 3. 18 : Les résultats positif(présence de nodule).....	31
Figure 3. 19 : Les résultats négatif(absence de nodule).....	32
Figure 3. 20 : Variations du PH des sols du régions d'étude.....	33
Figure 3. 21 : Variation du conductivité électrique des région d'étude.....	34
Figure 3. 22 : Dosage de sodium dans les régions d'étude.....	35
Figure 3. 23 : Dosage de potassium dans les régions d'étude.....	35

Figure 3. 24 : Pourcentage du calcaire totale dans les régions d'étude.....	36
Figure 3. 25 : Pourcentage du calcaire actif dans les régions d'étude.....	37
Figure 3. 26 : Les concentrations du phosphore dans les échantillons.....	38

Liste des tableaux

Tableau 1.1: Échelle granulométrique de la texture du sol : (SIEGENTHALER, 2010).....	05
Tableau 1.2: Classification des rhizobia (GRAHAM, 2008).....	13
Tableau 1. 3 : Les échantillons de sol.....	21
Tableau 1. 4 : Les résultats de plantation de différent régions.....	30
Tableau 1. 5 : Normes d'interprétation du taux du calcaire totale du sol.....	37

Introduction

Introduction

Le sol est un milieu vivant, avec ses propres caractéristiques et au fonctionnement complexe, qui occupe une place privilégiée au sein de notre environnement. Le sol est le milieu plus ou moins meuble situé en surface de la croûte terrestre(MOREL, 1996). Tel qu'il a été défini depuis 1883 est un système naturel, indépendant et variant. Selon la norme ISO(International Organisation of Standardization) : le sol est la couche supérieure de la croûte terrestre composé de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organisme vivant(GALLALI, 2004).

Le sol est le principale milieu pour les plantes, il doit fournir non seulement un support physique mais aussi, en permanence, des aliments inorganiques appropriés, ainsi que des éléments nutritifs dont elles ont besoin pour leur photosynthèse et donc leur croissance.(BOUHARMONT, 2000). Parmi les nutriments indispensables à la croissance de plantes, l'azote est considéré comme un facteur limitant dans de nombreux sol(HINSINGER, 2012). Il est le pivot de toute production végétale, son action positive sur les rendements des cultures fait de lui un élément clé de la nutrition des cultures ; mais dans un environnement carencé en nutriments, le plus souvent, la survie des plantes comme les légumineuses est assurée par établissement d'une relation symbiotique avec des bactéries de sol.

La famille des légumineuses est l'une des plus importantes parmi les dicotylédones. C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires(source de protéines pour la consommation humaine ou l'alimentation animale), industrielles ou médicinales. Elle est variée avec 3 sous familles: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae*, et *Papilionoideae* et compte environ 20.000espèces(BEN FRIHA, 2008).

L'*Astragalus* est l'un des genres de la famille des légumineuses comprend plus de 1500 espèces dont la plupart se répartissent en Orient. Une cinquantaine d'espèces sont retrouvées en Afrique du Nord et quinze environ au Sahara(TEYEB et *al.*, 2012).

Les légumineuses sont étudiées parce qu'elles sont capables de fixer l'azote atmosphérique par l'intermédiaire de partenaires symbiotiques ; aboutit à la formation de structure appelé nodosité sur les racines. Dans les cellules de ces nodosités, les bactérie sont capables de réduire l'azote atmosphérique N₂ en une forme assimilable par la plante-hôte(GHOUF, 2009). Pour l'amélioration de rendement des légumineuses on a recours à

l'utilisation des engrais minéraux qui reste la plus dominante et le seul moyen efficace pour l'obtention d'une production optimale, mais l'utilisation des engrais azotés présentent des nombreux inconvénients : telle que le coût élevé aussi la pollution de la nappe phréatique (lessivage des nitrates). Pour cette raison, on a recours à l'utilisation d'autres méthodes comme l'application des bactéries indispensables à la fixation symbiotique de l'azote. Cette opération connue sous le nom d'inoculation.

Dans l'objectif d'étudier l'effet de l'inoculation et du qualité du sol sur la formation et développement des nodules sur les racines des légumineuses, nous nous sommes intéressés à l'espèce d'*Astragalus gombo*.

Dans ce sens, le présent travail cible les objectifs suivants :

- ✓ Etudier l'effet de la qualité du sol sur la nodulation d'*Astragalus gombo*,
- ✓ Déterminer l'effet de l'inoculation par des souches BNL(Bactéries Nodulantes des Légumineuses) sur la formation des nodules sur les racines d'*Astragalus gombo*

A cet effet, nous avons divisé ce travail en trois chapitres :

- La première est une synthèse bibliographique dans laquelle, nous présentons des généralités sur le sol et les légumineuses et sur l'inoculation ;
- La deuxième chapitre, est consacré aux matériels et méthodes ;
- La troisième chapitre comporte les résultats obtenus et la discussion.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

I. Les sols

I-1 Origines et formation de sol

Le sol est la couche superficielle, meuble de la croûte terrestre d'épaisseur variable (MERMOUD, 2006). Elle résulte de l'action de facteur écologique biotique et abiotique des caractères physiques, physico-chimiques, chimiques et biologiques sur les couches de la lithosphère (Fig 1.1). La formation des sols commence par la fragmentation de la roche mère (RAMADE, 2009).

Les roches s'altèrent sous l'action du climat et des êtres vivants; les constituants minéraux sont modifiés, en partie mélangés à des substances organiques et forment de nouveaux composants. L'érosion est le phénomène de détachement et de transport des particules du sol par divers agents, principalement l'eau et le vent (ANONYME, 1998). Donc un sol apparaît comme un système organo-minérale complexe qui s'est développé lentement à la surface des terres émergées à la suite de l'évolution de roche, de néogénèses et d'activité biologique (MOREL, 1996).

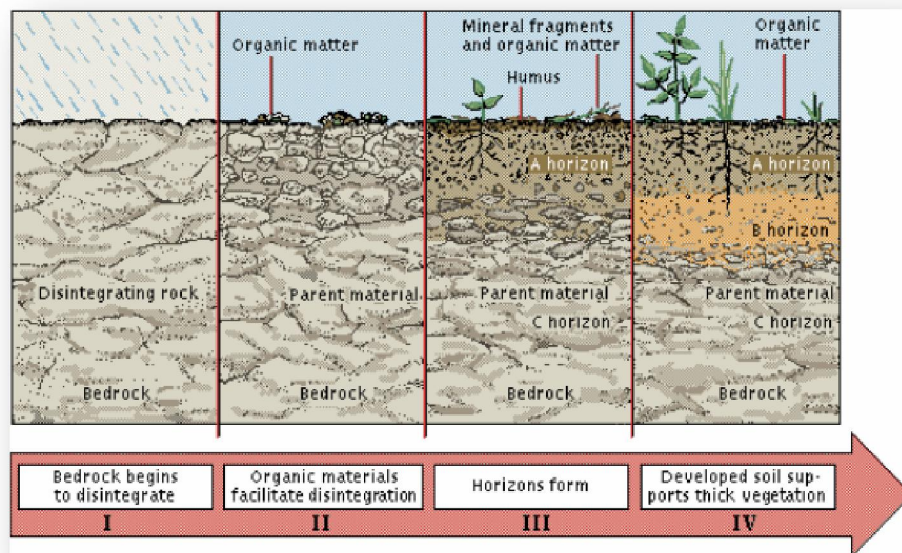


Figure 1. 1 : Etapes de la formation d'un sol (MERMOUD, 2006).

I-2 Caractéristique générale des phases de sol

Le sol est un mélange de plusieurs phases : solide, liquide, gazeuse (fig1. 2). Ce qui pourrait passer pour un matériau homogène, se révèle, à la loupe, un mélange de "grains"

durs, d'eau, d'air, d'êtres vivants ou morts et d'humus. On peut donc décrire le sol comme un système polyphasique (SOLTNER, 2005). Il comprend :

- Phase solide comprend de constituant minéraux et organique:
 - La fraction minérale rassemblent des particules de dimension, de forme et de composition variées, exemple : graviers, sable particule très fines telles que le limon fin, l'argile
 - La fraction organique formée des organismes vivants divers(racine, micro-population, faune du sol), de résidus organiques à différents stades de leur évolution: fragments des tissus, macromolécules de poids moléculaires élevés, molécule simple (MOREL, 1996).
- La phase liquide(appelée la solution du sol) : le sol assimilable à un réseau poreux qui peut retenir l'eau par capillarité. La solution du sol est la ressource en eau et en ions directement exploitable par les végétaux(MEYER et *al.*, 2008). Une partie en effet de cette solution de sol est plus ou moins intensément fixée sur la phase solide(MOREL, 1996).
- La phase gazeuse, constitue 'l'air' du sol, est aussi nommé « l'atmosphère du sol»., dont la composition est assez différente de celle de l'air atmosphérique, avec lequel il existe de nombreux échanges(SOLTNER, 2005). On y retrouve, entre autres, de l'azote gazeux(N_2), de l'oxygène(O_2), du dioxyde de carbone (CO_2), et du méthane (CH_4). Ces gaz proviennent d'échanges avec l'atmosphère, de réactions chimiques au sein du sol et de l'activité métabolique des organismes du sol(ANONYME, 2010).

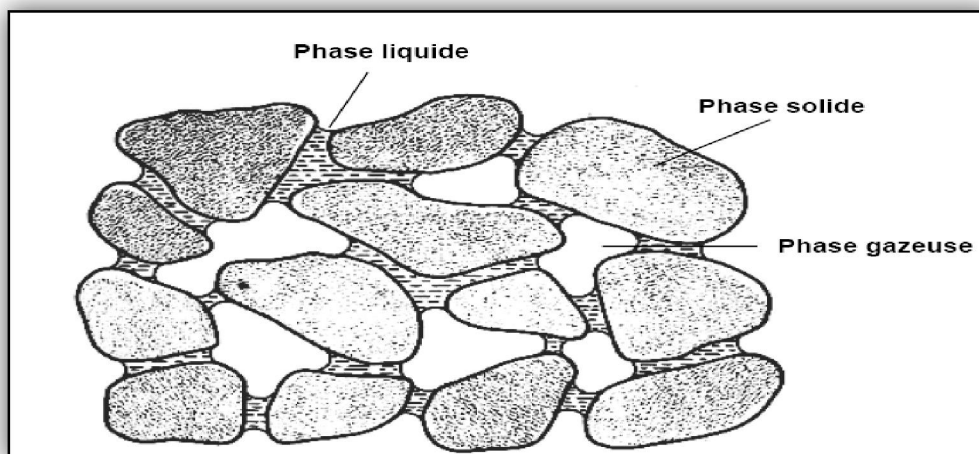


Figure 1.2 : Les différent phases du sol(MERMOUD, 2006).

I-3 Constituant de sol

Le sol contient des composées de diverses sortes :

- Composés Inorganiques(Minéraux)
- Matière organique morte et en partie décomposée
- Organismes de sols
- Air contenu dans le sols et eau présent dans le sol(BLIEFERT et PERAUD, 2001).

I-3-1 Les minéraux

La composition de sol est primaire, hérité directement de la roche-mère ou secondaire de la transformation issus chimiques des précédents et réunis alors dans les complexe d'altération(oxydation, réduction, hydratation...etc)(GOBAT et *al.*, 2010). Parmi les composés minéraux des sols, on trouve avant tout les silicates, mais aussi de substances nutritives inorganiques ; les cations Ca^{2+} , Mg^{2+} et K^{+} ainsi que les nitrates et les phosphates ayant une grande importance pour les plantes(BLIEFERT et PERAUD, 2001). La nature des minéraux peut être extrêmement diverse avec leur tailles granulométriques ;

Les sol contient un mélange de particule des tailles différent et l'on peut distinguer plusieurs classe texturale en fonction des proportions des différent particules présentes dans le mélange (Tab 1.1)(EVRARD, 2000).

Tableau 1.1: Échelle granulométrique de la texture du sol : (SIEGENTHALER, 2010)

Terre fine					Terre grossière	
Argiles	Limons Fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers	Graviers	Cailloux
< 2 μm	2 – 20 μm	20 – 50 μm	50 – 200 μm	0.2 – 2 mm	2 – 20 mm	> 20 mm

Argiles

Les argiles sont issues de l'altération des roches par hydrolyses de minéraux silicaté(GOBAT et *al.*, 2010). Sol chimiquement riche, mais aux propriétés physiques très mauvaises (milieu imperméable et mal aéré), empêchant une pénétration harmonieuses des

racines ; travail du sol difficile, en raison de la compacité dans le cas d'un sol sec ou de la forte plasticité dans le cas d'un sol humide(MASSON, 2012).

Limons

Le limon désigne une fraction granulométrique intermédiaire entre argile et sable, c'est-à-dire la fraction granulométrique 2 μm -20 μm et, par extension, une famille de sols où cette fraction prédomine(VELTER et *al.*, 2000). Ce sont des minéraux riches en fer, ils s'altèrent au contact de l'oxygène atmosphérique et produisent le limon(DOUCET, 2006). Ils sont perméables et relativement de bonne qualité agronomique(JOFFRE, 2001).

Sables

Matière minérale siliceuse ou calcaire qui se présente dans le sol sous la forme de grains ou de poudre, suivant qu'il s'agit de sable grossier ou de sable fin. la propriété intéressante des sols sableux est leur porosité élevée. Par contre ils ne retiennent pas du tout l'eau. Les sables proviennent de la désagrégation des roches qui constituent l'écorce terrestre ; suivant leur composition, ils sont blancs, jaunes, gris ou rougeâtres(ANONYME, 2012).

I-3-2 Les constituants organiques

La matière organique du sol ne forme pas un ensemble homogène : il s'agit au contraire d'un mélange de différents composés(ALVAREZ, 2002). Provenant principalement des plantes mais aussi des animaux et des microorganismes(FERRET, 2012), plus ou moins complexes au plan biochimique et plus ou moins biodégradables au plan biologique(ALVAREZ, 2002). La matière organique des sols est donc composée de substances humiques et non humiques :

➤ **Les substances humiques:** constituent une famille de composés complexes (KORIKO, 2010). caractérisées par un poids moléculaire élevé. La synthèse des substances humiques est conditionnée par de nombreux facteurs(nature de la matière organique, conditions environnementales). La variabilité de ces facteurs engendre la formation des molécules diverses et rend difficile leur étude. Les propriétés du sol(nature de la matière organique, activités biologiques de la microflore) et les conditions environnementales(pH, température, humidité) influent directement sur la composition et la structure des substances humiques(EYHERAGUIBEL, 2004).

➤ **Les substances non humiques :** sont des molécules appartenant à des familles chimiques identifiées : glucides, protéines et acides aminés, lipides, lignines et acides

organiques. Ces substances organiques, de faibles poids moléculaire, sont généralement faciles à métaboliser et/ou dégrader par les enzymes hydrolytiques produites par les microorganismes(NDIRA, 2006).

II. Fixation biologique d'azote

L'azote est un élément indispensable à l'alimentation des plantes. C'est un constituant majeur des végétaux puisqu'il est présent dans toutes les protéines, dans des acides nucléiques, et dans de nombreuses enzymes(TOURTE et *al.*, 2005). Dans la nature, on trouve l'azote d'abord dans l'atmosphère, dont il constitue la majeure partie. Il pénètre dans le sol par l'intermédiaire des pluies, mais surtout par la fixation microbienne(LA FRANCE, 2010).

Elle est la plus connue des technique végétales pour fixer l'azote de l'air (POUSSET, 2000). On appelle fixation de l'azote le processus du transformation de l'azote atmosphérique en ammoniac(CHABI, 2010).

La fixation biologique de l'azote est effectuée par des microorganismes soit autonomes soit en symbiose avec des plantes supérieures. En dehors des légumineuses, seul un petit nombre d'espèces (quelques centaines au plus) possèdent des nodules fixateurs d'azote (BEN FRIHA, 2008) . Cette fixation se fait grâce a la nitrogénase, une enzyme catalysant plusieurs réactions de réduction dont celle du diazote (N_2) en ammoniacque (NH_3), forme de l'azote assimilable par les végétaux (MBENGUE, 2010) . selon la réaction suivante:



L'équation indique qu'une molécule d'azote atmosphérique N_2 se combine avec des protons H^+ pour former deux molécules d'ammoniacque ($2NH_3$) et deux molécules d'hydrogène en gaz ($2H_2$). Cette réaction est menée par une enzyme, la nitrogénase.

Les 16 molécules d'ATP représentent l'énergie minimale demandée afin que la réaction prenne place. La source de cette énergie requise pour la fixation biologique de l'azote est l'énergie solaire via le processus de photosynthèse. L'ammoniacque (NH_3) formé est converti en acide aminé tel que la glutamine. L'azote des acides aminés peut être utilisé par la plante afin de synthétiser des protéines pour sa croissance et son développement (LAKHAL, 2011).

II.2 Les étapes d'infection et de nodulation

Le processus aboutissant à la formation de la bactéroïde, appelé nodulation, La formation des nodules est le résultat d'un dialogue moléculaire entre le microsymbiote et la plante hôte. Peut être résumé en trois étapes, avec comme préalable, la présence du *Rhizobium* impliqué en quantité suffisante dans le sol(SENHOR, 1998) (fig 1.3) :

•Phase de pré-infection

Les BNL sont des bactéries du sol. En l'absence de légumineuses, il y vivent en populations relativement modestes. La mise en œuvre d'une symbiose implique un «dialogue» entre ces bactéries et la plante-hôte; cette communication débute par des signaux chimiques permettant aux futures partenaires de se reconnaître. Les racines des légumineuses sécrètent des substances de la groupes des flavonoïdes qui attirent les bactéries vers les poils absorbants(MOREL, 1996). Deux substances sont essentielles pour la reconnaissance et l'adhésion. Les lectines : protéines formées par la plante, se liant spécifiquement à des glucides particuliers sur la bactérie. Il s'ensuit que le poil se recourbe de façon caractéristique et comprime la bactérie engagée dans la couche mucilagineuse de la surface de la paroi(HOPKINS, 2003).

•Phase d'infection

L'infection consiste en la pénétration des *Rhizobium* en différents points du système racinaire. Il se forme dehors, dans le poil absorbant, une poche d'infection qui s'agrandit en un filament infectieux. Après avoir pénétré dans les poils absorbants, les bactéries sont entourées par un cordon d'infection(HOPKINS, 2003).

•Phase de fonctionnement ou maturité des nodules

Les nodosités se forment par multiplication des cellules infectées. Les BNL prennent la forme bactéroïde, entourés par une membrane pér bactéroidienne, après leur libération du cordon d'infection. La membrane pér bactéroidienne a pour rôle la stabilité du système hôte/symbiose ; si elle est endommagée, les bactéries vont se libérer dans le cytoplasme et considérées comme des corps étrangers et donc détruits par la cellule hôte.

La phase de dégénérescence est l'étape finale dans le processus d'infection se déroule lors de la lyse des bactéroïdes et de la libération des bactéries dans le sol(RICHTER, 1993).

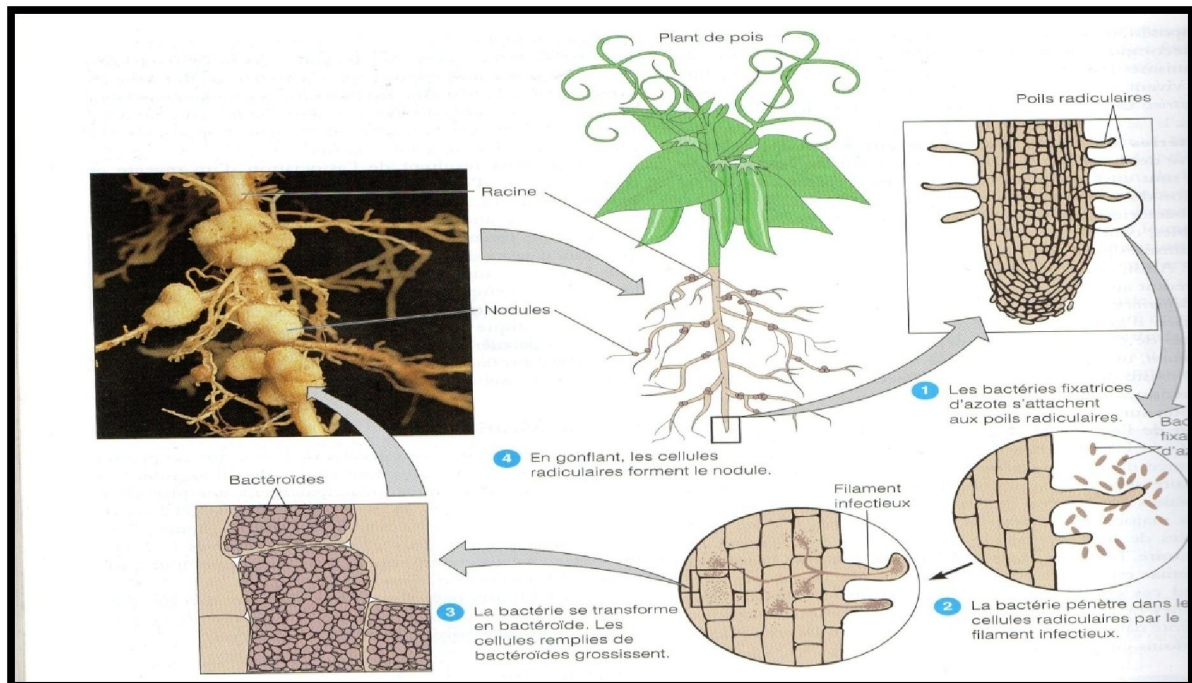


Figure 1. 3: Formation d'un nodule(TORTORA et *al.*, 2003).

III. Les macrosymbiotes (Les légumineuses)

III.1 Généralité

Les légumineuses constituent une immense famille de plantes dont le seul caractère commun est de produire des fleurs ayant un ovaire libre, constitué par seul carpelle(COME et CORBINEAU, 2006). L'évolution de légumineuse se traduit par : la réduction de nombre des étamines, la création d'une fleur zygomorphe(DUPONT et GUIGNARD, 2007). La famille des légumineuses est une des plus importantes parmi les dicotylédones. C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales(BOUE et *al.*, 2012).

III.2 Classification

Les légumineuses constituent l'un des groupes des familles des végétaux supérieurs, elle comporterait plus 1900 espèces réunies en 750 genres(GUERROUJ et *al.*, 2009). Actuellement, on considère l'existence de trois grands sous-groupes, généralement considérés comme des sous-familles et qui ont pu être traités aussi en familles indépendantes(BOTINEAU, 2010). Les familles de légumineuses sont réparties entre trois sous-familles : Mimosées, Caesalpinieées et Papilionacées(ou Fabacées)(MESSIALI, 1995).

1. Les Mimosoideae

Ils sont caractérisés par des fleurs actinomorphes à corolle à préfoliation volvaire, ovules anatropes ; étamines libres et en nombre variable ; grain albuminé (MESSIALI, 1995). Cette sous-famille comprend 40 genres et 2500 espèces (BOTINEAU, 2010). Ce sont de grands arbres, arbrisseaux mais aussi des plantes herbacées annuelles. Les Mimosées sont toutes originaires des régions tropicales, mais certaines *Acacia* se sont acclimatées aux zones méditerranéennes (COME et CORBINEAU, 2006).

2. Les Caesalpinioideae

Il ont habituellement des fleurs comme des papillons et à étamine unies. Comprenant environ 150 genres et 2200 espèces (SEBIHI, 2008). Ce sont souvent des arbres mais parfois aussi des lianes volubiles, des arbrisseaux ou des plantes herbacées vivaces (COME et CORBINEAU, 2006), retrouvés en région tropicales (BOTINEAU, 2010).

3. Les Papilionoideae ou Fabioideae

Cette sous-famille est la plus importante numériquement chez les légumineuses et du point de vue agronomique (MESSIALI, 1995). Elle est caractérisée par corolle papilionacée, des fleurs zygomorphe groupées en grappes, en épis ou en panicules, fruit sec déhiscent (gousse). Des feuilles alternes, simples ou composées pennées, 10 étamines généralement soudées par leur filets, ou 09 étamine soudées par leur filets et une libre (NDAYISHIMIYE, 2011). Un embryon courbe et une graine sans albumen (BOTINEAU, 2010).

Sur la totalité des légumineuses recensées, 20% seulement ont été étudiées du point de vue de leur nodulation. 97% des espèces examinées chez les Papilionacées (pois, haricot, fève, lentille,...), 90% chez les Mimosacées (robinier, *Glycine*, *Acacia*,...) et 23% chez les Césalpiniacées sont capables de noduler (RAJAONARIMAMY, 2010).

Les légumineuses possèdent une propriété essentielle, celle de capturer l'azote atmosphérique et de le fixer dans des nodosités situées sur les racines, grâce à des bactéries BNL. Ce qui leur donne trois grandes qualités :

- Elles fournissent un fourrage riche en protéines,
- Elles ne nécessitent pas de fertilisation azotée,
- Elles procurent un effet améliorant sur la fertilité du sol (CESAR et GOURO, 2008).

III.3 Genre *Astragalus*

Astragale est la francisation du grec astragale qui désigne une légumineuse indéterminée. Ce nom provient, pour une raison obscure, du grec astragalos, vertèbre, osselet(COUPPLAN, 2012).

Le genre *Astragalus* de la famille des Fabacées comprend plus de 1500 espèces dont la plupart se répartissent en Orient. Une cinquantaine d'espèces sont retrouvées en Afrique du Nord et quinze environ au Sahara.

Plusieurs espèces d'*Astragalus* trouvent des applications en médecine traditionnelle et moderne. Les feuilles d'*Astragalus caprinus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes. *Astragalus mongholicus* et *Astragalus membranaceus* sont utilisées comme remède pour plusieurs maladies. Plusieurs constituants des astragales pharmacologiquement actifs, tels que les saponines et les polysaccharides, ont des effets hépatoprotecteurs, immunostimulants et antiviraux(TEYEB et *al.*, 2012).

II-4- L'espèce *Astragalus gombo*

Description :

Plante vigoureuse au port dressé de 10 à 50 cm de haut. Tiges bien développées. Feuilles de grandes tailles de couleur vert claire, avec de très nombreuses petites folioles. Les pétioles robustes perdant leurs folioles deviennent coriaces et piquant à l'extrémité. Fleurs jaunes, en grappe axillaires denses. Gousse couverte d'un duvet soyeux. Elle est très résistante à la sécheresse(CHEHMA, 2005).



Figure 1.4: le plante *Astragalus gombo*

Habitat : En pieds isolés ou en petits colonies, dans les terrains sablonneux.

Répartition : Assez commun dans tout le Sahara. Endémique.

Période de végétation : Floraison en mars-avril.

Utilisation :

-Intérêt pastoral c'est un excellent pâturage pour le dromadaire(CHEHMA, 2005).

-Les huile essentielle d'*Astragalus gombo* renferment quelques composés actifs comme le γ -terpinène possédant une activité antioxydante et l' α -pinène, le camphène et le terpinène-4-ol possédant des activités antibactérienne et anti-inflammatoire(TEYEB ET AL., 2012).

IV. les microsymbiotes

IV.1 Généralité

La symbiose légumineuse-*Rhizobium*, décrite pour la première fois par FRANK (1889), présente un modèle d'étude d'association entre eucaryote et procaryote. Elle constitue une association extrêmement importante du point de vue écologique et agronomique. La symbiose se traduit chez la plante-hôte par la formation de structures différenciées et spécialisées, appelées nodules ou nodosités(RAJAONARIMAMY, 2010), c'est un organe engendré par l'interaction entre une bactéries symbiotique fixatrice d'azote et une racine vascularisé, cet organe abrite les symbiotes bactériens, leur assure les conditions nécessaire à l'activité fixatrice d'azote et favorise les échanges nutritifs entre les partenaires(GOBAT, 2010).

IV.2 Les rhizobia

Le terme de *Rhizobium* a été utilisé en premier pour désigner ces bactéries formant des nodules sur les légumineuses. Du grec, “ Rhizo ” = racine et “ bium ” = vivant. Les bactéries fixatrices d'azote associées aux légumineuses ou BNL, sont des bactéries strictement aérobies, Gram négatives, mobiles, non sporulées(RAJAONARIMAMY, 2010). Caractérisées ensuite par leur vitesse de croissance, des souches à croissance rapide du genre *Rhizobium* sont différenciées de souches à croissance lente du genre *Bradyrhizobium*. Plus tard, le genre *Rhizobium* sera subdivisé en 3 genres : *Rhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*. L'introduction de la taxonomie numérique et de techniques moléculaires, a permis de décrire de nouveaux genres et de nouvelles espèces de bactéries capables de noduler les Légumineuses(DOMERGUE, 2006). A partir de là, la classification des rhizobia évolue chaque année(Tab 1.2).

IV.3 Classification des rhizobia

Tableau 1.2: Classification des rhizobia (GRAHAM, 2008).

Classe : **Alphaproteobacteria**

Ordre : **Rhizobiales**

Famille : ***Rhizobiaceae***

Genre	Espèces	Plante hôte
<i>Allorhizobium</i>	<i>A. undicola</i>	<i>Neptunia natans</i>
<i>Azorhizobium</i>	<i>Az. Caulinodans</i> <i>Az. Doeberineriae</i>	<i>Sesbania rostrata</i> <i>Sesbania virgata</i>
<i>Blastobacter</i>	<i>B. denitrificans</i>	<i>Aeschynomene indica</i>
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. eikanii</i> <i>B. jaboricum</i> <i>B. liaoningense</i> <i>B. canariense</i> <i>B. yuanmingense</i>	<i>Glycine max</i> <i>Glycine max</i> <i>Glycine max</i> <i>Lupinus, Chamaecytisus</i> <i>Medicago, Melilotus</i>
<i>Dovosia</i>	<i>D. nepyuntiae</i>	<i>Neptunia natans</i>
<i>Mesorhizobium</i>	<i>M. amorphae</i> <i>M. chacoense</i> <i>M. ciceri</i> <i>M. huakuii</i> <i>M. loti</i> <i>M. mediterraneum</i> <i>M. plurifarium</i> <i>M. rianshanense</i> <i>M. septentrionale</i> <i>M. temperatum</i>	<i>Amorpha fruticosa</i> <i>Prosopis alba</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>Astragalus sinicus, Acacia</i> <i>Lotus coniculatus</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>Acacia leucaena</i> <i>Glycyrrhiza, Sophora, glycine</i> <i>Astragalus adsurgens</i> <i>Astragalus adsurgens</i>
<i>Methylobacterium</i>	<i>M. nodulans</i>	<i>Crotalaria, Pedocarpa</i>
<i>Ralstonia</i>	<i>R. taiwansis</i>	<i>Mimosa</i>
<i>Rhizobium</i>	<i>R. etli</i> <i>R. galegae</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> <i>Galega orientalis</i>

<i>R. gallicum</i>	<i>P. velgaris, leucaena, Onobrychis</i>
<i>R. giardinii</i>	<i>P. velgaris, leucaena, Desmenthus</i>
<i>R. hainanense</i>	<i>Centrosema</i>
<i>R. huautlense</i>	<i>Desmoduim, stylosathes</i>
<i>R. indigoferae</i>	<i>Indigofera</i>
<i>R. leguminosarum</i>	<i>Stylosanthes</i>
<i>R. mongolense</i>	<i>Tefrosia</i>
<i>R. phaseoli</i>	<i>Sesbania herbaceae</i>
<i>R. sullae</i>	<i>Hedysarum coronarium</i>
<i>R. tropici</i>	<i>P. vulgaris, Leuceana</i>
<i>R. trifolii</i>	<i>Trifolium</i>

V. Structure et morphologie de la nodule

Les nodules des fabacées présentent une structure similaire à celle d'une tige avec des tissus vasculaires périphériques qui se raccordent à ceux de la racine et une zone centrale infectée par les rhizobia. De la périphérie vers l'intérieur du nodule, on trouve :

- Le cortex externe constitué en majorité par des cellules parenchymateuses.
- Le cortex moyen
- Les tissus vasculaires constitués surtout de phloème et entourés par un endoderme et un péricycle.
- Le cortex interne formé d'une à trois couches de cellules
- Le parenchyme central qui contient les cellules infectées par les rhizobia et des cellules non infectées plus petites (SVISTOONOFF, 2003).

Dans la famille des légumineuses, la morphologie des nodules et le type de nodosité développée est déterminé par la plante hôte. Deux types majeurs de nodosités sont souvent distingués en se basant sur l'existence ou non du méristème persistant (fig 1.5) (DHANE FITOURI, 2011). Dans tous le cas, le nodule comporte, en allant de l'extérieur vers l'intérieur, l'épiderme et le cortex externe, le parenchyme nodulaire (appelé antérieurement cortex interne), qui renferme le tissu vasculaire et la zone centrale infectée, qui est le siège de la fixation de N_2 (DOMMERGUES et al., 1998).

- **Nodule déterminé**

Chez les légumineuses comme le soja, l'organogenèse nodulaire débute par des divisions des cellules corticales externes de la racine. Les cellules du cortex interne participe ultérieurement à la connexion des faisceaux conducteurs entre la racine et le nodule. Ces nodules perdent leur activité mitotique à un stade précoce de leur développement ; ils ont une croissance déterminée et sont généralement de forme sphérique ou subsphérique : ils sont appelés nodules déterminés (DOMMERGUES *et al.*, 1998).

- **Nodule indéterminé**

Chez les espèces à nodules indéterminés, les divisions cellulaires ont lieu au niveau du cortex interne, la zone méristématique qui produit le nodule est persistante. De ce fait, ces nodules ont une croissance indéfinie, ce qui se traduit par une forme allongée. L'infection par les cordons d'infection a lieu à partir de la base du nodule, ce qui établit un gradient de différenciation et plusieurs zones ont pu être définies (SVISTOONOFF, 2003). Cela résulte en une forme cylindrique de la nodosité. Ces nodosités sont connues chez les légumineuses des zones tempérées (Sulla, Pois, *Vicia sp.*, *Medicago sativa* L., etc...) (DHANE FITOURI, 2011).

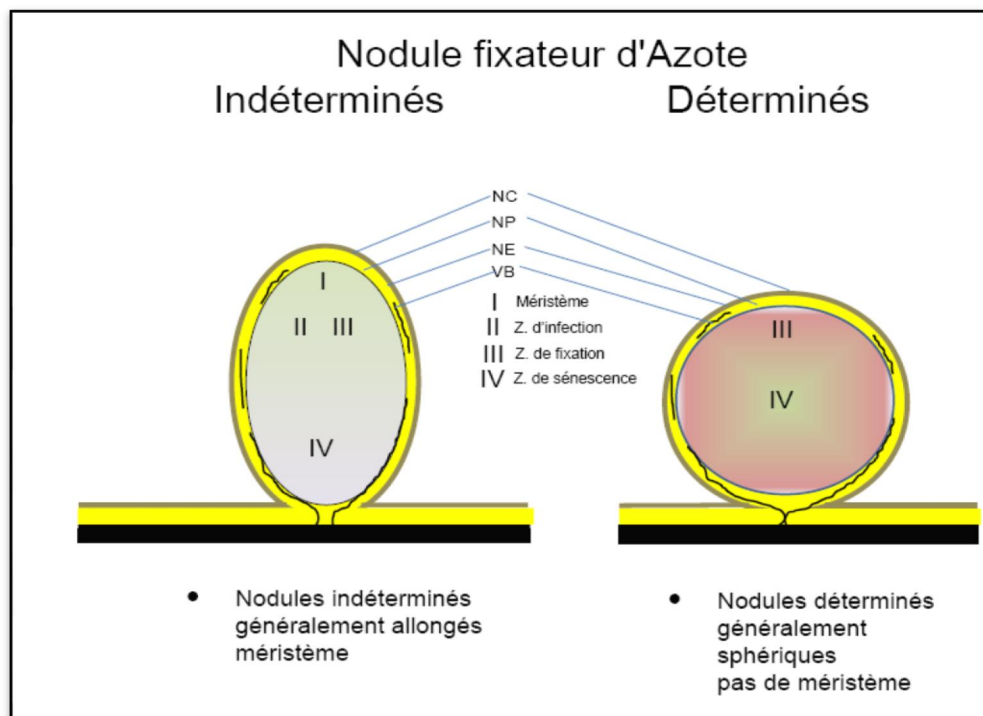


Figure 1.5: Représentation des deux types de nodules matures (VERNIE, 2008).

NC :cortex nodulaire, NP :parenchyme nodulaire, NE :endoderme de la nodule, VB :faisceau vasculaire.

VI. L'inoculation

Comme pour toute forme d'agriculture, l'objectif premier de la fertilisation des cultures en bio est de permettre la réussite de la culture. En agrobiologie, la définition de ce qu'est la réussite peut toutefois différer de façon importante des standards conventionnels.

Par exemple, comme en agriculture conventionnelle, le rendement des cultures est un des éléments importants de la réussite (PETIT et JOPIN, 2005).

La qualité biologique des sols fait référence à l'abondance, la diversité et l'activité des organismes vivants qui participe au fonctionnement du sol. Plus précisément, dans une perspective agronomique, on peut considérer que la qualité biologique des sols est formée de composants principales comme la fertilité : c'est la capacité d'un sol à répondre aux besoins de la plante, notamment à travers l'activité des nombreux micro-organismes participant aux cycles bio géochimiques ou aux symbioses racinaires (CHAUSSOD, 1996).

Pour que les légumineuses puissent tirer de l'azote de l'aire, il faut donc que le sol contienne une quantité suffisante des espèce de bactéries utiles, bonnes pour le groupe auquel la légumineuse appartient. Si le sol ne contient pas ces bactéries, il est bon de les ajouter, ou en d'autres termes, d'inoculer (GARDINER, 1940). L'inoculation est une technique simple. Elle consiste à enrober les semences avec de l'inoculum, support organique contenant des souches de BNL sélectionnées pour leur grande efficacité est une des approches pour améliorer la fixation biologique d'azote (NDEYE FATOU, 2002).

L'inoculation des semences de légumineuses est une pratique devenue courante. Toutefois, on s'est aperçue que dans certains cas les inoculum enrobant les semences avaient un effet très fugace. La fragilité des bactéries à certaines conditions de milieu ou à certaines méthodes de semis ont poussé les chercheurs à trouver un moyen de protection efficace. Ce moyen consiste à recouvrir la graine inoculée.

Les avantages de cette méthode peuvent être résumés dans les points suivants :

- a. Neutralisation de l'acidité du sol ou de l'engrais ou des deux dans le microenvironnement des semences permettant une survie accrue des BNL.
- b. Le semis aérien des semences inoculées devient une opération pratique beaucoup plus efficace. La mort presque complète des bactéries de l'inoculum était fréquemment constatée dans le cas de semis aérien, la graine et l'inoculum n'étant pas suffisamment protégés,

c. En cas de retard entre l'inoculation et le semis, une augmentation dix fois plus importante de la survie des bactéries sur des semences enrobées est constatée. On peut conserver ces semences pendant une semaine avant de les utiliser.

d. Une nodulation plus rapide et plus complète surtout lorsque les pluies tardent à venir et que les semences restent dans le sol sans pouvoir germer(ANONYME, 1996).

VII. Les types d'inoculum

Il existe de nombreux inoculum commerciaux peuvent être poudreuse, granuleuse, ou encore liquide, La méthode la plus conventionnelle de l'inoculation est l'application directe sur les semences(DHANE FITOURI, 2011) .

➤ Inoculum en poudre :

Ce le type le plus commercialisé. La culture de BNL est mélangé à un support finement broyé. La tourbe non acide reste le meilleure des support, mais divers produit organiques ou minéraux peuvent être employé pour la remplacer ; il faut vérifier la survie des bactéries sur ce support.

➤ Inoculum granulé :

Ce produit est constitué par des microganules obtenus à partir d'un inoculum en poudre aggloméré ave des paillettes d'argile, localisé dans la raie de semis.

➤ Inoculum liquide :

L'inoculum constitué par la culture liquide qui est diluée au moment de l'emploi. Ce produit doit être conservé à 4°C. Les BNL ont une mauvaise survie sur la graine. Il peut être ajouté aux graines avant semis au appliqué directement dans le raie de semis(OBATON, 1989).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

I. Présentation de la région d'étude

I.1 Situation géographique des régions : les échantillons ont été prélevés des régions suivantes :

- **Batna**

La Wilaya de Batna se trouve localisée dans la partie orientale de l'Algérie d'une Superficie de 12.038,76 kms², La wilaya de Batna est située au Nord-Est de l'Algérie, dans la région des Aurès. Elle est délimitée :

au Nord, par la wilaya de Mila ; au Nord-Est, par la wilaya d'Oum-El-Bouaghi ; à l'Est, par la wilaya de Khenchela, au Sud par la wilaya de Biskra ; à l'Ouest, par la wilaya de M'Sila ; au Nord-Ouest, par la wilaya de Sétif(ANONYME, 2013).

- **Biskra**

La wilaya est située au centre-Est de l'Algérie aux portes du Sahara. s'étend sur une superficie de 21 671Km² Elle est limitée par les wilayas suivantes :

Batna au Nord. M'Sila au Nord- Ouest. Khenchela au Nord- Est. Djelfa, El Oued et Ouargla au Sud(ANONYME, 2013).

- **El Oued**

La Wilaya d'El Oued est située au Sud-Est de l'Algérie, elle a une superficie de 44586.80Km². La wilaya d'El Oued est délimitée: au Nord, par les wilayas de Tébessa et Khenchela et au Nord-Ouest par la wilaya de Biskra; au Sud et au Sud-Est par la wilaya de Ouargla et à l'Est par la Tunisie(ANONYME, 2013).

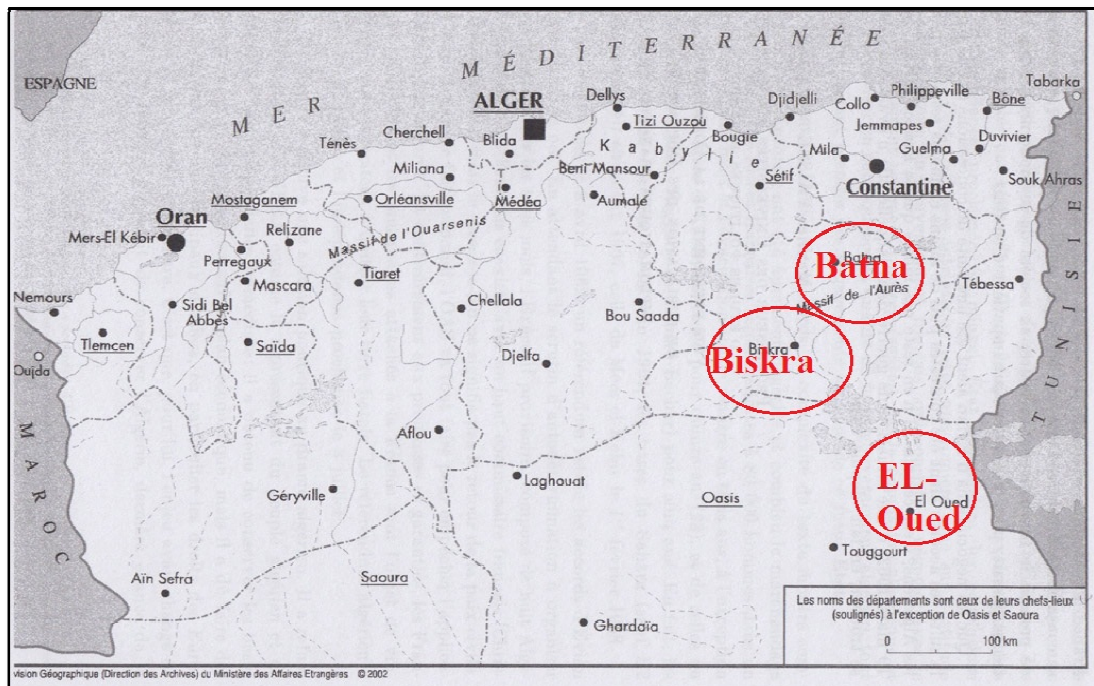


Figure 2. 6 : Les willayas des Batna, Biskra et EL-Oued dans la carte de l'Algérie.
(WWW.googl.dz/search-tarakicclub.org)

II. L'échantillonnage

II.1 Les sols

Le sol utilisé pour cette étude a été prélevé de la couche superficielle à 15cm de profondeur, puis déposé dans des sachets en plastique (fig 2. 7).



Figure 2.7: Les étapes du prélèvement des échantillons.

On a prélevé 07 échantillons du sol selon le tableau 2. 3:

Tableau 2. 3 : Les échantillons de sol

Wilaya	N° Echantillons	Station
Batna	1	Tamara
El-oued	2	Reguiba
Biskra	3	Choucha
	4	Ain ben noui
	5	El hadjeb
	6	Ain el karma
	7	Manbaâ el ghozlane

II.2 Matériel végétal(Semences)

Les graines des espèce d'*Astragalus gombo* utilisées pour la production de plantules récoltées pendant les mois de Février et Mars sur le même site d'échantillonnage de sol du station de choucha(fig 2. 8).

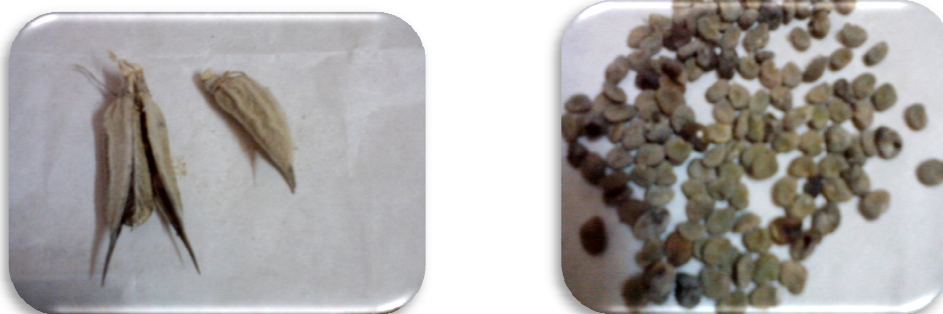


Figure 2.8 : Les gousses et les graines des *Astragalus gombo*.

III. Les analyses physico-chimiques des sols

III.1 pH

Le pH du sol a été mesuré avec un rapport terre/eau(1/2,5) par la pesée de 20g du sol dans 50ml d'eau distillée en agitant pendant 5min avec un agitateur magnétique, après un repos de 15min, on filtre et on mesure le pH avec un pH mètre(fig 2. 9)(MATHIEU ET PIELTAIN,2003).

III.2 La conductivité électrique(CE)

La C.E a été calculé avec rapport terre/eau(1/5) en melangeant 10g de sol et 50ml d'eau distillée dans un bécher, Après 15min, on filtre puis on mesure la conductivité à l'aide de conductimètre(ms/cm)(fig 2. 9)(CARRIER,2003).

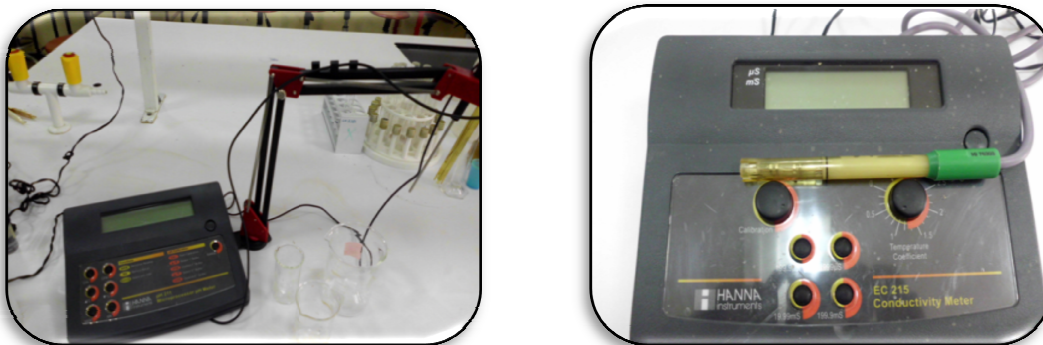


Figure 2. 9 : Le pH mètre(PH 211Microprocessor PH Mètre) et La conductimètre(EC 212 conductivité mètre).

III.3 Dosage de sodium(Na) et potassium(K) (Méthode de photomètre à flamme)

Le dosage de sodium et de potassium sont effectuée à partir de 20g du sol passé au tamis de 2mm dans un bécher de 500ml contenant 100ml d'eau distillée avec agitation pendant 2h, après un repos d'une heure, on passe à la filtration(fig 2. 10).

- Les gammes d'étalonnage :

III.3.1 Les sodium

Prélever la solution mère de concentration 1000ppm par addition de 2,54g de NaCl dans 1L d'eau distillée, à partir de cette solution mère faire venir des solution de 100ml à la concentration suivants :10, 20, 40, 60, 80, 100.

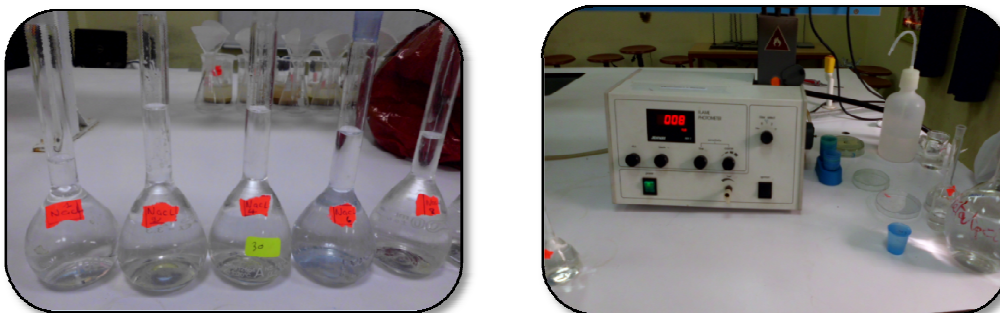


Figure 2. 10: Dosage de Na est réalisé à l'aide d'un photomètre à flamme(JENWAY RFP7).

III.3.2 Les potassium

Prélever la solution mère de concentration 1000ppm par addition de 1,19g de KCl dans 1L d'eau distillée et préparer des solution à concentration :5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40.

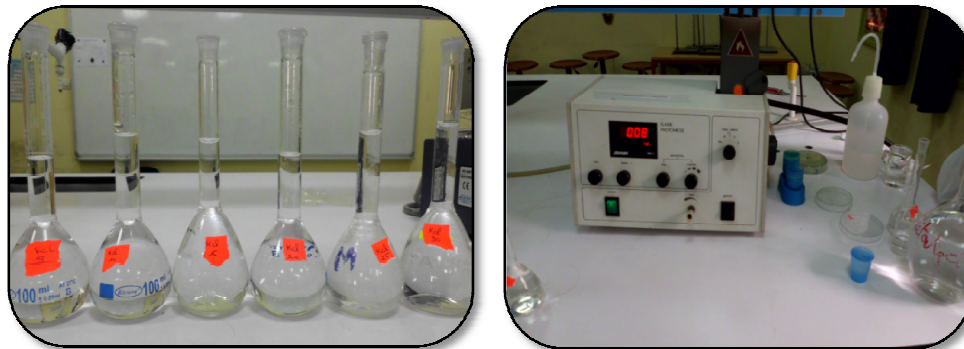


Figure 2. 11 : Dosage de K est réalisé à l'aide d'un photomètre à flamme(JENWAY RFP7).

III.4 Dosage du calcaire totale (Selon AFNOR)

En utilisant le calcimètre de Bernard à tube gradué de 100ml. 1g de sol à été introduit dans l'erlenmeyer de calcimètre. Après remplissage de tube avec HCl et introduction avec précaution dans l'erlenmeyer, ont lit le volume V_1 après la stabilisation du volume de gaz carbonique dégagé. Dans les même conditions et avec les même réactifs procéder à un prise d'essai de 0,2g de CaCO_3 à la place de sol. Noter le volume V_2 de gaz carbonique dégagé (MATHIEU et PIELTAIN,2003).

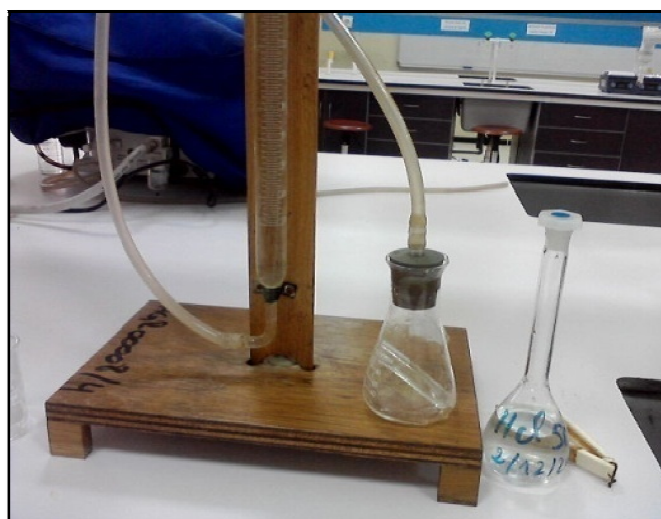


Figure 2. 12 : Méthode de manipulation du dosage de calcaire totale.

Le calcule du pourcentage de CaCO_3 se fait selon la formule suivante :

$$\text{CaCO}_3\% = (V_1 \times 0,2 / V_2 \times P) \times 100$$

V₁ : Volume de gaz carbonique dégagé(sol)

V₂ : Volume de gaz carbonique dégagé(témoin CaCO₃)

P : Poids de sol utilisé

0,2 : Poids de CaCO₃

III.5 Dosage du calcaire actif (Méthode de DROUINEAU-GALET)

Pour calculer le pourcentage de calcaire actif du sol on suit les étapes suivantes :

- introduire dans un flacon de 250 ml 1g de terre fine, ajouter 100 ml de la solution d'oxalate d'ammonium 0,2N.
- Agiter pendant 2h à l'aide d'un agitateur rotatif,
- filtrer la solution dans un bécher (reprandre les premiers ml du filtrat et les refiltrer);
- prélever 20ml de la solution d'extraction, verser dans un bécher ajouter 100 ml d'eau distillée puis 5 ml de H₂SO₄ concentré;
- chauffer sur une plaque chauffante entre 60 et 80°C;
- Titrer avec la solution de permanganate jusqu'à la coloration rose persistante;
- Répéter les opérations en prélevant 20 ml de la solution d'oxalate d'ammonium (fig 2. 13) (MATHIEU et PIELTAIN, 2003).

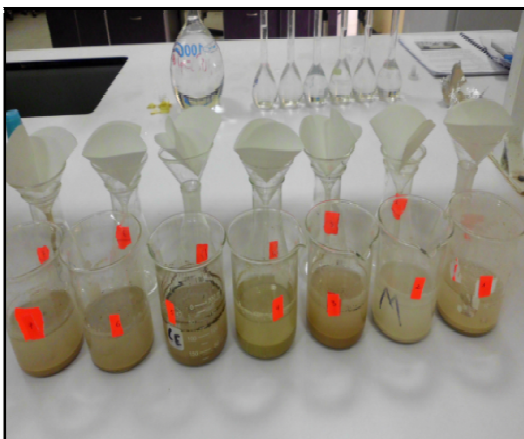


Figure 2. 13: Méthode de manipulation du dosage de calcaire actif.

$$\text{CaCO}_3\% = 5 \times (N - n)$$

n : volume de KMnO_4 utilisés pour les échantillons

N : volume de KMnO_4 utilisés pour le témoin

III.6 Phosphore assimilable(Méthode de JORET-HEBERT)

- **Extraction :**

Peser 4g de terre broyée, introduire dans un flacon ajouter 100 ml de la solution d'oxalate d'ammonium, agiter pendant 2h puis filtrer.

- **Dosage :**

Le dosage sont effectués sur un volume de 10 ml dans des tubes à essai, l'addition de réactifs se fait comme suit :

1,5 ml de prise d'essai, 2 ml de réactif sulfomolybdique, 6,5 ml de solution d'acide ascorbique homogénéiser les solutions, chauffer au bain-Marie pendant 10 à 12 min. Laisser refroidir et lire au spectrophotomètre à 650 nm.



Figure 2. 14 : Méthode du calcul de la concentration du phosphore

A l'aide de spectrophotomètre(UVmini1240)


$$\text{Ppm}(\text{P}_2\text{O}_5) = X \cdot U \cdot V / P \cdot v = (X/6) \times 1000$$

Soient :

X : concentration lue sur la graphe

U : volume de solution utilisée

v : volume de la prise d'essai

V : volume de la solution d'extraction

P : poids de la prise d'essai

IV. Germination des graines

- La surface des graines est stérilisée par immersion durant 10min dans de l'acide sulfurique concentré(98%).
- Elles sont rincées 5 fois à l'eau distillée stérile,
- Laisser les graines une nuit dans le réfrigérateur pour absorber, rincer avec deux fois avec l'eau distillée.
- Les graines sont mises en germination dans de boîte de Pétri contenant de gélose nutritive, enveloppées avec du papier d'aluminium et incubées à température ambiante pendant 3 à 4 jours.
- Les graines ayant une radicule d'environ 0,5 cm (fig 2. 15) ont été transférées aseptiquement dans des pots, à raison des trois graine par pot(SOMASEGARAN et HOBEN, 1994).

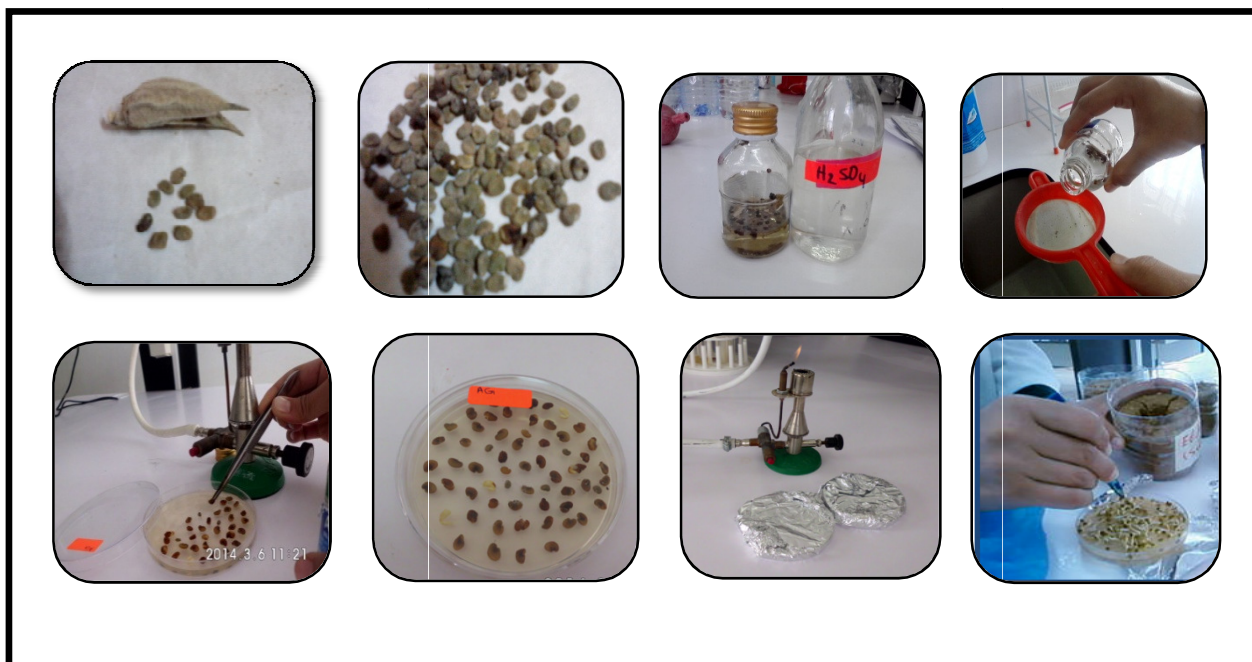


Figure 2. 15 : Les étapes de germination respectivement.

V. Source des souches

Les souches sont isolés au niveau du laboratoire de SNV à Elhadjeb- Biskra par Bougassba Affaf. Les souches étant conservés au réfrigérateur à 4°C dans des tubes contenant de gélose inclinée.



Figure 2. 16 : Les souches de rhizobium utilisée dans cette étude.

VI. Préparation de l'inoculum

Selon SOMASGARAN et HOBEN(1994) le milieu de culture utilisé est Yeast-Mannitol Broth (YMB)(**Annexe**).

Dans cette étude , deux souches sont utilisées(S1, S2) pour la production d'inoculum, A l'aide d'un anse de platine les isolats repiqués dans des tubes contenant 5ml de milieu Tryptone-Yeast(TY) (**Annexe**). Incubé les tubes pendant 24h à 30°C. Après un jour le liquide devenu trouble, on transvase, avec une micropipette , 1ml de la suspension bactérienne dans des flacons contenant le milieu YMB stérile, puis incubé les flacons pendant 72h à 30°C.

VII. L'inoculation des graines

L'ordre de l'opération consiste à semer d'abord les pots ne recevant pas l'inoculum (Témoin), ensuite en passe à la manipulation des inoculum(isolats S1, S2), on inoculées les pots avec 1ml de la suspension bactérienne en phase de sa croissance dans les flacons (milieu YMB), en se lavant les mains après chaque opération. Enfin la partie supérieure des pots est couverte avec du papier d'aluminium pour éviter toute exposition des racines à la lumière, les pots sont placés dans une serre.

Après pendant deux mois, les plantes sont déterrées, examinées pour la présence des nodules placées dans sacs en plastique.

Au laboratoire, les plantes sont bien lavées à l'eau courantes, puis les racines soumis à l'examen à l'œil nu pour observer les résultats de la nodulation.



Figure 2.17 : Les étape de l'inoculation des graines.

Chapitre 3

Résultats et Discussion

I. Résultat des plantes :

Suite de deux mois de plantation et à partir de 21 pots, seulement 07 pots ont donné un résultat positif. Ces dernières sont regroupés dans le tableau 3. 4.

Tableau 3.4 : les résultats de plantation et nodulation de la plante *A. gombo* dans la différents station

station	pots	Témoin	Souche 1	Souches 2
Tamara		-	+ ++	+ ++
Réguiba		+ ++	+ ++	-
Choucha		-	+ ++	+
Ain ben noui		-	-	+
El-hadjeb		-	-	-
Ain el karma		-	-	-
Manbaâ el ghozlane		-	-	-

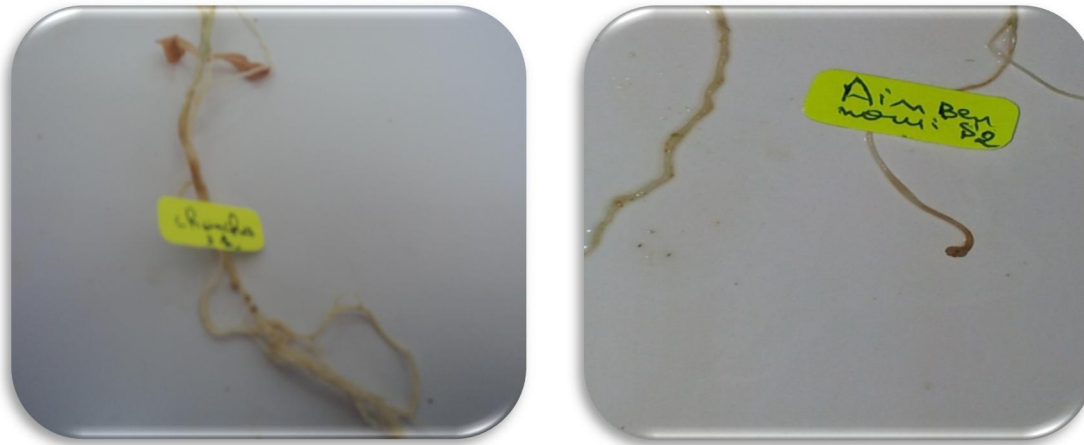
(+) : résultat positif présence de plantule.

(-) : résultat négatif absence de plantule.

(++) : présence de nodule.



Figure 3.18 : Les résultats positif (présence de nodules)



Choucha S2

Ain bennoui S2

Figure 3.19: Les résultats négative(absence des nodules)

Tous les résultats positifs sont révélées par la présence des nodosités sur les racines d'*A. gombo* sauf dans les plantes inoculées par S2 de sol de Ain ben noui et Choucha.

La présence des nodules chez le témoin de Réguibia(fig 3.18) a révélée l'existence des souches de *Rhizobium* spécifique à la plante dans ce sol. Les pots de Reguibia inoculés avec le S1 ont été nodulés(fig 3. 18)

Le nombre de nodule est très faible et localisé dans la racine principale, par ailleurs les plantes inoculées ont répondu très positivement à l'inoculation. Pour les plantes inoculées avec S1 et S2 dans le sol de Tamara, Reguibia et Choucha.

Les résultats de Tamara et Choucha confirment l'occupation des plantes par les souches testées car les témoins ont répondu négativement.

Les résultats obtenus correspondent avec ceux obtenus par MAKO et *al.*(2010), qui supposent que le taux de nodulation est très élevée dans les parcelles inoculées que dans les parcelles témoins.

Le fait de trouver des nodules dans les pots témoins et les pots inoculés de Reguibia, nous oblige à faire des tests pour différencier entre les rhizobies existantes dans le sol et les rhizobies inoculés c'est-à-dire, est-ce que la plante inoculée avec la S1, est nodulée par la souche propre du sol de Réguibia ou la S1. Cela est permis par des études de la biologie

moléculaire ex :(Analyse de séquençage 16s) malheureusement cela n'est pas disponible au niveau de notre laboratoire.

II. Résultat des analyses physico-chimiques du sol

Après la mesure des paramètre physico-chimiques de chaque échantillon du sol, on a trouvé les résultats suivants :

II.1 pH

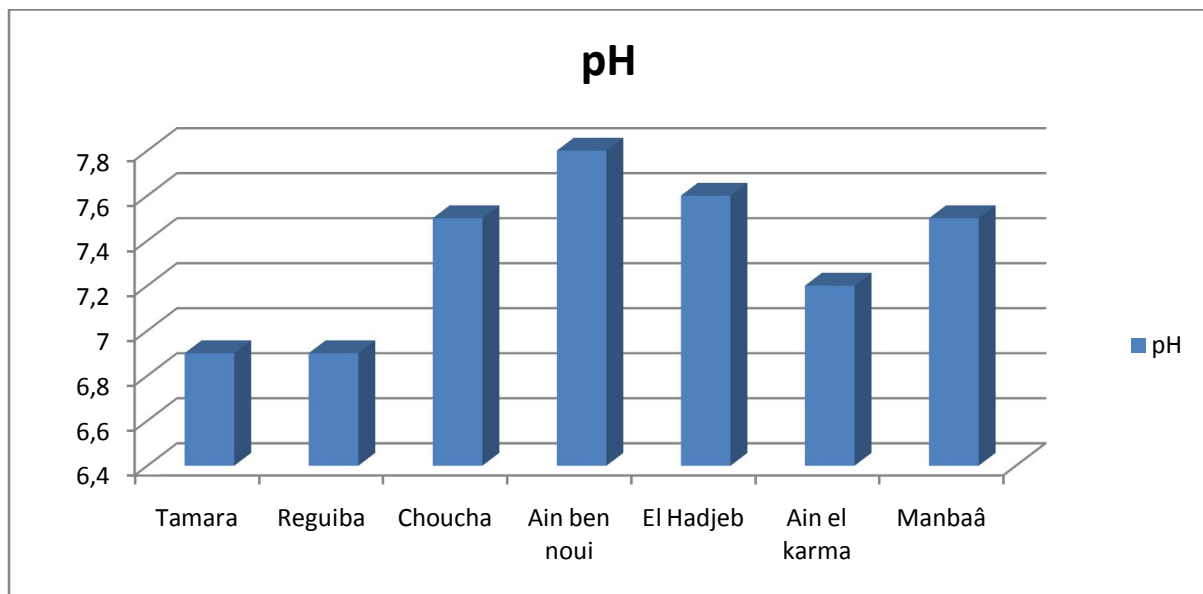


Figure 3. 20: Variations du pH des sols du régions d'étude.

En générale, le pH des régions d'étude est très proche donc selon le norme d'interprétation du BAIZE(1988), le pH de tous les échantillons est neutre, il varie de 6.5 à 7.5 sauf les deux échantillons de Ain ben noui et El-hadjeb caractérisés respectivement par du sol basique avec du pH 7.5 à 8.7.

Les résultats obtenus montre que le pH neutre se rencontre dans les régions de Tamara, Réguiba et Choucha où on a observée une poussée et une croissance rapide d'*A. gombo* et une présence des nodosités sur leurs racines. Contrairement au sol d'Ain ben noui ayant un pH basique conduisant à l'absence des nodules. Il est signaler que le pH a un effet sur la fixation symbiotique de l'azote.

Cette étude est en accord avec l'étude du DOMMERGUES et MONGENOT(1970), qui rapporte que le pH neutre ou légèrement alcalin est plus favorable au phénomène de la nodulation et de la fixation d'azote.

WOLIGORO et TETU(2008) ont montré l'influence de pH sur la nodosité en indiquant que l'activité des rhizobia est différente selon le climat et le pH. Dans les zones tempérées, la nodulation est plus active sur les sols neutres ou légèrement acides, et il y a une baisse de nodulation sur les sols acides.

II.2 La conductivité électrique

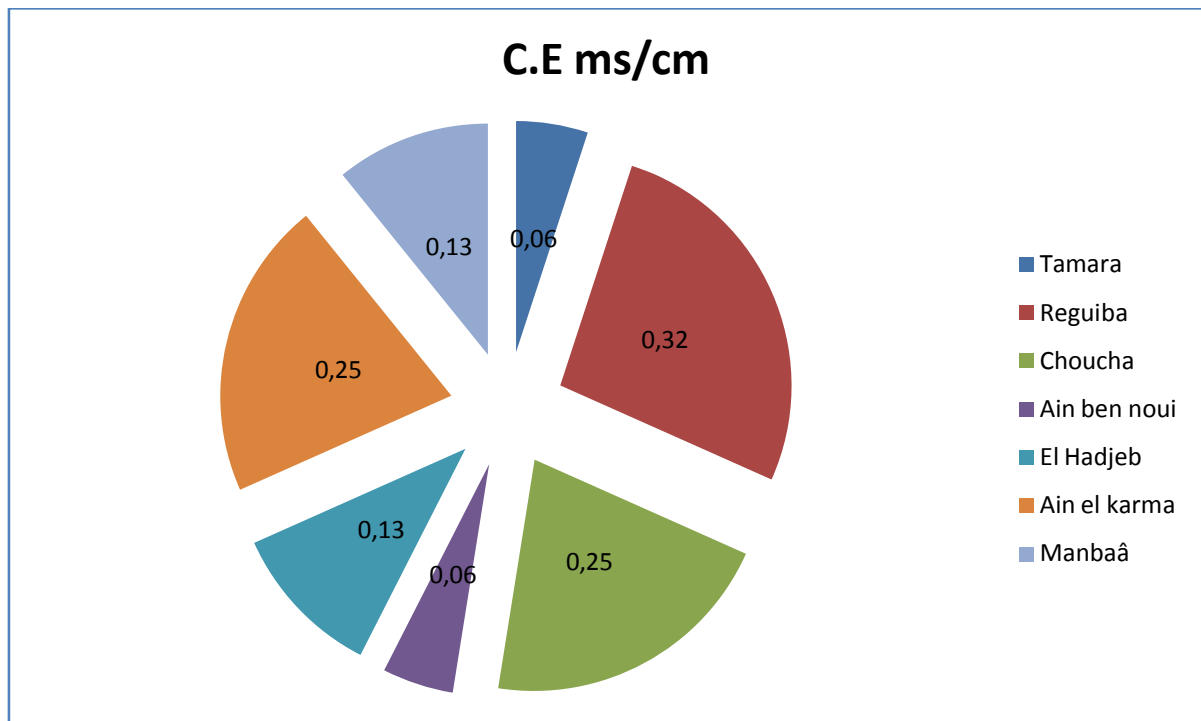


Figure 3. 21: Variation du conductivité électrique des région d'étude.

D'après les résultats consignés dans le secteur si- dessus, on peut dire que la salinité des sols varie de 0.6 jusqu'à 0.32 ms/cm (valeur maximale à Reguiba ayant enregistré une nodulation). De la norme d'interprétation des mesures de la salinité du sol (AUBERT, 1978), les sols des régions d'étude sont non salés, qui donc ces sont des sols pauvre en minéraux. Ainsi KHABTONE (2010) a rapporté que les sols sont salés si la CE est supérieur à 02.

II.2 Le sodium et Le potassium

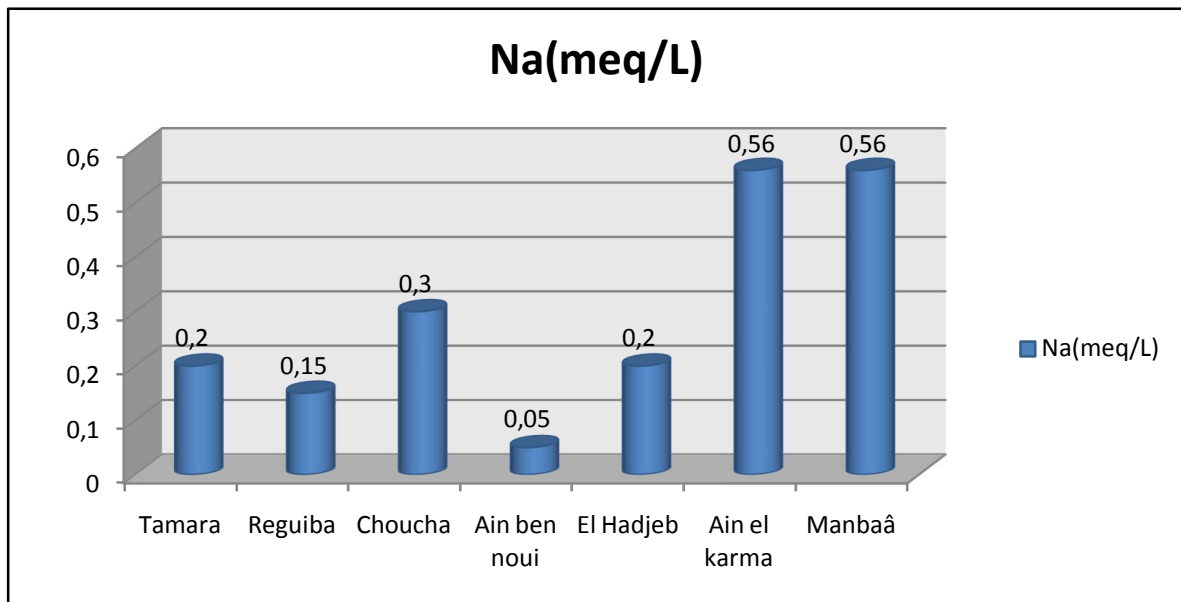


Figure 3. 22: Dosage de sodium dans les régions d'étude.

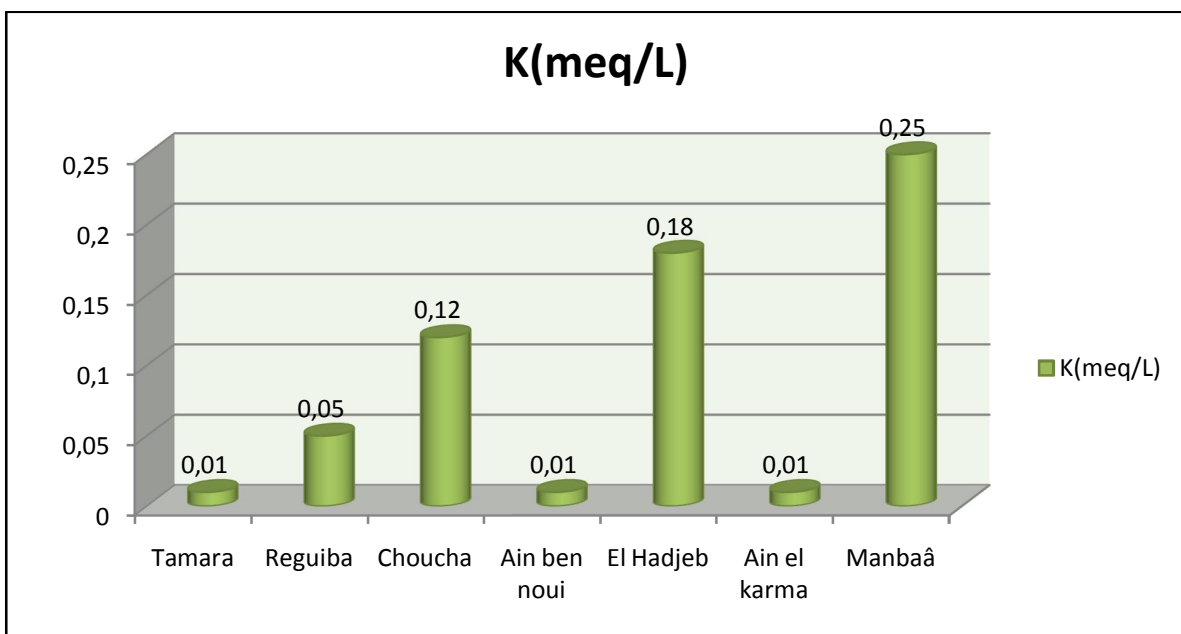


Figure 3. 23: Dosage de potassium dans les régions d'étude.

La concentration de sodium et de potassium est différente dans nos échantillons. On remarque que la concentration de sodium est relativement élevée dans les sols de Ain el karma et Manbaâ, et elle varie de la plus faible 0.05 à Ain bennoui jusqu'à 0.30 à Choucha, par contre la concentration de potassium est basse sauf les échantillons d'El hadjeb et Manbaâ enregistrant des concentrations élevées qui sont respectivement 0.18 et 0.25. Selon l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) les concentrations de Na et K ont un

rôle d'accroître la quantité de sels dans les sols et leur teneur dépendent a de types d'argile de chaque sol(ROLAND, 2013).

La conductivité électrique est un indice de la teneur de la solution de sol en éléments minéraux, et elle exprime approximativement la concentration des sels solubles dans les sols. A partir de la concentration des sels minéraux dans les sols étudiés qui est relativement élevée au niveau de sol d'Elhadjeb, Ain el karma et Manbâa, ayant de concentrations de sodium et potassium élevés. Cela probablement à influence sur la nodulation des plantes dans les échantillons du sol et sur la croissance de plantes(pots vides aucun croissance).

selon ROPERT(1960), la présence de concentration élevé des sels dans la solution du sol peut être liée à la pression osmotique élevé et empêche les plantules de s'alimenter en eau où les racines ne peuvent tirer l'eau du sol dans la quelle les éléments nutritifs se trouvent solubilisés. Contrairement aux sols de Tamara, Réguiba et Choucha et Ain bennoui qui présentent de sol non salé avec une faible teneur en sels minéraux, c'est pour ça on a observe une croissance des plantes et présence des nodosités sur la plupart des racines. Ces résultats se concordent à l'étude de SINHA(1980), montrant que le stress salin inhibe la croissance des micro-organismes et en générale inhibe la nodulation.

Ainsi WOLIGORO et TETU(2008) montre que le stress salin affecte à la fois les population rhizobienne et les légumineuses hôtes. La formation des nodules est extrêmement sensible à la présence de NaCl par réduction des sites d'infection de la racine et du nombre de poils absorbants.

II.4 Calcaire totale

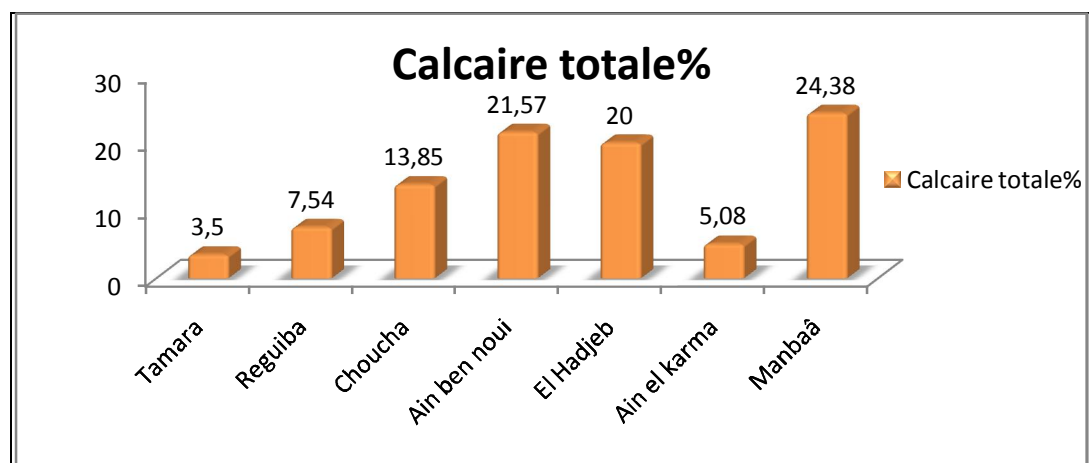


Figure 3. 24: Pourcentage du calcaire totale dans les régions d'étude.

Nous constatons selon les résultats consignés dans le graphique(fig 3.22), que la teneur du carbonate de calcium des sols oscille entre 5.8 et 24.38%, d'après les normes de BAIZE(2000)(Tabl 3.5) ces résultats signifient un sol modérément calcaire(5 à 25%), sauf la région de Tamara, qu'on peut déduire que c'est un sol peu calcaire entre(1 à 5%).

Le calcaire joue un rôle important non seulement dans la nutrition des plantes mais aussi dans la pédogénèse de sol.

Tableau 3. 5 : Normes d'interprétation du taux du calcaire totale du sol BAIZE(2000)

Taux du calcaire%	Appréciation
< 1	Non calcaire
1 à 5	Peu calcaire
5 à 25	Modérément calcaire
25 à 50	Fortement calcaire
50 à 80	Très fortement calcaire
>80	Excessivement calcaire

II.5 Calcaire actif :

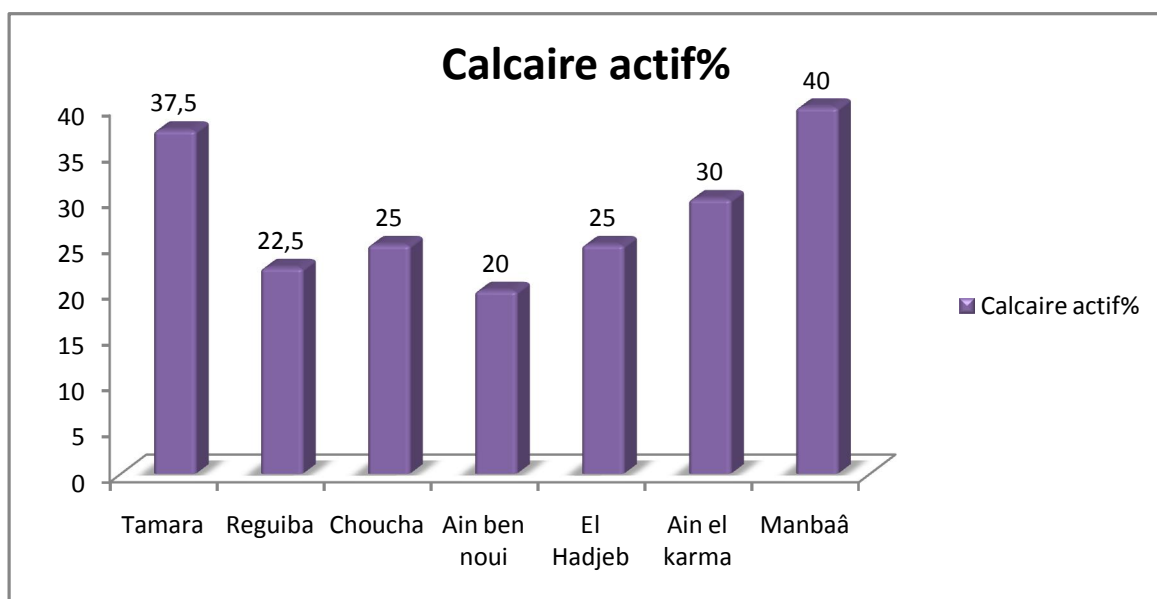


Figure 3. 25: Pourcentage du calcaire actif dans les régions d'étude.

D'après MAIGNIEN(1969), un sol est dit riche en calcaire actif lorsque le taux de ce dernier dépasse 10%, ce qui est enregistré avec tous nos échantillons dont le pourcentage de calcaire actif diffère de 20 - 40%.

II.6 Phosphore assimilable :

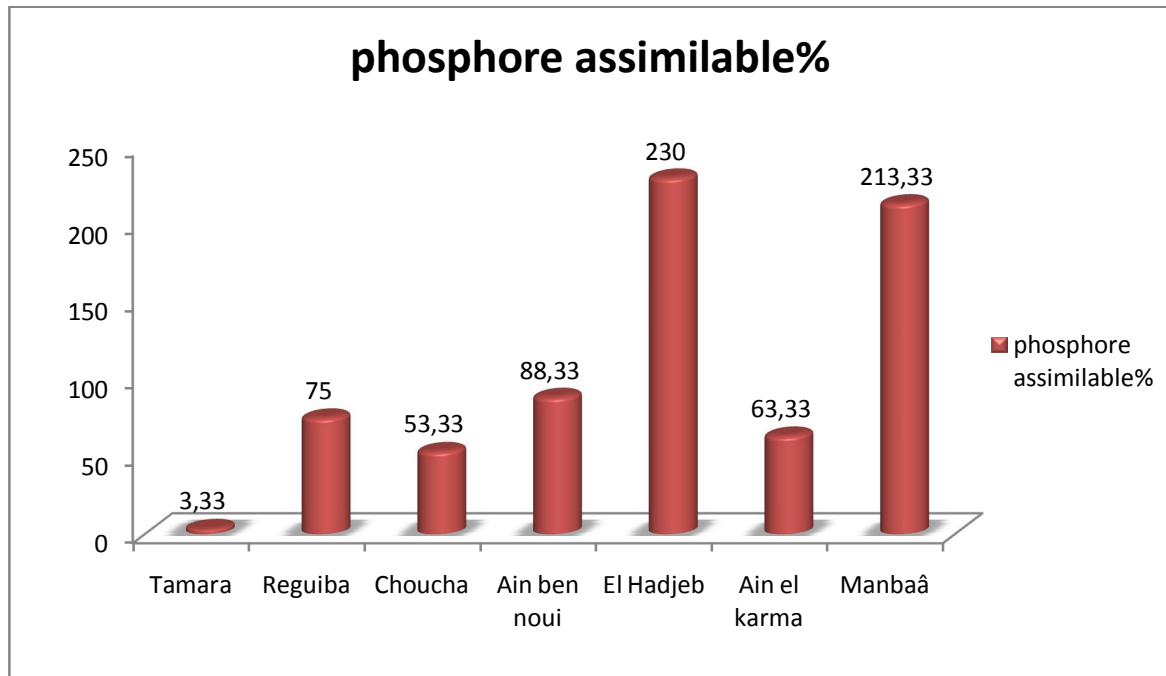


Figure 3. 26 : Les concentrations du phosphore dans les échantillons étudiées.

Les résultats obtenus du dosage du phosphore assimilable par la méthode de «Jorret-Hebert» font ressortir trois niveaux différents de phosphore et ce, d'après la norme d'interprétation habituellement employé dans cette méthode (JORET et HEBERT 1955)

- Niveau élevé pour le sol du El-Hadjeb(230ppm),
- Niveau normal en phosphore pour l'échantillon de Manbaâ El Ghozlan(213,33);
- Et les autres régions étudiées(Tamara, Reguiba, Choucha, Ain ben noui et Ain el karma) caractérisées par un sol très faible teneur de phosphore inférieure à 100 entre(3.33 et 88.33).

D'après TIBAOUI et ZOUAGHI(2003), le phosphore modifie la fixation de l'azote atmosphérique ainsi que le poids des nodule chez de nombreuses légumineuse. L'apport de phosphore sous forme assimilable améliore le développement du système racinaire et l'efficacité de nodule. Une carence en phosphore provoque une accumulation d'acide aminés libres et un ralentissement de la croissance par de diminution de la synthèse protéique.

Ainsi WOLIGORO et TETU(2008) ont montré que certains micro-organismes des légumineuse ont de grandes facultés à mobiliser le phosphore du sol qui va bénéficier à la plante.

Malgré que le taux de phosphore est faible dans les régions Tamara, Reguiba et Choucha on a obtenue une nodulation. Par contre les autres régions enregistrant une grande concentration du phosphore, mais on n'a pas obtenus une nodulation.

D'une façon générale, c'est une première démarche qui doit se répéter les années prochaines, on peut pas arriver à des résultats dès le première test, on est fixé par le temps, c'est pour ça on n'a pas fait une deux ou trois répétition pour arriver à un résultat significatif.

Conclusion

Conclusion

Dans notre étude, nous avons essayé d'envisager l'influence de certains paramètres physico-chimiques du sol des différentes régions et aussi tester l'effet de l'inoculation sur la nodulation de la plante *Astragalus gombo*.

concernant la croissance des plantes étudiées elle a été variable selon la nature du sol. L'absence de plantes dans quelque échantillons peut être expliquer par des conditions défavorables au niveau de l'institut, tel que l'indisponibilité du chambre de culture réglée. La présence des nodules sur la majorité des pots inoculé révèle que le plantes répondu positivement à l'inoculation, surtout pour le sol de Reguiba

Les résultats obtenus suite aux analyses physico-chimique du sol montrent que l'espèce *Astragalus gombo* et les bactéries symbiotiques peuvent s'adapter aux conditions des régions(zones aride et semi aride). En enregistrant un pH neutre ou légèrement alcalin qui est plus favorable à la nodulation.

Les sols salins constituent un environnement défavorable pour les légumineuses. Il est inhibe la nutrition des plantes et ralentissement la circulation de l'eau, qui peut être responsable à l'arrêt du développement de nos espèce au niveau des sols du El-hadjeb, Ain el karma et Manbaâ.

La stress salin influence négativement sur le bactéries symbiotiques et inhibe la formation des nodules par réduction de site d'infection de la racine.

Ainsi les résultats obtenus montre que les légumineuses préfèrent les sol calcaire.

Une forte concentration on phosphore, est enregistré dans les sols d'El-hadjeb et Manbaâ, qui doit favoriser la fixation d'azote marqué par le développement des nodules, mais malheureusement, un résultat négatif est enregistré avec les échantillons du sol de deux régions, il font chercher dans l'avenir la cause.

Enfin ont peut conclure que Les rhizobia sont bactéries naturellement présente dans les sols mais certaines souches sont spécifiques de la légumineuse semée, et la formation des nodules peut être liée a l'adaptation de la plante- hôte et le bactéries avec le milieu.

Cette étude est une première démarche dans l'étude de tester la capacité de la nodulation d'*Astragalus gombo* dans des région aride et semi arides.

Ces tests doivent être confirmés dans l'avenir par des répétitions et pour quoi pas faire le travail directement dans les stations pour mieux exploiter les résultats. Sans oublier de différencier entre les souches indigènes et les souches inoculées par la méthode d'identification.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ALVAREZ G. 2002.** Activité biologique et fertilité des sols.1 édition, ITAB, Paris, p. 132
- ANONYME. 1996.** Technique d'inoculation et enrobage de semences de légumineuses. CIRAD, Canada
- ANONYME. 1998.** Définition du sol. Suisse : De la société Suisse de pédologie
- ANONYME. 2010.** Le sol. France :INTERRG efface le frontières
- ANONYME. 2012.** Les sols vivants. Rôles des matières organiques dans le sol. Maison des agriculture
- ANONYME. 2013.** Invest in Algeria. Willaya d' El-Oued. ANDI
- ANONYME. 2013.** Invest in Algeria. Willaya de Batna. ANDI
- ANONYME. 2013.** Invest in Algeria. Willaya de Biskra. ANDI
- AUBERT G. 1978.** Méthode d'analyse de sols. CRDP, Marseille, p. 188
- BAIZE D. 1988.** Guide des analyses courantes en Pédologie :Choix. Expression. Présentation interprétation. INRA, Paris, p. 172
- BEN FRIHA F. 2008.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique de population naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III-Paul Sabatier, Toulouse
- BOTINEAU M. 2010.** Botanique :systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier, Paris, p. 597-611
- CARRIER A. 2013.** Que se passe-t-il dans le sol ?. Québec, France, p. 12
- CESAR J., GOURO A 2008.** Production fourragères en zone tropical herbacées. CIRDES, Burkina-Faso, p. 8
- CHABI R. 2010.** Caractérisation de bactérie isolées à partir du genre *Trigonella* L.(légumineuse) poussant dans différent écosystème de l'Est Algérien. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine, Algérie

- CHAUSSOD 1996.** La qualité biologique des sols, Evolution et implication. INRA, Paris
- CHEHMA A. 2005.** Catalogues de plantes du Sahara septentrional algérien. Dar el hoda, Ain Mlila, Alger, p. 82
- COME D., CORBINEAU F 2006.** Dictionnaire de la biologie des semences et de plantes. Lavoisier, Paris, p. 335
- COUPLAN F.2012.** Guide nutritionnel des plantes sauvages. Delachaux et niestle, France, p. 1102
- DHANE FETOURI S 2011.** Diversité phénotypique et moléculaire des microsymbiote du *Sulla* du Nord(*Hedrosarum coronarium L.*) et sélection des souches Rhizobiales. Thèse de Doctorat, Université de Carthage, Tunisie
- DOMERGUE O 2006.** Diversité de rhizobia associés à *Onions Repeus* : une légumineuse adapté aux milieux méditerranéens. UMR, Montpellier
- DOMMERGUES Y., DHOUKS E., DIEM H.G 1998.** Les arbres fixateur d'azote, Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. CIRD, FAO, IRD
- DOUCET R. 2006.** Climat et les sols agricoles. Berger. Québec, Eastman, p. 19
- DUPONT F., GUIGNARD J.L 2004.** Botanique, Systématique moléculaire 13^{ème} édition. Elseveier Masson, Paris
- EVERARD M. 2002.** Botanique systématique, une prespective phylogénétique. De Boek, Espagne, p. 283-288
- EYHERAGUIBEL B. 2004.** Caractérisation de substance humique Biomintique- effets sur les végétaux. Thèse de Doctorat, Université Toulouse
- FERRET C 2012.** Rôle de *Pseudomonas fluorecents* dans la biodisponibilité des métaux contaminent les minéraux du sol :application à la phytoremédiation. Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg
- GALLALI T 2004.** Clés de sol. Centre de Publication Universitaire, Tunis, p. 39

GARDINER J 1940. L'inoculation de légumineuse. Série de la production en temps de guerre, 32, 2-5

GHOUGH C 2009. *Medicago truncatula*, un modèle pour l'étude des endosymbiose racinaires. Interaction plante microorganismes, 30-33

GOBAT J.M., ARAGNO M., METHEY W 2010. Le sol vivant, Base de pédologie-Biologie des sol(3^e éd.). Presse Polytechnique Et Universitaire Romandes, Italie, p. 817

GRAHAM P.-H 2008. Proposed minimal standards for the discription of new genera and species of root- and stem- nodulating bacteria. INT, p. 872-877

GUEROUGE K., BENATA H., OUARAH M., HANAA A., ROJER B ET EL IDRISSE M.M 2009. Diversité de Rhizobium qui nodulent quelques légumineuses de la région du Maroc

HINSINGER P. 2012. Interaction entre céréale et légumineuse en association et acquisition du phosphore de sol. Thèse de Doctorat, Centre international d'étude supérieure en sciences agronomique, Montpellier

HOPKINS W.G 2003. Physiologie végétal. Boek, Lille, p. 99- 119

JORRET G., HEBERT J 1955. Contribution à la détermination du besoins des sols en acide phosphorique. AGRON, Ann

KHABTANE A. 2010. Contribution à l'étude du comportement ecphysiologique du genre tamarix des différents biotopes des zones aride de la région de Khanchla :Ecologie Végétale. Thèse de Magistère, université Mentouri, Constantine, 158

LA FRANCE D 2010. La culture biologique de légumineuses. 2^{ème} édition. CCDMD, Canada, p. 42 - 53.

LAKHAL A.E 2011. Effets des certains indicateurs de gène nod(composés phénoliques) sur la croissance de *Rhizobium* en symbiose avec vicia faba caractérisation et lutte biologique. Thèse de doctorat, Université Tlemcen, Algérie

MAKO F., N'GBESSO P., ASSANVO S. P., GUETTA ., GUESSAN C. et KOUAHOU B. 2010. Evaluation de l'efficience de l'inoculation des semences chez 11 génotypes de soja (*Glycine max* L. Merrill) en zone de savane de Côte d'Ivoire. Sciences et Nature 7 (1) : 59- 67

MASSON D.-C. 2012. Comprendre la formation et la fertilité des sols. IFE, France

- MATHIEU C., PIELTAIN F. 2003.** Analyse chimique de sols, Méthodes choisies. Lavoisier, Paris, p. 20-23
- MBENGUE M. 2010.** Perception et transduction du signal bactérienne facteur Nod dans l'établissement de la symbiose *Rhizobium- légumineuse*. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III-Paul Sabatier, Toulouse
- MERMOUDE A. 2006.** Cours de physique du sol. EPFL
- MESSAILI B. 1995.** Systématique de spermaphyte. Office de Publication Universitaire, Alger
- MEYER S., REEB E., BOS D. 2008.** Botanique, Biologie et Physiologie végétales. 2^{ème} édition. Maloine, Paris, p. 143-148
- MOREL R. 1996.** Les sols cultivés 2^{ème} édition. Lavoisier, Paris, p.128 -671
- NDAYISHIMIYE J. 2011.** Diversité, endémisme, géographie et conservation des Fabaceae de l'Afrique Centrale. Thèse de Doctorat, Université de Bruxelles
- NDEYE FATOU D. 2002.** Utilisation des inoculummes de *Rhizobium* pour la culture du haricot(*Phaseolus vulgaris*) au Sénégal. Thèse de Doctorat, Université de Dakar
- NDIRA V. 2006.** Substance chimique de sol et de compost analyse élémentaire et groupement atomique fictifs : vers une approche thermodynamique. Thèse de Doctorat, Université INP Toulouse
- OBATON M. 1989.** Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote Légumineuse/Rhizobium. Amazone, France, p. 92
- PETIT J., JOPIN P. 2005.** La fertilisation organique des cultures, les bases. Québec, Canada
- POUSSET J. 2000.** Engrais verts et fertilité des sols 1^{ère} édition. ISBN, Paris, p. 114-150
- RAJONARIMAMY E. 2010.** Influence de diversité mycorrhizienne sur la symbiose *Dalbergia trichcarpa*-Rhizobia et sur la structure de la microflore Tellurique. Mémoire d'étude approfondies, Université d'Antananarivo
- RICHTER G. 1993.** Metabolism des végétaux, Physiologies et Biochimie. Press Polytechnique Et Universitaire, Romande

ROLAND P. 2013. Les sol, des milieux vivants très fragil. IRD

ROMADE F. 2009. Elément écologique, Ecologie fondamentale(4² éd.). DUNOD, Paris, p. 156

SEBIHI F.Z. 2008. Les bactéries nodulants les légumineuses(B.N.L): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la Légumineuse Fourragère, *Hedysarum perrauderianum*. Mémoire de Magistère, Université Mentouri de Constantine, Algérie

SENGHOR K. 1989. Etude de l'incidence de méthode phytoparasite *Meliodoggune javanica* sur la croissance et la symbiose fixatrice d'azote de douze espèce d'*Accacia*. Thèse de Doctorat, Université de Dakar

SIEGENTHALER G. 2010. Le sol, de la vigne. Domaine de Venus, France, p. 15-21

SOLTNER D. 2005. Les bases de la production végétal. :Science Et Technique Agricole

SOMASGARAN P., HOBEN H.J. 1994. Handbook for Rhizobia, Methodes in legume-Rhizobium Technology. Springer Verlag, NewYork, p. 367

SVISTOONOFF S. 2003. Implication d'une subtilase dans les étapes précoce de symbioses actinorhiziennes. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France

TAYEB H., HOUTA O., DOUKI W., NEFFATI M. 2012. Composition chimique et antioxydante de l'huile essentielle d'*Astragalus gombo* collecte à partir de deux sites de la Tunisie. Journal de la société chimique de Tunisie, 14, 63-67

TORTORAT G.-H., FUNK B.-R., CASE C.-L. 2003. Introduction à la microbiologie. Renouveau pédologique. INC

TOURTE Y., BORDONNEAU M., HENREY M et TOURTE C. 2005. Le monde de végétaux. DUNOD, Paris, p. 167

VELTER F., ABDO J., DARBOLS B. 2006. Routes environnement. Les limons traité, 74, 7- 20

VERNIER T. 2008. Analyse fonctionnelle d'EFD. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse

VINCENT J.-M. 1970. The manual for the proctical study of nodule bactéria. United Kingdom, Oxford

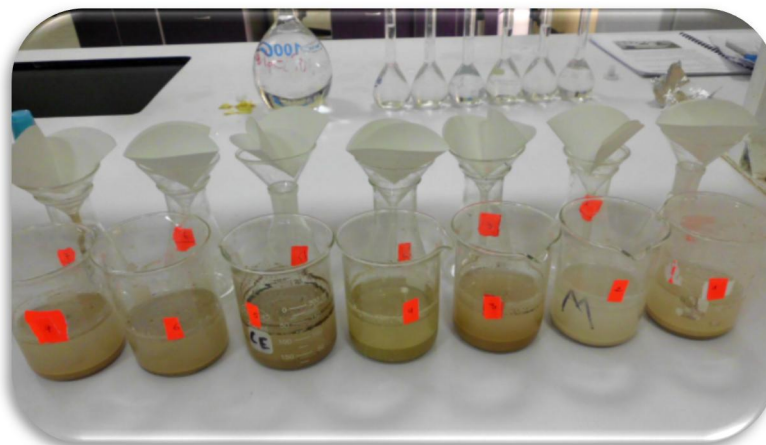
WOLIGORO C., TETU T. 2008. Légumineuse. Technique cultural simplifie. 48 : 12- 22

WWW.googl.dz/search-tarakiclub.org 04/2014

Annexe

1. Solution du sol :

D'abord, nous avons procédé à une étape de broyage des échantillons afin de les réduire en poudre fine, ensuite nous avons pesé quelques gramme du sol par une balance versé un quantité d'eau distillé puis à l'aide d'un barreau et un agitateur en fait l'agitation pendant quelques minute selon la besoin de l'analyse.



2. Solution d'extraction :

- * Peser 2.54g de Na introduire dans un fiole jaugé contenant 1L d'eau distillée puis a partir de cette solution mère réalise 100ml de différent concentrations.

- * Peser 2.54g de K introduire dans un fiole jaugé contenant 1L d'eau distillée puis a partir de cette solution mère réalise 100ml de différent concentrations.

- * Peser 14.2g de oxalate d'ammonium introduire dans un bécher de 1L contenant 800ml d'eau distillée chaud, agiter puis verser la solution dans une fiole jaugée et complète   un 1L. La solution est d'une concentration 0.2N et vérifier le PH qui doit être compris entre 6.5 et 7.0

3. Solution de permanganate de potassium(KMnO_4) :

Dissoudre 6.32g de(KMnO_4) dans 1000ml d'eau distillée.

4. Solution d'acide ascorbique :

Dissoudre 0.1g d'acide ascorbique dans 100ml d'eau distillée.

5. Solution étalon d'orthophosphate :

Peser 1.917g de dihydrogénophosphate de potassique(KH_2PO_4) introduire dans un ballon jaugé de 1L contenant 100ml d'eau distillée, dissoudre et complété à 1L.(solution de 1000ppm). Préparer une solution de (50ppm) utilisé pour l'établissement de gamme.

6. Réactif sulfomolybdique :

Dissoudre 3.75g de molybdate d'ammonium($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dans un bécher de 500ml contenant 150ml d'eau distillée. Dans un bécher de 100ml ajoute 280ml d'acide sulfurique H_2SO_4 pure à 200ml d'eau, après refroidissement ; y verser lentement la solution molybdique tout agitant doucement.

Laisser refroidie, verser la solution dans une éprouvette de 1L et complète avec l'eau distillée. Conserver dans un flacon fumé au réfrigérateur.

7. Milieu Tryptone-Yeast(TY)(Vincent, 1970):

Tryptone	5g
Extrait de levure	3g
$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.87g
Eau distillée	1L
pH (6,8 à 7.2) autoclave 15 min	

8. Milieu Yeast Mannitol Broth (YMB)(Vincent, 1970):

Mannitol	10 g
K HPO	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,2 g
NaCl	0,1 g
Extrait de levure	0,5 g
L'ajustement du pH à 6,8 se fait avec du NaOH 0,1N.	

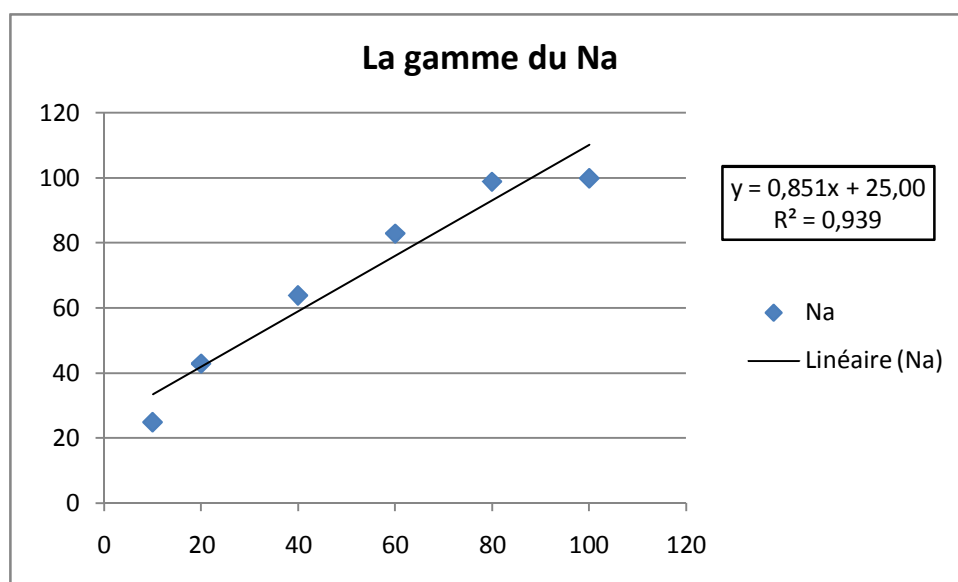


* Le milieu TY

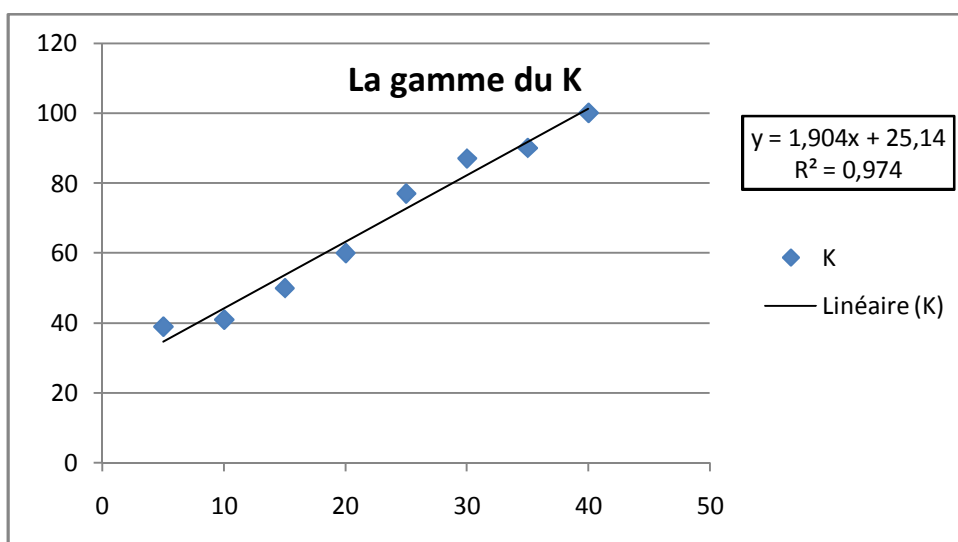


*Le milieu YMB

9. La courbe d'étalonnage de sodium :



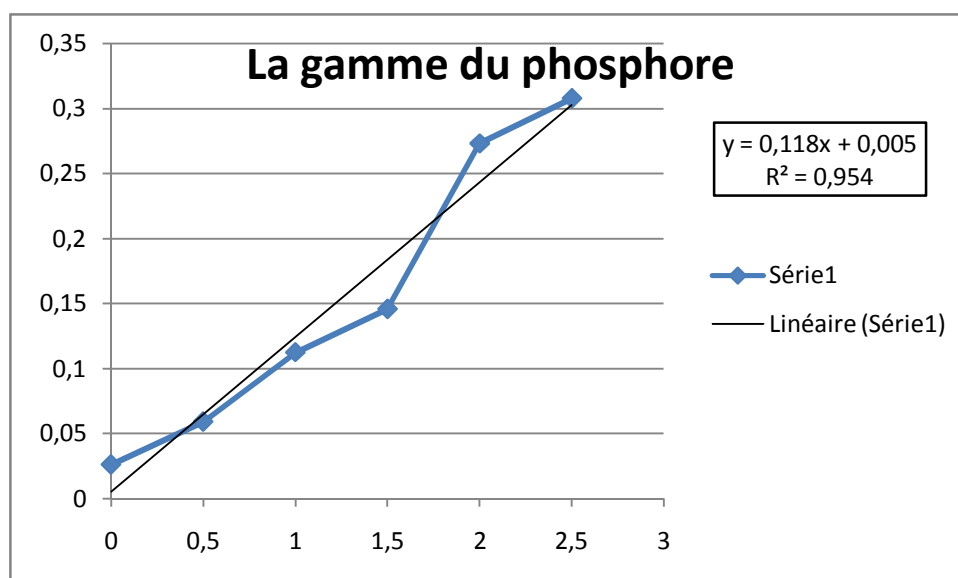
10. La courbe d'étalonnage de potassium :



11. Préparation du concentration de la gamme du phosphore :

N°de tube	0	1	2	3	4	5
Solution KH_2PO_4 (50ppm / ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Oxalate d'ammonium(ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Réactif sulfomlybdique(ml)	2	2	2	2	2	2
Acid ascorbique(ml)	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
Concentration finale(ppm)	0	0.5	1.0	1.5	2	2.5

12. La courbe d'étalonnage de phosphore :



13. Interprétation des résultats de pH(Baize, 1988) :

Les domaines d'interprétation	Les normes d'interprétation
Inferieure à 3.5	Hyper acide
3.5à 5	Très acide
5à 6.5	Acide
6.5à 7.5	Neutre
7.5 à 8.7	Basique
Supérieure à 8.7	Très basique

14. Normes d'interprétation du C.E du sol(Aubert, 1970) :

Salinité du sol(ms/cm)	Niveau
<0.6	Non salé
0.6 - 1.2	Peu salé
1.2 - 2.4	Salé
2.4 - 6	Très salé
>6	Excrément salé

15. Normes d'interprétation du taux du calcaire totale du sol(Baize, 2000) :

Taux du calcaire	< 1 %	1 à 5 %	5 à 25 %	25 à 50 %	50 à 80 %	> 80 %
Appréciation	Non calcaire	Peu calcaire	Modérément calcaire	Fortement calcaire	Très fortement calcaire	Excessivement calcaire

16. Normes d'interprétation du taux du calcaire actif du sol(Maignien, 1969) :

Taux du calcaire actif en %	Appréciation
Dépasse 10(<10%)	Riche
Inferieure 10(<10%)	Moyenne

17. Interprétation du phosphore assimilable selon (Joret-Hebert, 1955) :

Phosphore en ppm	niveau
<100	Très faible
100 à 140	Faible
140 à 180	Médiocre
180 à 220	Normal
>220	Elevé

Résumé :

une très grande majorité des légumineuses sont capables d'entrer en symbiose avec des bactéries du sol, principalement le *Rhizobium*, et forment des nodosités sur leurs racines.

La différence de production des nodules peut être liée à une adaptation des bactéries ou de plante hôte avec leur milieu.

Notre étude vis à évaluer l'impacte de l'inoculation par des bactéries symbiotiques et tester l'effet de certains paramètres physico-chimiques des sol sur la capacité d'*Astragalus gombo* à la formation des nodosités.

Les résultats obtenus montrent l'influence de ces facteurs tel que pH élevé, le stress salin et le carence en élément nutritif, sur la capacité de survie des BNL donc leur aptitude à former des nodules.

Mots clés : symbiose, *Rhizobium*, nodule, inoculation, *Astragalus gombo*. BNL

Abstract :

A vast majority of legume capable of entering into symbiosis with soil bacteria, *Rhizobium* mainly, and form nodules on their roots.

The difference of nodule production can be related to an adjustment of the host plant or bacteria with their environment.

Our study is evaluating the impact of inoculation with symbiotic bacteria and the effect of some physico-chemical parameters of soil and the ability of *Astragalus gombo* nodule formation.

The results show the influence of these factors such as high pH, salt stress and nutrient deficiency, the survivability of BNL hence their ability to form nodules.

Key Words: symbiosis, *Rhizobium*, nodule, inoculation, *Astragalus gombo*.

ملخص:

غالبية البقوليات لها القدرة على التعايش مع بكتيريا التربة، خاصة الريزوبيوم، وتشكيل عقد على جذورها.

الاختلاف في إنتاج العقد يمكن أن يرتبط بتكيف البكتيريا أو النبات مع الوسط.

دراستنا تهدف إلى تقييم اثر التلقيح ببكتيريا تعايشية، و اختبار تأثير بعض المعلمات الفيزيائية و الكيميائية للتربة على قدرة *Astragalus gombo* لتشكيل العقد الجذرية.

أظهرت النتائج المتحصل عليها تأثير هذه العوامل مثل: درجة الحموضة العالية، الملوحة و نقص المغذيات على قدرة BNL حية و بالتالي قدرتها على تشكيل العقد الجذرية.

الكلمات المفتاحية: التعايش، الريزوبيوم، العقد الجذرية، بكتيريا تعايشية، *Astragalus gombo*، BNL